

## Література

1. Карпун Ю.Н. Основы интродукции растений // Hortus botanicus. – 2004. – Vol. 2. – С. 17–32.
2. Губанов Я.В. Технические культуры. – Москва: Агропромиздат, 1986. – 181 с.
3. Мирпулатова Н.С., Камилова М.Х. Мероприятия по сохранению устойчивости хлопчатника к вертициллезному вилту. – Москва, 1973. – 8 с.
4. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. – Москва: Агропромиздат, 1989. – 480 с.
5. Войтенко Ф.В. Методика долгосрочного прогноза вертициллезного вилта хлопчатника. – Москва: Колос, 1970. – 15 с.
6. Шихлинский Г.М., Мамедова Н.Х., Мамедова А.Д., Абдулалиева Г.С., Гасанова Г.И. Сравнительная оценка устойчивости внутри- и межвидовых гибридов хлопчатника к биотическим и абиотическим факторам среды. Сборник научных трудов «Факторы экспериментальной эволюции организмов». – Киев: Логос, 2010. – Т. 8. – С. 468–471.
7. Мамедова Н.Х. Фитопатологическая оценка устойчивости гибридов хлопчатника к вертициллезному вилту. Первые Международные Беккеровские Чтения. – Волгоград, 2010. – Ч. 1. – С. 140–141.
8. Мамедова Н.Х. Сравнительная оценка гибридных форм хлопчатника на устойчивость к фитопатогенам // Международный научно-практический журнал «Иммунопатология, аллергология, инфектология». – 2010. – № 1. – С. 117.

**MAMMADOVA N.Kh., SHIKHLINSKI H.M., GASANOVA G.I.**

*Genetic Resources Institute of the National Academy of Sciences*

*Azerbaijan, Az 1106, Baku, Azadlig Ave., 155, e-mail: naila.xurshud@yahoo.com*

## STUDY OF RESISTANCE OF INTRADUCED COTTON VARIETIES AND FORMS TO WILT HYBRIDS

**Aims.** On artificial-infections background the phytopathological assessment of Verticillium wilt resistance was carried out in interspecific hybrids of cotton. **Methods.** Phytopathological used methods are tested for the first generation (F<sub>1</sub>) cotton hybrids. **Results.** Resistance assessment of interspecific cotton hybrids to Verticillium wilt showed that these were the best hybrids: 617-T x Termez-7; 147-Ф x Todlo-16; Pima-5-1 x 3273; 5476-U x Мутант-487; Pima-S-4 x 18819; Antep x 159-F; S-2607 x kk-1543; AP-200 x S-5497; Acala-1517 BR x Antep. These hybrids were higher than 5 g., which was an indicator of high productivity. **Conclusions.** Experience of plant resistance to diseases shows that resistant varieties can be achieved by distant hybridization and they can be further tested for several years on a special background. Thus obtained interspecific hybrids can be used in the selection process as donors for this Verticillium wilt resistance in forming new resistant and tolerant cotton varieties.

**Key words:** Cotton, phytopathologi, resistance, hybrids, wilt.

**МОСУЛА М.З.<sup>1</sup>, КОНВАЛЮК І.І.<sup>2</sup>, МЕЛЬНИК В.М.<sup>2</sup>, ДРОБИК Н.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка  
Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com

<sup>2</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: kunakh@imbg.org.ua

## ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ЧОРНОГІРСЬКИХ ПОПУЛЯЦІЙ *GENTIANA LUTEA* L. (*GENTIANACEAE*) З УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ: RAPD-АНАЛІЗ

Популяційно-генетичний підхід є одним з основних, що використовується для збереження біологічного різноманіття рідкісних та зникаючих видів рослин, які зазнають значного антропогенного пресингу. До таких рослин належить офіційний вид тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.) флори України, віднесений до категорії вразливих [1]. Аналіз генетичної структури та мінливості *G. lutea* важливий для на-

ступної розробки науково обґрунтованих підходів його збереження. Особливого значення в цьому контексті набуває оцінка як внутрішньовидової мінливості, так і варіабельності на міжта внутрішньопопуляційному рівнях з використанням ДНК-маркерів. Молекулярно-генетичний аналіз дозволить отримати інформацію про генетичну різноманітність виду, унікальність генофонду окремих популяцій та

з'ясувати, наскільки їм загрожує інбредна депресія – один з головних чинників генетичної ерозії популяцій.

Метою роботи було вивчення популяцій-

### Матеріали і методи

Генетичну варіабельність *G. lutea* оцінювали на основі аналізу 45 зразків із трьох популяцій (по 15 рослин з кожної популяції), розташованих на полонині Лемська, між вершинами гір Шешул і Павлик та на г. Пожижевська (усі з хребта Чорногора, Українські Карпати). Чисельність особин у популяціях складала 156 тис., 2120 тис. і 10 тис. відповідно.

Виділення ДНК, гель-електрофорез продуктів ампліфікації, умови проведення полімеразної ланцюгової реакції з праймерами довільної послідовності та нуклеотидні послідовності використаних праймерів наведено у роботі [2]. Протестовано 27 RAPD-праймерів, 10 з яких

### Результати та обговорення

RAPD-праймери забезпечували ампліфікацію фрагментів у межах 250–3000 п.н. Враховано 202 амплікони, з них 123 – для рослин з лемської популяції, 104 – з пожижевської і 97 – шешульської. При цьому кількість унікальних фрагментів коливалася від 27 до 44, фіксованих – від 34 до 41. Розраховані значення показників генетичної варіабельності представлені у табл.

Порівняння трьох досліджених популяцій

Таблиця. Значення основних показників генетичного поліморфізму досліджених популяцій *G. lutea* за даними RAPD-аналізу

| Популяція              | Враховано ампліконів, шт. | Фіксовані амплікони, шт. | Унікальні амплікони, шт. | Частка поліморфних ампліконів (P), % | Очікувана гетерозиготність ( $H_e$ ) | Індекс Шеннона (S) | Генетичні відстані між рослинами за Жакардом ( $D_j$ ), % | Середня генетична відстань між рослинами за Жакардом ( $D_j$ ), % |
|------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|---|---|
| пол. Лемська           | 111                       | 34                       | 44                       | 37,62                                | 0,122<br>±0,012                      | 0,186<br>±0,018    | 19,18 – 52,81   | 36,47   |
| г. Шешул і Павлик      | 97                        | 34                       | 38                       | 30,69                                | 0,103<br>±0,012                      | 0,156<br>±0,018    | 12,68 – 45,24   | 29,71   |
| г. Пожижевська         | 104                       | 41                       | 27                       | 30,69                                | 0,102<br>±0,012                      | 0,153<br>±0,018    | 14,29 – 37,50   | 23,97   |
| У середньому           | 104                       | 36                       | 36                       | 33,00                                | 0,109<br>±0,007                      | 0,165<br>±0,010    | 15,38 – 45,18   | 30,05   |
| Сумарна вибірка рослин | 202                       | 8                        | –                        | 96,04                                | 0,247<br>±0,010                      | 0,393<br>±0,014    | 12,68 – 86,44   | 63,27   |

На дендрограмі генетичних відносин між популяціями за генетичними відстанями  $H_e$  (рис.) зразки з пожижевської популяції були

но-генетичного різноманіття чорногірських популяцій *G. lutea* з використанням RAPD-маркерів.

забезпечували синтез чітких відтворюваних ампліконів і були відібрані для подальших досліджень. На основі отриманих даних за допомогою програми FAMD 1.21 beta розраховано генетичні відстані Жакарда ( $D_j$ ) [3] та методом UPGMA побудовано дендрограму генетичної подібності досліджених зразків. Показники генетичного поліморфізму популяцій (частку поліморфних ампліконів (P), незміщену генну різноманітність  $H_e$  (очікувану гетерозиготність  $H_e$ ), індекс Шеннона (S)) та метод непараметричного аналізу молекулярної дисперсії (AMOVA) розраховували з використанням програми GenAlEx 6.5 Tut2 [4].

показало подібність рівня їхнього генетичного поліморфізму. Загалом показники були дещо вищими у випадку лемської популяції, і близькими за значенням (зокрема S,  $H_e$ ) або однаковими (P) для шешульської та пожижевської популяцій. Середнє для трьох популяцій значення генетичних відстаней  $D_j$  між рослинами складало 30 % (табл.).

ближчими до лемської, тоді як зразки з гір Шешул і Павлик генетично більш віддалені.

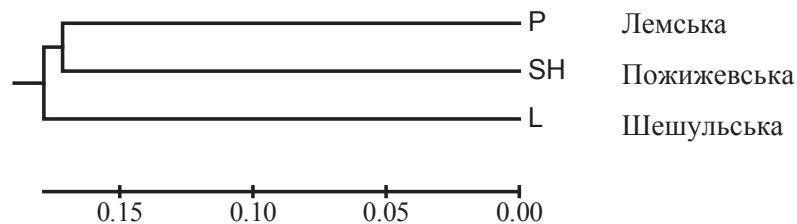


Рис. Дендрограма генетичних відносин між популяціями *G. lutea*, побудована методом UPGMA за генетичними відстанями Nei на основі даних RAPD-аналізу

Порівняння отриманих даних щодо рівня генетичного поліморфізму для *G. lutea* із описаними в літературі для інших видів родини *Gentianaceae*, виявило співрозмірні або вищі показники мінливості у наших дослідженнях. Так, середні значення генетичних відстаней *G. nivalis* за результатами RAPD-аналізу ( $D_j=20,9$  і  $27,5$  %) були подібними з *G. lutea* [5]. Молекулярно-генетичний аналіз представників *Gentianaceae* з використанням ISSR-маркерів виявив, що індекс Шеннона був меншим у випадку *G. atuntsiensis* W. W. Smith, *G. striolata* T.N. Ho ( $0,225$  і  $0,273$  відповідно) [6] та *Megacodon stylophorus* (Clarke) Smit ( $0,0792$ ) [7] порівняно з отриманим нами для *G. lutea* ( $0,393$ ). Оцінюючи генетичний поліморфізм за показником  $H_e$ , встановлено, що отримані нами дані були вищими відносно результатів дослідження *Megacodon stylophorus* ( $0,0532$ ) (ISSR-аналіз) [7], проте нижчими у порівнянні з *G. crassicaulis* Duthie ex Burk. ( $0,32-0,78$ ) (SSR-аналіз) [8].

Відомо, що одним із основних факторів, який визначає генетичну структуру виду, є спосіб розмноження. Більша генетична різноманітність характерна для видів рослин, які розмножуються генеративно, тоді як повний або частковий перехід до вегетативного розмноження призводить до збіднення генофонду [9, 10]. На основі результатів еколого-популяційних досліджень Майорової О.Ю. та співробітників (неопубліковані дані) встановлено, що для рослин лемської, шешульської та пожижевської популяцій властивий переважно генеративний спосіб розмноження. Очевидно це, поряд з іншими чинниками, забезпечує відносно високий рівень їх генетичної гетерогенності.

Окрім способу розмноження рівень генетичної мінливості може залежати від розмірів популяцій, щільності особин, дрейфу генів та генетичної ізоляції популяцій. Зокрема показано, що високий генетичній різноманітності сприяють великі розміри та щільність популяції. При цьому значна чисельність особин може запобігти інбридингу і генетичному дрейфу [6].

Так, на основі результатів RAPD-аналізу двох різних за розміром популяцій *G. nivalis* [7] та одинадцяти популяцій *Gentianella germanica* L. (*Gentianaceae*) виявлено позитивну кореляцію між геномною мінливістю і розмірами популяцій [11]. Аналіз отриманих нами результатів свідчить про відсутність такої кореляції у *G. lutea*: чисельність особин шешульської популяції на порядок більша за лемську, тоді як рівень поліморфізму дещо вищий в останній. Високі показники генетичної варіабельності пожижевської популяції при малій чисельності особин, очевидно, зумовлені її походженням з шешульської [12]: значний початковий рівень гетерогенності зберігся навіть після тривалого (~ 40-річного) ізолюваного росту.

За результатами AMOVA частка відмінностей між популяціями *G. lutea* в загальному розподілі генетичного різноманіття становила 72 %, а поліморфізму всередині популяцій – 28 %. Цілком імовірно, це зумовлено особливостями генетичної структури виду, зокрема значною диференціацією окремих популяцій, що в свою чергу може бути спричинене еколого-географічними умовами зростання цих високогірних рослин. Адже відомо, що генетична диференціація між популяціями може збільшуватися в результаті ізоляції, спричиненої фрагментацією місць зростання [13].

Таким чином, на основі проведеного молекулярно-генетичного дослідження встановлено особливості генетичної структури та рівень мінливості трьох чорногірських популяцій *G. lutea*. Виявлено, що для *G. lutea* характерним є відносно високий рівень генетичної гетерогенності. Показано, що значення генетичного поліморфізму між популяціями були вищими порівняно з внутрішньопопуляційною мінливістю, що можна пояснити значною диференціацією досліджених популяцій. Отримані результати свідчать про відсутність загрози генетичної ерозії цього виду.

## Література

1. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я.П. Дідуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
2. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Конвалюк І.І., Кунах В.А. RAPD-аналіз геномного поліморфізму деяких видів роду *Gentiana* L. флори України // Доповіді Національної академії наук України. – 2009. – № 5. – С. 200–204.
3. Schluter P.M., Harris S.A. Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data // Molecular Ecology Notes. – 2006. – № 6. – P. 569–572.
4. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular Ecology Notes. – 2006. – № 6. – P. 288–295.
5. Raica P., Pamfil D., Botez C., Gaboreanu M.I., Pătrascu B., Kovacs K. The Assessment of Two Populations of *Gentiana nivalis* by RAPD Markers // Buletin USAMV-CN. – 2006. – Vol. 62. – P. 228–231.
6. Zhang X.-L., Yuan Y.-M., Ge X.-J. Genetic structure and differentiation of *Gentiana atunsiensis* W.W. Smith and *G. striolata* T.N. Ho (*Gentianaceae*) as revealed by ISSR markers // Bot. Journal of the Linnean Society. – 2007. – Vol. 154 – P. 225–232.
7. Ge X.-J., Zhang L.-B., Yuan Y.-M. Strong genetic differentiation of the East-Himalayan *Megacodon stylophorus* (*Gentianaceae*) detected by Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) // Biodivers Conserv. – 2005. – Vol. 14. – P. 849–861.
8. Li Y., Li L.-F., Chen G.-Q., Ge X.-J. Development of ten microsatellite loci for *Gentiana crassicaulis* (*Gentianaceae*) // Conservation Genetics. – 2007. – Vol. 8, № 6. – P. 1499–1501.
9. Bushakra J.M., Hodges S.A., Cooper J.B., Kaska D.D. The extent of clonality and genetic diversity in the Santa Cruz Island ironwood, *Lyonothamnus floribundus* // Molecular Ecology. – 1999. – Vol. 8, №3. – P. 471–475.
10. Kery M., Matthies D., Spillmann H.-H. Reduced fecundity and offspring performance in small populations of the declining grassland plants *Primula veris* and *Gentiana lutea* // J. of Ecology. – 2000. – Vol. 88. – P. 17–30.
11. Fisher M., Matthies D. RAPD variation in relation to population size and plant fitness in the rare *Gentianella germanica* (*Gentianaceae*) // Am. J. Bot. – 1998. – Vol. 85, №6. – P. 811–819.
12. Бедей М.І., Кризь О.П., Волощук М.І., Маханець І.А. Тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.) в Українських Карпатах. – Ужгород, 2010. – 134 с.
13. Oostermeijer J.G.B., Luijten S.H., den Nijs J.C.M. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation // Biological Conservation. – 2003. – Vol. 113, №3. – P. 389–398.

MOSULA M.Z.<sup>1</sup>, KONVALYUK I.I.<sup>2</sup>, MEL'NYK V.M.<sup>2</sup>, DROBYK N.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ternopil National Volodymyr Hnatiuk Pedagogical University

Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonis str., 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com

<sup>2</sup> Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine

Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150, e-mail: kunakh@imbg.org.ua

## EVALUATION OF GENETIC POLYMORPHISM IN CHORNOGORA POPULATIONS OF *GENTIANA LUTEA* L. (*GENTIANACEAE*) FROM UKRAINIAN CARPATHIANS: RAPD-ANALYSIS

The *aim* of the work was to study population genetic diversity of three Chornogora populations of *Gentiana lutea* L. using RAPD markers. Molecular-genetic analysis allows to generate information on species genetic diversity, uniqueness of gene pool in isolated populations and elucidate to what extent they are endangered by the inbred depression. This is essential for further development of scientifically substantiated approaches to conservation of this species. **Methods.** Genetic variability of 45 plants from three populations of *G. lutea* was estimated by RAPD-analysis using 10 primers. **Results.** Comparison of three populations under study revealed similarity of their genetic polymorphism. As evidenced from the dendrogram of the genetic relations between populations, samples from Pozhyzhevskya population were closer to Sheshul population one, while those from Lemska mountain valley are genetically more distant. By the results of AMOVA the proportion of distinctions between *G. lutea* populations within the general distribution of genetic variation made up 72 %, while that of polymorphism inside populations constituted 28 %. **Conclusions.** Comparison of the data obtained as regards the level of genetic polymorphism in *G. lutea* with those described for other species from family *Gentianaceae* found comparable or higher indices of variation in our studies. Our findings may suggest the absence of threat for genetic erosion of this species.

**Key words:** genetic polymorphism, RAPD-analysis, *Gentiana lutea* L., Chornogora populations, inter- and intrapopulation variability.