

На правах рукописи



Лёзин Михаил Сергеевич

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОВИШНИ  
ПЕСЧАНОЙ (*MICROCERASUS PUMILA* (L.) EREMIN ET YUSHEV)  
НА ЮЖНОМ УРАЛЕ**

03.02.01 – Ботаника

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2020

Работа выполнена в лаборатории интродукции пищевых растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Центральный сибирский ботанический сад» Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель: Симагин Владимир Сергеевич  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник

Официальные оппоненты: Новоселова Лариса Викторовна,  
доктор биологических наук, доцент,  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Пермский государственный национальный  
исследовательский университет»; профессор

Анатов Джалалудин Магомедович,  
кандидат биологических наук,  
Горный ботанический сад – обособленное  
подразделение Дагестанского федерального  
исследовательского центра Российской академии наук  
(ГорБС ДФИЦ РАН); старший научный сотрудник;

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки «Ордена Трудового Красного  
Знамени Никитский ботанический сад –  
Национальный научный центр РАН»

Защита состоится «23» декабря 2020 г. в 10<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 003.058.01 при ФГБУН Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН по адресу: 630090, Новосибирск-90, ул. Золотодолинская, 101. Факс: (383) 330-19-86. E-mail: botgard@ngs.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУН Центрального сибирского ботанического сада СО РАН. Сайт в Интернете: <http://www.csbg.nsc.ru>.

Автореферат разослан «27» октября 2020 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук



Храмова Елена Петровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Интродуцированный вид микровишня песчаная успешно выращивается и частично натурализовался на остепнённых территориях Сибири, Урала, Поволжья и некоторых странах СНГ. Представляет собой небольшой многоствольный листопадный кустарник различного габитуса. Плоды – сочные костянки с заметной изменчивостью вкуса в зависимости от генотипа. Вид преимущественно используется в качестве подвоя для слив и абрикосов и реже как самостоятельная пищевая культура. Несмотря на продолжительный период интродукции и попытки селекционного улучшения вида размножение растений происходит в основном семенным способом, что приводит к сильной генетической неоднородности посадочного материала. Широкий, но в то же время дизъюнктивный культигенный ареал этого вида обусловлен неустойчивостью растений к подопреванию в условиях умеренного климата.

Вид микровишня песчаная происходит из районов с неоднородными климатическими условиями Северной Америки, где представлен четырьмя разновидностями. Определение вклада разновидностей, произрастающих в неоднородных природно-климатических условиях, по комплексу морфологических признаков в генофонд культурной популяции Челябинской области может дать представление об экологической пластичности и интродукционном потенциале вида.

Выявление перспективных для хозяйственного использования представителей культурной популяции становится возможным на основе комплексного изучения биологических особенностей и выявления существующего разнообразия морфологических признаков вегетативных и генеративных органов.

**Цель исследований.** Цель настоящей работы – изучение морфологического разнообразия, особенностей роста и развития растений *Prunus pumila* L. в условиях Южного Урала

### **В задачи исследований входило:**

1. Изучить изменчивость морфологических признаков вегетативных и генеративных органов *P. pumila* и выявить закономерности их распределения;
2. Изучить онтогенез и описать внутривидовое разнообразие морфотипов *P. pumila* на основе побегов формирования и подземных вегетативных органов *ex situ* в условиях сезонного климата и разработать критерии отбора для практического использования конкретных морфотипов;
3. Изучить относительное содержание ДНК, числа хромосом, фертильность пыльцы и гейтоногамию интродуцентов *P. pumila*, как цитогенетические показатели их интродукционного потенциала;
4. Оптимизировать методики RAPD- и ISSR-анализа для изучения генетического полиморфизма и дифференциации морфотипов *P. pumila*.

### **Защищаемые положения:**

1. Выявленное разнообразие диапазонов изменчивости морфологических признаков, биология репродуктивной сферы, нормальное прохождение морфогенеза и формирование свойственной для естественных местообитаний жизненной формы, свидетельствует о высоком адаптивном потенциале *Prunus pumila* на Южном Урале;

2. Классификация типов морфоструктуры надземных и подземных вегетативных органов растений *Prunus pumila* отражает биологические особенности и хозяйственную полезность генотипов; отбор растений, перспективных для использования в качестве подвоя, эффективен в имматурном возрастном состоянии.

**Научная новизна.** Впервые проведено комплексное изучение разнообразия и изменчивости морфологических признаков вегетативных и генеративных органов *P. pumila*. Изучены морфологические особенности генеративной сферы, фертильность пыльцы, самоплодность и завязываемость плодов при свободном опылении. Установлено, что первичные признаки морфоструктуры растений проявляются в имматурном возрастном состоянии, соответствующему срокам проведения прививки и окулировки в питомнике. У сильнорослых генотипов форма кроны не связана с автополиплоидией. С помощью молекулярно-генетических методов выяснено, что интродукционная популяция представляет собой генетически однородную совокупность особей.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** На основе выявленной изменчивости комплекса морфометрических Диагностические признаки разновидностей естественной флоры в интродукционной популяции распределены практически независимо друг от друга. Отчасти наблюдается зависимость распределения признаков формы косточки в зависимости от типа кроны. Определена роль подземных вегетативных органов в развитии растений при использовании их в качестве подвоев. Разработанная нами классификация типов крон представляет ценность при описании и определении хозяйственной полезности отборных форм. Выделены перспективные генотипы интродукционной популяции *P. pumila* для использования в пищевых целях, в качестве подвоя косточковых культур в условиях Южного Урала и для гибридизации на усиление желаемых признаков и получения межвидовых гибридов.

**Методология и методы научных исследований.** В работе использовался комплекс полевых и лабораторных методов исследования, позволивших получить репрезентативные данные для их дальнейшего анализа и систематизации. Основой работы является сравнительно-морфологический анализ интродукционной популяции *P. pumila* с литературными характеристиками вида в естественном ареале. Методические приемы по изучению морфоструктурных особенностей кустов (Работнов, 1950; Серебряков, 1952; Уранов, 1975; Нухимовский, 1997) адаптированы под задачи практического использования растений (Васильева, 2007). Для обработки результатов ISSR- и RAPD-маркирования применялся метод UPGMA, расчёт генетических дистанций по формуле M. Nei и W.-H. Li (1979).

**Степень достоверности и апробация работы.** Достоверность результатов исследования подтверждается большим объемом выборок данных, полученных с использованием научно-обоснованных методик. Обработка результатов выполнена с использованием MS Excel и TREECON (version 1.3b) (van de Peer, de Wachter, 1994).

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ в отечественных изданиях, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных Перечнем ВАК, 2 статьи – в базах данных WoS и Scopus. Результаты работы представлены на следующих конференциях: Международная научно-практическая конференция, посвящённая 170-летию ВНИИСПК (2-5 июня 2015 г., г. Орёл); II международная

конференция «Генофонд и селекция растений», посвящённая 80-летию СИБНИИРС (29-31 марта 2016 г., г. Новосибирск); «Селекция плодовых и ягодных культур на современном этапе», посвящённая 90-летию со дня рождения академика РАН И.П. Калининой, ФГБНУ «НИИРС» (19-21 октября 2016 г., г. Барнаул); II Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы современного естествознания Южного Урала», посвящённая 170-летию со дня рождения Ю.К. Шелля (7 декабря 2016 г., г. Челябинск); Международная научно-практическая конференция «Актуальные направления развития северного садоводства» посвящённая 90-летию со дня рождения селекционера Л.А. Котова (10-11 апреля 2019 г., г. Екатеринбург); Всероссийская конференция с участием иностранных ученых «Растительное разнообразие: состояние, тренды, концепция сохранения» (30 сентября-03 октября 2020 года, г. Новосибирск).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов, списка литературы, списка иллюстрируемого материала, приложения. Текст работы изложен на 173 страницах, иллюстрирован 91 рисунками и 20 таблицами. Список литературы содержит 168 наименований, в том числе 53 – на иностранных языках. Автор выражает глубокую признательность научному руководителю к.б.н. В.С. Симагину за помощь и поддержку в выполнении работы, д.б.н. О.Ю. Васильевой за помощь в изучении морфогенеза растений, к.б.н. С.В. Асбаганову за помощь в проведении цитометрических и молекулярно-генетических исследований и всем сотрудникам лаборатории Интродукции пищевых растений ЦСБС СО РАН за неоценимую помощь, оказанную при проведении исследований.

## **ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ И ИЗУЧЕНИЯ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ КАЧЕСТВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ВИДА *PRUNUS PUMILA* L.**

Долгое время было принято в отечественной литературе признание мелких родов в подсемействе *Prunoideae*. Современные молекулярно-генетические исследования не подтверждают монофилетичность отдельных родов, в том числе и рода *Microcerasus* (Spach) Webb (Половянов, 1982; Mowrey, Werner, 1990; Shaw, Small, 2004). Поэтому в настоящее время в мире используется система по О. W. Focke (1888) с дополнениями Koehne (1912), в которой все косточковые растения объединены в один род *Prunus* L., к которому относится и род *Microcerasus* s.str.

Вид микровишня песчаная (низкая = слива низкая) – *Prunus pumila* L. относится к подсекции *Spiraeopsis* (Koehne) Erem. секции *Microcerasus* Webb. рода *Prunus* L., вид диплоидный (2n=16) (Нижников, 1977; Еремин, 1985; Симагин, 2013).

В отечественной литературе принято выделять 2 разновидности. По данным зарубежных исследователей в видовом таксоне *P. pumila* известно 4 разновидности, отличающиеся эколого-географическими условиями произрастания (*P. pumila* L. var. *pumila*, *P. pumila* var. *depressa* (Pursh) Bean, *P. pumila* var. *susquehanae* (Willd.) H. Jaeger, *P. pumila* var. *bessseyi* (L. H. Bailey) Waugh). Нередко в научной литературе прошлого века отдельные разновидности рассматриваются исследователями в ранге вида.

Статус секции *Microcerasus* в системе подсемейства *Prunoideae* со времени первой попытки Дж. Турнефора (Tournefort, 1700) систематизировать растения неоднократно пересматривался. Его система предусматривает объединение в один род только близких видов различных косточковых растений. Система по Турнефору с некоторыми уточнениями была принята систематиками в нашей стране (Ковалев, Костина, 1935, Флора СССР, 1941, Жуковский, 1971, Еремин, 1985). Нередко в литературе этот вид упоминается в системе рода *Cerasus* Mill. с названием *Cerasus besseyi* (Bail.) Sok. (Шевченко и др., 2010; Коробкова и др., 2011). Другой подход, предложенный Focke (1888) и Koehne (1912) объединяет все косточковые растения в один род *Prunus*, дифференцировав его очень подробно на подроды, а в их составе секции и подсекции. Хемо-таксономические и молекулярно-генетические методы исследований позволили сделать предположение, что вид *P. pumila* занимает промежуточное положение между под родами *Prunus* и *Microcerasus* и существенно отличается от подрода *Cerasus* (Половянов, 1982; Mowrey, Werner, 1990; Shimada et al., 2000; Botriti et al., 2001).

В главе также приводится история введения в культуру, распространения и тенденции современного использования вида (Hansen, 1904; Саламатов, 1954; Путов, 1981; DeJong et al., 2004; Bouhadida et al., 2007; Reighard et al., 2011; Симагин, 2013; Матюнин, 2016; Eremin et al., 2017; Burmenko et al., 2019).

## **ГЛАВА 2. ПРИРОДНЫЕ УСЛОВИЯ МЕСТА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ**

Основные исследования проводились на маточно-семенных насаждениях ООО НПО «Сад и огород» и на коллекционных насаждениях Челябинского госсортоучастка, расположенных на территории Красноармейского района в 45 км от г. Челябинск на северо-восток. По природно-территориальному районированию Челябинской области (Панфилов, 2004) это северная лесостепная агроклиматическая зона. Основные исследования проведены в 2017-2019 годах на растениях пятилетнего возраста в онтогенетическом состоянии (g1).

Разнообразие основных морфологических признаков цветка, листа и плода изучали на объеме выборки 197 растений. При изучении внутривидовой изменчивости использовали систематически значимые для объекта признаки, косвенно отражающие генетическую структуру вида (Банаев, Шемберг, 2000; Скворцов, 2005а), а также признаки, отражающие хозяйственную полезность генотипов и иные помологические признаки.

Описание морфологических признаков проводили по общепринятой методике (Фёдоров, и др., 1956; Артюшенко, 1990), с уточнениями некоторых особенностей, присущих видам из подсемейства *Prunoideae* (Помология..., 2008; TG/187/2, 2014). По мнению Б. В. Прошкина и А. В. Климова (2017) минимальный объем выборки образцов с одного генотипа с учётом эндогенной изменчивости для получения удовлетворительной точности составляет 10 образцов. Нами анализировались по 3-4 органа растения (цветки, листья, плоды) с одного побега и 3-4 побега с генотипа для того, чтобы в образец были взяты изучаемые органы с разных побегов.

Онтогенетические состояния выделяли по Т. А. Работнову (1950), А. А. Уранову (1975). Типы побегов определяли согласно работам И. Г. Серебрякова (1952), М. Т. Мазуренко и А. П. Хохрякова (1977), Е. Л. Нухимовского (1997). Морфотипы (плотнокустовой, рыхлокустовой, парциально-кустовой) описывались по схеме, предложенной Васильевой О.Ю. (2007), пазушные комплексы – по В. Л. Витковскому (1972).

Ряд исследований и экспериментов проводился в Центре коллективного пользования Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (ЦКП ЦСБС) и других лабораториях ЦСБС. Фертильность пыльцы определялась ацетокарминовым методом (Паушева, 1989).

Для выявления наличия или отсутствия короткого опушения побегов использован сканирующий электронный микроскоп Hitachi TM-1000 (Япония), с оригинальным программным обеспечением в ЦКП ЦСБС.

Исследование ploидности проведено на 11 заметно отличающихся от большинства имеющихся в питомнике генотипов по силе роста, габитусу, отчасти плодовитости. Для практического сравнения в опыте использовались барнаульские генотипы *P. pumila* с уже известной ploидностью и триплоидный гибрид SVG 11-19. Число хромосом подсчитывали на давленных временных препаратах после фиксации вегетативных почек, находящихся на стадии «зеленого конуса» по общепринятой методике (Цитологические..., 1976, Паушева, 1988). Был также проведен анализ ploидности ядерной ДНК методом проточной цитометрии (Vance et al., 1994; Zabka et al., 2018).

В молекулярно-генетическом анализе для изучения генетического полиморфизма вида *P. pumila* включены генотипы, отличающиеся по основным изученным морфологическим и морфометрическим признакам: морфотипы кустов; окраска, форма и размер плодов; окраска и консистенция мякоти; степень отделяемости мякоти от косточки и качество отрыва плода от плодоножки; форма и характер поверхности косточки, форма и зазубренность листовой пластинки, а также хозяйственно ценный показатель – вкус плодов. Всего в опыт включено 45 генотипов, из которых 39 генотипов получены из разных мест в окрестностях г. Челябинска и 6 – из Хакасии от селекционера по косточковым культурам И.Л. Байкалова. В качестве сравнения в опыт включены 3 генотипа гибридного происхождения видов *P. pumila* и *P. tomentosa* Thunb. F<sub>2</sub> и следующих поколений, полученных из ДальНИИСХ и ДВОС ВНИИР им. Н.И. Вавилова, от селекционера д.б.н. В. П. Царенко. В работе использовали молодые свежие листья.

Изучение генетического полиморфизма микровишни песчаной проведено с помощью ISSR и RAPD маркеров. При выделении ДНК использовали наборы NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel, Germany) и DiamondDNA Plant kit (Алтайбиотех, Россия). Для количественной оценки полиморфизма маркеров полученные данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которой наличие или отсутствие ПЦР-фрагментов одинакового размера рассматривалось как состояние 1 и 0. Статистическую обработку данных использовали пакет программ TREECON (version 1.3b) (van de Peer, de Wachter, 1994). Для построения дендрограмм применяли метод UPGMA, расчет бутстреп-индексов проводили на 100 псевдорепликах. Расчет генетических дистанций

проводили по формуле:  $GD_{xy} = 1 - 2N_{xy} / (N_x + N_y)$ , где  $GD_{xy}$  – генетические расстояния по М. Nei и W.-H. Li (1979);  $N_{xy}$  – число фрагментов, общих для обоих спектров;  $N_x$  – число фрагментов, присутствующих в спектре “х”, но отсутствующих в спектре “у”;  $N_y$  – число фрагментов, присутствующих в спектре “у”, но отсутствующих в спектре “х”.

Статистическую обработку данных проводили по общепринятым методикам (Плохинский, 1970; Лакин, 1990) с использованием программы MS Excel. Для расчёта доверительного интервала средних значений использовался критерий надёжности  $t_2 = 2,576$  при уровне безошибочных прогнозов для генеральной совокупности  $\beta_2 = 0,99$  (Плохинский, 1970). Степень варьирования признаков оценивали по шкале С. А. Мамаева (1972).

### ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИСТЬЕВ, ЦВЕТКОВ И ПЛОДОВ.

#### 3.1. Морфологические особенности листьев

В видовом таксоне *P. pumila* наиболее различимые значения индекса удлинённости листовой пластинки приводятся для *P. pumila* var. *susquehanae* (2,6) и var. *depressa* (3,7), имеющих общий ареал, но произрастающих в разных экологических условиях (Flora ..., 2016). Диапазон и среднее значение индекса отношения длины листовой пластинки к ширине для интродукционной популяции *P. pumila* (1,9-3,2) получился ниже (рисунок 1), чем для растений естественных местообитаний (2,6-3,7), что говорит об увеличении ширины листовой пластинки для данной популяции.

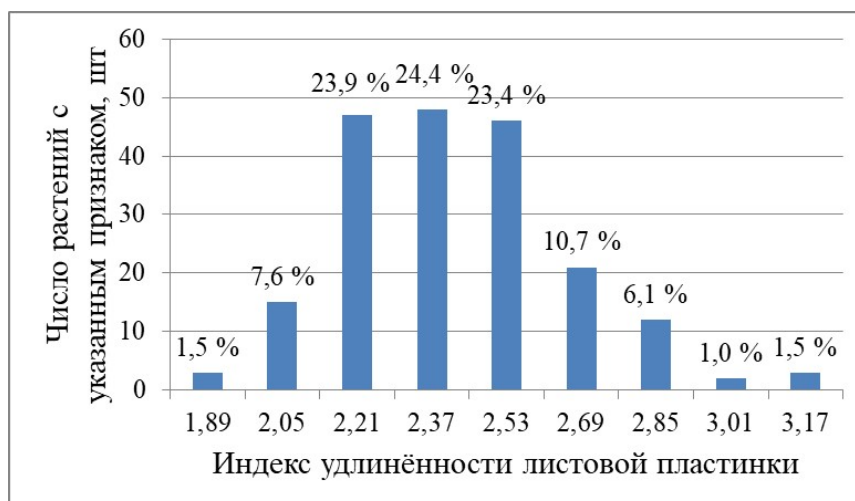


Рисунок 1 – Распределение растений интродукционной популяции по индексу удлинённости листовой пластинки *P. pumila*

Примечание: подписи на гистограмме обозначают долю растений от общей выборки

Значение диагностического признака индекса удлинённости листовой пластинки в интродукционной популяции имеет ассиметричное распределение в сторону уменьшения. Вероятно, *P. pumila* var. *susquehanae* вносит наибольший вклад в генофонд культурной популяции *P. pumila* в Челябинской области.



### 3.2. Морфологические особенности цветков

В интродукционной популяции *P. pumila* диаметр цветка в среднем составил  $13,6 \pm 0,04$  мм с наибольшим значением 18,0 мм, наименьшим – 10,7 мм. Коэффициент вариации 9,5 %, что говорит о низком уровне изменчивости признака.

По нашим наблюдениям, выявлен спектр изменчивости качественных и количественных признаков цветка *P. pumila* в Челябинской области, включая случаи плейомерии. Отмечены признаки геркогамии, представляющие интерес для выявления генотипов, потенциально склонных к гейтоногамии.

### 3.3 Морфологические особенности соцветий и локализация генеративных и вегетативных почек

Вегетативные почки образуются в большинстве пазушных комплексов (ПК). С увеличением длины побега наблюдается и увеличение распустившихся вегетативных почек. Максимальное число генеративных почек на один узел – 8. По всем анализируемым побегам среднее число генеративных почек на узел составило 2,5. С увеличением длины побега увеличивается и число цветков на один ПК. Наиболее типичные для *P. pumila* соцветия из 2-5 цветков. В среднем для всех типов побегов число цветков на 1 см побега приблизительно около 3,5 штук. Максимальное число цветков в соцветии 6 и иногда 7. Наиболее многоцветковые соцветия можно наблюдать на побегах от 50 до 70 см.

### 3.4. Морфологические особенности плодов

Изучение изменчивости признаков плода интродукционной популяции в большей степени представляет интерес для практического использования вида.

Таблица 2 – Изменчивость некоторых морфометрических признаков плода

*P. pumila*

Показатели	M±m	Max	Min	V, %
Масса плода, г	$2,5 \pm 0,04$	5,2	1,2	23,1
Длина плодоножки, мм	$13,8 \pm 0,06$	19,5	9,0	14,6

По окраске плодов выделено 2 основных цвета — желтый и черный с разными оттенками. Желтоплодные формы не обнаружены ни в числе изучаемых 197 растений, ни во всем массиве одновозрастных растений (ок. 4500 шт.). Имеющиеся на коллекционном участке ООО «Сад и огород» две желтоплодные формы, полученные от селекционеров из разных мест не могут отражать естественную изменчивость местной популяции и не взяты в учет.

Наиболее типичные формы плода в интродукционной популяции *P. pumila* — округлая, овальная и яйцевидная. Брюшной шов плода у исследованных образцов в большинстве случаев трудно различим и изредка представлен в виде различной выраженности шва. Окраска мякоти *P. pumila* не зависит от окраски поверхности плода за исключением желтоплодных генотипов. У остальных генотипов этот показатель изменчив от темно-красной до зеленой и желто-зеленой. Образцы с

зеленой окраской мякоти составляют 9,2 %, бордовой — 6,2 %. Наиболее обычна промежуточная зелено-розовая окраска мякоти, доля таких образцов — 74,5 %. По отделяемости косточки от мякоти отмечали формы с неотделяющейся косточкой (1,5 %), плохо отделяющейся (24,4 %), средне отделяющейся (48,2 %) и хорошо отделяющейся (25,9 %) косточкой.

### 3.5 Морфологические особенности семян

Диапазоны изменчивости косточки для *P. pumila* var. *besseyi*, var. *pumila* и var. *susquehanae*, как и для плода, сильно перекрываются (Flora ..., 2016). Наиболее отличной в этом плане является *P. pumila* var. *depressa*, характеризующаяся более удлинёнными мелкими косточками. Количественные показатели изменчивости косточек интродукционной популяции приведены в таблице 3.

Уровень изменчивости массы и доли косточки средний (CV=19,9 и 19,1 %). Для линейных показателей величины косточки коэффициенты вариации соответствуют низкому уровню изменчивости (CV=8,3-6,5 %).

Таблица 3 – Изменчивость некоторых морфометрических признаков косточек *P. pumila*

Показатели	M±m	Max	Min	V, %
Масса косточки, г	0,25±0,01	0,48	0,11	19,9
Доля косточки от массы плода, %	10,4±0,14	20,8	5,6	19,1
Длина косточки, мм	9,5±0,06	11,9	7,4	8,3
Ширина косточки, мм	7,1±0,03	9,1	6,0	6,5
Толщина косточки, мм	6,4±0,03	8,0	5,0	7,7
Ширина/толщина косточки	1,1±0,01	1,3	1,0	4,3

Показатель отношения ширины к толщине отчасти характеризует степень уплощённости (>1,5) или вздутости (<1,4) боков косточки (Хлопцева, 1986). В нашем случае косточки от вздутых (1,0-1,1) до средне выпуклых (1,3-1,4). Уплющенные косточки не отмечены.

Для практического использования большой интерес представляет показатель доли косточки от массы плода. Регрессионный анализ зависимости доли косточки от массы плода показывает, что с увеличением массы плода наблюдается снижение доли косточки (рисунок 2). Наибольший коэффициент криволинейной корреляции (-0,890) получен при гиперболе 3-его типа ( $y=x/(a+bx)$ , где  $a=-0,096$ ,  $b=0,140$ ;  $t_r(27,18) > t_{05}(1,97)$ ).

Форма косточки *P. pumila* в основном эллиптическая (38,1 %), округлая (34,0 %), реже вытянутая (10,7 %), яйцевидная (13,2 %) и обратнойцевидная (4,1 %). Поверхность боковых сторон косточки преобладает (57,4 %) ровная. Нередко (36,5%) встречается слаборебристая поверхность. Отмечено несколько случаев (6,1 %) формирования средне ребристой поверхности косточки.

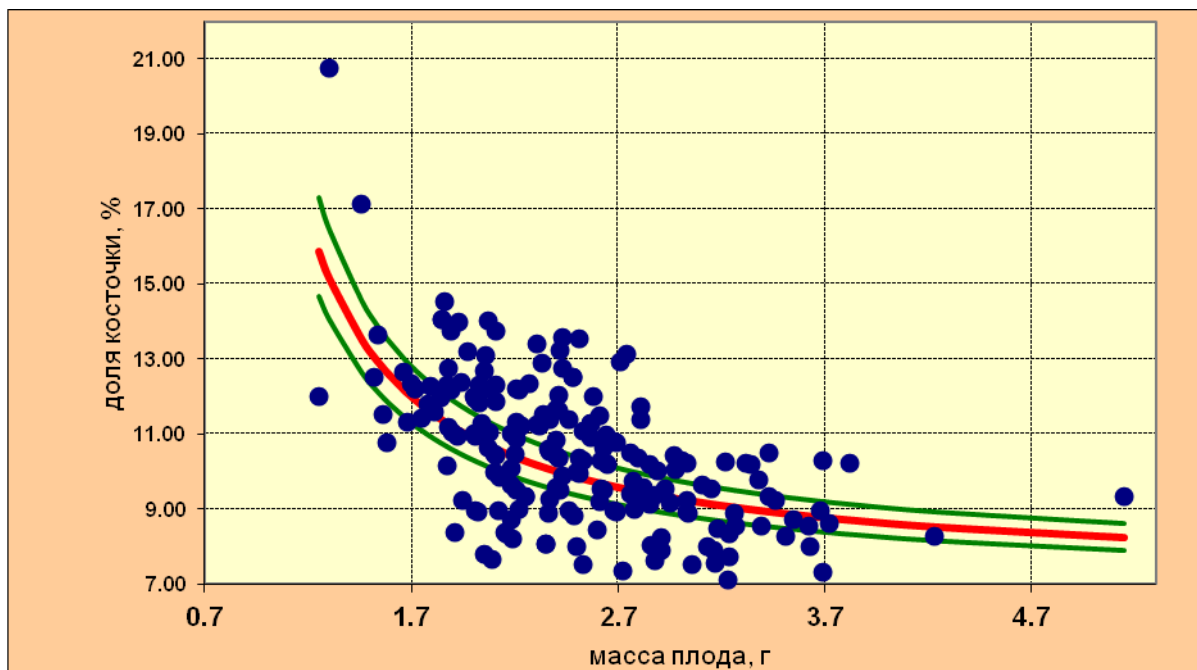


Рисунок 2 – Зависимость доли косточки от массы плода *P. pumila*

В результате проведенного исследования не обнаружены генотипы с веретеновидной косточкой. Также не выявлены генотипы с шириной и толщиной косточки меньше 5,0 мм. Оба этих признака дают основание предположить, что степень участия *P. pumila* var. *depressa* в формировании генофонда культурной популяции *P. pumila* в Челябинской области очень мала. В практическом плане наблюдается достоверная полезная закономерность снижения доли косточки с увеличением массы плода. Выявлен широкий спектр изменчивости морфологических признаков, представляющих интерес, как помологических.

## ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА PRUNUS PUMILA L.

### 4.1 Онтогенез и особенности проявления поливариантности морфотипов в имматурном возрастном состоянии

Изучение прегенеративного периода онтогенеза у потенциально перспективного для использования в качестве подвоя вида *P. pumila* показало, что за границами его естественного ареала, в условиях континентального климата Южного Урала растения в составе интродукционных популяций формируют свойственную им в природных местообитаниях кустарниковую биоморфу.

У растений *P. pumila* завершающее состояние прегенеративного периода выражено неявно, виргинильное и скрытогенеративное состояния различимы преимущественно лишь по образованию генеративных почек, обеспечивающих цветение следующего года.

Развитие *P. pumila* в начале прегенеративного периода идет ускоренными темпами, что позволяет растениям сформировать достаточно мощную зону гипокотыля и корневой шейки (0,7-1,5 см) и тем самым приобрести технологически значимые качества стандартного подвоя.

## 4.2 Морфотипы кустарников и их практическая значимость

В естественных местообитаниях *P. pumila* нередко отмечается исчезновение популяций этого вида под воздействием изменяющихся условий, и в особенности антропогенной нагрузки (Stevens, 1961). Считается (Bragg, 2004), что вид до сих пор сохранился в диком виде за счёт большого ареала, и такого механизма адаптации к сохранению растений, как высокая восстановительная способность за счёт ксилоризом. Для культурных насаждений важной задачей является выделение перспективных форм по ценному признаку – сильнорослость и механическая прочность при минимальном количестве или отсутствии приштамбовой поросли – ксилоподиев и ксилоризом.

На основании изучения растений интродукционной популяции в молодом генеративном состоянии нами было предложено несколько моделей форм кустов (рисунок 3), характеризующих их производственную значимость и биологические особенности произрастания культуры.

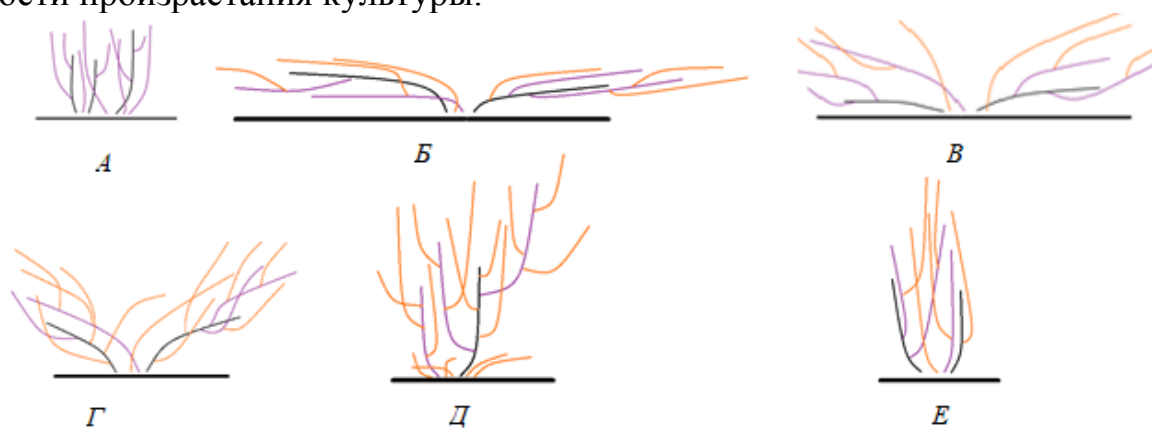


Рисунок 3 – Основные морфотипы кустов, выделенные нами у *P. pumila*  
А – карлик, Б – стланец, В – приподнятый стланец, Г – широко раскидистый куст, Д – слабо раскидистый куст, Е – пирамидальный куст  
Примечание: ≡ - разновозрастные побеги.

Наиболее часто встречается приподнятый стланец, (71,1 % от выборки). Из всей изучаемой группы растений отмечено 3 генотипа (1,5 % от выборки), подходящие под описание слабо раскидистого куста. Выделено также 10 генотипов (5,1 % от выборки), подходящих под описание пирамидального куста, представляющие интерес для широкого спектра использования.

При анализе подземных побеговых систем в интродукционной популяции *P. pumila*, было выявлено, что в молодом генеративном состоянии около 70% растений характеризуются парциально-кустовым морфотипом, в формировании которого значительную роль играют кслоризомы. Плотнo-кустовым морфотипом характеризуются около 24 % растений. Наименее многочисленная группа – рыхло-кустовой морфотип. Эти морфотипы характеризуются как геоксильные кустарники. Из числа 197 проанализированных растений встретился единственный аэроксильный кустарник.

## ГЛАВА 5. ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ РАЗНОВИДНОСТЕЙ *P. PUMILA* В ИНТРОДУКЦИОННОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Наличие короткого опушения на молодых побегах *P. pumila* является первичной диагностической чертой в определении разновидностей в естественных местообитаниях (Weakley, 2005; Flora..., 2016). По мнению некоторых исследователей (Catling et al., 1999; Weakley, 2005), *P. pumila* var. *susquehanae*, характеризующаяся наличием короткого опушения и отличными от других разновидностей экологическими условиями произрастания, заслуживает признания видового ранга. По нашим исследованиям выявлена непрерывная изменчивость по этому признаку (рисунок 5). Оценка опушенности соответствовала: редкое опушение – меньше 7 трихом на участке 0,04 мм<sup>2</sup>, среднее – при числе от 7 до 20 трихом и густое – при наличии трихом более 20 шт. на 0,04 мм<sup>2</sup> (рисунок 6).

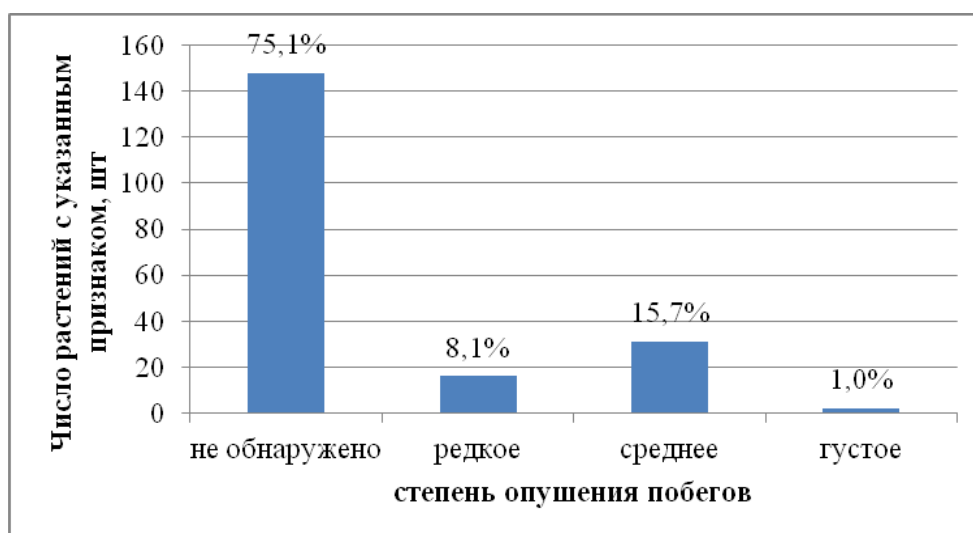


Рисунок 5 – Изменчивость по признаку короткого опушения побегов *P. pumila*

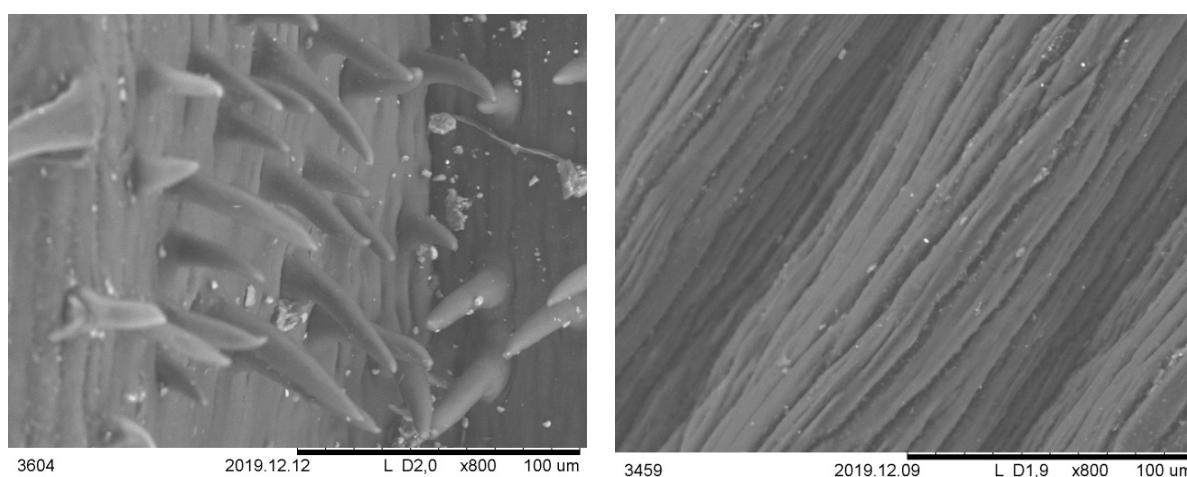


Рисунок 6 – Наличие короткого густого опушения *P. pumila* генотипа 'H 3-I-6' и голые побеги генотипа 'H 1-I-5' (справа)

В изучении вклада *P. pumila* var. *susquehanae* в генофонд интродукционной популяции может представлять интерес сопоставление индексов отношения длины к ширине листовой пластинки и длины к ширине косточки и дополнительно ширины к толщине косточки с разным типам опушения. В нашем случае на 1 %-ном уровне значимости ( $P < 0,01$ ) разница между средними величинами выборок с разной густотой опушения недостоверна для всех показателей. Признак опушения побегов в интродукционной популяции проявляется независимо от морфометрических признаков листа и косточки.

Оценить вероятность участия *P. pumila* var. *depressa* в становлении культурной популяции *P. pumila* возможно по взаимодействию индекса отношения длины к ширине листовой пластинки, ширины и отношению длины к ширине косточки, и морфотипам кустов, так как для этой разновидности значения ширины косточки минимальны (4,5-5 мм), значения отношения длины к ширине листовой пластинки максимальны (3,7) и характерна наиболее распластанная крона (Flora..., 2016).

По результатам оценки *t*-критерия установлено, что индексы отношения длины к ширине листовой пластинки в интродукционной популяции *P. pumila* распределяются независимо от типа кроны даже на 5 %-ном уровне значимости. Для индексов линейных признаков косточки в некоторых комбинациях получены достоверные различия на 5 %-ном уровне значимости. При этом между группами с типом кроны «приподнятый стланец» и «слабо раскидистый куст» для индекса длина/ширина косточки получена достоверная разница на 1 %-ном уровне значимости, а для индекса длина/толщина – даже на 0,1 % уровне значимости.

По распределению этих признаков, также как и по линейным признакам ширины и толщины косточки выявить участие *P. pumila* var. *depressa* также не удалось. На основе изучения распределения диагностических признаков густого опушения молодых побегов *P. pumila* и формы кроны растений можно предположить, что в становлении культурной популяции весьма вероятно приняла участие *P. pumila* var. *susquehanae*.

## ГЛАВА 6. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ АДАПТИРОВАННОСТИ ИНТРОДУКЦИОННОЙ ПОПУЛЯЦИИ *P. PUMILA* L. В УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

### 6.1 Изучение числа хромосом *P. pumila*

Сильнорослые генотипы с пирамидальной или слабо раскидистой формой кроны могут быть обусловлены не только нормальной изменчивостью морфотипа растения, но и автополиплоидией (Руденко, 1978). Материалом для цитологических исследований послужили 11 образцов *P. pumila* из питомника НПО «Сад и огород», заметно отличающихся от основного разнообразия генотипов по высоте растений, их габитусу, признакам листьев и плодов. Несмотря на различия некоторых их морфологических признаков, каких-либо изменений пloidности обнаружено не было. Все одиннадцать образцов *P. pumila* из уральского генофонда, предоставленных для цитологического исследования, оказались диплоидами ( $2n=16$ ).

## 6.2 Фертильность пыльцы

Качество пыльцевых зерен у перекрёстно опыляемых растений определяет способность к опылению и формированию полноценных плодов и семян. Отмечено (Харитоновна, 1951, Жидкова, 1985), что для нормального плодоношения видов подрода *Cerasus* необходимо не менее 50 % нормальных пыльцевых зерен.

Анализ фертильности пыльцы *P. pumila* показал, проведенный нами в 2016 году на некоторых отборных формах НПО «Сад и огород» показал, что большая часть (34 из 39) имеет высокий показатель фертильности свыше 80 %. За границы оптимального значения фертильности пыльцы (не менее 50 %) выходит только одна форма 2-90-07 с наиболее низким значением этого показателя 36,4 %. Снижение показателя фертильности может быть связано с анеуплоидностью, реакцией на биотические и абиотические стрессоры или иными биологическими особенностями.

## 6.3 Использование методов ISSR и RAPD маркирования в изучении генетической дифференциации культурной популяции *P. pumila* L.

По мнению ряда исследователей для перекрёстноопыляемых видов в естественных условиях межпопуляционная изменчивость значительно меньше внутривидовой (Hamrick et al., 1989; Huff et al., 1993; Gitzendanner & Soltis, 2000). Фактически, отдельные популяции могут дать общее представление о гетерозиготности вида.

Кластерный (UPGMA) анализ достоверно различает генотипы по видовой принадлежности. Все полученные клады в пределах вида *P. pumila* образованы с очень низкой бутстреп-поддержкой и, таким образом, различия групп недостоверны.

При различных комбинациях маркеров и генотипов, схожих преимущественно по большинству рассмотренных признаков кроме габитуса растений, прослеживается закономерность, что первичным критерием кластеризации выступает географическое происхождение, а потом морфологические особенности. На субкластерном уровне наблюдается почти полное формирование клады по их особенностям габитуса.

Для морфологических признаков косточки также удалось подобрать комбинации праймеров, максимально отражающие их распределение при кластеризации. На UPGMA-дендрограмме получены клады для генотипов с мелкой округлой косточкой, с оттянутым основанием косточки, генотипы с ребристой поверхностью косточки. Группа с ребристой поверхностью косточки образована с наибольшей бутстреп-поддержкой.

В зависимости от объекта исследования и разрешающей способности, а также числа использованных праймеров генетические дистанции позволяют оценить филогенетические взаимодействия таксонов разного ранга. Использование данных генетических дистанций в селекции позволяет при подборе родительских пар предварительно оценить возможный эффект гетерозиса. По нашим данным, генетические дистанции в пределах вида *P. pumila* изменчивы в диапазоне значений 0,13-0,52. В группе генотипов *P. pumila* получено 990 комбинаций. Среднее значение для этого диапазона составляет  $0,30 \pm 0,01$  с коэффициентом вариации

20,6 %. В группе между видами *P. pumila* и *P. tomentosa* получено 135 комбинаций с диапазоном значений 0,41-0,62. Среднее значение  $0,53 \pm 0,03$  с коэффициентом вариации 8,34 %. Таким образом, выявлено, что в некоторых комбинациях между генотипами разных видов генетические дистанции ниже, чем в некоторых комбинациях в пределах вида *P. pumila*. Межвидовые комбинации с минимальными индексами различия могут представлять интерес для получения межвидовых гибридов или возвратных скрещиваний имеющих гибридов.

## ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Морфологические и биометрические признаки интродукционной популяции *P. pumila* характеризуются значительной изменчивостью. Выявлен широкий спектр изменчивости признаков листовой пластинки, цветка, плода и косточки. Некоторые признаки представляют интерес для практического использования вида. Отмечено увеличение диапазонов изменчивости биометрических признаков листовой пластинки и плода. Выявлена закономерность снижения доли массы косточки по мере увеличения массы плода, что имеет практическую значимость. По дисперсии признака индекса удлинённости листовой пластинки и косточки можно предположить, что наибольший вклад в генофонд культурной популяции внесла разновидность *P. pumila* var. *susquehanae*, наименьший – *P. pumila* var. *depressa*.

2. Изучение прегенеративного периода онтогенеза у потенциально перспективного для использования в качестве подвоя вида *P. pumila* показало, что в условиях континентального климата Южного Урала растения в составе интродукционных популяций формируют свойственную им в природных местообитаниях кустарниковую биоморфу. Развитие *P. pumila* в начале прегенеративного периода идет ускоренными темпами, что позволяет растениям сформировать достаточно мощную зону гипокотыля и корневой шейки (0,7-1,5 см) и тем самым приобрести технологически значимые качества стандартного подвоя.

3. Генотипы с наиболее ценным типом кроны для создания плодоносящих многолетних насаждений (слабо раскидистый или пирамидальный куст) или для использования в ландшафтном дизайне (пирамидальный куст) в целом составляют немного выше 5 % от изученной выборки. Также отмечена аналогичная структура популяции по особенностям формирования подземных вегетативных органов. Доля генотипов с пониженной склонностью к образованию ксилоподиев и ксилоризом в молодом генеративном состоянии, представляющие интерес для использования в качестве подвоя, также немного превзошла отметку в 5 %.

4. Важный признак для определения разновидностей в естественных местообитаниях – характер опушения побегов – проявляется независимо от других диагностических признаков. Обнаруженные густо опушенные побеги на растениях, относящихся к группе с наиболее распластанной кроной, также свидетельствует в пользу того, что *P. pumila* var. *susquehanae*, встречающаяся в природе в заболоченных местностях, приняла участие в формировании генофонда культурной популяции *P. pumila*, но её доля, вероятно, мала. Поэтому представляет интерес испытание густо опушенных образцов интродукционной популяции в условиях, лимитирующих её выращивание по причине подопревания растений.



5. Не выявлено закономерности проявления индекса удлинённости косточки в плодах образцов с наиболее распластанными типами кроны, что указывает на возможное участие *P. pumila* var. *depressa* в генофонде культурной популяции. Полученная в некоторых вариантах достоверная закономерность признаков индекса удлинённости косточки и типа кроны свидетельствуют в пользу того, что эти признаки отчасти проявляются сцеплено.

6. Среди сильнорослых генотипов не выявлено автополиплоидов. Такая особенность представляет собой нормальную изменчивость морфотипов для вида.

7. Установлено, что почти все генотипы характеризуются высоким показателем фертильности пыльцы и способны обеспечить высокие показатели завязываемости плодов.

8. Протестированные методы (NucleoSpin Plant II и DiamondDNA Plant kit) выделения ДНК из живых листьев *P. pumila* показали хорошую воспроизводимость при постановке ПЦР. Выбранные эффективные праймеры продемонстрировали высокий полиморфизм *P. pumila* и достоверно смогли отличить вид *P. tomentosa*.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

### Публикации в журналах, входящие в систему Web of Science

1. **Lyozin, M.S.** Study of chromosome composition of the southern Ural genotypes of *Prunus pumila* L. by various methods / **M.S. Lyozin**, S.V. Asbaganov, O.V. Mochalova, D.A. Gusev, V.S. Simagin // Prospects of Development and Challenges of Modern Botany. BIO Web of conferences. – 2018. – №. 11 (00028).

2. **Lezin, M.** Some promising sources of expansion of the introduction potential of *Prunus pumila* L. / **M. Lezin**, Glaz N. // Plant Diversity: Status, Trends, Conservation Concept. BIO Web of Conferences. – 2020. – № 20 (2020).

### Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ

3. **Лёзин, М.С.** Интродукция *Prunus pumila* L. в условиях лесостепи Зауралья / **М.С. Лёзин**, В.С. Симагин // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2017. – Т. 47. – №1. – С. 50-55.

4. Васильева, О.Ю. Онтогенез *Prunus pumila* L. и *Rosa glauca* Pourp. в интродукционных популяциях на юге Урала и Западной Сибири / О.Ю. Васильева, **М.С. Лёзин**, М.В. Козлова // Бюллетень Государственного Никитского бот. сада. – 2019. – Т. 133. С. 86-93.

5. **Лёзин, М.С.** Особенности проявления внутривидовой изменчивости плодов *Prunus pumila* в Челябинской области при интродукционном процессе / **М.С. Лёзин**, В.С. Симагин, А.В. Локтева // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2019. – Т. 180. – № 3. – С. 82-90.

## Статьи в прочих изданиях

6. Лёзин, М.С. Внутривидовое разнообразие *Microcerasus pumila* в условиях северной лесостепи Зауралья/ М.С. Лёзин // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2015. – С. 121-124.

7. Лёзин, М. С. Отбор форм микровишни песчаной для подвоя косточковых культур/ М.С. Лёзин // Генофонд и селекция растений Тезисы докладов II Международной конференции, посвящённой 80-летию СИБНИИРС. – 2016. – С. 36.

8. Лёзин, М.С. Изучение самоплодности перспективных форм пищевого назначения микровишни песчаной (*Prunus pumila* (Erem. et Jushev) L.) / М.С. Лёзин //Актуальные вопросы современного естествознания Южного Урала. – Челябинск, 2016. – С. 291-300.

9. Васильева, О.Ю. Роль биоморфологических исследований при интродукции хозяйственно полезных растений в условиях континентального климата / О.Ю. Васильева, Г.А. Зуева, Л.В. Буглова, И.Я. Сарлаева, Т.А. Ак-Лама, М.С. Лёзин, А.С. Цыганкова, А.В. Черемисина // Бюллетень Ботанического сада-института ДВО РАН. – 2017. – № 18. – С. 73-79.

10. Лёзин, М.С. Изучение фертильности пыльцы некоторых отборных форм *Prunus pumila* в опытах на самоплодность / М.С. Лёзин // Фундаментальные научные исследования: теоретические и практические аспекты. – 2018. – С. 217-221.