

НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Агрономический факультет

Кафедра селекции, генетики и лесоводства

Научные основы лесной селекции и семеноводства: применение методов фенетики для изучения популяционной структуры и паспортизации клонов плюс-деревьев сосны

Методические указания
для практических занятий и самостоятельной работы

Новосибирск 2017

Тараканов, В.В. Научные основы лесной селекции и семеноводства: применение методов фенетики для изучения популяционной структуры и паспортизации клонов плюс-деревьев сосны: метод. указания для практической и самостоятельной работы / Тараканов. В.В. , Паркина О.В. / ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ – Новосибирск, 2017 – 10с.

Методические указания предназначены для студентов, обучающихся по программе магистратуры направления подготовки Лесное дело 35.04.01

Утверждены и рекомендованы к изданию методическим советом агрономического факультета (протокол № от).

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ

Цель освоения дисциплины – сформировать у студентов, обучающихся по программе магистратуры представление о методах лесной селекции, организации системы временных и постоянных лесосеменных участков, и плантаций на основе научно обоснованного районирования с использованием сортовых семян.

Задачи освоения дисциплины – ознакомить студентов с методами группового и индивидуального отбора по фенотипу, методами закладки временных и постоянных лесосеменных участков, и плантаций; с законодательной базой и инструктивными документами по сохранению биоразнообразия в лесах России.

2. ТРЕБОВАНИЯ К РЕЗУЛЬТАТАМ ОСВОЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

В результате освоения дисциплины студент должен:

знать:

- классификацию сортов в зависимости от способов размножения и методов выведения;
- организацию системы временных и постоянных лесосеменных участков, и плантаций на основе научно обоснованного районирования с использованием сортовых семян;

уметь:

- использовать методы группового и индивидуального отбора по фенотипу,
- методы закладки временных и постоянных лесосеменных участков, и плантаций;

владеть:

- законодательной базой и инструктивными документами по сохранению биоразнообразия в лесах России,
- методами выращивания сортовых лесных насаждений требуемого формового состава с лучшими показателями по сравнению с бессортными семенами и насаждениями.

Практическое занятие 1

Цель изучения изменчивости фенотипов и "генетически маркерных" признаков на объектах ЕГСК и в естественных насаждениях сосны обыкновенной – анализ популяционной структуры вида (уточнение лесосеменного районирования) и

паспортизация плюс-деревьев и их клонов на плантационных генетико-селекционных объектах.

При этом на практических занятиях решаются следующие **задачи**:

1. Овладеть методикой оценки изменчивости по фенам генеративных органов и генетически маркерным индексам количественных признаков
2. По выборкам семян из различных популяций оценить степень дифференциации популяций сосны по частотам фенов.
3. Изучить методику паспортизации деревьев на клоновых плантациях сосны с применением методов фенетики.

В качестве примера тщательно спланированных скрупулезных исследований по выделению фенов можно привести работу А.И. Видякина (2004), которая была взята нами за основу при проведении фенетических исследований клонов сосны.

Выделение и изучение фенов - лишь одно из направлений фенетики. Под ней понимается "распространение генетических подходов и принципов на формы, собственно генетическое изучение которых затруднено или невозможно. **Предметом** фенетики является внутривидовая изменчивость ... альтернативных признаков - фенов. **Методами** фенетики являются вычленение в изменчивости изучаемых форм различных фенов, количественное и качественное изучение фенов в популяциях и других группах особей. **Целью** фенетики является разработка вопросов микроэволюции, теоретической систематики, практической биотехники и других проблем, связанных с популяционным исследованием видов в природе" (Яблоков, 1982; с.4). Одно из интенсивно развивающихся направлений фенетики - феногеография. "Феногеография - изучение географического распределения ... фенов и их комплексов в пределах ареала вида" (Яблоков, 1980; с. 90).

В контексте нашей работы важно, что феногеографические данные могут использоваться для решения главной задачи популяционной биологии древесных растений и лесного семеноводства - определения объёма и границ популяций (Глотов, 1983; Видякин, 2004). Решение этой задачи необходимо, в частности, для уточнения лесосеменного районирования (Лесосеменное районирование, 1982). Особенностью методического подхода к проблеме является "естественно-историческое районирование признаков"- фенов (Семериков, 1986; с.35). При этом идентификация популяционных границ осуществляется по резким перепадам в частотах фенов, возникающим при переходе от одной популяции к другой (Яблоков, 1980; Видякин, 2004а; Санников, Петрова, 2007).

В этой связи необходимо остановиться на **понятии "фенофонда"**, которое сходно с понятием "генофонд", введенным А.С. Серебровским (Тимофеев-Ресовский и др., 1973). "Фенофонд - сумма фенов какой-либо совокупности особей" (Яблоков, 1980; с. 68). Наиболее часто употребляют термин "фенофонд популяции". Используя принцип "естественно-исторического районирования фенов" и сравнивая фенофонды ареальных совокупностей древесных растений, Л.Ф. Семериков (1986) изучил пространственную популяционную структуру у некоторых видов дубов в Европейской части СССР, А.И. Видякин (2004а) - у сосны обыкновенной на востоке европейской России. При этом А.И. Видякин, напр., не только вычленил отдельные популяции и их комплексы, но также оценил объём популяции у сосны (равный нескольким сотням тысяч гектаров) и выявил "миграционные зоны", маркирующие расселение сосны из рефугиумов в начале голоцена. Значительный интерес для уточнения лесосеменных районов и прогноза динамики генетического разнообразия в ходе лесной

селекции представляет также сравнение фенофондов искусственных популяций - клоновых плантаций плюсовых деревьев.

Еще одна проблема, тесно связанная с рассмотренной выше задачей определения объема и границ популяций - это "**масштаб фена**". "Под масштабом фена ... понимается уровень структурной организации вида, на котором он дифференцирует население на ареальные группы путем маркирования их специфическими и стабильными частотами". (Видякин, 2007; с. 161). Теоретически фены и их комплексы своей частотой способны маркировать ареальные совокупности особей различного объёма: отдельных особей, популяций, внутривидовых таксонов и видов. Напр., А.И. Видякин (2004а,б) установил, что у сосны феном популяционного уровня является "присутствие-отсутствие 3-го окрасочного слоя семян"; при этом группы родственных популяций маркирует фен "тип развития апофиза (задний или передний)", а миграционные зоны - число семядолей.

В контексте наших задач при проведении генетико-селекционных мероприятий с лесообразующими видами очень важен вопрос о маркировании плюсовых деревьев и их клонов. Возможно, что подбор большого количества фенов существенно упростит и удешевит задачу "генетической паспортизации" деревьев на клоновых плантациях (Кобельков, 2008; Тараканов, 2009). Однако, как отмечает Л.И. Милютин (1985; 1988), лесным генетикам и селекционерам пока не удалось обнаружить фены, маркирующие отдельные деревья или их клоны. Поэтому их фенетическую идентификацию приходится осуществлять по специфическому сочетанию нескольких фенов. Подходы такого рода предпринимались исследователями (Пугач, 1982; Андриюшкявичене, 1983; Кострикин и др., 1999; Тараканов, Демиденко, 1999). Однако, они не обосновывались должным образом с точки зрения тщательного подбора качественных признаков, удовлетворяющих всем критериям фена. Для

сосны несомненный интерес представляла бы фенетическая паспортизация плюс-деревьев и их клонов по комплексу "настоящих фенов", выделенных А.И. Видякиным (2004).

Практическое занятие 1.

При анализе фенов окраски генеративных органов сосны использовали методику А.И. Видякина (2004; 2010) (рис. 1-2). Кроме фенов учитывали индекс отношение ширины шишки к её длине.

При анализе популяционной структуры вида наибольший интерес представляют фены 3-го (внешнего) окрасочного слоя (ОС) и индекс формы шишек (отношение ширина/длина шишки). Фены 3-го ОС – наличие и отсутствие воскоподобных гранул, хорошо заметных под бинокулярной лупой. Отметим, что при анализе частоты фена "наличие 3-го ОС" было обнаружено, что в популяциях сосны южной части ленточных боров из 82-го района и Бийского массива из района 69в его частота минимальна - около 23-25 % (Тараканов, Кальченко, 2015). В то же время частота этого фена внутри правобережных приобских боров снижается в направлении "Ларичиха-Бийск" от 53,5 до 23,1 %.

На первом занятии студенты учатся безошибочному разграничению фенов 3-го ОС. Также вспоминают анализ таблиц частот фенов в разных выборках методом хи-квадрат (Готов и др., 1982).

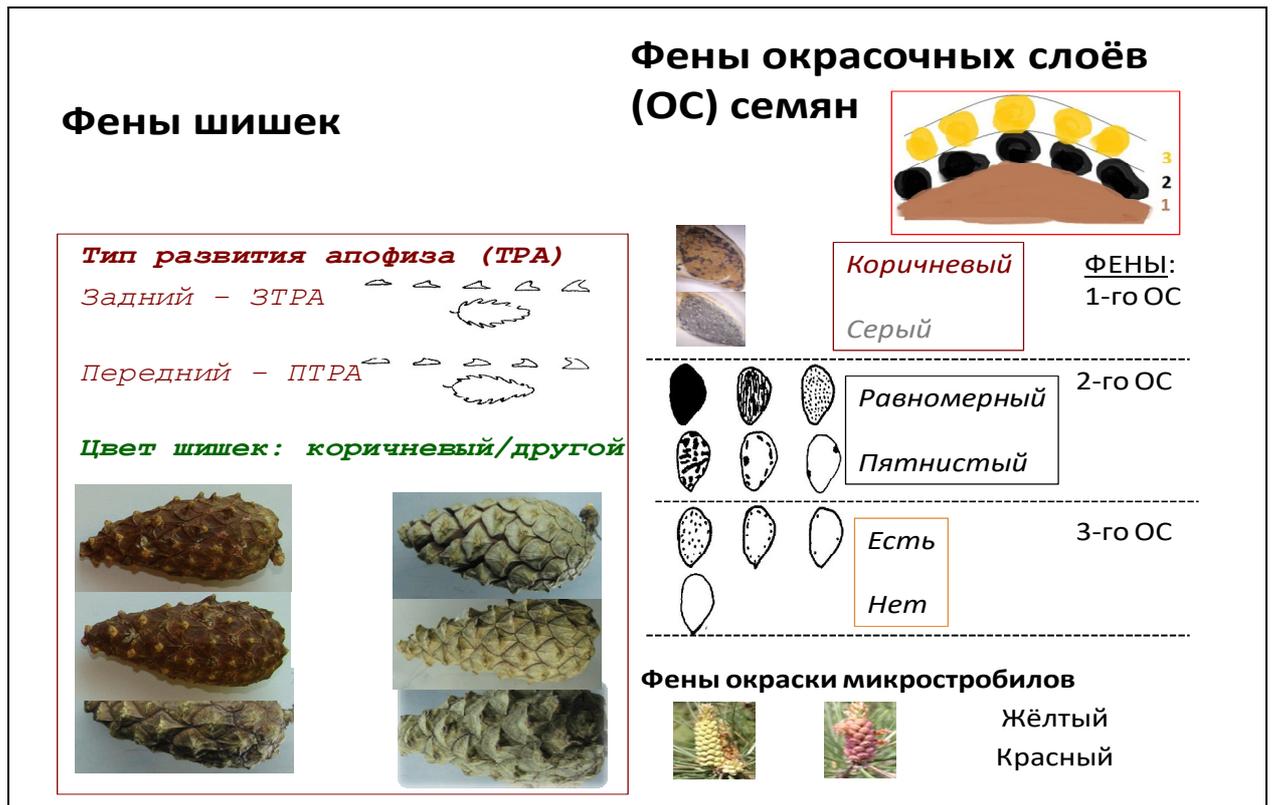
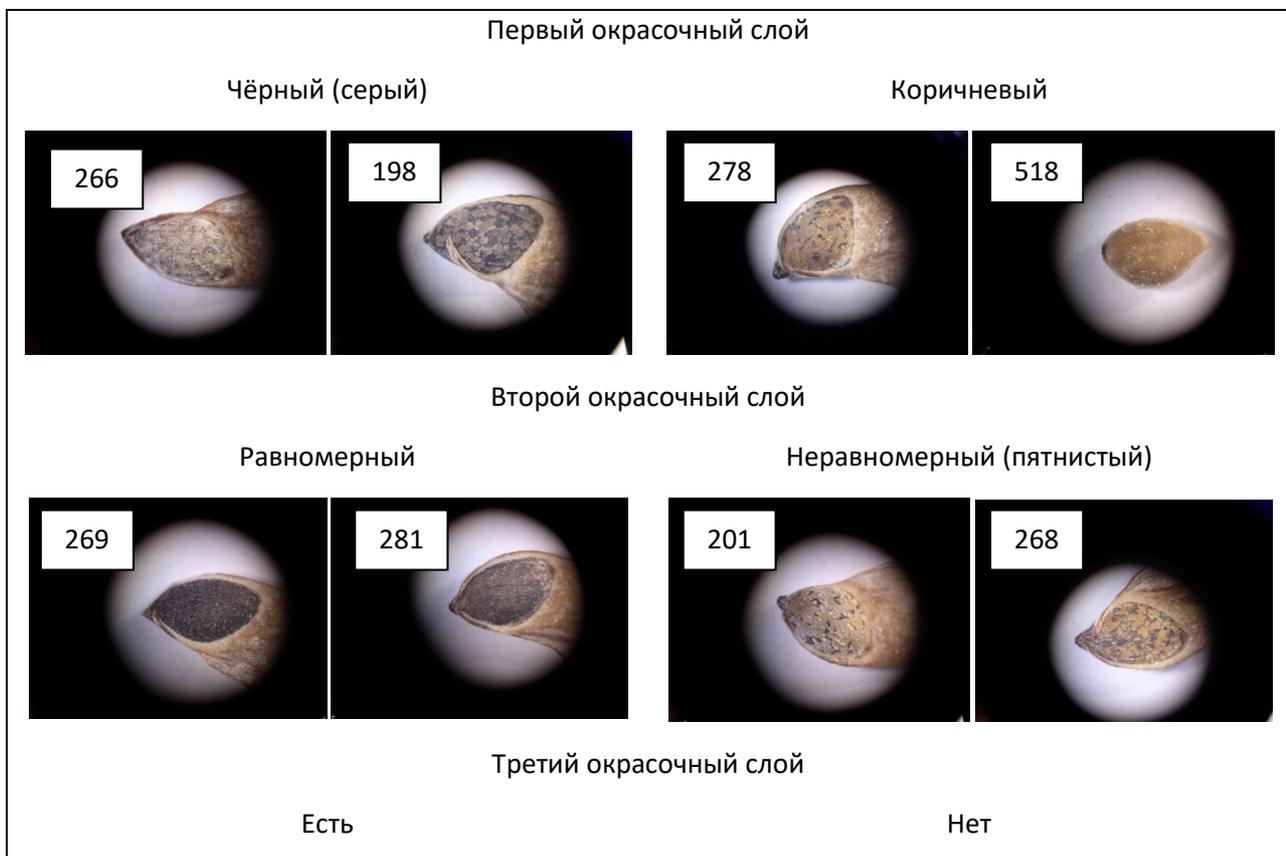


Рис. 1. Фены генеративных органов сосны [Видякин, 2004; 2010]



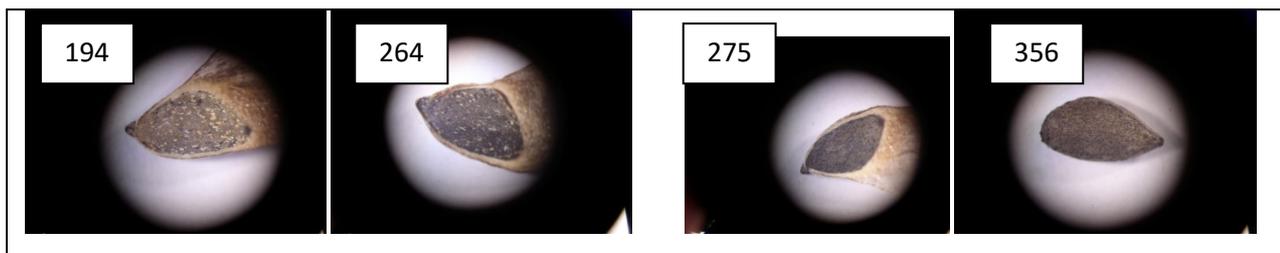


Рис. 2. Фены окрасочных слоёв семян (цифры - номера плюс-деревьев)

Контрольные вопросы:

1. Цель и задачи лесной фенетики.
2. Фены окрасочных слоёв семян и индексы количественных признаков сосны популяционного масштаба, выделяемые по методике дбн А.И. Видякина.
3. Оборудование, необходимое для анализа фенов генеративных органов по методике А.И. Видякина.

Практическое занятие 2: изучение популяционной структуры видов методами фенетики

Магистранты разделяются на группы по 2 человека.

Каждой группе даётся материал для занятий: 3 выборки семян по 30 семян каждая, отличающиеся по частоте фена «Наличие 3-го ОС» и биноккулярная лупа.

Задачи:

- 1) оценить частоту фена «Наличие 3-го ОС» в каждой из выборок;
- 2) с использованием метода хи-квадрат провести попарные сравнения достоверности различий между выборками по частоте учитываемого фена.

Вопросы для самостоятельного изучения:

1. Статистические методы, применяемые для сравнения частот качественных признаков.
2. Что такое «масштаб фена»?
3. Популяционная структура вида и лесосеменное районирование.

Практическое занятие 3: фенетическая паспортизация клонов

Вначале описывается методика фенетической паспортизации клонов.

Проверка точности маркировки всех деревьев на клоновых плантациях (т.е. паспортизация) - важнейшая проблема, без решения которой на этих объектах невозможно осуществлять **ни** фундаментальные, **ни** прикладные исследования. Для идентификации генотипов предлагается использовать методы молекулярной генетики. Эти методы наиболее информативны, но дорогостоящи. Для снижения себестоимости и ускорения процесса паспортизации на клоновых плантациях сосны на первом этапе целесообразно применение методов фенетики.

Для снижения трудозатрат работа была организована в несколько этапов, важнейшие из которых: 1) Учет фенов генеративных органов в полевых условиях: окраски мужских колосков и шишек, типа апофизов семенных чешуй; 2) Выделение на схемах «типичных» (идентичных по фенам) и «не типичных» рамет; 3) Сбор образцов зрелых шишек с «типичных» и «не типичных» рамет; 4) Анализ в лабораторных условиях фенов окраски семян и уточнение результатов идентификации; 5) Составление фенетических паспортов клонов.

На этапе «3» теоретически возможен сбор индивидуальных образцов шишек с каждой раметы, но это сделает анализ трудоемким. Его можно упростить без потери качества за счет анализа смешанных образцов. Для этого на каждую совокупность «типичных» рамет формируется один образец шишек, в который включается по одной шишке с каждой из рамет, что уменьшает число образцов. При анализе семян, полученных из смешанной партии шишек, в случае однородности партии делается вывод об идентичности рамет. При неоднородности выборки (как на фото) осуществляется её повторное изучение, при этом все раметы данного клона анализируются индивидуально.

Далее магистранты разделяются на группы по 2 человека.

Каждой группе даётся материал для занятий: выборки семян разных клонов, отличающиеся по степени «генетического загрязнения» и бинокляр.

Задачи:

- 1) описать фенетический портрет каждого клона;
- 2) выявить клоны, в которых имеет место «генетическое загрязнение» (примесь семян другого клона).

Вопросы для самостоятельного изучения:

1. Основные этапы методики фенетической паспортизации клонов.
2. Суть метода сравнения смешанного (многораметного) и чистого (однораметного) образцов семян.

СПИСОК ОСНОВНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Тараканов В.В., Кальченко Л.И. Фенетический анализ клоновых и естественных популяций сосны в Алтайском крае. Новосибирск: академическое изд-во «Гео», 2015. 107 с.

СПИСОК ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Видякин, А. И. Методические основы выделения фенотипов лесных древесных растений (на примере сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L.) / А.И. Видякин - Сыктывкар, 2010. - 28 с.

Яблоков, А.В. Фенетика / А.В. Яблоков. М.: Наука, 1980. 132 с.

Глотов Н.В. Биометрия / Н.В. Глотов, Л.А. Животовский, Н.В. Хованов, Н.Н. Хромов-Борисов; ЛГУ. Л., 1982. - 264 с.