

УДК

## СТАДИЯ РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА, ОПТИМАЛЬНАЯ ДЛЯ ИСКУССТВЕННОГО ОПЫЛЕНИЯ, ВАРЬИРУЕТ В РОДЕ ГОРОХ (*PISUM* L.)

© 2014 г. О.Э. Костерин, В.С. Богданова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,  
e-mail: kosterin@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию &&&& 2014 г. Принята к публикации &&&& 2014 г.

С целью оптимизировать процедуру искусственного опыления для разных видов и подвидов гороха у 8 образцов, принадлежащих таксонам *Pisum fulvum*, *Pisum sativum* ssp. *elatius* (дикие), *P. abyssinicum* и *P. sativum* ssp. *sativum* (культивируемые), сравнивалась эффективность искусственного опыления (среднее число семян на один опыленный цветок) собственной пылью при использовании трех способов опыления: 1) сразу после кастрации бутона на стадии до раскрытия пыльников; 2) после раскрытия цветка, кастрированного на той же стадии (отложенное опыление), и 3) двукратное опыление, как в методах (1) и (2). У культурных форм эффективность опыления всеми тремя способами не различалась. У диких форм метод (2) по сравнению с методом (1) показал сходные или лучшие результаты, а метод (3) показал результаты, сравнимые с таковыми для метода (2). Для образца 721 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) с особо крупными цветками метод 2 (отложенное опыление) оказался в 12 раз эффективнее метода (1). Для дикорастущих форм гороха можно рекомендовать отложенное опыление.

**Ключевые слова:** дикий горох, *Pisum* L., искусственное опыление, самоопыление.

### ВВЕДЕНИЕ

Искусственное опыление было одной из первых экспериментальных технологий в генетике. Г. Мендель (Mendel, 1866) потратил годы на методическую подготовку своих экспериментов, включая выбор гороха в качестве экспериментального объекта и отработку процедуры скрещивания, и прекратил свои исследования закономерностей наследования, когда не сумел выработать эффективный метод искусственного опыления для ястребинки (*Hieracium*) (Nogler, 2006). Процедура скрещивания со времен Менделя не изменилась. Лодочка разрезается или удаляется, прежде чем венчик приобретает антоциановую окраску и раскрывается, пыльники удаляются путем обрывания тычиночных нитей пинцетом и нужная пыльца наносится на рыльце без необходимости в какой-либо

защите от дальнейшего опыления. Процедура основывается на двух допущениях: а) пестик приобретает компетенцию к опылению до раскрытия венчика и б) после раскрытия венчика дальнейшее опыление маловероятно. Эти допущения подразумевают, что горох является облигатным самоопылителем. Действительно, у гороха пыльники раскрываются на стадии, когда бутон начинает приобретать антоциановое окрашивание, но еще не раскрылся. Однако цветки гороха привлекают пчелиных, и перекрестное опыление все же возможно до 30 % у некоторых местных форм южного происхождения (Loenning, 1984). Опыты по нанесению пыльцы на рыльца раскрытых цветков показали, что на этой стадии пестик все же сохраняет компетенцию к опылению, т. е. в это время некоторые семяпочки остаются неоплодотворенными собственной пылью (Bogdanova, Berdnikov, 2000).

Результаты скрещиваний отдаленных форм гороха для проверки их репродуктивной совместимости (Неопубл.) дали основание заподозрить, что стандартная процедура скрещивания может не быть оптимальной для некоторых дикорастущих представителей рода. Это побудило нас исследовать данный вопрос специально. Чтобы исключить эффекты несовместимости, мы сравнили результат искусственного опыления своей собственной пылью 8 форм гороха тремя разными методами.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованные в работе гомогенные и гомозиготные образцы приведены в табл. 1.

Растения выращивались в теплице в гидроронных стеллажах, наполненных смесью керамзита и вермикулита, с подачей стандартного раствора Кнопа дважды в сутки и при искусственном освещении 10 000–12 000 люкс в течение 16 ч в сутки, в вегетации январь–апрель 2010 г., октябрь–декабрь 2010 г. и март–май

**Таблица 1**

Исследованные образцы гороха, признаки их цветков, среднее ( $i$ ) и максимальное ( $m$ ) число семян в бобе при самоопылении в выборках объема  $n$

Образец	Место происхождения	Признаки цветков	$i$ ( $\pm$ ст. ошибка), $n$	$m$
<i>Pisum fulvum</i> Sibth et Smith, дикорастущий вид из Передней Азии				
WL2140	Израиль, Иерусалим, Долина Креста	по 1–2 на цветонос, небольшие, полностью раскрытые, с коротким парусом	$2,85 \pm 0,06$ $n = 315$	5
<i>Pisum abyssinicum</i> A. Br., культивируется в Эфиопии и Йемене				
VIR2759	Эфиопия	по 1 на цветонос, небольшие	$4,08 \pm 0,17$ $n = 64$	7
<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>elatius</i> (Bieb.) Schmahl. s. 1., дикорастущий подвид из Средиземноморья				
L100 (=J13273; =712 in Ben-Ze'ev, Zohary, 1973)	Израиль, 10 км южнее Беер-Шевы	по 1, изредка по 2 на цветонос, цветоножка направлена под углом к оси цветоноса, небольшие, широкооткрытые, парус слегка укорочен	$3,62 \pm 0,21$ $n = 37$	6
VIR320	«Палестина»	по 1, изредка по 2 на цветонос, укорачивающийся к более высоким узлам, небольшие, широкооткрытые	$4,87 \pm 0,11$ $n = 239$	9
721 (in Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; =J13262)	Израиль, г. Кармель, 5 км северо-западнее Зихон Яаакова	по 1 на очень длинном, дугообразно изогнутом цветоносе, крупные, широкооткрытые, парус непропорционально увеличен, около 3,5 см шириной	$4,06 \pm 0,36$ $n = 32$	7
J11794	Израиль/Сирия (спорная территория). Голанские высоты, Тель Абу Нида	по 1 на очень коротком цветоносе, мелкие, крылья, узкие, парус не вполне раскрывается и остается свернутым, так что наибольшую ширину цветок имеет у основания, пигментация очень слабая	$3,70 \pm 0,29$ $n = 36$	6
CE1 (=J12629)	Украина, Крым, Симеиз	по 1 на коротком цветоносе, мелкие, кажутся узкими и заостренными, крылья узкие, парус не вполне раскрывается и остается свернутым, пигментация очень слабая	$2,75 \pm 0,14$ $n = 110$	6
<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>sativum</i> L., cultivated worldwide				
WL1238	Тестерная линия	по 2, редко по 1 на очень коротком цветоносе, крылья редуцированы (kk); пигментация почти отсутствует (kk bb)	статистических данных нет	8

2012 г., далее обозначаемые как «весна 2010», «осень 2010» и «весна 2012».

Бутоны кастрировались посредством сагиттального разрезания лодочки и удаления пыльников пинцетом за несколько часов до появления антоциановой пигментации. Цветки образцов Л1794 и СЕ1 слабопигментированы, их бутоны кастрировались на той же стадии, будучи оцениваемы по размеру и форме. Пестики опылялись пыльцой, взятой у того же самого образца, одним из трех способов:

1) сразу после кастрации (немедленное опыление, стандартный);

2) когда венчик уже раскрыт и окрашен (отложенное опыление). Это происходило на следующий день после кастрации у всех образцов, кроме 721. У этого образца с очень крупными цветками развитие их занимает больше времени, поэтому их приходилось опылять по способу (2) на второй день после кастрации.

3) дважды, как при способах (1) и (2) (двукратное опыление).

Все три метода применялись случайным образом к цветкам с одних и тех же растений. Около 30 скрещиваний было проведено весной 2010 и 2012 гг. О.Э. Костериным и осенью 2010 г. В.С. Богдановой. Семена собирались индивидуально с каждого боба весной 2010 и 2012 гг., но в единые выборки для каждого образца и способа скрещивания осенью 2010 г.

Для каждого образца и способа подсчитывалось число проведенных скрещиваний ( $C$ ), бобов ( $P$ ) и семян ( $N$ ), а также вычислялось среднее число бобов на скрещивание ( $p = P/C$ ), семян на боб ( $s = N/P$ ) и семян на скрещивание ( $e = N/C$ ); последний параметр отражал эффективность скрещивания.

Значения параметров при трех способах опыления сравнивались у одних и тех же образцов в один и тот же сезон. Параметр  $p$  – выборочная оценка вероятности формирования боба после скрещивания; различия его значений оценивались как различия экспериментальных частот после  $\phi$ -преобразования Фишера (Fischer, 1953) посредством  $t$ -критерия Велша, представляющего собой обобщение  $t$ -критерия Стьюдента для случая произвольных вариантов (Welsh, 1947). Параметр  $s$  – вероятность оплодотворения, умноженная на число семяпочек в пестике, – представляет собой количествен-

ный признак, зависящий от континуальных факторов, но округленный до целых величин. Параметр  $e$  – произведение  $p$  и  $s$ , являясь, таким образом, суперпозицией случайных событий разного типа. Распределение экспериментальных численностей по  $e$  идентично таковому по  $s$ , за исключением того, что к нулевому классу добавлено число скрещенных цветков, которые не образовали бобов. В тех случаях, когда бобы собирались индивидуально, мы подсчитывали число семян в индивидуальных бобах ( $S$ ), вычисляли дисперсию этого параметра  $\sigma_S^2$ , а также дисперсию  $\sigma_E^2$ , полагая  $S=0$  для каждого скрещивания, не завершившегося образованием боба, и использовали эти дисперсии для оценки существенности различий средних  $s$  и  $e$  с помощью критерия Уэлша.

В весеннюю генерацию 2013 г. на выборках индивидуальных бобов было подсчитано число семян, образовавшихся за счет естественного самоопыления, его среднее  $i$  и среднеквадратическое отклонение также приведены в табл. 1 в качестве характеристики образца.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Численные данные и значения параметров представлены в табл. 2. Для скрещиваний осени 2010 г. у нас отсутствуют данные по индивидуальным бобам. Заметим, однако, что в тех случаях, когда такие данные имеются, у всех образцов, кроме 721 и СЕ1, среднеквадратические отклонения  $\sigma_s$  и  $\sigma_E$  незначительно варьировали от способа к способу. Поэтому для статистических сравнений данных осени 2010 г. мы использовали наивысшее (с целью избежать переоценки различий) значение дисперсии каждого параметра из полученных весной 2012 г. Например, для данных осени 2010 г. по образцу VIR2759 мы принимали 1,76 в качестве значения  $\sigma_E$  для всех трех способов. Для образца Л1794 у нас не было данных по весне 2012 г., и мы в качестве значения как  $\sigma_s$ , так и  $\sigma_E$   $t$ , принимали 2,00 (чуть выше, чем значения, наблюдаемые для VIR2759, показавшего значения  $s$  и  $e$ , очень близкие к Л1794).

У большинства образцов значение  $p$  слабо варьировало в зависимости от способа опыления. У VIR320 для способа (2) оно было почти вдвое больше, чем для способов (1) и (3) при

Таблица 2

Число скрещиваний ( $C$ ) образцов гороха самих на себя, проведенных тремя способами:  
немедленное опыление (способ (1)), отложенное опыление (способ (2))  
и двукратное опыление (способ (3), детали в тексте),  
число образовавшихся бобов ( $P$ ) и семян ( $N$ ), среднее число бобов на скрещивание ( $p$ ),  
среднее число семян на боб ( $s$ ), среднее ( $e$ , эффективность)  
и среднеквадратическое отклонение ( $\sigma_E$ ) числа семян на скрещивание

Образец, вегетация	Способ	$C$	$P$	$S$	$p$	$s$	$e$	$\sigma_E$
WL2140 осень 2010 г.	1	42	32	81	0,76	2,53* <sub>2</sub>	1,93* <sub>2</sub>	
	2	30	27	89	0,90	3,22	2,90	
	3	39	32	91	0,82	2,84	2,33	
WL2140 весна 2012 г.	1	38	33	90	0,87** <sub>3</sub>	2,73 ± 0,20	2,37 ± 0,23	1,40
	2	36	28	86	0,78	3,07 ± 0,22	2,39 ± 0,28	1,66
	3	38	22	71	0,58	3,23 ± 0,25	1,87 ± 0,30	1,85
VIR2759 осень 2010 г.	1	41	21	75	0,51	3,57	1,83	
	2	35	16	43	0,46	2,69	1,23* <sub>3</sub>	
	3	27	19	57	0,70	3,00	2,11	
VIR2759 весна 2012 г.	1	37	19	32	0,51	1,68 ± 0,46	0,86 ± 0,27	1,65
	2	36	29	58	0,81** <sub>1,3</sub>	2,00 ± 0,33	1,61 ± 0,29	1,76
	3	30	17	19	0,56	1,12 ± 0,36	0,63 ± 0,23	1,25
L100 (=712) осень 2010 г.	1	54	33	79	0,61	2,39* <sub>3</sub>	1,46*** <sub>3</sub>	
	2	34	25	79	0,74	3,16	2,32	
	3	48	40	141	0,83	3,52	2,94	
L100 (=712) весна 2012 г.	1	37	25	86	0,68	3,44 ± 0,29* <sub>2</sub>	2,32 ± 0,33*** <sub>2</sub>	2,03
	2	30	28	122	0,93	4,36 ± 0,34	4,07 ± 0,37** <sub>3</sub>	2,05
	3	38	27	103	0,71	3,81 ± 0,26	2,71 ± 0,34	2,09
Л1794 осень 2010 г.	1	30	15	18	0,50	1,20	0,60	
	2	33	23	25	0,70	2,24	0,76	
	3	29	17	38	0,59	1,09	1,31	
721 (=Л3262) весна 2010	1	38	4	4	0,11*** <sub>2,3</sub>	1,00 ± 0,41** <sub>2,3</sub>	0,11 ± 0,06** <sub>2,3</sub>	0,39
	2	34	13	45	0,40	3,46 ± 0,70	1,32 ± 0,39	2,29
	3	25	11	49	0,44	4,46 ± 0,87	1,96 ± 0,58	2,92
CE1 (=Л2629) весна 2010	1	34	25	31	0,74	1,24 ± 0,41	0,91 ± 0,31	1,82
	2	30	23	31	0,77	1,35 ± 0,26	1,03 ± 0,23	1,25
	3	26	20	22	0,77	1,10 ± 0,26	0,85 ± 0,22	1,12
VIR320 весна 2010	1	34	16	41	0,47	2,56 ± 0,44* <sub>3</sub>	1,21 ± 0,30*** <sub>3</sub>	1,75
	2	37	18	70	0,90*** <sub>1,3</sub>	3,89 ± 0,62	1,89 ± 0,44** <sub>3</sub>	2,66
	3	30	27	113	0,49	4,19 ± 0,40	3,77 ± 0,43	2,34

## Окончание таблицы 2

Образец вегетация	Способ	<i>C</i>	<i>P</i>	<i>S</i>	<i>p</i>	<i>s</i>	<i>e</i>	$\sigma_E$
WL1238 весна 2010	1	26	18	48	0,69	2,67 ± 0,29	1,85 ± 0,32	1,62
	2	28	18	44	0,64	2,44 ± 0,45	1,57 ± 0,37	1,93
	3	31	25	68	0,81	2,72 ± 0,30	2,19 ± 0,31	1,72
WL1238 весна 2012	1	36	23	59	0,64	2,57 ± 0,24	1,64 ± 0,26	1,55
	2	34	27	83	0,79	3,07 ± 0,37	2,44 ± 0,36	2,11
	3	28	20	57	0,74	2,85 ± 0,35	2,04 ± 0,35	1,86

После ± приведена стандартная ошибка. \*  $P < 0,01$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$  для различий между способами опыления, цифры нижнего индекса указывают на то, для сравнения с каким(и) из способов они приведены (например, \*\*\*<sub>2,3</sub> при значении для способа (1) указывает на значимость его отличия от значений для способов (2) и (3)).

высокой статистической достоверности различий (соответственно  $t = 4,16$  и  $3,86$ ;  $P < 0,001$ ). Образец 721 оказался исключительным, продемонстрировав вчетверо меньшее значение  $p$  (0,11) для способа (1) (при котором в 38 проведенных скрещиваниях сформировалось только 4 боба) по сравнению со способами (2) – 0,40 и (3) – 0,44, также при высокой достоверности различий ( $t = 2,94$  при сравнении способов (1) и (2) и  $3,01$  при сравнении способов (1) и (3),  $P < 0,01$ ). Два других случая статистически значимых различий ( $P < 0,01$ ) были умеренны по величине (около полутора раз) и наблюдались весной 2012 г., но не в аналогичном эксперименте осенью 2010 г.: более высокое значение для способа (1) по сравнению со способом (3) у WL2140 и более высокое значение для способа (2) по сравнению со способами (1) и (3) у VIR2759.

Значение параметра  $s$  также в большинстве случаев варьировало от способа к способу незначительно. Это означает, что (а) если боб сформировался, количество семян мало зависит от времени опыления, и (б) второе опыление не повреждает пестика, но и не добавляет семян. Наиболее сильные эффекты – на 1 %-м уровне значимости; увеличение приблизительно в 3,5 и 4,5 раза соответственно для способов (2) и (3) по сравнению со способом (1) наблюдалось у образца 721. У VIR320 наблюдались эффекты тех же направления и амплитуды, но с меньшей статистической существенностью (уровень значимости 5 % для сравнения способов (1) и (3)). Небольшие эффекты с 5 %-м уровнем значи-

мости у WL2140 и L100 не воспроизвелись в разные годы: у WL2140 некоторое превосходство способа (2) над способом (1) не было статистически значимым весной 2012 г., тогда как у L100 способ (1) давал существенно меньшие значения по сравнению со способом (3) осенью 2010 г. и со способом (2) весной 2012 г.

Небезынтересно сравнить среднее число семян в бобе после скрещивания (табл. 2) со средним числом семян в бобе при самоопылении,  $i$  (табл. 1). Заметим, что последнее оказалось много меньше, чем максимально возможное число семян в бобе (табл. 1). У большинства образцов значение  $s$  как минимум для некоторых способов было сравнимо со значением  $i$ . У JI2140, VIR320, L100 (весенний опыт) и 721 некоторые из значений  $s$  даже превосходили значения  $i$ . Только у JI1794 наибольшее значение  $s$  (в случае способа (2)) составляло лишь 60 % от значения  $i$ , у CE1 наибольшее значение  $s$  (в случае того же способа) составляло 71 % от значения  $i$ . К сожалению, значения  $s$  и  $i$ , будучи полученными в разные годы, не вполне сопоставимы; в то же время эти данные свидетельствуют о том, что как минимум один из способов всегда обеспечивает достаточное опыление.

Значение  $e$ , т. е. среднее число полученных семян на одно скрещивание, показало статистически значимые различия между способами опыления у 5 образцов (JI2140, VIR2759, JI3723, 721, VIR320) и не показало их у образцов JI1794, CE1 и WL1238. Однако в случаях, когда один и тот же образец участвовал в опытах как осенью 2010 г., так и весной 2012 г., результаты

воспроизвелись только у WL1238. У JI2140 и VIR2759 статистически значимые эффекты наблюдались осенью 2010 г. и не наблюдались весной 2012 г. У L100 некоторые различия были высокодостоверны, но не воспроизводились в отношении направления: значение  $e$  для способа (1) было приблизительно вдвое выше, чем для способа (3) осенью 2010 г., а весной 2012 г. эти способы дали сходные результаты, тогда как значение для способа (2) оказалось в полтора раза больше. У 320 значение  $e$  увеличилось от способа (1) к способу (2) и далее к способу (3), так что при способах (1) и (3) оно различалось почти втрое при высокой значимости разницы между способом (3) и двумя другими.

Наиболее сильный эффект наблюдался у образца 721, у которого значение  $e$  показало более чем десятикратное увеличение от способа (1) к способу (2) (с 0,11 до 1,32,  $t = 3,04$ , 35 степеней свободы (d.f.),  $P < 0,01$ ) и далее увеличилось еще примерно в полтора раза (хотя и статистически незначимо:  $t = 0,91$ , 44 d.f.,  $P < 0,3$ ) к способу (3).

Среднее число бобов на скрещивание ( $p$ ) нельзя интерпретировать однозначно. Боб может не сформироваться по двум причинам: а) если не оплодотворена ни одна семяпочка, хотя в таких случаях могут появляться небольшие пустые бобы (особенно часто у VIR2759, CE1 и JI1794; засчитываются как бобы с 0 семян) и б) если пестик повреждается механически. Однако наиболее травмоопасной процедурой является кастрация, которая проводилась идентично для всех трех способов. Опыление – процедура более тонкая, но три способа различались именно ею. Мы могли бы ожидать, что повреждение пестика во время опыления более вероятно при способах (1) и (3), когда пинцет прикасается к более уязвимому молодому пестику, чем при использовании метода (2). У VIR320 мы действительно сталкиваемся с ситуацией, когда значение  $p$  оказывается много больше для способа (2), чем для двух других способов; небольшие различия того же рода наблюдались у VIR2759 весной 2012 г., но не у других образцов. Четырехкратное уменьшение значения  $p$  при способе (1) по сравнению со способами (2) и (3) не может быть отнесено на счет механического повреждения и, вероятно, имеет место вследствие неоплодотворения семяпочек.

Эффективность скрещиваний,  $e$ , – наиболее важный для нас параметр. Будучи произведением  $p$  и  $s$ , этот параметр мог бы аккумулировать незначительную изменчивость последних. Однако наши данные показывают, что статистически значимые различия значений  $e$  конкордантны значениям  $s$ , часто с несколько большей значимостью различий, но не  $p$  (в весеннем опыте 2012 г. WL2140 и VIR2759 продемонстрировали значимые различия способов опыления для значений  $p$ , но не  $e$ ). Можно заключить, что эффективность скрещиваний ограничивается неопылением семяпочек, а не повреждением пестика.

Относительно значений  $e$  мы имели следующие теоретические ожидания:

– если они больше для способов (1) и (3), чем для способа (2), компетенция пестика к опылению максимальна в еще закрытом бутоне и данный генотип является самоопылителем;

– если они одинаковы для всех трех способов, семяпочки становятся рецептивными в еще закрытом бутоне, но если они при этом не оплодотворяются, то сохраняют рецептивность и в уже раскрытом цветке, причем данный генотип все еще является самоопылителем;

– если они уменьшаются от способа (1) к способу (3), временное окно рецептивности каждой семяпочки довольно коротко, но временное окно, в течение которого разные семяпочки становятся рецептивными, начинается на стадии закрытого бутона и продолжается после раскрытия венчика, а генотип сочетает самоопыление с перекрестным опылением:

– если они больше для способов (2) и (3) по сравнению со способом (1), компетентность пестика максимальна у раскрытого цветка, генотип же является преимущественно перекрестником.

Плохая воспроизводимость результатов для 3 (WL2140, VIR2759 и L100) из 4 образцов, для которых проводились повторные опыты, свидетельствует о том, что эффективность скрещиваний зависит от неких факторов, которые мы не учитывали. В осеннюю тепличную генерацию растения получают меньше естественного освещения из-за короткого светового дня и низкого положения солнца, в весеннюю генерацию температура в теплице гораздо выше (возможно, в нашем случае это самый важный фактор). В

результате мы можем обсуждать только сильные эффекты, связанные со значением  $e$ .

В наши опыты было вовлечено только две культурных, причем независимо domesticiрованных, формы гороха: культивируемый по всему миру *P. sativum* ssp. *sativum* (представлен WL1238) и эндемичный для Йемена и Эфиопии *P. abyssinicum* (представлен VIR2759). Для них различий между способами опыления в значении  $e$  не наблюдалось, за исключением небольшого падения в случае способа (2) у VIR2759 в эксперименте осени 2010 г. Это означает, что оба образца являются самоопылителями – ожидаемое следствие неосознанного отбора в культуре при дефиците опылителей. Таким образом, для культурного гороха лучше всего подходит стандартная процедура скрещивания.

Остальные 6 образцов представляли дикорастущие формы: WL2140 относится к хорошо очерченному виду *Pisum fulvum*, остальные 5 – дикорастущие представители *P. sativum*, в настоящее время условно объединяемые в рыхлый подвид *P. sativum* ssp. *elatius* в широком смысле. Для всех этих образцов и во всех опытах способ (2) давал большие значения  $e$ , чем способ (1), хотя у SE1 (в единственном опыте весной 2010 г.), у WL2140 весной 2012 г. и у L100 осенью 2010 г. эти различия не были статистически значимыми. В остальных случаях они свидетельствовали о том, что пестик сохраняет компетенцию к опылению после раскрытия венчика, что означает способность к спонтанному перекрестному опылению, которое в естественных условиях может быть адаптивным. Это касается образцов 721, VIR320 и, возможно, J2140 и L100, у которых эффект был слабее и не воспроизвелся в одном из двух опытов. У 721 и VIR320 значение  $e$  увеличивалось от способа (1) к способам (2) и (3), хотя различия были значимыми не во всех случаях.

Образец 721, представляющий форму высокого габитуса, вьющуюся по кустарникам и деревьям маквиса (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973),

исключителен в том отношении, что его пестик оказался компетентным к опылению в основном после раскрытия венчика. Это хорошо сочетается с особенностями его цветков: они очень крупные, с непропорционально большим парусом, расположены на длинных цветоносах. Нет сомнений, что этот дикий горох адаптирован именно к перекрестному опылению.

Хотя исследованные представители дикого гороха показали несколько различные результаты, отложенное опыление (способ (2)) может быть рекомендовано для скрещивания любого дикого гороха, поскольку по сравнению со стандартной процедурой (способ (1)) оно дает те же или лучшие результаты. Двукратное опыление (способ (3)) более трудоемко, будучи комбинацией обоих вышеупомянутых способов, и, как оказалось, в большинстве случаев приблизительно столь же эффективно, как способ (2). Стандартную процедуру (способ (1)) можно рекомендовать для культурных форм.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00516.

## ЛИТЕРАТУРА

- Ben-Ze'ev N., Zohary D. Species relationship in the genus *Pisum* L. // Israel J. Bot. 1973. V. 22. P. 73–91.
- Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. A study of potential ability for cross-pollination in pea originating from different parts of the world // *Pisum Genet.* 2000. V. 32 P. 16–17.
- Fischer R. Design of Experiment. Edinburgh, L.: Oliver and Boud, 1953.
- Loenning W.-E. Cross fertilization in peas under different ecological conditions // *Pisum Newslett.* 1984. V. 16. P. 38–40.
- Mendel G. Versuche über Pflanzenhybriden // Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn. 1866. Bd. IV für das Jahr. 1865 (Abhandlungen). S. 3–47.
- Nogler G.A. The lesser-known Mendel: his experiments on *Hieracium* // *Genetics.* 2006. V. 172. P. 1–6.
- Welch B.L. The generalisation of «Student's» problem when several different population variances are involved // *Biometrika.* 1947. V. 34. P. 28–35.

---

## PEA (*PISUM* L.) ACCESSIONS DIFFER IN THE STAGE OF FLOWER DEVELOPMENT BEST FOR POLLINATION

O.E. Kosterin, V.S. Bogdanova

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,  
e-mail: kosterin@bionet.nsc.ru

### Summary

In order to optimize artificial pollination in various pea species and subspecies, the efficiency of artificial pollination was analyzed in eight accessions belonging to *Pisum fulvum*, *Pisum sativum* ssp. *elatius* (wild), *P. abyssinicum*, and *P. sativum* ssp. *sativum* (cultivated). Mean numbers of seeds per flower pollinated with its own pollen were determined in three pollination methods: 1) immediately after bud castration before anther dehiscence, 2) after the dehiscence of a flower castrated at the same stage (delayed pollination), and 3) double pollination as in methods (1) and (2). These methods did not differ in efficiency in cultivated accessions. In wild ones, method (2) was similar to (1) or better, whereas method (3) was comparable in efficiency with method (2). Method (2) (delayed pollination) was 12 times as efficient as method (1) in accession 721 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*), possessing very large flowers. Delayed pollination is recommended for wild pea varieties.

**Key words:** wild pea, *Pisum* L., artificial pollination, self-pollination.