

І.Ю. ПАРНІКОЗА¹, О.М. БУБЛИК¹, І.О. АНДРЕЄВ¹, К.В. СПІРІДОНОВА¹, Й. ГОЛЕМБЕВСЬКА³, М. КУБЯК³, А. КУЧИНСЬКА³, К. МИСТКОВСЬКА³, Н. ОЛЕНДЖИЦЬКА³, Б. УРАСІНСЬКА³, М. ГУРНЯК³, А. СЬЛЕНЗАК-ПАРНІКОЗА³, К. ВОЙЦЕХОВСЬКИЙ⁴, Я.П. ДІДУХ², В.А. КУНАХ¹

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. акад. Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна
Parnikoza@gmail.com

² Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, м. Київ, 01601, Україна

³ Гданський університет
вул. Віта Ствоша, 59, 80-308, м. Гданськ, Польща

⁴ Люблінський університет Іоанна Павла II
вул. Константинів, 1Н, 20-708, м. Люблін, Польща

КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА СТАНУ ПОПУЛЯЦІЙ СТЕПОВИХ БАГАТОРІЧНИКІВ УКРАЇНИ НА ПРИКЛАДІ *IRIS PUMILA*

К л ю ч о в і с л о в а : *Iris pumila*, степові багаторічники, таксономія, генетична ерозія, ізоляція

Вступ

На сьогодні з 826 видів рослин, занесених до «Червоної книги України», 33,4 % трапляються лише в степових біотопах [13, 25]. Водночас в Україні нерозораними залишаються тільки близько 3 % площі степової зони, а степові біотопи представлені ділянками різного розміру, віддаленими одна від одної, що суттєво обмежує обмін діаспорами та генетичним матеріалом. Наслідки фрагментації ареалу для степових рослин-багаторічників загалом на популяційному та генетико-популяційному рівнях вивчені значно слабше порівняно з іншими варіантами ізоляції — високогірної, острівної, арктичної. Водночас необхідний пошук ознак, які могли би стати своєчасним сигналом небезпеки для існування виду, вказували б на генетичну ерозію. Сучасний підхід до оцінки генетичної ерозії охоплює аналіз рівня внутрішньовидової диференціації (наявність рас, екотипів або підвидів), розміру популяцій, їхньої кількості й ізоляції, екологічної амплітуди, частоти статевого розмноження та безпосередню оцінку генетичного поліморфізму за маркерними локусами (ізоферментними або ДНК) [27]. Для більшості степових багаторічників України вказані параметри вивчені вкрай недостатньо. Зважаючи на це, ми дослідили стан популяцій одного з типових представників степової рослинності — *Iris pumila* — з різних місць ареалу в Україні

з метою виявлення ознак генетичної ерозії.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктом дослідження обрано типовий степовий ксерофіт і селекційно-цінний вид флори України — *Iris pumila* L., загальний ареал якого простягається від Австрії до Західного Сибіру з іррадіаціями на Північні Балкани, Малу Азію та Північний Кавказ. В Україні ареал виду охоплює степову зону, південь лісостепової та Гірський Крим. Вид достовірно відомий з великої кількості степових останців і заповідників степової зони [2, 4—7, 11, 12, 14, 16, 21, 22, 24, 26]. Нами досліджено популяції *I. pumila* на території степової та лісостепової зон (рис. 1).

Проаналізовано сучасний таксономічний статус виду, кількість його популяцій, їхній стан, відомості про ступінь ізоляції. Вивчали чисельність (за окрему особину брали куртину, утворену розростанням коротких кореневищ — ризомів), щільність (на пробних ділянках площею 5—10 м²), вікову структуру, зокрема, наявність догенеративних, зрілих генеративних і сенільних особин із використанням підходів, викладених раніше [15, 19], насінневе та вегетативне поновлення, основні фактори антропогенного впливу. На підставі геоботанічних описів угруповань, виконаних авторами, а також наявних у фітоценологічній базі Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України, проведено фітоіндикаційне дослідження широти екологічної амплітуди умов зростання *I. pumila* за головними фітоіндикаційними параметрами. При цьому використано стандартні синфітоіндикацій-

© І.Ю. ПАРНІКОЗА, О.М. БУБЛИК, І.О. АНДРЕЄВ, К.В. СПІРІДОНОВА, Й. ГОЛЕМБЕВСЬКА, М. КУБЯК, А. КУЧИНСЬКА, К. МИСТКОВСЬКА, Н. ОЛЕНДЖИЦЬКА, Б. УРАСІНСЬКА, М. ГУРНЯК, А. СЬЛЕНЗАК-ПАРНІКОЗА, К. ВОЙЦЕХОВСЬКИЙ, Я.П. ДІДУХ, В.А. КУНАХ

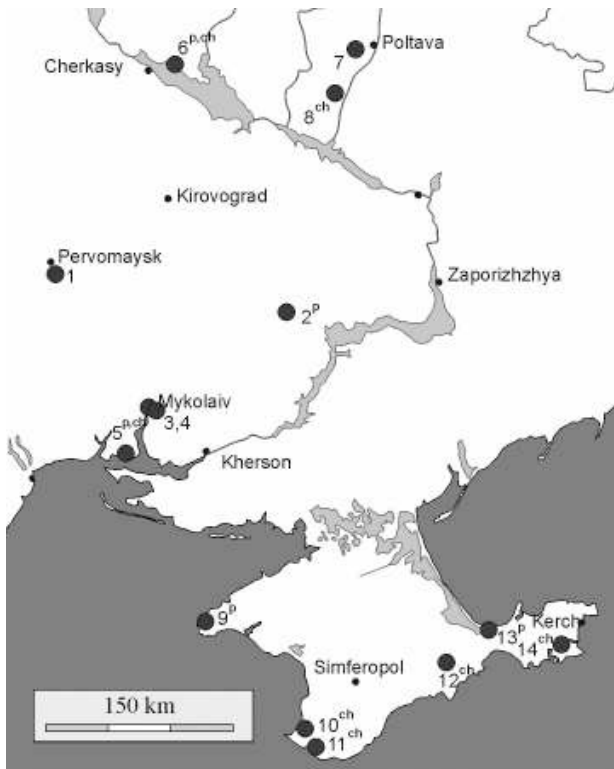


Рис. 1. Розташування досліджених популяцій *I. pumila*: 1 — с. Мигія (Первомайський р-н Миколаївської обл.); 2 — с. Зелене (Широківський р-н Дніпропетровської обл.); 3 — півострів Аляуди (м. Миколаїв); 4 — с. Коларово (Жовтневий р-н Миколаївської обл.); 5 — с. Дмитрівка (Очаківський р-н Миколаївської обл.); 6 — с. Придніпровське (Чорнобаївський р-н Черкаської обл.); 7 — околиці с. Андріївка (Полтавський р-н Полтавської обл.); 8 — заказник «Драбинівка» (Кобеляцький р-н Полтавської обл.); 9 — Чорноморський р-н (АР Крим); 10 — м. Інкерман (Севастопольська міськрада, АРК); 11 — Балаклава (м. Севастополь, АРК); 12 — м. Старий Крим (Кіровський р-н, АРК); 13 — Ленінський р-н (АРК); 14 — околиці м. Керч (АРК). Найвність індексу поряд із номером вказує, що популяція вивчена частково, а саме проведено лише популяційний аналіз (p) та/або аналіз хлоропластних послідовностей (ch)

Fig. 1. Localisation of the studied populations of *Iris pumila*: 1 — vil. Mygiiia (Pervomaisk raion, Mykolaiv oblast); 2 — peninsula vil. Zelene (Shyrokivskiy r., Dnipropetrovsk obl.); 3 — Aliaudy Peninsula (Mykolaiv city); 4 — vil. Kolarovo (Zhovtnevyi r., Mykolaiv obl.); 5 — vil. Dmytrivka (Ochakiv r., Mykolaiv obl.); 6 — vil. Prydniprovskoe (Chornobai r. Cherkasy obl.); 7 — vil. Andriivka (Poltava r., Poltava obl.); 8 — Nature reserve Drabynivka (Kobeliaki r., Poltava obl.); 9 — Chornomorskyi r. (AR of Crimea); 10 — Inkerman (Sevastopol city, AR of Crimea); 11 — Balaklava (Sevastopol city, AR of Crimea); 12 — Saryi Krym city (AR of Crimea); 13 — Leninskyi r. (AR of Crimea); 14 — env. of Kerch city. The index next to the number indicates that the population was studied partially, namely population analysis (p) and / or analysis of chloroplast sequences (ch) were performed

ні та математичні методи. Зокрема, оцінено взаємозалежність базових екологічних факторів, яку представлено різницями розподілів, отриманих методом середнього зваженого [28].

ДНК для молекулярно-генетичного аналізу виділяли з сухого матеріалу ЦТАБ-методом [29]. Проводили ISSR-аналіз сумарної ДНК й аналіз варіабельності послідовностей хлоропластної ДНК.

Для ISSR-аналізу використали 40 рослин з чотирьох популяцій (по 9—11 з кожної) (рис. 1). Застосовані праймери, умови проведення ПЛР-аналізу та статистичного аналізу отриманих даних описано в роботі [3]. Для ампліфікації пластидних послідовностей брали по 2—7 рослин з вищеописаних популяцій (рис. 1). Для ампліфікації міжгенного спейсера *trnS-trnG* використали праймери *trnS^(GCU)* та *trnG^(UCC)* [35], ділянки інтрона *trnL* та міжгенного спейсера *trnL-trnF* — праймери *trnL-c* та *trnL-f* [36]. ПЛР проводили за підходами, описаними в [31]. Сиквенування здійснювали із застосуванням набору Big Dye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit. Нуклеотидні послідовності вирівнювали вручну з використанням програми SeaView v. 4 [30]. Подібність хлоропластних гаплотипів аналізували за допомогою програми TCS v. 1.21. Перед проведенням аналізу дві інделі (дуплікації) кодували одним символом, щоб врахувати їх не як незалежні, а як одну подію.

Результати досліджень та їх обговорення

Таксономічний статус виду

Г. Лоуренс на базі цитологічних та систематичних даних виділяє *I. pumila* із загальної секції бородастих півників як окремий ряд, який характеризується низкою специфічних ознак [1, 17, 19]. Частина дослідників вказує на ряд морфологічних форм у межах широкого балкансько-паннонсько-понтичного ареалу, які інколи розглядають у ранзі підвидів: типового *I. pumila* ssp. *pumila*, що трапляється в південно-західній Європі, *I. pumila* ssp. *taurica* (Lodd.) Rodion. et Schewcz. — на сході європейської частини Росії, на Північному Кавказі та в Західному Сибіру, та *I. pumila* ssp. *aequiloba* (Ledeb.) Baker. — в Україні від нижнього Дніпра до Приазов'я [7, 18, 19]. Проте, як свідчить World Checklist of Selected Plant Families, підвиди *I. pumila* ssp. *taurica* та *I. pumila* ssp. *aequiloba* наразі не визнаються і вважаються синонімами *I. pumila* ssp. *pumila* [37]. У науковій літературі, зокрема в таксономічних зве-

деннях, підвидами для цього виду на території України не оперують [5, 10, 11, 32].

Висока морфологічна внутрішньо- та міжпопуляційна гетерогенність може пояснюватися наявністю підвидів, а великою генетичною гетерогенністю особин виду загалом. А з погляду гіпотези про гібридне походження *I. pumila* від середземноморських таксонів *I. attica* Boiss. et Heldr. (за сучасною таксономією *Iris pumila* subsp. *attica* (Boiss. & Heldr.) K. Richt. [37]) та *I. pseudopumila* Tineo, що супроводжувалося об'єднанням повних наборів хромосом цих видів, гетерогенність *I. pumila* може також опосередковуватися нестабільністю гібридного геному [19].

Ступінь ізоляції, чисельність і стан популяцій

Ще один показник успішності виду — це фрагментованість його ареалу. Наразі відомі лише окремі популяції *I. pumila* на території Київської та Полтавської областей, зокрема для Полтавського лісостепу вказується 17 місцезростань [2, 26]. У степових областях *I. pumila* є типовим видом і зосереджений на різного розміру нерозораних ділянках цілинних, петрофільних і злегка засолених степів. Такі фрагменти степу значно ізольовані та зазнають впливу антропогенного навантаження різної сили. Оскільки чи не найбільша частина нерозораних степових ділянок збереглася на території Луганської та Донецької областей, а також у Криму [7, 13], найчисельніші популяції виду, ймовірно, сконцентровані саме там.

Чисельність степових популяцій коливається в широких межах — від кількох до понад 1000 особин (див. табл. 1).

Серед усіх досліджених нами популяцій найбільшу щільність особин має популяція виду з с. Мигія, яка є найчисленнішою та найменш порушеною. Це добре узгоджується з даними літератури. Зокрема, показано, що найбільшій щільності особин вид досягає на ділянках розріджених петрофільних чи інших степів, на територіях же зімкнутих цілинних степів його щільність нижча [23]. Загалом найвищу чисельність і щільність особин для півників відзначено на деяких малопорушених ділянках степових екосистем, таких як Перекопський вал, або в Гірському Криму, де щільність особин сягає 10 екз./м². Надзвичайно висока чисельність популяції спостерігається в умовах Краснодарського краю, тут кількість особин на 1 м² коливається від 19 до 93 [7].

Показано, що лісостепові популяції нечисленні, представлені ізольованими групами від однієї до кількох десятків особин. У Полтавському лісостепу вид трапляється невеликими групами, по 10—20 особин, з проективним покриттям 1—2 % [2].

Аналіз вікового складу всіх досліджених нами популяцій (табл. 1) показав, що для виду характерні клонові популяції з переважанням зрілих G-клонів. Із збільшенням розміру генеративних клонів спостерігалася їхня партикуляризація (ймовірно, як прояв сенілізації). Подібні результати отримали й інші дослідники, які обстежували кримські популяції [6]. Разом з тим, зазначено, що популяції Полтавщини, Ростовської обл. та Краснодарського краю виявилися повночленними [2, 7]. У віковій структурі популяцій Ростовської обл. співвідношення віргінільних, генеративних та сенільних рослин становило в середньому 2:4:1 [23].

Таблиця 1. Головні характеристики деяких досліджених популяцій *I. pumila*

Місцезнаходження	Андріївка	Придніпровське	Дніпровський кліф	Аляуди	Коларово	Мигія	Тарханкутський півострів	Керченський півострів
Рік дослідження	2012	2012	2010	2010	2010	2010	2006, 2010	2006, 2010
Загальне проективне покриття травостою, %	100	100	50	45—50	60	90—100	50	70
Індивідуальне покриття <i>I. pumila</i> , %	1	10	1—5	1—5	1	1—5	1	1
Чисельність популяції, екз.	Близько 50	Близько 1000	Більше 100	Більше 40	Близько 50	Більше 1000	Близько 50 екз.	Фрагменти 1—5
Щільність, екз/м ²	1	1—5	До 5	До 2	До 3	До 10	До 2	1
Наявність догенеративних особин	-	+	+	+	+	+	-	-
Наявність генеративних особин, %	90	80	80	90	90	80	100	100
Наявність партикулюючих особин	Не вивчено	+	+	+	-	-	-	+

Догенеративні особини в досліджених нами популяціях траплялися зрідка, зокрема, їх вдалося виявити по периферії великих особин і на ділянках змиву насіння в околицях с. Мигія. Як показано в літературі, коефіцієнт зав'язування насіння у виду в угрупованнях багаторізотравних — дерново-вино-злакових степів на крейдяному субстраті, в сприятливий за погодними умовами рік становив 33 %, а варіабельність інших параметрів насінневої продуктивності наближалася до максимальної [20]. Це свідчить про те, що генеративне поновлення *I. pumila* істотно залежить від умов конкретного року і відзначається переважно в найсприятливіші роки, що значно обмежує можливість поповнення популяцій молодими особинами. Для виду також притаманна стратегія тривалого переживання генеративних особин.

Важливою є оцінка дії на популяції *I. pumila* й інших зовнішніх чинників. Зокрема, значний негативний вплив справляє ерозія морських і лиманних узбереж, яка призводить до поступового знищення вузьких прибережних ділянок, заселених видом. З антропогенних факторів істотний негативний вплив мають залісення степових ділянок, пали, використання степових угідь як пасовищ, сміттєзвалищ, для видобутку корисних копалин та інші чинники фізичного нищення степових ценозів і порушення ґрунтів. Також необхідно відзначити цілеспрямоване викопування рослин населенням для висаджування в культурі. Вплив усіх цих чинників особливо небезпечний своєю непрогнозованістю через брак реальних даних про динаміку популяцій виду з більшої частини сучасного ареалу [23, 33].

Екологічна амплітуда зростання виду

За даними М. Перегрима та ін., *I. pumila* входить до низки типових степових зональних асоціацій: *Stipetum capillaeae*, *Festuco valesiacaе-Stipetum capillatae*, *Festucetum valesiacaе*, *Stipo ucrainicae-agropyretum pectinati*, *Agropyro pectinato-Kochietum prostratae*, *Vinco herbacea-Caraganetum fruticos*, *Stipetum pulcherrimae* [16]. Ми фіксували вид на вапнякових виходах в угрупованні *Festuca valesiaca-Crinitaria villosa* (берег р. Інгулець поблизу с. Зелене), а також *Festuca valesiaca-Crinitaria villosa-Stipa capillata* (п-ів Аляуди). У петрофільному варіанті останнього угруповання вид знайдено на гранітних виходах у с. Мигія Первомайського р-ну Миколаївської обл. У ценозах *Festuca valesiaca-Stipa capillata* вид трапляється на території заказника

Балка Кобильна Широківського р-ну Дніпропетровської обл. (2000 р.). В угрупованнях з домінуванням *Stipa brauneri* та *Festuca valesiaca* вид виявлений на території Тарханкутського (2010 р.) і Керченського півостровів (2004—2010 рр.), а також поблизу смт Орджонікідзе Феодосійської міськради (2010 р.). У лісостепу *I. pumila* трапляється на ділянках лучно-різнотравних степів, у верхніх частинах схилів південно-східної експозиції по долинах річок [2]. У подібних умовах він зростає у зональних степових угрупованнях на Кіровоградщині [4]. Отже, цей вид може розглядатися як діагностичний для союзів *Festucion valesiacaе*, *Artemisio-Kochion*, *Stipion lessingianaе* порядку *Festucetalia valesiacaе*.

Проведений нами фітоіндикаційний аналіз на основі обробки 19 геоботанічних описів з різних місцезнаходжень Лісостепової та Степової зон свідчить про дуже вузьку екологічну амплітуду умов зростання за головними екологічними факторами (рис. 2). Найвужчою амплітудою характеризується аерація ґрунту та вміст у ньому нітрогенів, а також ступінь затіненості ценозів (рис. 2). Це означає, що серед проаналізованих факторів саме зміна водного режиму, що, в свою чергу, впливає на зміну

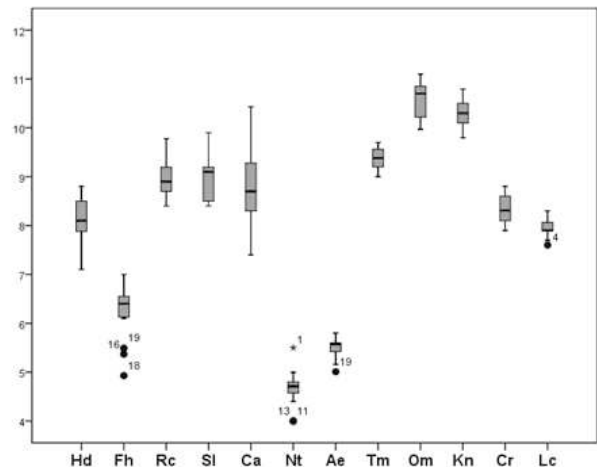


Рис. 2. Широта амплітуди провідних екологічних факторів для ценозів, у яких зростає *I. pumila*: Hd — вологість ґрунту; Fh — змінність зволоження; Rc — кислотність ґрунту; Sl — сольовий режим; Ca — вміст карбонатів; Nt — вміст нітрогену; Ae — аерація ґрунту; Tm — терморезим; Om — вологість; Kn — континентальність; Cr — криорезим угруповань; Lc — освітленість ценозів (Didukh, 2011)

Fig. 2. Amplitudes of major ecological factors in *I. pumila* biotopes: Hd — soil moisture; Fh — variability of dampening; Rc — soil acidity; Sl — total salt conditions; Ca — carbonate content of soil; Nt — nitrogen content of soil; Ae — soil aeration; Tm — thermal conditions; Om — humidity; Kn — continentality of climate; Cr — frost conditions; Lc — lightness (Didukh, 2011)

аерації та азотне збагачення, та ценотична структура є лімітувальними чинниками поширення виду. В літературі вказується, що за вимогами до рівня вологості цей вид є еуксерофітом [10] або мезоксерофітом [21, 26], тобто трапляється в діапазоні від дуже сухих до помірно-сухих місцезростань. Натомість кліматичні фактори та хімічні властивості

грунту меншою мірою лімітують поширення цього виду, хоч, як видно з рис. 3, вони істотно корелюють із вищеназваними показниками, і насправді саме їхня зміна може опосередковано спричинити зміну біотопів.

Як видно з рис. 3, пряма лінійна залежність спостерігається між сольовим режимом і вмістом

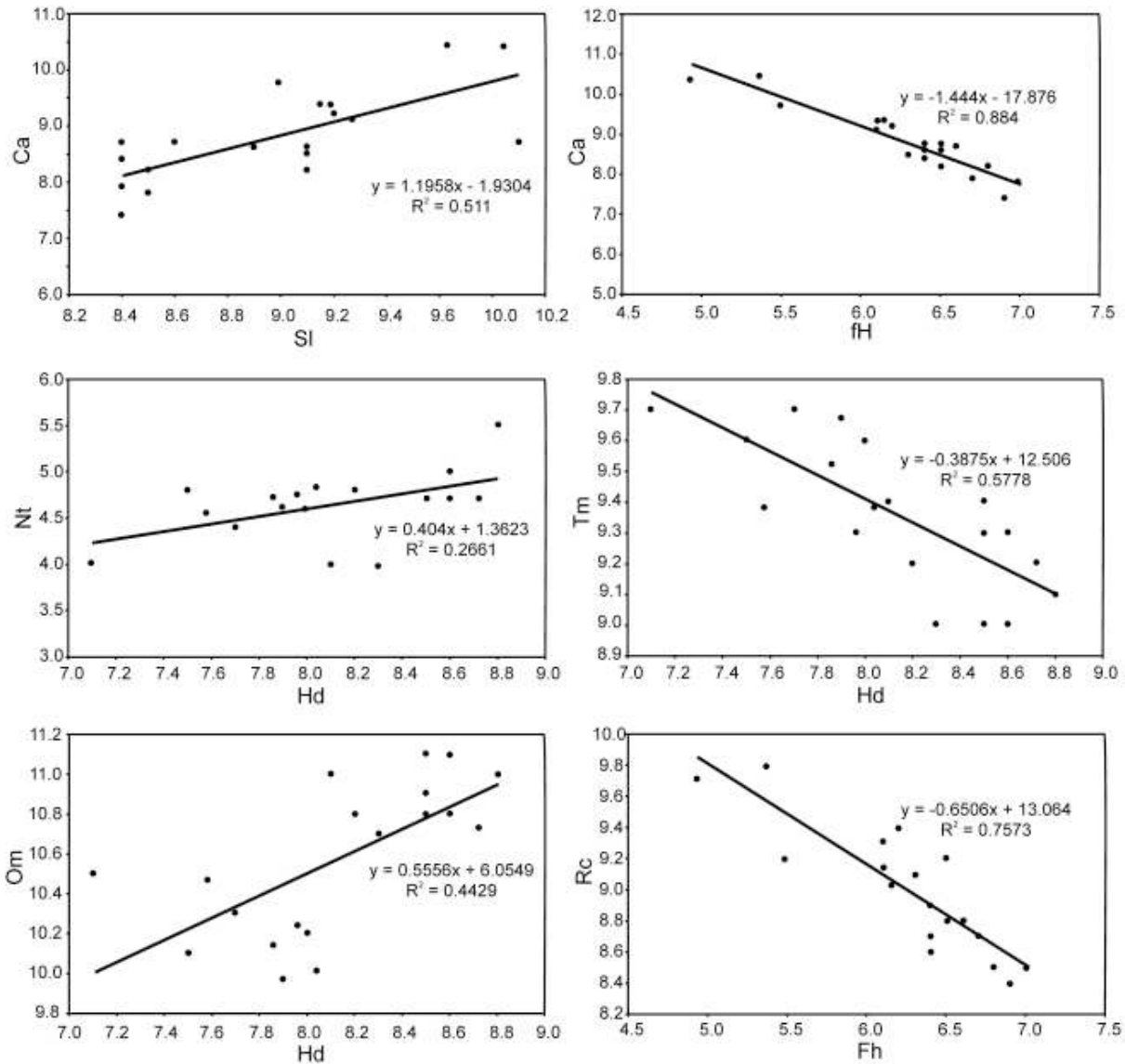


Рис. 3. Характер залежності між зміною деяких провідних екологічних факторів у межах ценозів, де зростає *I. pumila*: Hd — вологість ґрунту; Fh — змінність зволоження; Rc — кислотність ґрунту; Sl — сольовий режим; Ca — вміст карбонатів; Nt — вміст нітрогену; Ae — аерація ґрунту; Tm — терморезим; Om — вологість; Kn — континентальність; Cr — криорезим угруповань; Lc — освітленість ценозів (Didukh, 2011)

Fig. 3. Mode of dependence between changes in some major environmental factors within *I. pumila* communities: Hd — soil moisture; fH — variability of damping; Rc — soil acidity; Sl — total salt conditions; Ca — carbonate content of soil; Nt — nitrogen content of soil; Ae — soil aeration; Tm — thermal conditions; Om — humidity; Kn — continentality of climate; Cr — frost conditions; Lc — lightness (Didukh, 2011)

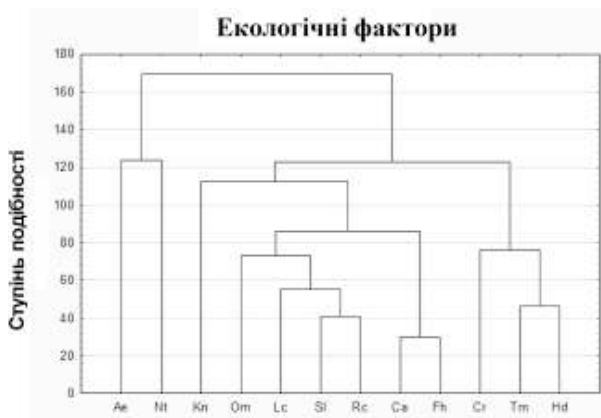


Рис. 4. Оцінка подібності/відмінності провідних еко-факторів, що відображена у вигляді дистанційних зв'язків, розрахованих за допомогою середнього зваженого

Fig. 4. Assessment of similarity / difference of leading ecological factors as presented by the distance of relations, calculated using the weighted average

карбонатів у ґрунті, вологістю ґрунту та концентрацією нітрогену, а також вологістю. Натомість негативну кореляцію встановлено між змінністю зволоження та вмістом карбонатів і кислотністю ґрунту, а також вологістю ґрунту і терморезимом.

Детальніші висновки можна зробити на основі аналізу залежності змін екологічних факторів (рис. 4). Як видно з дендрограми, вологість ґрунту, що впливає на показники аерації та вміст нітрогену, пов'язана з температурними параметрами (термо- та кріорежимом) у межах степових угруповань. Натомість кліматичні показники, що залежать від кількості опадів (вологість і континентальність), більше впливають на хімічні особливості ґрунту. Однак слід зазначити, що наведені дані отримані для типових степових ценозів, де зростає *I. pumila*, тому вони не відображають залежності чи впливу факторів поза межами цих ценозів, що є досить важливим, бо саме аналіз широкого спектра ценозів міг би дати повнішу картину.

ISSR-аналіз та аналіз гаплотипів хлоропластної ДНК

ISSR-аналіз *I. pumila* з чотирьох популяцій показав високий рівень генетичного різноманіття, який був подібним або перевищував такий в інших видів роду. Вивчені популяції майже не відрізнялися за основними показниками генетичного поліморфізму [3]. Серед них вищими значеннями виділялася лише популяція поблизу с. Мигія. Імовірно, це пов'язано з більшим її розміром — понад 1000 особин, тоді як у решти — лише 40—200 (див. табл. 2). Популяція в с. Андріївка, що знаходиться практично на північній межі ареалу *I. pumila* в Україні, не відрізнялася за рівнем генетичного поліморфізму від близьких за розміром популяцій із степової частини ареалу [3]. За існуючими уявленнями, генетичний поліморфізм у периферійних популяціях може бути нижчим, порівняно з центральними, через менш сприятливі умови для розмноження і виживання та генетичний дрейф. З другого боку, дестабілізуючий добір, спричинений підвищеною мінливістю умов довкілля на краю ареалу, може інколи збільшувати генетичну мінливість периферійних популяцій [34].

Популяції п-ова Аляуди і с. Коларово виявилися найближчими за значенням генетичних дистанцій між рослинами, а також за частотами алелей, генетична відстань за Неєм між ними має найменшу величину [3]. Очевидно, лише на такій відстані можливий ефективний обмін генетичним матеріалом між популяціями шляхом перезаплення комахами та розповсюдження насіння.

За результатами аналізу молекулярної дисперсії (AMOVA), генетичне різноманіття *I. pumila* зосереджене переважно всередині популяцій (75 % загального поліморфізму), а диференціація між популяціями та регіонами (Полтавська і Миколаївська області), незважаючи на значні геогра-

Таблиця 2. Основні показники генетичного поліморфізму популяцій *I. pumila* за даними ISSR-аналізу (Бублик та ін., 2013)

Популяція	Враховано ампліконів, шт.	Частка поліморфних ампліконів (P), %	Незміщена генна різноманітність Нея (очікувана гетерозиготність H_e)	Індекс Шеннона (S)	Генетичні відстані між рослинами за Жаккардом (D_j), %	Середня генетична відстань між рослинами за Жаккардом (D_j), %
Мигія	135	63,4	0,171 ± 0,012	0,261 ± 0,017	43,5 – 75,6	61,2
Аляуди	112	50,5	0,135 ± 0,012	0,205 ± 0,017	44,1 – 70,4	57,5
Коларово	113	48,5	0,122 ± 0,012	0,189 ± 0,016	38,3 – 63,5	51,5
Андріївка	107	49,5	0,127 ± 0,012	0,195 ± 0,017	43,8 – 72,1	60,0
У середньому	117	52,9	0,139 ± 0,006	0,212 ± 0,008	38,3 – 75,6	57,6
Сумарна матриця	194	97,9	0,171 ± 0,011	0,287 ± 0,014	38,3 – 83,8	69,2

фічні відстані, є порівняно низькою (17 % та 8 % відповідно) [3]. Найімовірніше, достатньо високий рівень генетичного поліморфізму *I. pumila* та слабка дивергенція популяцій збереглися з часів, коли ареал виду ще не зазнав фрагментації, а сучасні ізольовані популяції мали спільний генний пул і вільно обмінювалися генетичним матеріалом. Збереження високого вихідного рівня генетичного різноманіття значною мірою забезпечує велика тривалість життя дорослих генеративних клонів.

Такому погляду не суперечать дані аналізу пластидних послідовностей. Комбінована пластидна матриця складається з 1686 символів із трьома варіабельними ділянками (включаючи дві дуплікації). Міжгенний спейсер *trnS-trnG* виявився більш варіабельним порівняно з ділянкою *trnL-trnF*. Розподіл поліморфізму пластидних маркерів уможливив виділення трьох окремих гаплотипів (рис. 5). Гаплотип Н1 виявлено в кожній із досліджуваних популяцій. Гаплотип Н2, порівняно із гаплотипами Н1 та Н3, має додатковий нуклеотид Т у повторі [poly(T)] в ділянці *trnL-trnF*. Він знайдений у рослин з популяцій м. Інкерман та м. Керч. Гаплотип Н3 характеризується наявністю двох дуплікацій, по

одній для кожної з аналізованих ділянок. Надзвичайно цікаво, що останній із виявлених гаплотипів знайдений виключно серед особин *I. pumila* з популяції с. Мигія. Особини з цієї популяції мають також гаплотип Н1.

Таким чином, за поліморфізмом досліджених хлоропластних маркерів, так само як попередньо за даними ISSR-аналізу, популяція з с. Мигія порівняно з іншими виявилася найбільш гетерогенною. Проте загалом, на підставі аналізу хлоропластних маркерів, можна констатувати низький рівень внутрішньо- і міжпопуляційного генетичного різноманіття в популяціях виду. Наявність індивідуального гаплотипу Н3 (два випадки дуплікації) серед особин популяції з с. Мигія, імовірно, свідчить про молекулярну синапоморфію. Проте для підтвердження специфічності цього гаплотипу для популяції з с. Мигія потрібний аналіз більшої вибірки особин. Отримані дані наразі не дають підстав для виділення підвидів *I. pumila* на території, охопленій молекулярно-генетичними дослідженнями.

Розглядаючи загалом можливі причини виявленого високого генетичного різноманіття в нечисленних ізольованих популяціях *I. pumila*, не

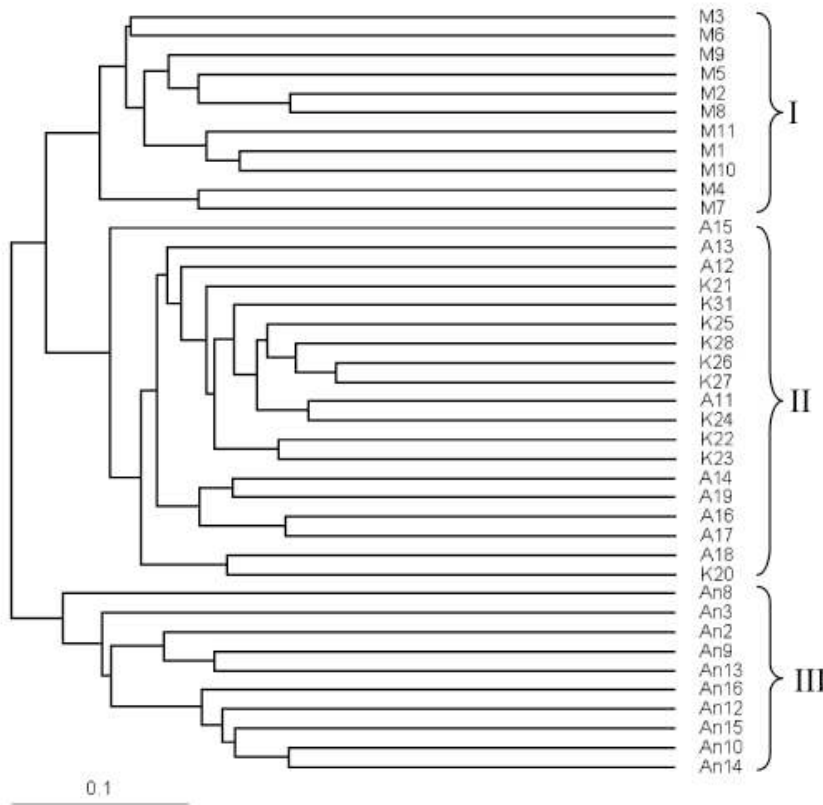


Рис. 5. Дендрограма генетичних відносин рослин *I. pumila* з чотирьох популяцій (*M* — Мигія, *A* — Аляуди, *K* — Коларово, *An* — Андріївка) побудована методом UPGMA за генетичними відстанями Жаккара на основі даних ISSR-аналізу. Римськими цифрами позначено окремі кластери

Fig. 5. UPGMA dendrogram of genetic relationships between *I. pumila* samples from four populations (*M* — Mygiiia, *A* — Aliaudy, *K* — Kolarovo, *An* — Andriivka) based on Jaccard's distances calculated from the data of ISSR-analysis. Roman numerals mark the individual clusters

можна також виключити внеску механізмів, що сприяють додатковому накопиченню генетичної гетерогенності. Результати молекулярно-генетичного аналізу, які демонструють велику гетерогенність популяцій, що складаються з дорослих генеративних особин, добре узгоджуються з виявленим феноменом, коли будь-яка соматична клітина з живим функціонально активним ядром після її ізоляції та подальшого вирощування *in vitro*, завдяки явищу соматональної мінливості, може повністю чи частково відновити в популяції клітин-нащадків генетичний поліморфізм, притаманний даному виду [8, 9]. У випадку *I. pumila* подібні процеси завдяки великій тривалості життя можуть відбуватися в окремих генеративних особинах, слугуючи додатковим джерелом різноманіття в малих за чисельністю популяціях. Однак це попереднє припущення потребує ретельної перевірки шляхом аналізу клональної мінливості у *I. pumila*.

Висновки

Проведене дослідження типового степового багаторічника *I. pumila* не дає однозначної відповіді щодо наявності в нього генетичної ерозії.

Вид на території України характеризується низькою внутрішньовидовою диференціацією.

Значна частина популяцій *I. pumila* внаслідок розорювання степової зони ізольована від інших та нечисленна. У популяціях домінують дорослі генеративні екземпляри, насіннєве поновлення має нерегулярний характер. Така ситуація, що складається під впливом природних умов, додатково посилюється внаслідок постійної несприятливої дії антропогенних чинників.

Вид має вузьку екологічну амплітуду за низкою екологічних факторів, що становить для нього потенційну загрозу внаслідок приуроченості до зникаючих степових угруповань.

Дані ISSR-аналізу й аналізу пластидних маркерів свідчать про значну внутрішньопопуляційну та малу міжпопуляційну генетичну гетерогенність популяцій *I. pumila*. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що багаторічні дорослі клони, незважаючи на тривалу ізоляцію та розорювання степів з XVIII ст., досі зберігають вихідне генетичне різноманіття. Обмежене поновлення популяцій шляхом статевого розмноження, в свою чергу, уповільнює накопичення міжпопуляційних відмінностей навіть в умовах значної ізоляції.

Проаналізовані популяції доволі подібні за виявленими хлоропластними послідовностями. Втім, у деяких популяціях *I. pumila* виявлено специфічні хлоропластні гаплотипи, уточнення походження яких потребує додаткових досліджень.

Рекомендації

Виявлені загрози для виду зумовлюють потребу у створенні заказників місцевого значення на ділянках його зростання, особливо на межі ареалу в Лісостепу та в умовах великих численних популяцій степової зони. Враховуючи досвід інших країн, варто також розглянути можливість охорони виду в Україні.

Автори висловлюють подяку Н. Мирюті, О. Поронник за допомогу у здійсненні цього дослідження. Роботу виконано за фінансової підтримки Цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» у рамках проекту «Порівняльна геноміка в діагностиці генофонду деяких рідкісних видів рослин України», а також у рамках проекту безвалютного обміну між НАН України та Польською АН «Вивчення екогенетичних та популяційно-екологічних механізмів адаптації рослин до екстремальних умов довкілля».

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеева Н.Б. Виды рода *Iris* L. во флоре России. Проблемы охраны в природе и интродукции: Дисс... канд. биол. наук. — М., 2005. — 151 с.
2. Байрак О. М., Стецюк Н. О. Атлас рідкісних та зникаючих рослин Полтавщини. — Полтава: Верстка, 2005. — 248 с.
3. Бублик О.М., Андреев І.О., Парнікоза І.Ю., Троїцька Т. Б., Кунах В.А. Комплексна оцінка стану популяцій *Iris pumila* L. України // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. — К.: Логос, 2013. — 13. — С. 18—22.
4. Діденко І. П., Швець Т. А., Томашевська Н. П. Еколого-ценотичні особливості *Iris pumila* L. в Кіровоградській області // Актуальні пробл. ботаніки та екології: Мат-ли міжнар. конф. молодих учених (21—25 вересня 2010 р., м. Ялта). — Сімферополь, 2010. — С. 206.
5. Ена А. В. Природная флора Крымского полуострова. — Симферополь: Н. Орианда, 2012. — 232 с.
6. Ефимов С.В., Кирничёва Л.Ф., Дацюк Е.И. Распространение и морфологические особенности ириса карликового на примере крымских популяций : Мат-лы II Моск. междунар. симпози. по роду Ирис «Iris-2011». — М.: МГУ, 2011. — С. 128—132.
7. Красная книга Приазовского региона. Сосудистые растения / Под ред. В.М. Остапко, В.П. Коломийчука. — Киев: Альтерпресс, 2012. — 267 с.

8. Кунах В. А. Пластичність генома соматических кліток и адаптивність рослин // Молекулярна и прикладна генетика. — Минск, 2011. — Т. 12. — С. 7—14.
9. Кунах В. А. Онтогенетическая пластичность генома как основа адаптивности растений. Жебраковские чтения. III. — Минск: Право и экономика, 2011. — 56 с.
10. Кучеревський В. В. Конспект флори Правобережного степового Придніпров'я. — Дніпропетровськ: Проспект, 2004. — 292 с.
11. *Определитель* высших растений Украины / Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н. Прокудин и др. — 2 изд., стереот. — Киев: Фитосоцицентр, 1999. — 548 с.
12. *Останко В. М.* Раритетный флорофонд Юго-Востока Украины (хорология). — Донецк: ООО «Лыбедь», 2001. — 121 с.
13. Парнікоза І. Збереження українського степу: що можна зробити вже сьогодні? // Раритетна теріофауна та її охорона. Праці Теріол. шк. — Вип. 9. — Луганськ, 2008. — С. 53—62.
14. Парнікоза І. Деякі рефугіуми степової біоти та місцезростання рідкісних рослин в околицях міст Кривий Ріг та Дніпропетровськ // Наук. праці Луганського природ. зап.-ка. Рослин. та тварин. світ та його охорона. — Луганськ, 2011. — 2. — С. 31—40.
15. Парнікоза І.Ю., Шевченко М.С., Іноземцева Д.М., Василюк О.В., Шевченко О.С. Раритетна флора (охорона, вивчення, реінтродукція). — К.: КЕКЦ, 2008. — 132 с.
16. Перегрим М.М., Мойсієнко І.І., Перегрим Ю.С., Мельник В.О. *Tulipa gesneriana* L. (Liliaceae) в Україні. — К.: ВПЦ «Київ. ун-т», 2009. — 135 с.
17. Родионенко Г.И. Род Ирис — *Iris* L. (вопросы морфологии, биологии, эволюции и систематики). — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961. — 215 с.
18. Родионенко Г.И. Род Касатик (Ирис) — *Iris* // Декоративные травянистые растения для открытого грунта СССР. — Л.: Наука, 1977. — Т. 1. — С. 225—273.
19. Сикура И.И. Genus *Iris* L. (Iridaceae) — род Касатик, Ирис (касатиковые). — Киев: Знання України, 2010. — 195 с.
20. Слугинова И.С. Семенная продуктивность некоторых видов растений меловых обнажений бассейна Полной // Изв. вузов. Северо-Кавказ. регион. Естеств. науки. — 2008. — 146, № 4. — С. 75—79.
21. Тарасов В.В. Флора Дніпропетровської та Запорізької областей. Судинні рослини. Біолого-екологічна характеристика видів. — Дніпропетровськ: Вид-во ДНУ, 2005. — 276 с.
22. Ткаченко В.С., Дідух Я.П., Генов А.П. та ін. Український природний степовий заповідник. Рослинний світ. — К.: Фітосоціоцентр, 1998. — 232 с.
23. Федяева В.В., Шмараева А.Н., Шишлова Ж.Н. Охрана популяций *Iris pumila* L. в Ростовской области : Мат-лы II Моск. междунар. симпоз. по роду Ирис «Iris-2011». — М.: МГУ, 2011. — С. 128—132.
24. Червона книга Дніпропетровської області (Рослинний світ) / За ред. А.П. Травлєєва. — Дніпропетровськ: ВКК «Баланс Клуб», 2010. — С. 110.
25. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я.П. Дідуха — К.: Глобалконсалтинг, 2009. — 900 с.
26. Чопик В.І., Бортняк М.М., Войтюк Ю.О. та ін. Конспект Флори Середнього Придніпров'я. — К.: Фітосоціоцентр, 1998. — 139 с.
27. Brown A., Young A., Burdon J., Christides L., Clarke G., Coates D., Sherwin W. Genetic indicators for state of the environment reporting. Australia: State of the environment technical paper series (Environmental indicators). — Canberra, 1997. — 30 p.
28. Didukh Ya.P. The ecological scales for the species of Ukrainian flora and their use in synphytoindication. — Kyiv: Phytosociocentre, 2011. — 176 p.
29. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull. — 1987. — 19. — P. 11—15.
30. Gouy M., Guindon S., Gascuel O. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building // Mol. Biol. Evol. — 2010. — 27(2). — P. 221—224.
31. Jakubaska-Busse A., Proćków J., Górnjak M., Gola E.M. *Epipactis pseudopurpurata* distinct from *E. purpurata* (Orchidaceae)? Evidence from morphology, anatomy, DNA and pollination biology // Bot. J. Linnean Soc. — 2012. — 170. — P. 243—256.
32. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine: A nomenclatural checklist. — Kiev, 1999. — 346 pp.
33. Parnikoza I.Yu., Shevchenko N.M., Bogomaz M.V., Shevchenko M.S. The influence of grass burning on the dynamics of *Pulsatilla nigricans* Stork population of the regional landscape park «Lysa gora» (Kyiv) // Збірн. наук. праць. Фальцфейнівські читання. — Херсон: ПП Вишемирський, 2007. — С. 4—5.
34. Safriel N.U., Volis S., Kark S. Core and peripheral populations and global climate change // Isr. J. Plant Sci. — 1994. — 42. — P. 331—345.
35. Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III // Amer. J. Bot. — 2007. — 94. — P. 275—288.
36. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Mol. Biol. — 1991. — 17. — P. 1105—1109.
37. World checklist of selected plant families. <http://apps.kew.org/wcsp/qsearch.do>

Рекомендує до друку
С.Л. Мосякін

Надійшла 04.11.2014 р.

И.Ю. Парникоза¹, О.Н. Бублик¹, И.О. Андреев¹,
К.В. Спиридонова¹, Й. Голембевская³, М. Кубяк³,
А. Кучинская³, К. Мистковская³, Н. Оленджицкая³,
Б. Урасинская³, М. Гурняк³, А. Сълензак-Парникоза³,
К. Войцеховский⁴, Я.П. Дидух², В.А. Кунах¹

¹ Институт молекулярной биологии и генетики НАН
Украины, г. Киев

² Институт ботаники имени Н. Г. Холодного НАН Украины,
г. Киев

³ Гданьский университет, Польша

⁴ Люблинский университет Иоанна Павла II, Польша

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ СТЕПНЫХ МНОГОЛЕТНИКОВ УКРАИНЫ НА ПРИМЕРЕ *IRIS PUMILA*

Для типичного степного многолетника флоры Украины *Iris pumila* изучены показатели, которые могут свидетельствовать об угрозе генетической эрозии, а именно степень внутривидовой дифференциации; параметры популяций и уровень их изоляции, экологическая приуроченность, широта экологической амплитуды вида, антропогенное влияние, генетическое разнообразие по данным анализа ISSR-маркеров и хлоропластных последовательностей. Низкая внутривидовая дифференциация *I. pumila* на территории Украины, узкая экологическая амплитуда, изоляция и малочисленность популяций, значительная фрагментация ареала, преобладание генеративных особей и слабое семенное возобновление, подверженность антропогенному влиянию свидетельствуют о потенциальной угрозе виду. В то же время ISSR-анализ обнаружил высокую генетическую гетерогенность *I. pumila* наряду со слабой дифференциацией отдаленных популяций, а анализ хлоропластных последовательностей выявил три специфических пластидных гаплотипа. Это говорит о сохранении видом значительного генетического разнообразия, несмотря на ухудшение эколого-популяционных показателей. В целом проведенное исследование является яркой иллюстрацией необходимости комплексного подхода к оценке риска обеднения генофонда и исчезновения конкретного вида.

Ключевые слова: *Iris pumila*, степные многолетники, таксономия, генетическая эрозия, изоляция.

I. Parnikoza¹, O. Bublyk¹, I. Andreev¹, K. Spiridonova¹,
J. Gołębiewska³, M. Kubiak³, A. Kuczyńska³, K. Mystkowska³,
N. Ołędrzyńska³, B. Uraśińska³, M. Górniak³, A. Ślęzak-
Parnikoza³, K. Wojciehowski⁴, Y. Didukh², V. Kunakh¹

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

² M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of
Sciences of Ukraine, Kyiv

³ University of Gdańsk, Poland

⁴ John Paul II Catholic University of Lublin, Poland

INTEGRATED ASSESSMENT OF THE STATE OF STEPPE PERENNIAL PLANT POPULATIONS IN UKRAINE AS EXEMPLIFIED BY *IRIS PUMILA*

For the model steppe perennial species of the Ukrainian flora, *Iris pumila*, the factors were studied that may indicate a threat of genetic erosion including the level of intraspecific differentiation, population parameters and spatial isolation, ecological amplitude of the species, anthropogenic influence, genetic diversity as assessed by ISSR-markers and chloroplast sequences. Low intraspecific differentiation of *I. pumila* on the territory of Ukraine, narrow ecological amplitude, isolation and small size of populations, significant habitat fragmentation, prevalence of generative individuals and poor generative reproduction, exposure to anthropogenic effects suggest potential threat to the species. At the same time, ISSR-analysis demonstrated the high level of genetic diversity of *I. pumila* along with low differentiation of geographically distant populations, while analysis of chloroplast sequences revealed three specific plastid haplotypes. These suggest that the species have still retained substantial genetic variability despite the deterioration of ecological and population indices. In general, our study clearly shows the need for an integrated approach to assess the risk of depletion of the species gene pool and its extinction.

Key words: *Iris pumila*, steppe perennials, taxonomy, genetic erosion, isolation.