



ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИ УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛТЕТ „ГОРСКО СТОПАНСТВО“
Катедра „Дендрология“



инж. Станимира Валентинова Шулева

ГЕНЕТИЧНА ОЦЕНКА НА ПОПУЛАЦИИ НА ЧЕРНИЯ БОР В БЪЛГАРИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане
на образователна и научна степен „доктор“

Област на висшето образование: 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина

Професионално направление: 6.5. Горско стопанство

Научна специалност: Горски култури, селекция и семепроизводство

Научни ръководители: проф. д-р Петър Желев
доц. д-р Величко Гагов

София
2023 г.

Дисертационният труд съдържа 149 страници текст, в т.ч. 26 фигури, 21 таблици и 16 приложения, структурирани в 4 глави. Използваната литература включва 288 заглавия, от които 49 на кирилица и 239 – на латиница.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 27.06.2023 г. от 14.00 часа в зала „Акад. Мако Даков“, на открито заседание на научно жури, утвърдено със заповед на ректора на ЛТУ №ЗПС-141 от 31.03.2023 г., в състав:

Председател: проф. д-р Петър Желев, ЛТУ – научен ръководител

Членове:

Вътрешни: доц. д-р Наско Илиев, ЛТУ

Външни: доц. д-р Веселка Гюлева-Пантова – Институт за гората, БАН
доц. д-р Мария Глушкова – Институт за гората, БАН
доц. д-р Александър Делков – Институт за гората, БАН

Дисертационният труд е разработен в рамките на задочна докторантура към Лесотехническия университет, гр. София.

Материалите по защитата са на разположение в деканата на факултет „Горско стопанство“, бул. „Климент Охридски“ 10, ет. 2, ст. 222.

1. УВОД

Един от основните въпроси, които стоят пред селекционната дейност с дървесните видове и производството на семена с подобрени наследствени качества, е характеристиката на наличния естествен генетичен фонд и отбраните популации за селекция. На съвременния етап базата за селекция включва естествени и изкуствени популации с много добри фенотипни качества, обекти, представляващи извадка от естествените популации, като вегетативни семепроизводствени градини и клонови колекции, а също отбрани популации, представляващи следващото поколение на естествените и изкуствените популации, като географски култури, потомствени опити, генеративни семепроизводствени градини. В редица напреднали в това отношение страни по отношение на някои целеви видове се осъществява селекция от второ и следващо поколение. Съвременната селекционна дейност изисква задълбочени познания за генетичните особености на видовете, особено за тези с важно стопанско значение. За България такъв вид е черният бор. При него целенасочените селекционни проучвания започват още през първата половина на ХХ век, а в България – от 60-те години на миналия век. Изследвани са екотипната и биотипната изменчивост, създадени са географски култури, потомствени опити и семепроизводствени градини, събрана и публикувана е значителна информация за неговите лесовъдски и генетико-селекционни особености. Независимо от това, остават нерешени много въпроси, свързани с генетичните особености на вида, с продължаване на селекцията и с приложението на съвременни методи на изследване, които могат да допринесат за изясняване на нерешените проблеми.

Във връзка с това, **целта на настоящата дисертация е да бъде направена генетична оценка на популациите на черния бор в България**, във връзка със селекционната дейност и опазването на неговите генетични ресурси. Целта е конкретизирана в следните основни задачи:

1. Проучване на разпределението на генетичното разнообразие в и между естествените популации на вида с помощта на генетични маркери.
2. Проучване на системата на кръстосване във вегетативна и генеративна семепроизводствена градина.
3. Проучване на генеративната способност в семепроизводствените градини.

4. Проучване на изменчивостта на шишарките в семепроизводствените градини.

2. ИЗВОДИ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР

Литературният преглед на базата на над 150 литературни източника на кирилица и на латиница, в български и чуждестранни научни издания, показва, че черният бор е важен дървесен вид, който е получил подобаващо внимание от изследователите, вкл. и по отношение на неговите генетико-селекционни особености и генетични ресурси. Проучвани са естествени популации, култури и семепроизводствени градини, като проучванията включват широк набор от въпроси – от еволюционно развитие до проучването на кариотипа, систематиката, генетичната структура на популациите и семепроизводствените градини, практическата селекция и др. Прегледът в същото време дава основание за извода, че у нас видът все още не е достатъчно изследван в генетико-селекционно отношение и съществуват редица нерешени въпроси, на част от които се опитва да отговори настоящата дисертация.

3. ОБЕКТИ И МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ

3.1. Обекти

За характеристика на генетичните ресурси на черния бор са избрани три типа обекти: 1) естествени популации; 2) вегетативни семепроизводствени градини и 3) генеративни семепроизводствени градини (Фиг. 1).

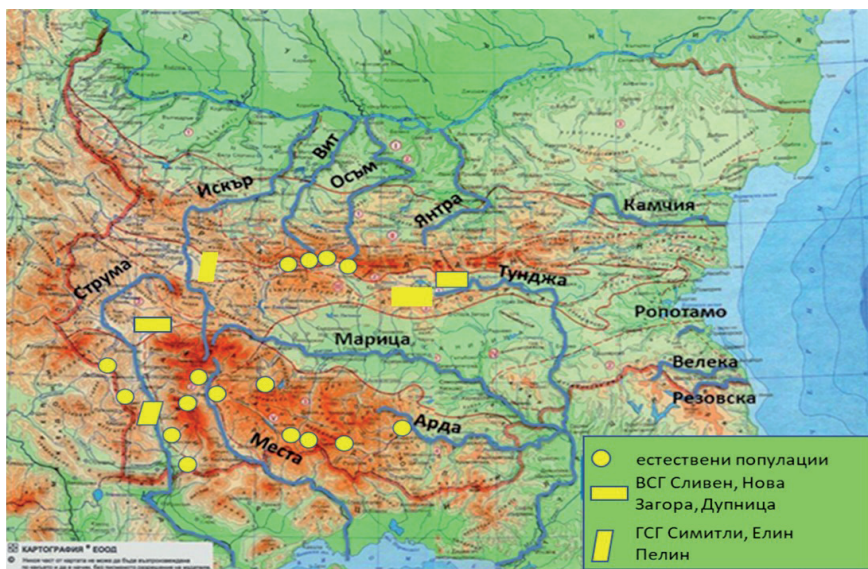
Изследвани са 16 естествени популации (Табл. 1), които обхващат естествения ареал на вида в България.

Изследвани са три вегетативни семепроизводствени градини (ВСГ) – в ДГС Сливен, в ДГС Нова Загора и ДГС Дупница.

ВСГ Сливен – географски координати 42°40'13"С, 26°25'33"И, с площ 4,2 ha, надморска височина 200 m.

ВСГ Нова Загора – географски координати 42°26'15"С 26°03'42"И, надморска височина 190 m и в нея са включени почти същите клонове.

ВСГ Дупница – географски координати 42°20'52"С 23°10'53"И и надморска височина 840 m.



Фиг. 1. Разположение на обектите на изследване

Таблица 1. Изследвани естествени популации

№	Име на популацията (Съкращение)	Географски координати	Надморска височина, m
1	Белица (BEL)	41°56'51"N 23°32'40"E	950
2	Беталовото (BET)	41°50'42"C 23°23'15"И	1150
3	Влахина планина (VLA)	41°53'14"C 22°56'5"И	1000
4	Габра (GAB)	42° 2'19"C 22°51'23"И	1000
5	Елешница (ELE)	41°52'11"C 23°38'56"И	1150
6	Казъл Черпа (KAZ)	41°47'7"C 25°10'52."И	800
7	Клептуза (KLE)	41°59'48"C 23°58'52" И	950
8	Корфия (KRF)	42°45'39"C 24°35'38"И	1250
9	Крава (KRA)	42°45'14"C 24°36'59"И	1350
10	Плоски (PLO)	41°38'59"C 23°17'11"И	750
11	Свети Никола (STN)	42°41'51"C 25° 7'27"И	1300
12	Славянка (SLA)	41°24'30"C 23°35'57"И	1100
13	Смолян (SMO)	41°37'02"C 24°45'41"И	950
14	Чамджа (CHAM)	42°44'13"C 24°34'44"И	700
15	Триград (TRI)	41°35'39"C 24°22'32"И	1200
16	Ягодина (YAG)	41°38'02"C 24°20'16"И	1100

Градините са създадени през периода 1990 – 1992 г. В тях са включени общо 150 клона, произхождащи от България, Гърция и Македония (Гагов 1992).

Изследвани са две генеративни семепроизводствени градини (ГСГ), разположени на територията на ДГС Симитли и ДГС Елин Пелин:

- ГСГ Симитли – създадена през 1986 г. в отдел 374 „г“ (географски координати 41.89835 N и 23.24301 E на ДГС Симитли, с площ при създаването 3.5 ha и в момента – 2.7 ha.

- ГСГ Елин Пелин – създадена през 1988 г. в отдел 160 „в“; координати 42.73142 N и 23.7937 E. В момента площта е 2,7 ha.

3.2. Методи на изследване

3.2.1. Генетично разнообразие в естествените популации

За изследване на генетичното разнообразие в естествените популации и на репродуктивния процес в семепроизводствените градини са приложени изоензимни генетични маркери. Изследваните ензимни системи са представени в Таблица 2.

Таблица 2. Изследвани ензимни системи

Ензимна система (съкращение, Е.С.код*)	Брой локуси	Буферна система**
Алкохол дехидрогеназа (<i>ADH</i> , 1.1.1.1)	2	ТС
Глутамат дехидрогеназа (<i>GDH</i> , 1.4.1.2)	1	А
Глутамат-оксалацетат трансминаза (<i>GOT</i> , 2.6.1.1)	2	А
Левцин аминопептидаза (<i>LAP</i> , 3.4.11.1)	2	А
Малат дехидрогеназа (<i>MDH</i> , 1.1.1.37)	4	ТС
Менадион редуктаза (<i>MNR</i> , 1.6.99.2)	1	А
Фосфоглюкозо изомераза (<i>PGI</i> , 5.3.1.9)	2	А
Шикимат дехидрогеназа (<i>SkDH</i> , 1.1.1.25)	2	ТС
6-фосфоглюконат дехидрогеназа (6PGD, 1.1.1.44)	2	ТС

* Е.С. – Enzyme Commission

** А – буферна система на Ashton pH 8.1; ТС – буферна система Tris Citrate pH 7.0

Екстракцията на ензимите, електрофорезата, оцветяването на ензимите и интерпретацията на електрофореграмите е извършено по методики, които са подробно описани в дисертацията.

Диплоидните и хаплоидните генотипове са отчетени директно от електрофореграмите.

За определяне на генетичното разнообразие в популациите са определени и изчислени следните показатели: алелни честоти, среден брой алели на локус, ефективен брой алели на локус, процент на полиморфни локуси, хетерозиготност – действителна (експериментално установена) – H_o и очаквана (теоретична) – H_e и коефициент на инбридинг (F_{IS}).

Междупопулационното генетично разнообразие е установено на базата на генетичните дистанции между двойки популации и средната генетична диференциация между системата от популации. За по-добра интерпретация на генетичните дистанции е приложен клъстерен анализ и анализ на главните координати. Анализите са направени с помощта на специализирани софтуерни програми, които са подробно посочени в дисертацията.

3.2.3. Изследване на репродуктивния процес в семепроизводителните градини

Генетичните аспекти на репродуктивния процес в семепроизводителните градини са изследвани главно чрез сравняване на относителното значение на показателите: неродствено кръстосване и инбридинг (т.е. близкородствено кръстосване, вкл. самоопрашване).

Индексите на неродствено кръстосване са изчислени по метода на Ritland and Jain (1981). Използван е програмният продукт MLTR (Ritland 1990, 2002). На базата на генотиповете на родителските индивиди и потомството, програмният продукт изчислява параметрите: t_m = индекс на неродствено кръстосване, многолокусна оценка; t_s = индекс на неродствено кръстосване, средна еднолокусна оценка; F = коефициент на инбридинга (среден за родителските индивиди), както и някои корелационни показатели. Грешките на оценките се изчисляват с помощта на т.нар. “bootstrap” метод (Efron 1979).

3.2.4. Проучване на биометричните особености на шишарките

Събрани са шишарки от вегетативните семепроизводителни градини в Сливен и Нова Загора и от генеративната семепроизводителна градина в Симитли. За проучване изменчивостта на шишарките са измерени дължините и широчините на 5 шишарки за всеки индивид, като всеки клон е представен с различен брой индивиди в зависимост от присъствието си в съответната градина. С помощта на MS Excell

са изчислени основните вариационно-статистически показатели. Степента на изменчивост е оценена приблизително по скалата на Мамаев (1965) на базата на стойностите на вариационния коефициент, където стойности под 7% означават много ниска изменчивост, от 7 до 12% – ниска, от 12 до 20% – средна и над 20% – висока изменчивост.

Коефициентът на наследяемост в широк смисъл (H^2) на размера на шишарките е изчислен по метода на дисперсионния анализ, като по-подробно начинът на изчисляване е представен в дисертацията. Осъществено е и наблюдение върху репродуктивната способност, която е установена чрез окомерна оценка на степента на залагане на шишарки по модифицирана скала на Корчагин (Наредба 21 на ИАГ 2012).

4. РЕЗУЛТАТИ ОТ ПРОУЧВАНЕТО И ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

4.1. Генетична структура на естествените популации

4.1.1. Полиморфизъм на ензимните системи

Данните за алелните честоти са представени в Таблица 5 от дисертационния труд.

Ензимната система Глутамат-оксалацетата трансминаза (GOT) е представена с три локуса, от които само два е възможно да бъдат интерпретирани. В единия от тях са установени три алела, като с най-висока честота е първият, а третият е рядък алел, установен само в една популация (с. Плоски). Got3 е представен с два алела в изследваните популации, като по-бързият и с по-висока честота е вторият алел.

С най-много алели – 5, е ензимната система Менадион редуктаза (Mnr), която проявява активност в един локус. Най-представен е третият алел, а първи, четвърти и пети са редки алели, установени в малък брой популации.

Ензимната система Левцин аминокиселиназа (LAP) проявява активност в два локуса. В първия локус LAP1 са установени два алела, като първият е с ниска честота, а вторият преобладава във всички популации. Във втория локус LAP2 са установени три алела, като преобладава третият алел, а първият в повечето случаи е с ниска честота. Вторият алел е установен в по-малко на брой популации и с много ниска честота.

В ензимната система Малат дехидрогеназа (MDH) са установени две зони на активност, но само втората позволява достатъчно ясна генетична интерпретация. В тази зона са установени три алела, като вторият е с по-висока честота. Третият е много рядък алел, който се е проявил само в три популации (Белово, Беталовото и Казъл Черпа).

В ензимната система Шикимат дехидрогеназа (SkDH) са установени два локуса (SkDH1 и SkDH2) и двата с по три алела. В първия локус SkDH1 най-бърз и с най-голяма честота е третият алел, като първият е рядък алел, установен само в четири популации (Крава, Белица, Клептуза и Смолян). Във втория локус също третият алел е с по-висока честота, а първият е много рядък и е установен само в популацията в Смолян.

В ензимна система алкохол дехидрогеназа (ADH) активност проявяват три алела. Вторият алел е по-бърз и с много по-висока честота, а третият е по-рядък, като се е проявил само в четири популации (Чамджа, Корфия, Триград и Славянка).

4.1.2. Генетично разнообразие в популациите

Преобладаващият алел е един и същ във всички популации. Установен е т.нар. „минорен полиморфизъм“ (Lewontin 1985), което означава, че честотата на най-представения алел е винаги по-голяма от 0.5, т.е. дори теоретично не може да се постигне хетерозиготност 100%.

Тестът за генетично равновесие на Харди-Вайнберг показва някои случаи (12%) на статистически значимо отклонение от очакваните стойности (Табл. 6 от дисертационния труд). Най-много такива отклонения са установени в локус Mnr. Отклонения са установени в различни популации и касаят локусите Got2, Mnr, Mdh2, Skd1, Skd2 и Adh. Този процент на отклонения от равновесието се дължи във всички случаи на недостиг на хетерозиготи.

Неравновесие поради скачено наследяване (linkage disequilibrium) е установено за 15 двулокусни комбинации (от над 60 възможни) и в 7 популации (Табл. 7 от дисертационния труд). С подчертано участие са локусите Got2 и Got3, които участват общо в 10 двулокусни комбинации. При анализ на обобщените данни от всички популации, статистически значимо е неравновесието поради скаченост само между Got2 и Got3. Общо тези резултати показват, че

неравновесие поради скачено наследяване присъства в сравнително малък брой от случаите и не може да окаже съществено влияние върху достоверността на получените резултати.

Средният брой алели варира от 2.00 (Влахина, Ягодина) до 2.625 (Белица), със средна стойност от всички популации 2.242 (Табл. 3). Средният брой алели обаче има ограничено информационно значение като характеристика на генетичното разнообразие в популациите. По-надеждна мярка е ефективният брой алели (Crow and Kimura 1970), наричан също в някои източници „генетично разнообразие“ (gene diversity, Gregorius 1978). Ефективният брой на алели варира между 1.118 (Казъл черпа) до 1.451 (Кравите); средно от всички популации 1.317. Процентът на полиморфни локуси варира между 50 и 100 (средно 76.6). При определянето на този показател е използван ограничаващ критерий 0.095, което означава, че един локус се смята за полиморфен, ако честотата на максимално представения алел не надминава 0.95. Целта на това ограничаващо условие е да не се подцени нивото на генетично разнообразие в някои популации (или да се надцени това ниво в други), тъй като разлики в размер на 2 – 3% са по-малки от статистическата грешка при размера на извадките (броя на изследваните индивиди) в изследваните популации.

Най-често използваната мярка за генетично разнообразие в популациите е хетерозиготността, т.е. частта на хетерозиготните индивиди във всеки локус и в различни локуси. В Табл. 3 са представени стойностите на очакваната (теоретична) и на действителната (експериментално установена) хетерозиготност.

Очакваната хетерозиготност (H_e) варира от 0.106 до 0.282 (средно 0.227), което е сравнително висока стойност, сравнена с видове с подобни биологични особености (или ако си послужим с използвания в англоезичната литература термин “life-history characteristics”). Действителната (установената) хетерозиготност (H_o) – варира от 0.146 до 0.279, (средно 0.210). Очакваната хетерозиготност, която е един от най-използваните показатели за генетично разнообразие (допълно, че се поставя знак за равенство: $expected\ heterozygosity = gene\ diversity$; Berg and Hamrick 1997) варира от 0.137 до 0.339, средна стойност 0.227. Hamrick et al. (1992) съобщават средна стойност за голосеменните 0.169, което показва, че получените в настоящото изследване стойности са в рамките на установяваните за видове с подобни биологични особености, а даже и малко по-високи.

Таблица 3. Показатели на полиморфизма в изследваните популации

Популация	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>Ae</i>	<i>P</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F_{IS}</i>
Белица 950 m 41°56'51"N, 23°32'41"E	43.5	2.625	1.444	87.5	0.248 (0.146)	0.282 (0.155)	0.121
Беталовото 1150 m 41°50'42"N, 23°23'15"E	55	2.375	1.388	100	0.214 (0.163)	0.250 (0.157)	0.144
Влахина планина 1000 m 41°53'15"N, 22°56'6"E	63	2.000	1.132	50	0.123 (0.057)	0.115 (0.049)	-0.070
Габра 1000 m 42°02'19"N, 22°51'23"E	55	2.250	1.437	75	0.253 (0.179)	0.267 (0.182)	0.052
Елешница 1150 m 41°52'11"N, 23°38'57"E	59	2.375	1.412	100	0.272 (0.136)	0.272 (0.129)	0.000
Казъл Черпа 800 m 41°47'7"N, 25°10'53"E	70	2.250	1.118	50	0.111 (0.027)	0.106 (0.025)	-0.047
Клептуза 950 m 41°59'48"N, 23°58'52"E	47.5	2.250	1.408	75	0.253 (0.185)	0.261 (0.174)	0.031
Корфия 1250 m 42°45'39"N, 24°35'38"E	50	2.250	1.412	75	0.279 (0.231)	0.339 (0.164)	0.177
Кравите 1350 m 42°45'14"N, 24°36'59"E	59	2.375	1.451	100	0.258 (0.173)	0.278 (0.173)	0.072
Плоски 750 m 41°38'59"N, 23°17'11"E	55	2.500	1.182	50	0.159 (0.083)	0.150 (0.069)	-0.060
Свети Никола 1300 m 42°41'5"N, 25° 7'27"E	54	2.375	1.356	87.5	0.205 (0.155)	0.227 (0.168)	0.097
Славянка 1100 m 41°24'31"N, 23°35'57"E	69	2.250	1.177	62.5	0.146 (0.116)	0.137 (0.108)	-0.067
Смолян 950 m 41°37'2"N, 24°45'41"E	45	2.500	1.386	75	0.217 (0.179)	0.252 (0.162)	0.139
Триград 1200 m 41°35'39"N, 24°22'32"E	61	2.250	1.389	87.5	0.219 (0.168)	0.248 (0.166)	0.117
Чамджа 700 m 42°44'14"N, 24°34'45"E	46	2.375	1.393	75	0.223 (0.141)	0.254 (0.157)	0.122
Ягодина 1100 m 41°38'2"N, 24°20'16"E	49.5	2.000	1.272	75	0.185 (0.170)	0.200 (0.156)	0.075
Средно	55.1	2.242	1.317	76.6	0.210	0.227	0.056

Легенда: *N* – среден брой изследвани индивиди на локус; *A* – среден брой алели на локус; *Ae* – ефективен брой алели (Crow and Kimura 1970); *P* – процент на полиморфни локуси; *Ho* – действителна (установена) хетерозиготност; *He* – очаквана (теоретична) хетерозиготност; *F_{IS}* – коефициент на инбридинг.

Всичко това показва, че популациите се характеризират с висока степен на хетерозиготност, която е един от най-важните показатели за измерване на генетичното разнообразие.

Наблюдаваната или експериментално установената хетерозиготност в повечето случаи има по-ниски стойности от тези на очакваната (Табл. 3), като само в четири от тях (Влахина планина, Казъл Черпа, Плоски и Славянка) действително установената хетерозиготност (H_o) е по-висока от очакваната (H_e). В тези четири популации коефициентът на инбридинг (F_{IS}) е отрицателен. В останалите популации положителните стойности на коефициента на инбридинг (Wright 1951) се отличават достоверно от нула.

Най-ниска стойност на очакваната хетерозиготност е установена за Казъл Черпа (0.106), а най-висока – за Белица (0.339), като средната от всички популации е 0.227. Действителната хетерозиготност в повечето случаи е по-ниска от очакваната, което е причина и за отклоненията от генетичното равновесие и което е отразено от положителните, в повечето случаи, стойности на коефициента на инбридинг (Табл. 3). Тези стойности показват, че част от индивидите в изследваните популации са резултат от близкородствено кръстосване или самоопрашване, което не е рядък случай при ветроопрашващи се растителни видове с еднородно разположение на репродуктивните органи. Най-ниска действителна хетерозиготност е установена отново в популацията Казъл Черпа (0.111), а най-висока – в Корфия (0.279). Коефициентът на инбридинг е с отрицателни стойности за популациите Влахина, Казъл Черпа, Плоски и Славянка, т.е. в тези популации е установен по-голям брой хетерозиготни индивиди от теоретично очакваните.

Забелязва се тенденция за увеличаване на хетерозиготността с увеличаването на надморската височина, но тази тенденция не е статистически достоверна ($p = 0.13$). Това може да се обясни със сравнително малкия височинен диапазон, въпреки че крайните по надморска височина популации са от 700 и 1350 m, повечето са между 950 и 1200 m. Такава тенденция, макар и по-силно изразена и статистически достоверна, е установявана за бялата мура (*Pinus peuce*), също в сравнително малък височинен диапазон (Zhelev and Tsarska 2009). На Фиг. 10 от дисертационния труд е показано изменение на генетичното разнообразие, изразено чрез хетерозиготността, от надморската височина.

Ако се разгледат стойностите на действителната хетерозиготност по локуси в отделните популации, се забелязват някои тенденции, които са „маскирани“, когато се интерпретират средните стойности. Общо взето най-високи са стойностите в локус *Mdh2*, което може да се обясни отчасти и с интерпретацията на електрофореграмите, която не винаги е еднозначна (El-Kassaby 1981). Високи стойности на хетерозиготността са установени също в локус *Got2*. В останалите локуси стойностите са близки до установените средни за популациите. Все пак, прави впечатление голямото вариране на стойностите както между отделните локуси, така и между един и същ локус в различните популации (Фиг. 11 от дисертационния труд). Така например установената хетерозиготност за локус *Got2* в повечето случаи е над 0.2, а в популацията Казъл Черпа е само 0.027. Тази аномалия изисква допълнително изследване, но вероятно е свързана с технически проблеми при електрофоретичното изследване.

Коефициентът на инбридинг е с отрицателни стойности в около 1/3 от случаите, което означава, че в тези локуси хетерозиготните индивиди са повече от очакваните, ако популацията е в генетично равновесие. Все пак в случаите, когато стойностите са отрицателни, по абсолютна стойност те са почти винаги по-малки от положителните и в крайна сметка това довежда до факта, че общо само четири от популациите имат стойност на коефициента на инбридинг, по-малка от нула (Табл. 9 от дисертационния труд). Подобни нива на генетично разнообразие са съобщавани от Scaltsoyiannes et al. (2009), със стойност на очакваната хетерозиготност за българските популации 0.276 и средна стойност от всички изследвани популации 0.249. Silin and Goncharenko (1996) съобщават високи стойности на хетерозиготност (0.24), както и Aguinagalde et al. (1997) – 0.219 и Tolun et al. (2000) – 0.256. Черният бор се смята за иглолистен вид с много високо генетично разнообразие както в популациите, така и между тях и това е особено ясно изразено за популациите от Балканския полуостров (Scaltsoyiannes et al. 2009). Стойностите за другите показатели на разнообразието – среден и ефективен брой алели и процентът на полиморфни локуси – също съответства на тези, получени в други изследвания (Silin and Goncharenko 1996, Aguinagalde et al. 1997, Tolun et al. 2000). Коефициентът на инбридинг (F) е положителен в 75% от изследваните популации, което показва значим недостиг на

хетерозиготи. Такова явление е наблюдавано сравнително често при ветроопрашващите се иглолистни видове, като черния бор (Tolun et al., 2000).

Високото ниво на хетерозиготност в повечето популации потвърждава значението им като източници на ценен репродуктивен материал. Допълнителни изследвания може да установят нови ценни закономерности във връзка с използването на популациите.

4.1.3. Междупопулационно генетично разнообразие

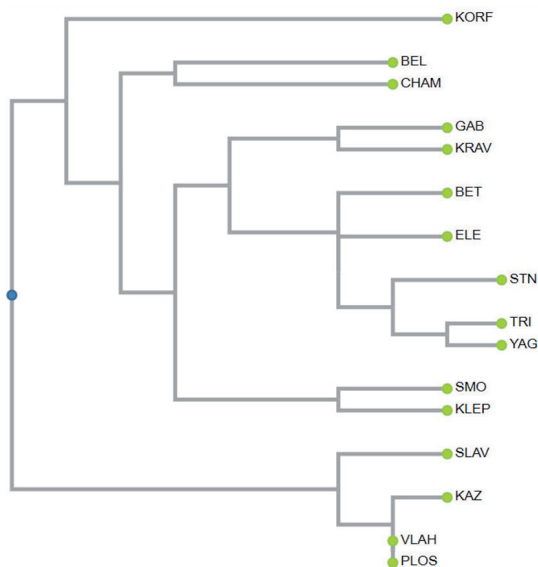
Генетичното разнообразие между популациите е установено на базата на два показателя. Първият показател е генетичната дистанция между популациите на Nei (1978). Тя се изчислява за двойки популации. Другата мярка за междупопулационно разнообразие е тази за генетична диференциация, т.нар. F-статистика. Тази мярка за междупопулационно разнообразие е средна мярка за всички популации и въпреки че изглежда по-малко информативна, също носи важна информация.

Генетичните дистанции между популациите са сравнително ниски (Табл. 4), което показва, че популациите не се отличават много в генетично отношение, както показва и честотата на различните алели. Стойностите на генетичните дистанции зависят от специфичния метод, както и от приложените генетични маркери, но ниски генетични дистанции са установявани в преобладаващото мнозинство от изследванията върху дървесните видове (Hamrick et al. 1992).

Както е отбелязано по-горе, за 16 популации се получават 120 стойности за генетични дистанции между двойки популации. Интерпретацията на тези данни директно от таблицата е изключително трудно и поради това се прилагат методи на групиране, които може да се представят и графично, като клъстерен анализ и анализ на главните координати. Дендрограмата, построена чрез клъстерния анализ по метода на непретеглени двойки средни аритметични (UPGMA) дава възможност за интерпретация на генетичните дистанции (Фиг. 2). Вижда се ясно, че популациите от Югозападна България образуват отделна група (Славянка, Влахина планина, Плоски), но към тях се групира и Казъл Черпа, популация от източните Родопи, значително отдалечена от посочените три. При останалите популации се вижда, че близко разположените Триград и Ягодина се групират заедно.

Таблица 4. Генетични дистанции между популациите (Nei 1978)

	Cham	Krav	Korf	Bet	StN	Ele	Gab	Yag	Trig	Klep	Smo	Bel	Plos	Slav	Vlh
Krav	0.0111	0													
Korf	0.0106	0.0222	0												
Bet	0.0131	0.009	0.0098	0											
StN	0.0108	0.0085	0.0128	0.008	0										
Ele	0.0068	0.0061	0.0113	0.0048	0.0049	0									
Gab	0.0161	0.0046	0.0195	0.0094	0.0106	0.0104	0								
Yag	0.0072	0.0102	0.0061	0.0045	0.0024	0.0048	0.0109	0							
Trig	0.008	0.0069	0.0078	0.0025	0.0037	0.0043	0.0088	0.0012	0						
Klep	0.0158	0.0122	0.0163	0.0089	0.017	0.0161	0.0088	0.0109	0.0081	0					
Smo	0.0085	0.0083	0.0161	0.0081	0.0107	0.0093	0.0108	0.0069	0.0055	0.0048	0				
Bel	0.0084	0.0115	0.0164	0.0168	0.0107	0.0134	0.0157	0.0093	0.0081	0.0107	0.0065	0			
Plos	0.0084	0.0242	0.0122	0.0175	0.0175	0.0158	0.0226	0.0091	0.0121	0.0163	0.0131	0.0157	0		
Slav	0.0064	0.0148	0.0126	0.0116	0.0075	0.0086	0.0158	0.0037	0.0063	0.0142	0.0079	0.0112	0.0032	0	
Vlh	0.0087	0.0231	0.0144	0.0177	0.016	0.0146	0.0229	0.009	0.0119	0.0185	0.0139	0.0163	0.0005	0.0023	0
Kiz	0.0136	0.0327	0.0174	0.0241	0.0256	0.0219	0.0307	0.0155	0.0187	0.024	0.0214	0.0242	0.0013	0.0071	0.0014

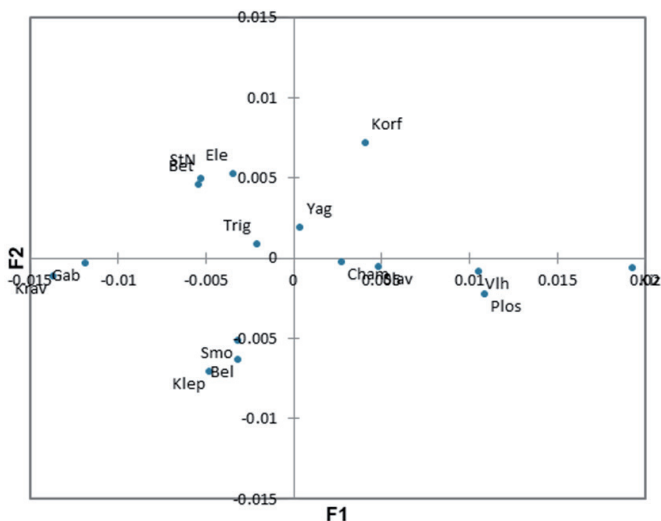


Фиг. 2. Клъстерна дендрограма, построена на базата на генетичните дистанции по метода UPGMA

Подобни тенденции показва и проекцията на главните координати, получени на базата на генетичните дистанции (Фиг. 3). Вижда се, че популацията Корфия е самостоятелно разположена. Този факт обаче не дава основание тази популация да бъде смятана за много различна генетично, тъй като разликите са сравнително малки.

Показателят за генетична диференциация (F_{ST}) потвърждава тенденциите, установени на базата на генетичните дистанции (Табл. 5). Стойностите за отделните локуси варират от 0.020 (Lap2) до 0.117 (Mdh2), с обща стойност от 0.074, показвайки, че приблизително 7% от общото генетично вариране се дължи на генетични разлики между популациите, а останалите 93% се дължат на вариране вътре в популациите. Този резултат е в съгласие с получаваните за други видове с подобни биологични особености (Hamrick et al. 1992).

Отсъствието на определена тенденция на разпределението на генетичното разнообразие показва, че съществуват трудности в обособяване на райони за семеползването при вида и за идентифициране на вътревидовите таксони, посочени от други автори (Иванов 1971,



Фиг. 3. Проекция на пространствените координати на популациите, получени на базата на генетичните дистанции. На фигурата са представени първите две главни оси, обясняващи 76.23% от общото вариране

Добринов и др. 1982). Вероятно ще са необходими по-информативни генетични маркери, за да се установи връзката между фенотипната, включително и таксономична изменчивост с географските особености на разпределението на генетичното разнообразие.

Таблица 5. Параметри на генетичната диференциация (F-статистика)

Локус	FIS	FIT	FST
Got2	0.027	0.093	0.068
Got3	0.002	0.268	0.044
Mnr	0.213	0.268	0.070
Lap2	0.088	0.107	0.020
Mdh2	0.062	0.171	0.117
Skd1	0.057	0.095	0.041
Skd2	0.176	0.216	0.050
Adh	0.033	0.092	0.061
Общо	0.073	0.142	0.074
95% CI*	0.034 – 0.137	0.091 – 0.197	0.050 – 0.094

* CI (confidence interval) – доверителен интервал

4.1.4. Разпределение на индивидуалната хетерозиготност в изследваните популации

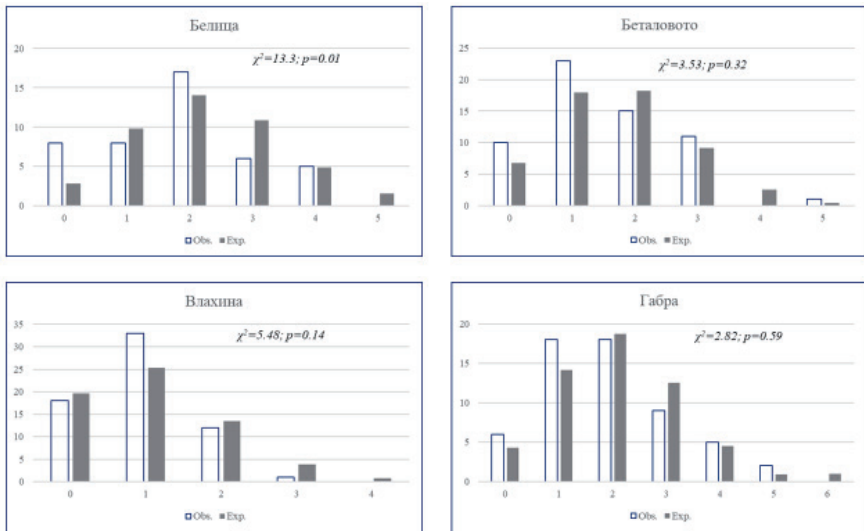
В проучването на генетичната структура на популациите хетерозиготността е една от най-често използваните мерки за генетично разнообразие (Berg and Hamrick 1997). Разпределението на индивидуалната хетерозиготност рядко се използва като показател за разнообразието, тъй като не е достатъчно добре дефинирана теоретично, но въпреки това тя може да бъде допълнителна характеристика, носеща информация за състоянието в популациите.

Резултатите за разпределение на индивидуалната хетерозиготност в изследваните популации на черния бор показват, че то се различава в различните популации. В четири от шестнадесетте популации (Белица, Казъл Черпа, Клептуза и Корфия), или в 25% от случаите, се установява статистически значимо отклонение на действителното разпределение от теоретично очакваното. Във всички случаи това отклонение се дължи на големия брой индивиди, хетерозиготни само в един локус и по-малкия брой на тези, хетерозиготни в два и повече локуса (Фиг. 4).

В останалите дванадесет случая (75%) значимо отклонение не се наблюдава, което означава, че генетичната структура на тези популации и характерът на опрашването в тях са близки до теоретичните, характерни за панмиктна популация със свободно опрашване. При несъответствията се забелязва, че наблюдаваните стойности са повече от очакваните при по-ниските стойности, докато при по-високите стойности теоретичните стойности са по-високи от действително установените (Фиг. 4).

Резултатите показват, че общо взето в изследваните естествени популации на черния бор протича кръстосване, което е близко до панмиктното, съответстващо на модела за „идеалната популация“. Това означава, че семенната реколта в тези популации е с висока хетерозиготност и те могат да се използват за добив на посевни материали за целите на залесяването, както и за съхраняване на ценния генетичен фонд.

Причините за установените отклонения от теоретичното разпределение може да се дължат на различни фактори, като близкородствено кръстосване, самоопрашване, нехомогенна пространствена структура на популациите, както и други непредвидими фактори.



Фиг. 4. Резултати от χ^2 -тест за съответствие между теоретичното и действителното разпределение на индивидуалната хетерозиготност в популациите на представителна извадка от популациите

Изследванията върху разпределението на индивидуалната хетерозиготност в популациите на иглолистните видове са сравнително малко. Lundkvist (1979), сравнявайки действителното разпределение с биномно разпределение, установява нарастване на броя на хетерозиготните локуси за индивид с увеличаване на надморската височина и бимодално разпределение на индивидуалната хетерозиготност (т.е. разпределение с два пика). Gömöry (1988) разработва малко по-различен модел за теоретично разпределение на индивидуалната хетерозиготност, подчертавайки, че биномно разпределение може да се очаква само ако хетерозиготността е еднаква във всички локуси, което в естествените популации в повечето случаи не е изпълнено. Той установява достоверни разлики между теоретичното и действителното разпределение в някои популации на обикновен смърч в Словакия (Gömöry 1992). У нас за 15 популации на белия бор Doncheva et al. (2003) установяват бимодално разпределение в някои случаи, но във всички изследвани популации няма достоверни разлики между теоретичното и действителното разпределение. Единственото проучване на черен бор е проведено от Zhelev et al. (2010), които установяват,

че в една естествена популация (Триград) и в семепроизводствената градина в Сливен при възрастните индивиди няма достоверно отклонение на действителното от теоретично очакваното разпределение, а такова отклонение е установено само в потомството от семепроизводствената градина.

4.2. Генетична характеристика на семепроизводствените градини

4.2.1. Наследяване на изоензимните варианти

Съответствието с Менделов тип на наследяване е тестван за четири ензимни системи, които са използвани за генетичен анализ на семенната реколта в градините. Резултатите са представени в (Табл. 6). Вижда се, че във всички случаи няма статистически достоверно отклонение на действителното от очакваното разпределение (1:1). Наследяването на изоензимните варианти при черния бор, както и наличието на скачено наследяване е изследвано многократно (Goncharenko et al. 1998, Dogan et al. 1998, Zhelev et al. 2010 и др.).

Таблица 6. Наследяване на изоензимните варианти в генеративната семепроизводствена градина в Симитли

Локус	Брой изследвани индивиди	Алели	Съотношение	χ^2	<i>p</i> -value
Pgi2	15	1:2	52:53	0.009	0.924
Mnr1	15	1:2	50:55	0.238	0.625
Got2	18	1:2	65:61	0.127	0.921
6pg2	10	1:2	35:35	0	1

4.2.2. Системи на кръстосване във вегетативната семепроизводствена градина в ДГС Сливен и в генеративната семепроизводствена градина в ДГС Симитли

Системата на кръстосване най-общо представлява оценка дали кръстосването в рамките на популациите на даден вид е свободно, какви са механизмите на опрашването и дали съществува самоопрашване или близкородствено кръстосване, а също каква е неговата величина. Резултатите за ВСГ Сливен и ГСГ Симитли показват някои общи тенденции, но и разлики между тях. Оценка на алелните честоти в поленовия облак и в семепъпките е представена в Табл. 7. Във всички локуси са установени по три алела, но не във всички слу-

чаи. Алелите Pgi2-3 и bpg2-3 са установени само в поленовения облак на двете градини, а алели Mnr1-3 и Got2-3 – в полена съответно на ВСГ Сливен и ГСГ Симитли. Разликите между алелните честоти в двете градини са сравнително малки, вариращи от 0.003 до 0.139 за поленовения облак и от 0 до 0.165 за семеяпките.

За семеяпроизводствената градина в Сливен са получени стойности, които общо взето, съответстват на резултати от други изследвания върху черния бор и други иглолистни видове.

Таблица 7. Оценка на алелните честоти в полена и в семеяпките в изследваните семеяпроизводствени градини

Локус	Алел	ВСГ Сливен		ГСГ Симитли	
		Полен	Семеяпки	Полен	Семеяпки
Pgi2	1	0.416	0.362	0.466	0.371
	2	0.577	0.638	0.527	0.629
	3	0.007	0.000	0.008	0.000
Mnr1	1	0.382	0.362	0.419	0.500
	2	0.614	0.638	0.581	0.500
	3	0.004	0.000	0.000	0.000
Got2	1	0.473	0.351	0.589	0.516
	2	0.527	0.649	0.388	0.484
	3	0.000	0.000	0.023	0.000
bpg2	1	0.367	0.234	0.375	0.355
	2	0.615	0.766	0.610	0.645
	3	0.018	0.000	0.015	0.000

Резултатите от изследването върху двете семеяпроизводствени градини показват, че степента на кръстосване е по-висока във ВСГ (Сливен), съответно 0.873 и 0.806 многолокусни (t_m) и еднолокусни (t_s) оценки. Същите стойности са съответно 0.623 и 0.530 в ГСГ Симитли (Табл. 8). Коефициентът на инбридинг е положителен и в двата случая, но е статистически достоверно различен от нула само във ВСГ (0.101 срещу 0.032). По този начин двете изследвани семеяпроизводствени градини показват различна генетична ефективност.

Получената стойност на кръстосване е в рамките на тези, регистрирани за други видове бор. Zhelev et al. (2010) отчитат по-високи стойности за същата ВСГ в Сливен – 0.952 мултилокусна оценка и 0.845 еднолокусна оценка. Същите стойности са дори по-високи за

Таблица 8. Оценки на системата на кръстосване (в скоби са дадени стандартните отклонения на оценките)

Параметри	ВСГ Сливен	ГСГ Симитли
F	0.101 (0.088)	0.032 (0.1)
t_m	0.873 (0.038)	0.623 (0.043)
t_s	0.806 (0.054)	0.530 (0.035)
$t_m - t_s$	0.067 (0.030)	0.093 (0.027)
r_p (мултилокусна оценка)	0.037 (0.052)	0.095 (0.096)
r_t	0.168 (0.135)	-0.014 (0.052)

Легенда: F – коефициент на инбридинг на майчините индивиди, t_m – индекс на неродствено кръстосване, мултилокусна оценка, t_s – индекс на неродствено кръстосване, еднолокусна оценка, r_p – корелация на неродствено бащинство, r_t – корелация на t-оценките.

естествено насаждение от същия вид – съответно 0.965 и 0.870. Подобни стойности са отчетени и за други двуиглени борове – в естествените популации на *P. leucodermis* на кръстосване (t_m и t_s) варират от 0.735 до 0.840 (Morgante et al. 1991), в семепроизводствените градини на *P. sylvestris* – 0.98 (Muona and Harju 1989, El-Kassaby et al. 1989). При повечето иглолистни видове нивата на кръстосване са високи, обикновено по-високи от 0,8 и често по-високи от 0,9, но в почти всички проучвания е открит някакъв процент на инбридинг. Çengel et al. (2012) откриват излишък от хетерозиготи в турските популации на *P. nigra* subsp. *pallasiana*, което довежда до отрицателни оценки на коефициента на инбридинг, но те са използвали различен тип генетични маркери. Разликите между t_m и t_s са от порядъка на 0.1. Такива разлики може да се дължат на гаметно неравновесие (Yeh and Morgan 1987) или на отклонения от допусканията, свързани с модела. Когато еднолокусната степен на самоопрашване е по-висока от многолокусната, както е в настоящото изследване, това предполага близкородствено кръстосване или инбридинг. Коефициентът на инбридинг е 0.101 в ВСГ Сливен и 0.032 в ГСГ Симитли, като само в първия случай е значително различен от нула.

Корелационните параметри са по-трудни за тълкуване, тъй като са по-чувствителни към нарушенията на допусканията на модела (Ritland 2002). Корелацията на кръстосване, или вероятността две случайно избрани семена от потомство на един и същи индивид да са пълни сибове, е ниска – 0.037 (ВСГ Сливен) и 0.095 (ГСГ Симитли).

Резултатите, казани по друг начин показват, че около 88% от семената в реколтата на ВСГ Сливен е в резултат на кръстосано опрашване, но това също означава, че минимум 12% от потомството се дължи на самоопрашване. В ГСГ Симитли тези съотношения са 63% от кръстосано опрашване и 37% от самоопрашване.

Иглолистните видове, вкл. и тези от род *Pinus*, са били изследвани многократно по отношение на тяхната система на кръстосване. Някои обобщени резултати са представени в Табл. 15 (от дисертационния труд). Вижда се, че при повечето индексите на неродствено кръстосване са в диапазона 0.8 – 1.0, в който диапазон са и резултатите, получени от настоящото изследване.

Резултатите показват, че от гледна точка на генетичните характеристики семенната реколта от семепроизводствената градина е с добро качество. Въпреки че преди 10 години е пострадала от пожар и около половината от индивидите са загинали, степента на генетично разнообразие в семенната реколта не е намаляла, което личи от високата хетерозиготност и индекс на неродствено кръстосване. Градината може пълноценно да се ползва за добив на посевни материали. Необходими са допълнителни изследвания, за да се установи налетът на чужд полен и неговото значение (генетично присъствие) в семенната реколта.

4.2.3. Генетична характеристика на генеративна семепроизводствена градина в ДГС Елин Пелин

Тъй като схемата на генеративната семепроизводствена градина ДГС Елин Пелин край с. Саранци не е известна, оценката на генетичното разнообразие е направена на базата на популационно-генетични параметри.

Тестът за генетично равновесие (Харди-Вайнберг) показва, че в четири от локусите (50%) има статистически достоверен недостиг на хетерозиготи: *Lap2* ($p = 0.001$), *Pgm* ($p = 0.0008$), *Adh* ($p = 0.003$) и *Skd1* ($p = 0.008$).

Алелните честоти са представени в Табл. 9. Вижда се, че във всички локуси има силно преобладаване на максимално представения алел, с изключение на локуси *Mnr* и *Got2*, честотата на максимално представения алел във всички останали е над 0.9. Това свидетелства за малко по-ниска степен на генетично разнообразие, в сравнение с повечето естествени популации (Табл. 5 от дисертационния труд).

Таблица 9. Алелни честоти в генеративната семепроизводствена градина в ДГС Елин Пелин

Алел	Локус							
	Mnr	Got2	Lap2	6pg1	Pgm	Adh	Skd1	Skd2
A	0.1508	0.6032	0.0079	0.0238	0.0397	0.0794	0.9524	0.0317
B	0.8334	0.3968	0.9604	0.9127	0.9603	0.9206	0.0476	0.9524
C	0.0079		0.0317	0.0635				0.0159
D	0.0079							
Σ	1	1	1	1	1	1	1	1

Показателите на полиморфизма показват, че броят на алелите варира от 2 до 4, а ефективният брой алели – от 1.08 (Lap, Pgm) до 1.91 (Got2).

Както е посочено по-рано в текста на дисертацията, хетерозиготността, в различните ѝ варианти, е един от основните показатели, характеризиращи генетичното разнообразие. Фактът, че в повечето локуси честотата на максимално представения алел е над 0.9 (Табл. 9) обяснява и сравнително по-ниските стойности за хетерозиготността (Табл. 10). Тези стойности са високи за локусите Mnr и Got2, а за останалите локуси в два случая са между 0.1 и 0.2 и в четири – под 0.1 (т.е. под 10%). Коефициентът на инбридинга е средно 0.127, като само за един локус е с отрицателна стойност.

Процентът на полиморфните локуси е 100, ако не се прилага ограничаващ критерий, а ако се приложи ограничаващ критерий 0.95, тогава процентът на полиморфните локуси е 50. Ограничаващ критерий 0.95 означава, че един локус се смята за полиморфен, ако честотата на максимално представения алел не надвишава 0.95. Той се прилага, за да се преодолее ефекта на сравнително малката извадка и оттам – подценяването или надценяването на генетичното разнообразие в една популация за сметка на друга.

Общо погледнато, резултатите показват, че генеративната семепроизводствена градина край с. Саранци (ДГС Елин Пелин), почти не отстъпва по степен на генетично разнообразие на изследваните естествени популации. Средните стойности на показателите на разнообразието от всички популации са близки до тези на градината, като тя превъзхожда около ¼ от естествените популации, но отстъпва, макар и малко, на останалите.

Тук трябва да се подчертае, че тази генетична оценка касае индивидите, включени в градината, т.е. оценява се потенциалът на тези индивиди при кръстосване помежду им да дават генетично разнообразно потомство. Важно би било също да се оцени разнообразието в семенната реколта, тъй като то би имало по-голямо практическо значение във връзка с използването на посевните материали.

Таблица 10. Хетерозиготност и коефициент на инбридинг в генеративната семенпроизводствена градина – ДГС Елин Пелин

Локус	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>He (Nei78)</i>	<i>F</i>
Mnr	0.2698	0.285	0.2827	0.053
Got2	0.381	0.4825	0.4787	0.210
Lap2	0.0476	0.0773	0.0767	0.384
6pg1	0.1111	0.1637	0.1624	0.321
Pgm	0.0476	0.0768	0.0762	0.380
Adh	0.0952	0.1473	0.1461	0.354
Skd1	0.0635	0.0914	0.0907	0.305
Skd2	0.0952	0.0924	0.0917	-0.030
Средна	0.1389	0.1771	0.1757	0.127
Стандартно отклонение	0.1211	0.1417	0.1406	0.157

Легенда: *Ho* – установена хетерозиготност; *He* – очаквана хетерозиготност; *He (Nei)* – очаквана хетерозиготност, изчислена по формулата на Nei (1978) с корекция за размера на извадката, *F* – коефициент на инбридинг ($F = 1 - \frac{Ho}{He}$).

4.3. Проучване на репродуктивната способност и изменчивостта на шишарките и семената в семенпроизводствените градини

4.3.1. Вегетативна семенпроизводствена градина Сливен

Оценката на репродуктивната способност на клоновете, направена по скалата на Корчагин, показва, че повечето клонове семеносят обилно и това се повтаря практически всяка година. Още преди 15 години Недкова (2007) установява, че е налице синхронизация на цъфтежа между клоновете, включени в семенпроизводствената градина и поради това такова изследване не е правено в настоящата работа. Вижда се (Фиг. 5), че преобладават индивидите от 4 клас, но също е голям броят и процентът индивиди от 5 клас – възможно най-високия клас с обилно семеносене. С по-малък дял са индивидите и клонове-

те от по-ниските класове, което показва, че реколтата е достатъчна за добив на значителни количества семена всяка година.

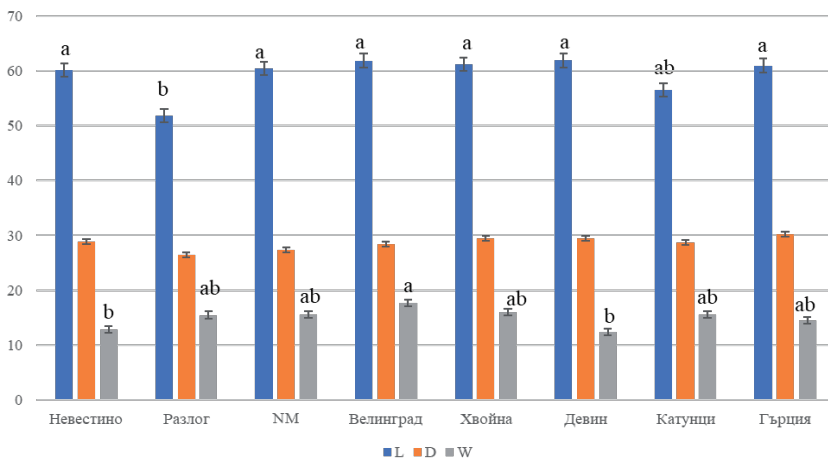


Фиг. 5. Оценка на репродуктивната способност на клоновете в семепроизводствената градина в Сливен

Изследването на размерите на шишарките показва, че варирането и по дължина, и по широчина е високо както в рамките на отделните клонове, така и между клоновете (Фиг. 6). Установени са статистически значими разлики между някои клонове, което подчертава ролята на наследствения фактор за формирането на тези признаци.

По-интересен е въпросът за индивидуалната маса на семената. Lindgren (1982) показва, че фракционирането на семената би могло да има значение в селекцията. В настоящото проучване е установена изключително висока изменчивост на този показател, което се илюстрира от стойностите на вариационния коефициент (Табл. 18 от дисертационния труд). До момента не са правени допълнителни изследвания на индивидуално ниво на семената.

Размери на шишарките по произходи - ВСГ Сливен

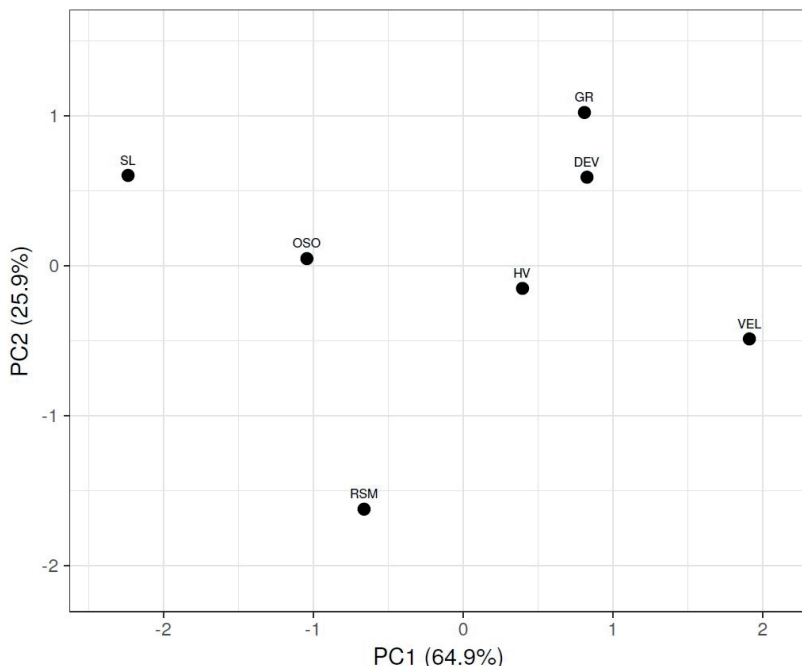


Фиг. 6. Размери на шишарките на клоновете от семепроизводствената градина в Сливен по произходи

Данните от статистическата обработка на данните за размерите на шишарките са представени в Приложение 5 (от дисертационния труд). На Фиг. 6 са представени данни за средните стойности обединено за различните произходи. Вижда се, че с най-високи стойности по отношение на дължината на шишарките е произход Девин, а с най-ниски – Разлог. Разложките обаче са статистически достоверни само между Разлог и останалите произходи, като между Разлог и Катунци (Славянка) разликата не е статистически достоверна. Съотношението между дължината и широчината е близко до 2, като в редки случаи се проявяват по-значителни отклонения (т. нар. в статистиката “outliers”) – най-ниската стойност е 1.75, а най-високата – 2.59 (Приложение 5 от дисертационния труд). Тези отклонения могат да служат като средство за идентификация на шишарките на тези клонове. Вариационният коефициент има стойности в повечето случаи между 5 и 10%, което показва от ниска до средна изменчивост, според скалата на Мамаев (1972), като в редки случаи достига до 16.

Масата на шишарките в затворено, неизсушено състояние, варира в широки граници – между 9 и 24 g, но в повечето случаи е приблизително 15 ± 2 g (Приложение 6 от дисертационния труд). Ва-

риационният коефициент на този показател има сравнително високи стойности – между 10 и 20%, а в редица случаи – над 20%, което показва по-висока изменчивост

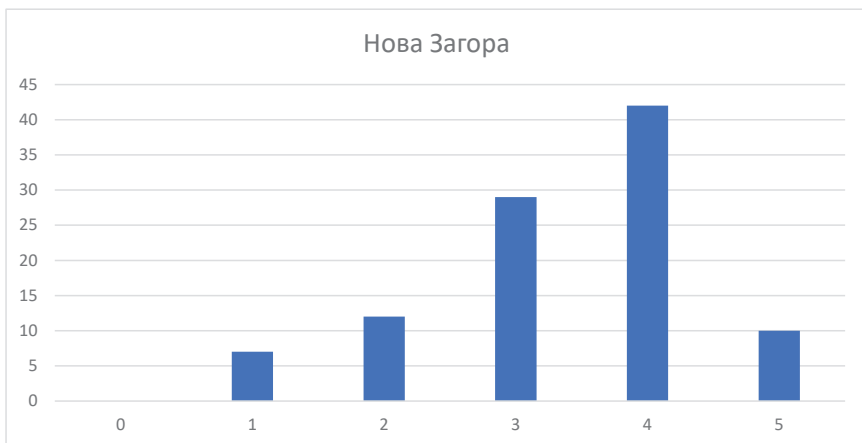


Фиг. 7. Анализ на главните компоненти (Principal components analysis) на признаците на шишарките за различните произходи – ВСГ Сливен.

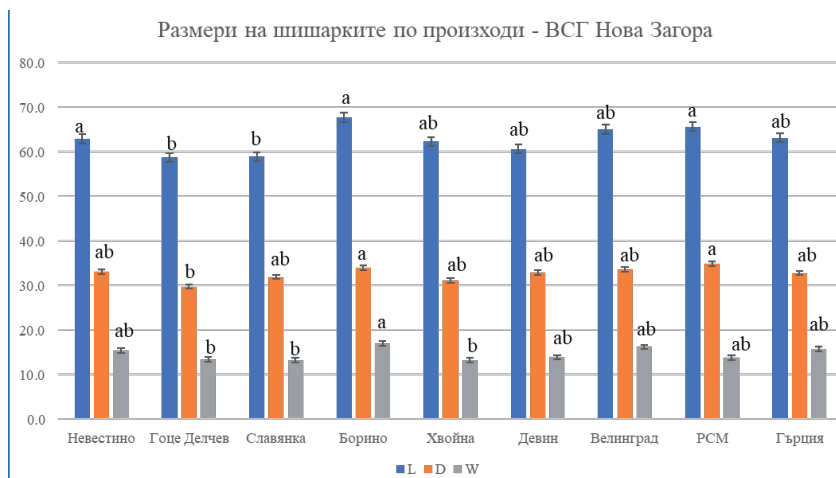
Легенда: DEV – Девин, GR – Гърция, HV – Хвойна, OSO – Осогово, RSM – Република Северна Македония, SL – Славянка, VEL – Велинград.

4.3.2. Вегетативна семепроизводствена градина Нова Загора

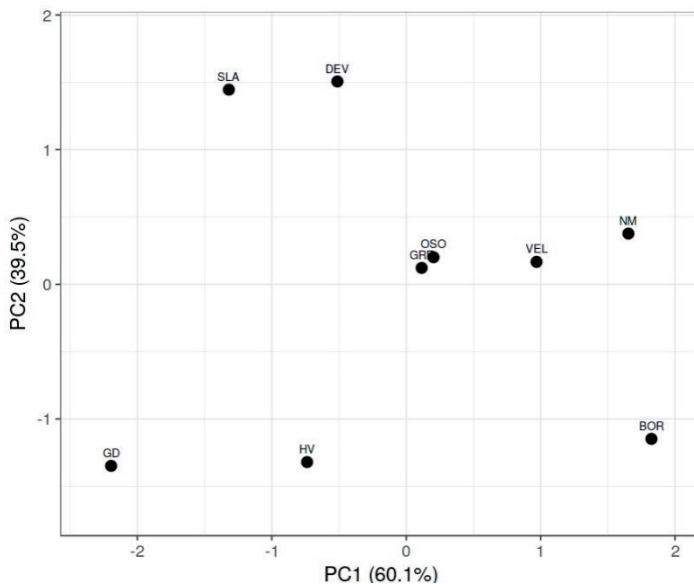
Вегетативната семепроизводствена градина в Нова Загора показва близки стойности на репродуктивна способност на клоновете до градината в Сливен (Фиг. 8). Разликата е, че частта на индивидите от най-високия клас е по-малка.



Фиг. 8. Оценка на репродуктивната способност на клоновете в семепроизводствената градина в Нова Загора

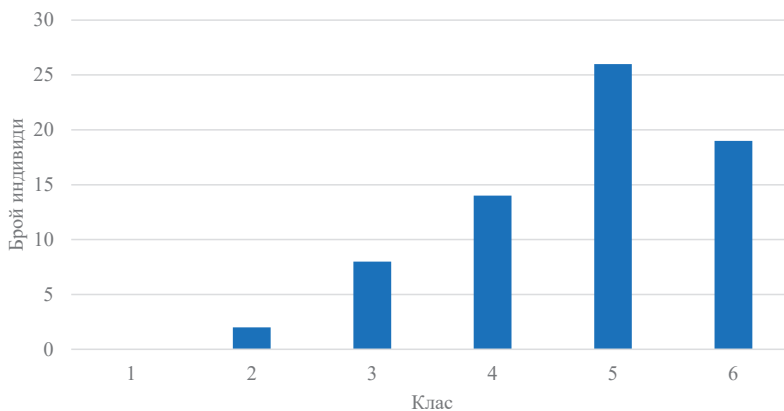


Фиг. 9. Размери на шишарките от различните произходи във вегетативната семепроизводствена градина в Нова Загора (\pm стандартни грешки)

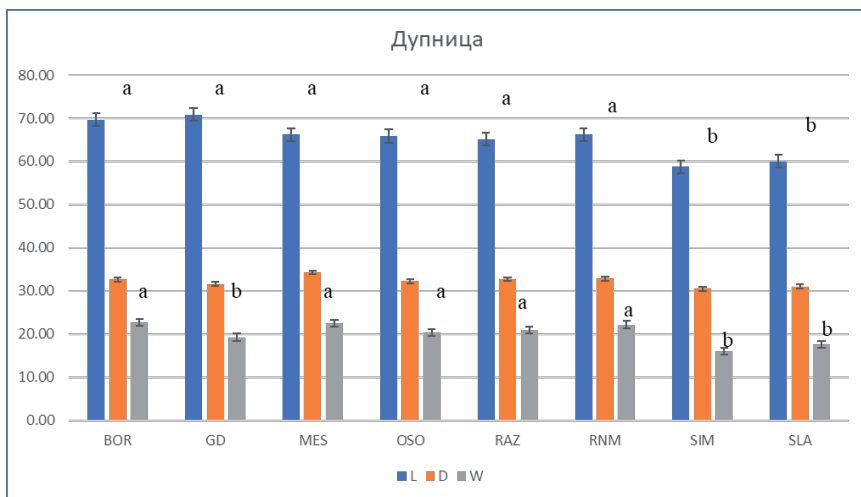


Фиг. 10. Анализ на главните компоненти (PCA) на базата на показателите на шишарките – ВСГ Нова Загора. Легенда: BOR – Борино, DEV – Девин, GD – Гоце Делчев, GRE – Гърция, HV – Хвойна, NM – Северна Македония; OSO – Осогово; SLA – Славянка; VEL – Велинград

4.3.3. Вегетативна семенпроизводствена градина – Дупница



Фиг. 11. Оценка на репродуктивната способност на клоновете във ВСГ Дупница

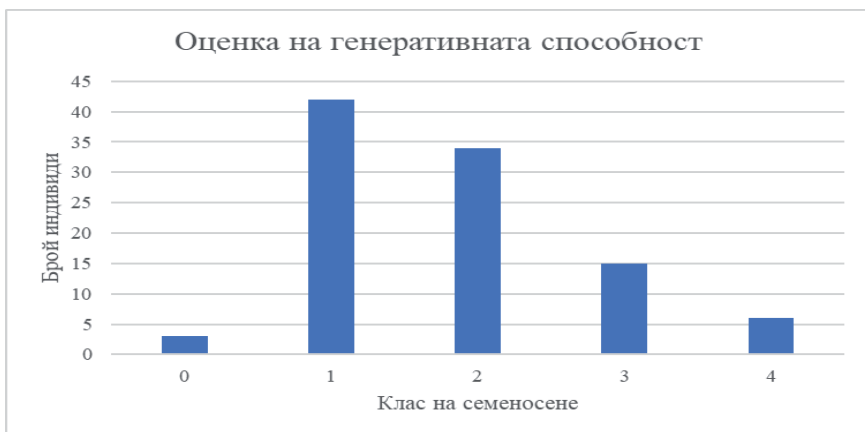


Фиг. 12. Средни стойности за показателите дължина, широчина и маса на шишарките за ВСГ Дупница. Средните стойности, над които са посочени еднакви букви, не се различават статистически достоверно при $p \leq 0.05$. Стойностите за широчина на шишарките не се различават статистически достоверно. Легенда: BOR – Борино, GD – Гоце Делчев, MES – Места, OSO – Осогово, RAZ – Разлог, RNM – Република Северна Македония, SIM – Симитли, SLA – Славянка.

4.3.4. Генеративна семенпроизводствена градина – Симитли

Генеративната способност на дърветата в семенпроизводствената градина е сравнително ниска.

Резултатите от оценката на генеративната способност показаха, че реколтата през тази година е много слаба. На графиката (Фиг. 13) се вижда, че преобладават дърветата с малко и с много малко шишарки (балове 1 и 2). Отчетени са точно 100 дървета, така че стълбовете в диаграмата показват не само бройки, но и процент. С най-висок процент са дърветата от бал 1, следвани от тези от бал 2 и т.н. От бал 5 – с много шишарки във всички части на короната – не са установени дървета.



Фиг. 13. Оценка на генеративната способност в ГСГ Симитли

4.3.5. Коефициенти на наследяемост в широк смисъл (повторяемост) на признаците на шишарките във вегетативните семепроизводствени градини

Резултатите от дисперсионния анализ показват, че и в трите ВСГ съществуват достоверни разлики между клоновете по отношение на всички изследвани признаци, което дава основание по-нататък за изчисляване на коефициента на наследяемост в широк смисъл. Самите коефициенти са представени на Таблица 11. Вижда се, че за различните признаци коефициентите на наследяемост в широк смисъл (наричани също коефициенти на повторяемост) варират между 0.38 и 0.62, което означава, че от 38 до 62% от общото вариране се дължи на генетични причини, т.е. на генетични разлики между клоновете.

Получените в настоящата дисертация резултати са по-ниски, но в някои случаи и съпоставими с тези, съобщавани от други автори за иглолистни видове. За черния бор Matziris (1993) установява стойности 0.82 – 0.88 за признака плодовитост (образуване на шишарки). Същият автор (Matziris 1997) установява за *Pinus halepensis* по-ниски коефициенти (0.41 – 0.46). За белия бор Jonsson et al. (1976) установяват стойност на коефициента на повторяемост 0.38, а изследвания от последните 10 години в семепроизводствени градини за иглолистни видове установяват стойности 0.91 за *Pinus radiata* (Codesido and

Fernández-López 2014), 0.80 за *Pinus patula* (Muñoz-Gutiérrez et al. 2020) и 0.57 за *Abies alba* (Teodosiu et al. 2023) in *Abies alba*, като в повечето случаи са установени варирания между отделните градини.

Тези резултати подчертават възможностите за прилагане на селекционни методи и за отбор на най-добрите клонове.

Таблица 11. Коефициент на наследяемост в широк смисъл на изследваните признаци на шишарките.

	Дължина на шишарките	Широчина на шишарките	Маса на шишарките
ВСГ Сливен	0.38	0.50	0.41
ВСГ Нова Загора	0.52	0.47	0.62
ВСГ Дупница	0.52	0.56	0.54

ИЗВОДИ И ПРЕПОРЪКИ

На базата на проведените проучвания може да бъдат направени следните по-важни изводи.

1. Естествените популации на вида у нас се характеризират със сравнително високо вътрепопулационно генетично разнообразие, докато междупопулационното генетично разнообразие е сравнително ниско – около 7% от общото вариране се дължи на генетични разлики между популациите.

2. Групирането на изследваните популации на базата на тяхната генетична структура не показва категорична тенденция; ясно се групират популациите от Югозападна България, както и някои други, географски близко разположени популации (Триград, Ягодина).

3. Във вегетативната семепроизводствена градина в Сливен и в генеративната семепроизводствена градина в Симитли преобладава кръстосаното опрашване между индивидите – около 87% от семенното потомство във ВСГ и около 63% в ГСГ е резултат от неродствено кръстосване, а останалата част – от самоопрашване и/или близкородствено кръстосване. Вегетативната семепроизводствена градина показва по-висока генетична ефективност.

4. Генеративната семепроизводствена градина в ДГС Елин Пелин има средно ниво на генетично разнообразие и на настоящия етап не превъзхожда в това отношение повечето естествени популации.

5. На настоящия етап вегетативните семепроизводствени градини значително превъзхождат генеративните по отношение на репродуктивна способност, което е обусловено от различни фактори – възраст на градините и условия на конкретната среда.

6. Изменчивостта на размерите на шишарките от семенната реколта във всички градини е висока – всички признаци варират в широки граници, което прави труден техния анализ, но подчертава ролята на наследствения фактор за формирането на тези признаци.

7. Изменчивостта на масата на единични семена от черен бор е много висока, но генетичното ѝ значение се нуждае от допълнително изясняване.

8. Наследяемостта в широк смисъл на признаците на шишарките за различните ВСГ е сравнително висока, което показва генетичните разлики между клоновете по тези показатели.

9. Генетичната оценка на популациите на черния бор у нас след-

ва да се прави на базата на набор от показатели, включващи както неутралното вариране на генетични маркери, така и адаптивни признаци на индивидуално (вкл. клоново) и популационно ниво.

10. Изследваните генетични ресурси на черния бор у нас като цяло може да бъдат оценени като представляващи уникален генетичен фонд, но тяхното значение от гледна точка на добив на репродуктивни материали за практиката е различно и следва да бъде оценявано за естествените популации, вегетативните и генеративните семепроизводствени градини поотделно.

Изводите дават основания за някои препоръки, които произтичат както от проблемите, срещнати при настоящото проучване, така и от по-общи съображения, отразяващи международния опит в това отношение.

Препоръки

1. Необходима е спешна инвентаризация на създадените семепроизводствени градини от различен тип у нас, които са ценен и слабо използван генетичен ресурс.

2. Препоръчително е да се проучи генетичната структура на семенната реколта в семепроизводствените градини, като се сравни тяхната ефективност.

3. За по-добра характеристика и оценка на наличните генетични ресурси на черния бор е необходимо приложението на по-високо информативни маркери.

4. За да се изяснят някои по-фундаментални въпроси, свързани с географската изменчивост, систематиката и мястото на българските популации в рамките на вида, проучванията у нас трябва да се поставят в контекста на международните научни програми за черния бор.

СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ В ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

В настоящата дисертация са постигнати следните по-важни научни приноси:

1. Установено е разпределението на генетичното разнообразие в естествените популации и между популациите на черния бор в България на базата на изоензимни генетични маркери.

2. Установено е съответствие между теоретично очакваното и

действително разпределение на индивидуалната хетерозиготност.

3. Изследвани са някои генетични аспекти на репродуктивния процес, като са установени сравнително високи индекси на неродствено кръстосване и ниски коефициенти на инбридинг.

4. Доказано е, че семенната реколта в семепроизводствените градини е резултат предимно от кръстосано опрашване между включените в градините клонове и индивиди.

5. Проучено е нивото на генетично разнообразие във вегетативни и генеративни семепроизводствени градини.

6. Демонстрирана е по-високата генетична ефективност на вегетативните семепроизводствени градини в сравнение с генеративните.

7. Установени са степента и характерът на изменчивост на шарките на клоновете от семепроизводствените градини и са получени високи стойности на наследяемостта в широк смисъл.

СПИСЪК С ПУБЛИКАЦИИТЕ ПО ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Shuleva, S., D. Dilchovska-Nikolova, P. Zhelev. Genetic diversity in natural populations of *Pinus nigra* Arn. in Bulgaria. – In: Nauka za gorata, 2023, 59(1), 47 – 58.

2. Shuleva, S., V. Gagov, P. Zhelev. Outcrossing rates in a seed orchard of *Pinus nigra* Arn. – In: Silva Balcanica, 2023, 24(1), 47 – 54.

БЛАГОДАРНОСТИ

Изказвам сърдечна благодарност на научните си ръководители проф. Петър Желев и доц. Величко Гагов за доверието, неоченимата помощ, препоръките и съветите при разработването на настоящия труд.

Сърдечна благодарност изказвам и на инж. Свилена Божинова, която ме насърчи и ми даде възможност да започна това обучение. Искрена благодарност дължа и на всички бивши и настоящи колеги от Горска семеконтролна станция – гр. София.

Благодаря на д-р Моника Конерт и д-р Ева Кремер от Баварската научна станция в Тайзендорф, Германия, за съветите и помощта при биохимичните анализи.

Благодаря на своето семейство за търпението и подкрепата през цялото време.