

Анализ прижизненного содержания продуктов перекисного окисления липидов в тканях подфлагового листа показал, что самый высокий уровень МДА в пересчете на единицу сырой массы наблюдался у линий 6 и 7 (5,5 и 3,9 мкмоль/г), у остальных линий он был примерно одинаков (2,17-3,00 мкмоль/г) (табл.3). Эти данные указывают на более высокую подверженность линий 6 и 7 действию окислительного стресса. Вполне вероятно, что компенсировать этот недостаток растение пытается увеличением синтеза антоцианов, особенно выразительным в листьях линии 6 (табл. 2).

Таблица 3

**Содержание продуктов перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, МДА) в подфлаговом листе линий тритикале**

Линия	1	2	3	4	5	6	7	8
МДА, мкмоль/г сырой массы	2,40±0,04	2,17±0,01	2,31±0,05	3,00±0,00	2,57± 0,07	5,47±0,09	3,89±0,10	2,71±0,11

Таким образом, сравнение линий гексаплоидного тритикале, отличающихся по одному типу замещения хромосом, позволило выявить некоторое влияние интрогрессии определенных хромосом D генома пшеницы в кариотип гексаплоидных тритикале на проявление таких важных признаков как высота растений на стадии выхода в трубку и содержание фотосинтетических пигментов, которые могут выступать как лимитирующие факторы, препятствующие полному проявлению компонентов урожая [2]. Сравнительный анализ позволил выделить линию ПРАГ3-5, формирующую не только самое высокое растение, но и мощный фотосинтетический аппарат на фоне хорошей защиты от окислительного стресса (низкое содержание МДА, табл.3). Линия ПРАГ3-1, содержащая только хромосомы 1D(1A), напротив, отличалась от остальных не только самым низким содержанием хлорофиллов и каротиноидов, но и внепластидных пигментов антоцианов, играющих важную роль в защитных реакциях растения. Полученная информация может быть использована при разработке оптимальной стратегии преобразования генетической основы тритикале методами хромосомной инженерии.

1. Н.И. Дубовец, Г.В. Дымкова, Л.А. Соловей, Т.И. Штык, В.Е. Бормотов Реконструкция кариотипа гексаплоидных тритикале путем межгеномных замещений хромосом // Генетика. – 1995.– Т.31, № 10. – С. 1394–1399.
2. Ю.Е. Андрианова, И.А. Тарчевский Хлорофилл и продуктивность растений М.: Наука, 2000 – 135 с.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ЛЕСОСЕМЕННЫХ ПЛАНТАЦИЙ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (НА ПРИМЕРЕ ГАНЦЕВИЧСКОГО ЛЕСХОЗА)

**Д.И. Каган, Е.Н. Химченко**

*Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь*

*quercus-belarus@mail.ru*

В настоящее время лесосеменные плантации (ЛСП) рассматриваются не только как средство решения задач по обеспечению потребностей лесного хозяйства семенами с улучшенными наследственными свойствами, но и как важная составная часть системы мероприятий по сохранению и рациональному использованию генетических ресурсов природных популяций. Поэтому на сегодняшний день является необходимым проведение комплекса мероприятий по селекционно-генетической оценке существующих лесосеменных плантаций с целью выявления и сохранения лучших насаждений. Уровень генетического разнообразия таких насаждений должен быть достаточно высоким и максимально приближенным к уровню генетического полиморфизма естественных популяций [1].

Целью данной работы является изучение генетической структуры лесосеменных плантаций дуба черешчатого в Беларуси.

Материал для исследования был взят с 32 деревьев на лесосеменной плантации, заложенной в Ганцевичском лесхозе. В качестве экспериментального материала использовались диплоидные ткани почек и листьев.

Гомогенизация, выделение и гистохимическое окрашивание ферментов производилось по стандартным методикам, описанным в ряде руководств [2,3]. Электрофоретический анализ изоферментов проводили в 13–14% крахмальном геле с использованием трех буферных систем: Трис-ЭДТА-боратной (pH 8,6), системы Пулика (pH 8,65) и трис-цитратной (pH 6,2). В ходе исследований наиболее оптимальными оказались следующие условия проведения электрофореза: в буферной системе Трис-ЭДТА-боратной (pH 8,6) в течение 3,5 или 14 ч при параметрах тока 500 V/60 мА и 180 V/19 мА соответственно; в буферной системе Пулика (pH 8,65) в течение 5 или 16 ч при параметрах тока 240 V/125 мА и 90 V/25 мА соответственно; в буферной системе трис-цитратной (pH 6,2) в течение 3 или 12 ч при параметрах тока 300 V/85 мА и 80 V/15 мА соответственно.

Каждое дерево исследовалось по 10 ген-ферментным системам ( $\alpha$ -эстераза —  $\alpha$ -EST,  $\beta$ -эстераза —  $\beta$ -EST, алкогольдегидрогеназа — ADH, флюоресцентная эстераза — FL-EST, глюкозофосфатизомераза — GPI, изоцитратдегидрогеназа — IDH, аланинаминопептидаза — ALAP, фосфоглюкомутаза — PGM, лейцинаминопептидаза — LAP, шикиматдегидрогеназа — SKDH), которые кодируются 14 локусами.

В данной работе был использован ряд статистических показателей, описывающих уровень генетической изменчивости насаждений [1,2,4].

В ходе проведения молекулярно-генетического анализа было выявлено 30 различных аллельных вариантов. Если сравнивать аллельное разнообразие проанализированной плантации и данные по количеству аллелей, обнаруженных нами ранее в природных популяциях (36 аллелей), произрастающих на территории Беларуси, то следует отметить, что количество аллелей несколько ниже. Однако это можно объяснить небольшой выборкой (32 шт.) проанализированных деревьев на плантации. Выявленные аллели и их частоты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Аллельные частоты дуба черешчатого на плантации Ганцевичского лесхоза по 14 изоферментным локусам

Локус	Аллель	Частота аллеля	Локус	Аллель	Частота аллеля	Локус	Аллель	Частота аллеля
<b>Fe-1</b>	0.90	0,078	<b>Idh</b>	1.00	0,469	<b>Adh-1</b>	0.85	0,047
	1.00	0,922		1.15	0,531		1.00	0,953
<b>Fe-2</b>	0.80	0,000		1.35	0,000	<b>Adh-2</b>	0.90	0,016
	1.00	0,969	<b>Alap-1</b>	0.85	0,000		1.00	0,953
	1.20	0,031		0.90	0,500		1.15	0,031
	1.30	0,000		0.95	0,188		1.20	0,000
<b>Pgm</b>	0.70	0,000		1.00	0,312	<b>Skdh</b>	0.95	0,047
	0.80	0,000	<b>Alap-2</b>	0.00	0,000		1.00	0,953
	0.90	0,391			0.85	0,000	<b><math>\alpha</math>-Est</b>	0.95
	1.00	0,609		0.95	0,000	1.00		1,000
<b>Gpi-1</b>	1.00	1,000		1.00	0,672	<b><math>\beta</math>-Est</b>	0.95	0,016
<b>Gpi-2</b>	0.75	0,000		1.05	0,297		1.00	0,984
	1.00	0,968		1.15	0,031			
	1.10	0,000	<b>Lap</b>	0.85	0,000			
	1.15	0,031		1.00	0,468			
	1.25	0,000		1.05	0,226			
	1.45	0,000		1.10	0,306			

Уровень индивидуальной изменчивости того или иного локуса можно оценить при помощи показателя гетерозиготности, представленного в таблице 2.

Наиболее изменчивыми являются пять локусов — Pgm, Idh, Lap, Alap-1 и Alap-2, поскольку их средняя ожидаемая гетерозиготность колеблется от 46% по локусу Alap-2 до 63,6% по локусу Lap. По шести локусам — Fe-1, Fe-2, Gpi-2, Adh-1, Adh-2 и Skdh значение ожидаемой гетерозиготности варьирует от 6 до 14,5%, что позволяет отнести их к локусам со средним уровнем полиморфизма. Наименее изменчивым является локус  $\beta$ -Est, так как его средняя гетерозиготность меньше 5%. Мономорфными оказались локусы: Gpi-1 и  $\alpha$ -Est.

Таблица 2

Значения ожидаемой гетерозиготности по отдельным локусам

<b>Fe-1</b>	<b>Fe-2</b>	<b>Pgm</b>	<b>Gpi-1</b>	<b>Gpi-2</b>	<b>Idh</b>	<b>Lap</b>
0,144	0,060	0,476	0,000	0,062	0,498	0,636
<b>Alap-1</b>	<b>Alap-2</b>	<b>Adh-1</b>	<b>Adh-2</b>	<b>Skdh</b>	<b><math>\alpha</math>-Est</b>	<b><math>\beta</math>-Est</b>
0,617	0,459	0,090	0,091	0,090	0,000	0,031

Для того чтобы оценить запас генетической изменчивости в целом, необходимо рассчитать основные параметры генетического полиморфизма. Значения этих показателей — полиморфности (P), среднего числа аллелей на локус (A), наблюдаемой ( $H_o$ ) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_e$ ) приведены в таблице 3.

Таблица 3

Значения основных показателей генетической изменчивости

Древостой	Доля полиморфных локусов, P	Число аллелей на локус, A	Средняя гетерозиготность	
			ожидаемая $H_e$	наблюдаемая $H_o$
<b>Плантация (Ганцевичи)</b>	0,857	2,143±0,663	0,232±0,017	0,216±0,017
<b>Природные популяции</b>	0,714	2,571±1,284	0,227±0,011	0,265±0,012

Установлен общий уровень генетического разнообразия для проанализированной плантации на основе расчета следующих показателей: доля полиморфных локусов (P) — 0,857; среднее число аллелей на локус (A) — 2,143; ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) — 0,232 и наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ ) — 0,216. В сравнении с природными насаждениями показатели P и  $H_e$  выше, а A и  $H_o$  — ниже.

В ходе проведенного исследования было установлено, что лесосеменная плантация Ганцевичского лесхоза обладает более высоким уровнем гетерозиготности в сравнении с естественными насаждениями дуба черешчатого в Беларуси, однако количество выявленных аллелей меньше, чем в природных популяциях. В целом, полученные показатели генетического разнообразия ЛСП Ганцевичского лесхоза, полученные на основе изоферментного анализа, не имеют существенных отличий от параметров генетического полиморфизма природных насаждений дуба.

1. Падутов, В.Е. Генетические ресурсы сосны и ели в Беларуси / В.Е. Падутов. – Гомель: ИЛ НАНБ, 2001. – 144 с.
2. Гончаренко, Г.Г. Руководство по исследованию хвойных видов методом электрофоретического анализа изоферментов / Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутов, В.В. Потенко. – Гомель: Полеспечать, 1989. – 164 с.
3. Cheliak, W.M. Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species / W.M. Cheliak, J.A. Pitel. – Ottawa: Canadian Forestry Service, 1984. – 49 p.
4. Айала, Ф. Введение в молекулярную и эволюционную генетику / Ф. Айала. – М.: Мир, 1984. – 230 с.