

# Генотипическая неидентичность плюсовых деревьев сосны обыкновенной по содержанию крахмала

*Н.Н. Бессчетнова, к.с.-х.н., Нижегородская ГСХА*

Эффективность функционирования объектов постоянной лесосеменной базы во многом определяется корректностью формирования их ассортимента [1–4]. Весьма сложной проблемой в этом вопросе остаётся риск инбредной депрессии семенного потомства, полученного на лесосеменных плантациях (ЛСП). Причина её возможного возникновения кроется в потенциальном генетическом родстве плюсовых деревьев, которое весьма реально при выделении последних на сравнительно ограниченной территории. Данные обстоятельства могут выступать причиной недостаточно высокой результативности массового отбора в создании ЛСП [1]. Существующий порядок отбора по фенотипу лучших особей не предусматривает каких-либо ограничений на введение в состав ЛСП близкородственных плюсовых деревьев. В такой ситуации перспективными представляются исследования, направленные на выявление степени генетической близости плюсовых деревьев и на разработку объективных методов её оценки. Весьма информативными в контексте указанных задач могут оказаться физиологические показатели, связанные с устойчивостью растений, такие, как содержание крахмала [5, 6].

**Цель исследований** – разработка метода объективной косвенной оценки генотипического несходства плюсовых деревьев в составе объектов постоянной лесосеменной базы и единого генетико-селекционного комплекса.

**Предмет исследований** – степень генотипического сходства плюсовых деревьев по содержанию крахмала в тканях побегов и его идентификационное значение.

**Объекты исследований** – плюсовые деревья сосны обыкновенной (ортеты), равномерно (по 3 учётных клона) представленные своими одновозрастными вегетативными потомствами (раметами) в составе архива клонов № 12 государственного бюджетного учреждения Нижегородской области ГБУ НО «Семёновский спецлесхоз».

**Методика исследований.** Первичная единица выборки в опыте представлена временными препаратами поперечных срезов из средней части годовичного прироста, которые после окрашивания и фиксации анализировались с помощью микроскопа «Микмед-2». Содержание крахмала оценивали в условных баллах предложенной нами шкалы [2] по реакции на раствор Люголя [7]. Учёт вели по зонам: сердцевине, перимедулярной зоне ксилемы, ранней и поздней ксилеме, сердцевинным лучам, смоляным ходам, флоэме – отдельно и по общей сумме. Контролем визирования служили неокрашенные срезы, не подвергавшиеся воздействию тестирующих реагентов [2, 8].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Ассортимент плюсовых деревьев сосны обыкновенной в составе архива клонов № 12 ГБУ НО «Семёновский спецлесхоз» оказался весьма неоднородным в отношении содержания крахмала в период зимнего покоя (рис.).

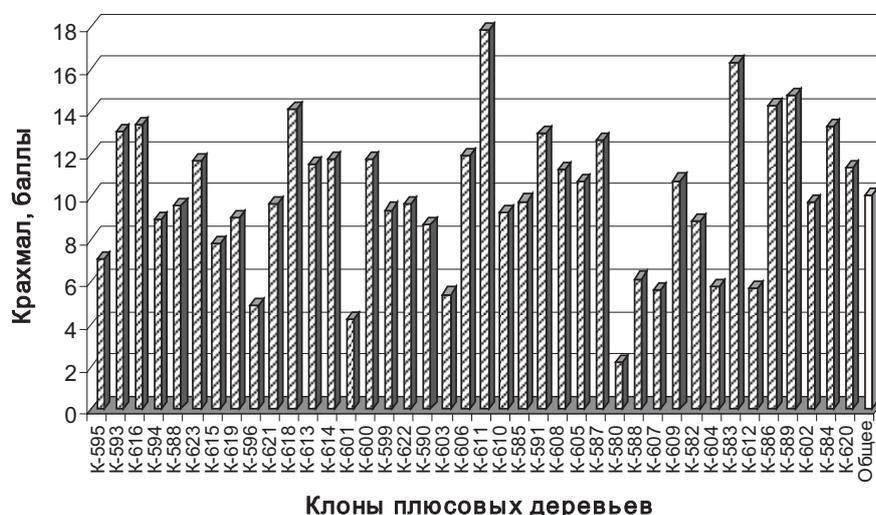


Рис. – Содержание крахмала в клетках побегов плюсовых деревьев

Как видно на рисунке, максимум средних суммарных значений по учётным тканям (17,8 балла) зафиксирован у объекта К-611; минимум (2,23 балла) – у образца К-580; разница в 7,97 раза. Существенность отмеченных различий подтвердил однофакторный дисперсионный анализ (табл. 1).

Материалы таблицы 1 позволяют заметить, что в комплексе клонов плюсовых деревьев, введённых в состав архива клонов № 12, опытные критерии Фишера превосходят свои табличные величины на 5- и 1-процентном уровнях значимости. Наименьшая существенная разность (НСР) и *D*-критерий Тьюки обозначают критический порог существенности различий и позволяют установить, между какими вегетативными потомствами он будет превышен.

Установленные оценки соответствуют представлению о выровненности условий произрастания на этом опытном участке и минимизации в соответствии с этим влияния внешних факторов на дифференциацию анализируемых растений по учитываемому показателю. Доля влияния организованных факторов, которые в нашем случае определены принадлежностью к тому или иному клону, составила  $53,05 \pm 3,27\%$  (по методу Плохинского) и  $50,37 \pm 3,46\%$  (по методу Снедекора). Полученный результат свидетельствует о заметной генотипической обусловленности различий между вегетативными потомствами плюсовых деревьев по способности достигать минимума в содержании крахмала в период зимнего покоя растений. Это обуславливает принципиальную возможность для включения данного показателя в состав комплекса признаков при многомерной идентификации объектов лесной селекции.

Влияние неорганизованных факторов, в число которых могут быть включены и факторы среды, не превышало 50%. Данное обстоятельство указывает на определённую зависимость проявляющейся способности плюсовых деревьев накапливать в своих тканях крахмал от воздействия

внешних условий. Оно способно в некоторой степени нивелировать разницу в показателях, имеющую генотипическую природу, и предопределяет возможность достаточно больших изменений в фенотипических проявлениях признака. Это влияние способно изменить соотношение в показателях определённого набора клонов при учётах в разные годы, характеризующиеся несходными климатическими параметрами.

Эффективность действия всех организованных факторов, вызывающих различия между плюсовыми деревьями по содержанию крахмала, позволила установить двухфакторный иерархический дисперсионный анализ (табл. 2).

Различия между собственно плюсовыми деревьями – ортетами оказались существенными. Опытные критерии Фишера превосходят соответствующие критические значения как на 5-, так и на 1-процентном уровнях значимости. Влияние фактора различия между ортетами достаточно велико:  $53,05 \pm 4,58\%$  (по Плохинскому) и  $49,20 \pm 4,95\%$  (по Снедекору). Действие различий между ракетами несколько меньше и оценивается величинами  $29,76 \pm 28,10\%$  (по Плохинскому);  $26,72 \pm 29,31\%$  (по Снедекору). Влияние данного фактора связано с неоднородностью вегетативного потомства одного плюсового дерева и может быть объяснено исходя из следующих соображений. Существующие регламенты и реализуемая в соответствии с ними агротехника создания архивов клонов предусматривает выравнивание условий произрастания и минимизацию в этой связи их дифференцирующего эффекта. Кроме того, принятые приёмы тиражирования и режимы выращивания посадочного материала обеспечивают однотипность его технологических параметров. Причиной неравноценности прививок (этот метод размножения использовался для создания анализируемого объекта) остаётся качество работ при их выполнении, как, впрочем, и индивидуальное состояние подвоя и привоя. Это может определять успешность их срастания

### 1. Оценки существенности различий между плюсовыми деревьями

Критерий Фишера		Доля влияния фактора ( $h^2 \pm s_{h^2}$ )				НСР	<i>D</i> -критерий Тьюки
		по Плохинскому		по Снедекору			
$F_{оп}$	$F_{05}/F_{01}$	$h^2$	$\pm s_{h^2}$	$h^2$	$\pm s_{h^2}$		
16,22	1,40/1,59	0,5305	0,0327	0,5037	0,0346	2,353	4,244

### 2. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа

Различия дисперсионного комплекса	Критерий Фишера		Доля влияния фактора ( $h^2 \pm m_{h^2}$ )			
			по Плохинскому		по Снедекору	
	$F_{оп}$	$F_{05/01}$	$h^2$	$\pm m_{h^2}$	$h^2$	$\pm m_{h^2}$
между ортетами	7,31	1,50/ 1,70	0,5305	0,0458	0,4920	0,0495
между ракетами	4,33	1,24/ 1,36	0,2976	0,2810	0,2672	0,2931
остаток	–	–	0,1719	0,8281	0,2408	0,7592

и последующее развитие. Такое объяснение выглядит вполне логичным и соответствует представлениям о масштабах влияния прививок на различия в характеристиках привитых деревьев в плодоводстве и декоративном садоводстве. Влияние собственно факторов среды минимально: 17,19% (по методу Плохинского) и 24,08% (по методу Снедекора).

Двухфакторный иерархический дисперсионный анализ подтвердил оценки генотипической обусловленности различий между плюсовыми деревьями по оценкам содержания крахмала в клетках тканей побегов, отмеченные в ходе однофакторного анализа. При этом он позволил вычленить долю влияния такого фактора, как различия между раметами.

Полученные результаты позволили установить степень неидентичности рассматриваемого ассортимента плюсовых деревьев в составе архива клонов № 12 ГБУ НО «Семёновский спецселекхоз». Принципиальной теоретической платформой в этом вопросе выступало представление о степени несовпадения значений анализируемого признака при парном сравнении каждого из плюсовых деревьев со всеми остальными, введёнными в состав отдельного объекта ПЛСБ или ЕГСК. Первым этапом явилось построение матрицы разности значений признака, в каждой ячейке которой вписан результат сопоставления конкретного образца со всеми остальными.

Матрица симметрична, и по её главной диагонали всегда стоят нули как разность значения с самим собой. Она имеет квадратную форму, а количество строк и столбцов равно числу сравниваемых между собой плюсовых деревьев в составе объекта ПЛСБ или ЕГСК.

Далее формировалась матрица существенных различий. Её размер и форма, индексация строк и столбцов такие же, как у предыдущей. Наполнение ячеек состоит в определении для каждой из них факта превышения (или наоборот) полученных и внесённых в первую матрицу фактических значений разности показателей объектов установленного в ходе дисперсионного анализа порога НСР (или *D*-критерия Тьюки). Для этого нами использована логическая функция «больше или равно» из стандартного набора электронных таблиц Excel. Формализация введённого условия имеет вид:

$$(a_{ij} - b_{ij}) \geq \text{НСР},$$

где *a* и *b* – сравниваемые плюсовые деревья;  
*i* и *j* – индексы строк и столбцов матрицы.

При его соблюдении в ячейку матрицы вписывается цифровой результат вычитания, в случае несоблюдения – символ «ложь». Это позволяет легко подсчитать, с каким количеством других плюсовых деревьев каждое конкретное из них не совпадает по анализируемому признаку.

Зная величину коэффициента наследуемости признака, определяли степень генотипической

### 3. Ранжирование плюсовых деревьев по индексу несходства

Ранг	Клон	Число превышений	Индекс несходства	Ранг	Клон	Число превышений	Индекс несходства
1	К-609	17	9,0179	21	К-593	24	12,7312
2	К-608	18	9,5484	22	К-616	25	13,2617
3	К-605	18	9,5484	23	К-594	25	13,2617
4	К-620	18	9,5484	24	К-590	25	13,2617
5	К-621	19	10,0789	25	К-582	25	13,2617
6	К-613	19	10,0789	26	К-584	25	13,2617
7	К-622	19	10,0789	27	К-595	26	13,7922
8	К-585	19	10,0789	28	К-618	28	14,8531
9	К-602	19	10,0789	29	К-586	30	15,9140
10	К-588	20	10,6093	30	К-588	31	16,4445
11	К-623	20	10,6093	31	К-607	31	16,4445
12	К-614	20	10,6093	32	К-604	31	16,4445
13	К-600	20	10,6093	33	К-612	31	16,4445
14	К-606	20	10,6093	34	К-589	31	16,4445
15	К-599	21	11,1398	35	К-596	32	16,9750
16	К-610	22	11,6703	36	К-601	32	16,9750
17	К-615	23	12,2008	37	К-603	32	16,9750
18	К-619	23	12,2008	38	К-583	35	18,5664
19	К-591	23	12,2008	39	К-611	38	20,1578
20	К-587	23	12,2008	40	К-580	38	20,1578

обусловленности установленной неидентичности плюсовых деревьев. Для этого по каждому из них находили произведение числа несовпадения его значений признака с остальными, превышающее величину НСР, на коэффициент наследуемости. Полученные оценки позволили ранжировать весь ассортимент по возрастанию индекса наследственно обусловленного несходства (табл. 3).

Ранжирование позволяет распределить плюсовые деревья в архиве клонов № 12 по категориям — относительно равновеликим группам. В I группу были вошли образцы с величиной индекса несовпадения до 11 единиц, их оказалось 14; во II гр. — те, чьи оценки находятся в интервале от 11 до 14 единиц, их было 13; в III — те, у которых оценки индекса превышают 14 единиц, их число составило 13. В соответствии с этим генотипическая индивидуальность первых была определена как низкая; вторых — как средняя; третьих — как высокая.

В заключение можно отметить, что у плюсовых деревьев, включённых в группу с низкой генотипической индивидуальностью, риск формировать потомство с признаками инбредной депрессии наибольший. Они менее других пригодны для включения в состав лесосеменных плантаций. Напротив, плюсовые деревья, вошедшие в группу с высокой генотипической индивидуальностью, обладают большими возможностями продуцировать потомство без

признаков инбредной депрессии. Они представляют наибольшую ценность как элементы ассортимента объектов ПЛСБ. Представители II гр. занимают промежуточное положение.

### Литература

1. Ефимов Ю.П. Семенные плантации в селекции и семеноводстве сосны обыкновенной. Воронеж: Истоки, 2010. 253 с.
2. Бессчетнова Н.Н. Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.). Селекционный потенциал плюсовых деревьев. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & co. KG. (ISBN 978-3-8443-5608-3), 2011. 402 с.
3. Foff V. PROSAD a tool for projecting and managing data about seed orchards [Access 11.04.2012: <http://www.cabi.org/forestsience/FullTextPDF/2011/20113212210.pdf>] / V. Foff, E. Foffová // SLU/Publikationstjänst, Uppsala, Sweden, / Seed orchards: Proceedings from a conference at Umeå, Sweden, 26–28 September, 2007. 2008. Pp. 60–69.
4. Lindgren, D. Swedish seed orchards for Scots pine and Norway spruce [Access 11.04.2012: <http://www.cabi.org/forestsience/FullTextPDF/2011/20113212224.pdf>] / D. Lindgren, B. Karlsson, B. Andersson, F. Prescher // SLU/Publikationstjänst, Uppsala, Sweden, / Seed orchards: Proceedings from a conference at Umeå, Sweden, 26–28 September, 2007. 2008. Pp. 142–154.
5. Bergström, B. Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris* [Access: 06.01.2013: <http://forestry.oxfordjournals.org/content/76/1/45.full.pdf+html?sid=6a824d16-9778-4386-88d6-c4527317b47d>] / B. Bergström. // Forestry. 2003. Vol. 76 (1). Pp. 45–53.
6. Edwards, C. Stand structure and dynamics of four native Scots pine (*Pinus sylvestris*L.) woodlands in northern Scotland [Access: 06.01.2013: <http://forestry.oxfordjournals.org/content/79/3/261.full.pdf+html?sid=172b86fb-5f9f-4fdf-98ee-7f172dbdeb83>] / C. Edwards and W.L. Mason // Forestry. 2006. Vol. 79 (3). Pp. 261–277.
7. Прозина Н.М. Ботаническая микротехника. М.: Высшая школа, 1960. 205 с.
8. Бессчетнова Н.Н. Сравнительная оценка плюсовых деревьев сосны обыкновенной по содержанию крахмала в побегах // Вестник Марийского государственного технического университета. 2010. № 2 (9). С. 49–55.