

6. Лупак О. Біостимулятори росту рослин та їх застосування / О. Лупак, О. Ментух, Г. Антоняк // Роль науки у підвищенні технологічного рівня і ефективності АПК України : матеріали всеукр. наук.-практ. конф. 16–18 травня 2012 р. – Тернопіль: Крок, 2012. – С. 84–86.
7. Сафонов М.М. Повний атлас лікарських рослин / М. М. Сафонов. – Тернопіль: Навчальна книга – Богдан, 2010. – С. 155–156, 210–212.
8. Сербін А. Г., Сіра Л. М., Слободянюк Т. О. Фармацевтична ботаніка. Підручник / Під редакцією Л. М. Сірої. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 488 с.
9. Середа П. І. Фармакогнозія. Лікарська рослинна сировина та фітозбори / П. І. Середа, Н. П. Максютіна, Л. Л. Давтян. – Вінниця: Нова Книга, 2006. – 352 с.
10. Терек О. І. Ріст і розвиток рослин: навч. посібник / О. І. Терек, О. І. Пацула. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. – С. 297–304.
11. Шелудько Л. П. Лікарські рослини (селекція і насінництво): Монографія / Л. П. Шелудько, Н. І. Куценко. – Полтава, 2013. – С. 183–189.

Мосула М.З.

*кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник лабораторії екології і біотехнології,
Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка;*

Блащак І.О.

*студент,
Київський національний університет імені Тараса Шевченка;*

Дробик Н.М.

*доктор біологічних наук, професор,
декан хіміко-біологічного факультету,
Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка*

**ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ
ПОПУЛЯЦІЙ *GENTIANA LUTEA* L. З ХРЕБТІВ ЧОРНОГОРА
І СВИДОВЕЦЬ УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ**

Значна територія Карпатських гір, яка характеризується великим біорізноманіттям та багата на ендемічні та рідкісні види, перебуває під антропогенним тиском. Нераціональне використання багатьох лікарських видів рослин, знищення їх природних місць зростання призвело до небажаних змін структури популяцій, збіднення генофонду, зменшення сировинних запасів. Значно звужився ареал поширення видів роду *Gentiana* L., які є невід’ємним компонентом високогірних карпатських біогеоценозів. Зокрема це стосується *Gentiana lutea* L. (тирличу жовтого) – цінного лікарського виду, який занесено до Червоної книги України (2009). У місцях зростання рослин *G. lutea* в Українських Карпатах часто відбувається викопування кореневищ, сінокосіння, випасання овець, внаслідок чого порушуються вікова та генетична структури

популяцій, зменшується їх площа та щільність [4]. Нераціональне використання виду призвело до зникнення його з деяких регіонів як України, так і Європи [2; 8]. Зважаючи на неможливість відновити природні запаси *G. lutea* з використанням лише традиційних методів, доцільним є всебічне вивчення цього виду. Зокрема, важливе значення має дослідження генетичної структури *G. lutea* та вивчення рівня генетичної різноманітності його окремих популяцій.

Тому метою роботи було оцінити рівень генетичного поліморфізму популяцій *G. lutea* з Українських Карпат з використанням ПЛР-аналізу. Для дослідження відібрано по 15 зразків листкових пластинок рослин двох популяцій тирличу жовтого:

- перша з яких зростає на полонині (пол.) Лемська – є процвітаючою, знаходяться в умовах заповідання на схилах хребта (хр.) Чорногора (1600–1750 м н.р.м.);

- друга популяція знаходиться між горами (гг.) Трояска і Татарука (хр. Свидовець, 1300–1600 м н.р.м.). Рослини цієї популяції періодично зазнають витоптування та об'їдання надземних органів худобою.

Молекулярно-генетичний аналіз проводили методом ISSR- (Inter Simple Sequence Repeats – поліморфізм фланкованих інвертованими повторами мікросателітних локусів ДНК) та IRAP-ПЛР (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism – поліморфізм ампліфікованих послідовностей між ретротранспозонами). Для дослідження обрано по п'ять праймерів кожного типу (UBC#810, UBC#827, UBC#835, UBC#840, UBC#857 та HUCK 2R (653), 675, 696, 866, 1692 відповідно), які давали чіткі відтворювані амплікони. Їхні послідовності наведені у роботах [1; 7].

Визначено між- та внутрішньопопуляційний поліморфізм та встановлено взаємозв'язки між окремими рослинами та популяціями *G. lutea*. Показано відносно високий рівень генетичної гетерогенності *G. lutea*: P (частка поліморфних ампліконів) = 81,8%, He (очікувана гетерозиготність) = 0,224, S (індекс Шенона) = 0,346, D_j (середня генетична відстань між рослинами за Жакардом) = 35% (табл.). Рівень генетичного поліморфізму *G. lutea*, знаходився в межах мінливості, визначеної для інших представників родини Gentianaceae [6; 9; 11].

**Значення показників генетичного поліморфізму популяцій *G. Lutea*
за даними IRAP- та ISSR-аналізу**

Популяція (місцезнаходження)	Враховано ампліконів, шт.	Фіксовані амплікони, шт.	Частка поліморфних ампліконів (P), %	Індекс Шенона (S)	Очікувана гетерозиготність (He)	Середня генетична відстань між рослинами за Жакардом (D _j), %
пол. Лемська	119	41	53,4	0,259±0,023	0,171±0,016	29,6
гг. Трояска- Татарука	115	54	43,2	0,192±0,021	0,124±0,015	21,4
У середньому	117	48	48,3	0,225±0,016	0,148±0,011	25,5
Сумарна вибірка рослин	148	29	81,8	0,346±0,021	0,224±0,015	35,0

Джерело: розроблено авторами

Встановлено вищі показники генетичної різноманітності популяції з пол. Лемська ($P = 53,4\%$, $S = 0,259$, $He = 0,171$), у порівнянні із популяцією, що локалізується між вершинами гір Трояска і Татарука ($P = 43,2\%$, $S = 0,192$, $He = 0,124$) (табл.). Зважаючи на те, що більша генетична різноманітність характерна для видів рослин, які розмножуються генеративно, а повний або частковий перехід до вегетативного розмноження призводить до збіднення генофонду [5; 10], можна припустити, що отримані дані можна пояснити саме цим фактом. Відомо для рослин з пол. Лемська властивий переважно генеративний спосіб розмноження (65/35% – співвідношення між генеративним та вегетативним способом розмноження), у той час для рослин з популяції на гг. Трояска-Татарука характерне наступне співвідношення між часткою генеративного/вегетативного розмноження (41/59%) [3].

Генетичні відстані за Жакардом між рослинами популяції з гг. Трояска-Татарука коливалися від 11,1% до 32%, а з пол. Лемська – від 11,1% до 41,4%. Згідно аналізу головних координат (PCoA) зразки чітко групувалися відповідно до їхньої популяційної приналежності. У ході дослідження встановлено значні генетичні відмінності між популяціями з пол. Лемська та гг. Трояска-Татарука. Наявність генетичної ізоляції та дивергенції популяцій *G. lutea* встановлено за показником розподілу загальної генетичної мінливості на між- і внутрішньопопуляційну (52% та 48% відповідно) (згідно результатів AMOVA). У випадку *G. lutea* чітко проявляється закономірність, характерна для більшості рідкісних видів рослин, і видів, які перебувають під загрозою зникнення, а саме значна диференціація їх популяцій.

Отже, на основі проведеного молекулярно-генетичного дослідження популяцій (гг. Трояска-Татарука, пол. Лемська) *G. lutea* з двох масивів Українських Карпат (Свидовець, Черногора) з використанням маркерів, що відповідають міжретротранспозонним та міжмікросателітним ділянкам ДНК,

визначено генетичну різноманітність цих популяцій. Виявлено відносно високий рівень генетичної гетерогенності *G. lutea*. Виходячи з отриманих даних, оцінено стан популяцій тирличу жовтого і показано наявність їх генетичної ізоляції та дивергенції. Результати проведеного дослідження можуть бути використані під час розроблення науково-обґрунтованих заходів з метою збереження та відновлення популяцій *G. lutea* з Українських Карпат.

Список використаних джерел:

1. Аналіз генетичної різноманітності популяцій *Gentiana lutea* L. методом маркування міжретротранспозонних послідовностей (IRAP-ПЛІР) / М.З. Мосула, І.І. Конвалюк, В.М. Мельник [та ін.] // Физиология растений и генетика. – 2014. – Т. 46, № 1. – С. 45–55.
2. Бедей М.І. Щільність популяцій і просторове розміщення особин тирличу жовтого (*Gentiana lutea* L.) в Українських Карпатах / Михайло Іванович Бедей, Микола Іванович Волошук // Науковий вісник Ужгородського національного університету. Серія Біологія. – 2007. – Вип. 21. – С. 149–151.
3. Еколого-генетичний аналіз популяцій *Gentiana lutea* L. в Українських Карпатах / М.З. Мосула, О.Ю. Майорова, Л.Р. Грицак [та ін.] // Екологія та ноосферологія. – 2014. – Т. 25, № 3–4. – С. 5–13.
4. Червона книга України. Рослинний світ / [за ред. Я.П. Дідуха]. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
5. Bushakra J.M. The extent of clonality and genetic diversity in the Santa Cruz Island ironwood, *Lyonothamnus floribundus* / Bushakra J.M., Hodges S.A., Cooper J.B., Kaska D.D. // Molecular Ecology. – 1999. – Vol. 8, № 3. – P. 471–475.
6. Development of ten microsatellite loci for *Gentiana crassicaulis* (Gentianaceae) / Y. Li, L.-F. Li, G.-Q. Chen [et al.] // Conservation Genetics. – 2007. – Vol. 8, № 6. – P. 1499–1501.
7. Genetic polymorphism of *Gentiana lutea* L. (Gentianaceae) populations from the Chornohora ridge of the Ukrainian Carpathians / M.Z. Mosula, I.I. Konvalyuk, V.M. Mel'nyk [et al.] // Cytology and Genetics. – 2014. – Vol. 48, № 6. – P. 371–377.
8. Genetic variation of the endangered *Gentiana lutea* L. var. *aurantiaca* (Gentianaceae) in populations from the Northwest Iberian Peninsula / O. Gonzalez-Lopez, C. Polanco, Z. György [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – Vol. 15. – P. 10052–10066.
9. Hirao A.S. Landscape genetics of alpine-snowbed plants: comparisons along geographic and snowmelt gradients / A.S. Hirao, Gaku Kudo // Heredity. – 2004. – № 93. – P. 290–298.
10. Kery M. Reduced fecundity and offspring performance in small populations of the declining grassland plants *Primula veris* and *Gentiana lutea* / M. Kery, D. Matthies, H.-H. Spillmann // J. of Ecology. – 2000. – Vol. 88. – P. 17–30.
11. Zhang X.-L. Genetic structure and differentiation of *Gentiana atunsiensis* W.W. Smith and *G. striolata* T. N. Ho (Gentianaceae) as revealed by ISSR markers / X.-L. Zhang, Y.-M. Yuan, X.-J. Ge // Botanical Journal of the Linnean Society – 2007. – Vol. 154. – P. 225–232.