

ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ МАТЕРИНСЬКИХ РОСЛИН І ЗАРОДКІВ НАСІННЯ ПОПУЛЯЦІЙ СОСНИ КОХА (*PINUS KOCHIANA* KLOTZSCH EX KOCH) У КРИМУ

І.І. КОРШИКОВ^{1,3}, Л.О. КАЛАФАТ^{2,3}, О.М. ВІНОГРАДОВА³, Д.Ю. ПОДГОРНИЙ⁴

¹ Криворізький ботанічний сад НАН України

E-mail: ivivkor@gmail.com

² Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ

³ Донецький ботанічний сад НАН України

⁴ Никитський ботанічний сад НААН – Національний науковий центр, Україна

Проведено порівняльні дослідження генетичної мінливості за 12 алозимними локусами вибірок дерев і зародків їхнього насіння, а також системи схрещування в п'ятьох популяціях сосни Коха (*Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch) в Криму. Встановлено, що у зародків насіння відтворюється алейна різноманітність, яка властива материнським рослинам, проте рівень наявної (H_D) гетерозиготності є значно нижчим, відповідно 0,286 і 0,189. Для зародків на відміну від материнських дерев характерна значна розбіжність у фактичному розподілі генотипів від теоретично очікуваного згідно з законом Харді–Вайнберга для більшості аналізованих локусів. Частка перехресного запилення в популяціях при однолокусній (t_z) оцінці варіювала від 0,384 до 0,673, при багатолокусній (t_m) – 0,639–0,841.

Ключові слова: алозимна мінливість рослин і зародків сосни Коха, схрещування, популяції, Крим.

Вступ. Актуальними є дослідження популяційно-генетичної мінливості вузькоареальних ендемічних видів, потенційна загроза зникнення яких зростає в зв'язку з глобальними кліматичними змінами та посиленням антропогенного пресингу. Такі дослідження сприяють розумінню природи та значення поліморфізму в генетичній стійкості популяційних систем [1]. В цьому плані цікава сосна Коха (*Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch), що зростає локально на обмеженій території у верхньому лісовому поясі Криму. Основні популяції цього виду поки що не підпадали під вплив значних пожеж і незворотних антропогенних навантажень [2]. Згідно з нашими порівняльними популяційно-генетичними дослідженнями *P. kochiana* і сосни звичайної (*P. sylvestris* L.) в межах всього ареалу цього виду в Україні можна стверджувати, що *P. kochiana* не є самостійним видом, а лише географічно ізольованою різновидністю

широкоареальної *P. sylvestris* [3]. Невеликі популяції *P. kochiana* (максимум 6–8 га), що збереглися на заповідних територіях Криму, дозволяють з'ясувати структуру генофонду та генного різноманіття цього вузькоареального таксону. За допомогою аналізу алозимної мінливості встановлено генетичну структуру популяцій та визначено адаптивний оптимум гетерозиготності для багатьох видів родини *Pinaceae* Lindl., які зростають на різних континентах нашої планети. І далеко не завжди нечисленні вузькоареальні види відрізнялися зниженим рівнем генетичного поліморфізму [4, 5]. Гірські популяції *P. kochiana* пройшли тривалий природний відбір і дуже цікаві для з'ясування генетичних наслідків географічної ізоляції (≈ 500 км від близькоспорідної *P. sylvestris*). Внаслідок того що популяції *P. kochiana* нечисленні, з невисокою щільністю рослин, то у наступних поколіннях можливі втрати їхнього генетичного різноманіття через надмірне самозапилення рослин. У зв'язку з цим порівняння поліморфізму батьківських генотипів і зародків насіння, визначення частки ауткресингу та інбредного потомства сприяють кращому розумінню специфіки підтримки генетичної мінливості нечисленних ізольованих популяцій цього таксону.

Мета роботи – аналіз алозимної мінливості материнських рослин і зародків насіння та системи схрещування в популяціях *P. kochiana* в Криму.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були п'ять популяцій *P. kochiana* в Криму: в урочищах «Червоний камінь» і «Гурзуфське сідло» на південному схилі гори Караул-Кая, на південно-західному схилі від Никитської яйли, на північному схилі від Бабуган яйли і на кордоні «Верхній». Вік дерев, з яких було зібрано шишки з повноцінним насінням, становив

80–150 років, а їхні вибірки налічували 29–30 особин. Кількість зародків, що досліджувались в популяціях, змінювалась в межах 204–210 шт. Генетичний поліморфізм рослин вивчали за 19 локусами, зародків їхнього насіння – за 12 алозимними локусами. Аналізувалися тільки ті локуси, що добре ідентифікувалися на електрофореграмах.

Генотип рослин визначали за біохімічними маркерами, в даному разі за ізоферментами семи ферментних систем: глутаматоксалоацетаттрансамінази (GOT, К.Ф. 2.6.1.1), діафори (DIA, К.Ф. 1.8.1.4), глутаматдегідрогенази (GDH, К.Ф. 1.4.1.2), малатдегідрогенази (MDH, К.Ф. 1.1.1.37), кислої фосфатази (ACP, К.Ф. 3.1.3.2), лейцинамінотрипсидази (LAP, К.Ф. 3.4.11.1), форміатдегідрогенази (FDH, К.Ф. 1.2.1.2). Для кожної рослини робили електрофоретичний аналіз ферментів з 6–7 та більше ендоспермів і зародків насіння, які екстрагували окремо. Розділення ферментів проводили у вертикальних пластинах 7,5%-ного поліакриламідного геля у трис-гліциновому електродному буфері з рН 8,3 [6]. Ідентифікацію алелів досліджуваних локусів зроблено раніше [3]. Підрозділеність популяцій з'ясовували за показниками F-статистики Райта та G-статистики Нея, а диференціацію – за допомогою генетичної дистанції Нея [7]. Алельну і генотипічну гетерогенність популяцій оцінювали стандартним χ^2 -тестом. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакету комп'ютерних програм BIOSYS-1 [8], GenALEX V. 6 [9] та MLTR [10].

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті електрофорезу семи ферментів з ендоспермів насіння 149 дерев і 1014 зародків п'яти популяцій *P. kochiana* Криму виявлено 36 алелів 12 поліморфних локусів. При цьому три алеля – Lap-2^{null}, Dia-1^{1.15}, Mdh-2^{0.90} – зустрічалися тільки у дерев і зародків популяції урочища «Гурзуфське сідло», по одному алелю – Got-3^{1.15} та Acp^{0.97} – тільки в популяціях Бабуган яйла та кордон «Верхній» відповідно. Частоти предомінантного алеля (1.00) в усіх досліджуваних вибірках рослин і зародків становили $\geq 0,500$, за винятком єдиного випадку (Mdh-3, популяція урочища «Червоний камінь», зародки насіння). Загалом можна констатувати, що у зародків насіння природних

популяцій *P. kochiana* відтворюється алельна різноманітність, властива материнським рослинам. У випадкових вибірках дерев п'яти популяцій суттєва алельна та генотипова гетерогенність (χ^2) виявлена за п'ятьма локусами, а у зародків їхнього насіння – за всіма 12 поліморфними локусами. Отже, генетична структура зародків насіння на відміну від дорослих рослин помітно різниться, що може бути також пов'язане із значно більшою вибіркою зародків, ніж дерев. Однак ці відмінності можуть бути наслідком низької частки ауткросингу і неоднакового внеску дерев у загальний популяційний генофонд насінневого потомства.

Для переважної більшості локусів генетична структура досліджуваних популяцій *P. kochiana* близька до врівноваженої. Випадки істотної невідповідності фактичного розподілу генотипів теоретично очікуваному, згідно з законом Харді–Вайнберга, у материнських рослин цих популяцій встановлено для 1–3 локусів (табл. 1). Всього таких випадків було 8 і стосувалися вони п'яти локусів, з яких три є високомінливими. Істотні порушення у розподілі генотипів зародків в популяціях були скоріше правилом, ніж винятком, і зустрічались у 7–8 локусах. Для локусів Got-3, Acp, Lap-1, Lap-2 достовірні відхилення у розподілі генотипів зародків виявлено в усіх досліджуваних популяціях. Такий генетичний ефект описаний для популяцій багатьох видів хвойних, і пов'язують його з підвищеною присутністю гомозигот у зародків [1, 5, 11–13].

Середня наявна гетерозиготність (H_o) у вибірках зародків була істотно нижче, ніж у материнських дерев природних популяцій (табл. 2). Якщо у дерев значення H_o , визначені за 12 локусами, варіювали в межах 0,242–0,317, то у вибірках зародків вони склали 0,165–0,209. Очікувана гетерозиготність (H_e), середня кількість алелів на локус, а також частка поліморфних локусів у всіх порівнюваних парах вибірок дерев і зародків істотно не відрізнялись. Слід зазначити високий рівень значень H_e в популяціях *P. kochiana* як для материнських дерев (0,244–0,323; середнє значення 0,292), так і зародків їхнього насіння (0,247–0,351; середнє значення 0,299). Рівень гетерозиготності дерев в популяціях *P. kochiana* в Криму вищий, ніж в ізолюваних популяціях багатьох малопоширених видів хвойних. Так, наприклад, для рідкісної мексиканської *Pinus*

Таблиця 1. Випадки істотного відхилення фактичного розподілу генотипів від теоретично очікуваного згідно з законом Харді-Вайнберга в популяціях *Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch в Криму

Локус	Урочище «Червоний камінь»		Никитська яйла, південно-західний схил		Урочище «Гурзуфське сідро»		Бабуган яйла, північний схил		Кордон «Верхній»	
	дерев	зародки	дерев	зародки	дерев	зародки	дерев	зародки	дерев	зародки
Got-1	m	n.s.	m	m	m	n.s.	n.s.	11,6(1)***	m	n.s.
Got-2	3,9(1)*	76,5(1)***	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Got-3	n.s.	87,6(1)***	n.s.	9,0(1)**	n.s.	8,4(3)*	n.s.	13,4(1)***	n.s.	4,0(1)*
Gdh	4,1(1)*	38,8(1)***	n.s.	n.s.	4,7(1)*	4,8(1)*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Fdh	6,2(1)*	106,5(1)***	6,5(1)*	35,8(3)***	n.s.	32,8(1)***	n.s.	n.s.	n.s.	70,7(3)***
Lap-1	n.s.	74,0(1)***	n.s.	145,6(6)***	n.s.	118,5(6)***	n.s.	81,4(3)***	n.s.	64,3(6)***
Lap-2	n.s.	109,0(3)***	n.s.	127,4(6)***	n.s.	177,1(3)***	n.s.	141,6(3)***	n.s.	53,1(1)***
Dia-1	n.s.	n.s.	n.s.	66,4(3)***	n.s.	16,6(1)***	n.s.	16,3(1)***	n.s.	25,9(1)***
Dia-4	n.s.	n.s.	n.s.	150,5(1)***	n.s.	87,6(3)***	36,4(3)***	420,0(3)***	n.s.	138,5(3)***
Mdh-2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	m	n.s.	m	n.s.	n.s.	n.s.
Mdh-3		113,7(3)***	n.s.	66,2(3)***	4,8(1)*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	99,7(1)***
Asp	n.s.	16,7(3)***	n.s.	98,7(3)***	n.s.	19,0(3)***	n.s.	326,7(6)***	n.s.	312,6(3)***

Примітка. У дужках вказано ступінь свободи. Достовірні відмінності при * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$; n.s. – відмінності не достовірні; m – локус мономорфний.

pinseana Gordon з фрагментованою популяцією значення $H_E = 0,174$ [14]; для 23 популяцій *Abies alba* Mill. в Альпах на південному сході Франції $H_E = 0,063-0,217$ [15], для реліктової *Picea breweriana* Wats. у районах Каліфорнії та Орегона $H_E = 0,121$ [16]. Треба зазначити, що аналіз лише 12 локусів порівняно з 19 локусами в деякій мірі пояснює підвищену гетерозиготність рослин, бо серед додаткових локусів є мономорфні, що призводить до зниження розрахункових середніх значень H_O , H_E .

У зародків насіння *P. kochiana* зафіксовано значне перевищення очікуваної гетерозиготності над наявною, що згідно з індексом фіксації Райта вказує на присутність в усіх їхніх вибірках помітного надлишку гомозигот. Цього не спостерігалось у вибірках дорослих дерев.

Зазначений дефіцит гетерозигот у зародків, який відсутній в репродуктивних деревах, очевидно можна пояснити природним доббором у вікових групах проти інбредного потомства на користь гетерозигот [17, 18]. Відбір може не тільки підвищувати гетерозиготність до стану рівноваги згідно з законом Харді–Вайнберга, але якщо це балансує відбір, то приводить до ексцесу гетерозигот [19].

Середнім значенням коефіцієнта інбридингу особини щодо деревостану (F_{IS}) для материнських рослин досліджуваних популяцій властивий невеликий надлишок гетерозигот – 0,5 %, а для зародків їхнього насіння явний ексцес гомозигот – 32,6 %. Підрозділеність популяцій, як і у вибірок зародків з їхнього насіння, низька відповідно до середніх значень коефіцієнтів F_{ST}

Таблиця 2. Значення основних показників генетичного поліморфізму вибірок дерев і зародків їхнього насіння в популяціях *Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch в Криму

Місце зростання рослин	Кількість		Частка поліморфних локусів, P_{99}	Середня кількість алелів, A	Середня гетерозиготність, $M \pm m$		Індекс фіксації Райта, F	
	локусів	дерев і зародків			очікувана, H_E	наявна, H_O		
Урочище «Червоний камінь»	19	29	0,684	1,842	$0,211 \pm 0,015$	$0,198 \pm 0,014$	0,062	
	дерева	12	29	0,917	2,167	$0,323 \pm 0,023$	$0,302 \pm 0,022$	0,065
	зародки	12	204	1,000	2,333	$0,351 \pm 0,009$	$0,189 \pm 0,008$	0,462
Никитська яйла, південно-західний схил	19	30	0,684	2,053	$0,205 \pm 0,015$	$0,225 \pm 0,015$	-0,098	
	дерева	12	30	0,917	2,500	$0,291 \pm 0,022$	$0,317 \pm 0,023$	-0,089
	зародки	12	200	0,917	2,667	$0,290 \pm 0,009$	$0,187 \pm 0,008$	0,355
Урочище «Гурзуфське сідло»	19	30	0,632	1,947	$0,169 \pm 0,014$	$0,168 \pm 0,014$	0,006	
	дерева	12	30	0,833	2,250	$0,244 \pm 0,021$	$0,242 \pm 0,021$	0,008
	зародки	12	200	1,000	2,500	$0,247 \pm 0,008$	$0,192 \pm 0,008$	0,223
Бабуган яйла, північний схил	19	30	0,737	2,053	$0,200 \pm 0,015$	$0,196 \pm 0,014$	0,020	
	дерева	12	30	0,917	2,333	$0,285 \pm 0,022$	$0,292 \pm 0,021$	-0,025
	зародки	12	210	1,000	2,417	$0,294 \pm 0,008$	$0,209 \pm 0,007$	0,289
Кордон «Верхній»	19	30	0,737	2,053	$0,189 \pm 0,015$	$0,191 \pm 0,015$	-0,011	
	дерева	12	30	0,917	2,333	$0,275 \pm 0,022$	$0,278 \pm 0,022$	-0,011
	зародки	12	200	0,917	2,333	$0,271 \pm 0,008$	$0,165 \pm 0,007$	0,391
У середньому по загальній вибірці	20	149	0,737	2,474	$0,201 \pm 0,007$	$0,196 \pm 0,007$	0,025	
	дерева	12	149	0,917	2,417	$0,292 \pm 0,010$	$0,286 \pm 0,010$	0,021
	зародки	12	1014	1,000	3,000	$0,299 \pm 0,004$	$0,189 \pm 0,003$	0,368

(0,021–0,023). Це можна стверджувати і про диференціацію, бо середня генетична дистанція Нея (D_N) між вибірками дерев становить 0,016, а між їхніми зародками – 0,014. Проведений аналіз вказує на невисокі відмінності в генетичній структурі популяцій *P. kochiana* Криму, а також може свідчити про спільність їхнього походження. Наприклад, у виду з обмеженим ареалом (*Pinus pinseana*), фрагментованими популяціями і низькою відновлювальною здатністю дерев, які широко розкидані в межах популяцій, значення F_{ST} досягало 0,152, що в цілому не характерно для популяцій поширених видів хвойних [14].

У вибірках зародків найчастіше зустрічались генотипи, гетерозиготні за 2–4 локусами, їхня частка склала 71,1 % (табл. 3). Представництво генотипів зародків, гетерозиготних за 1–3 локусами, в популяціях становила 71,5 %, а за 1–4 локусами – 82,4 %. Значно менша кількість спостерігалась у вибірках зародків високогетерозиготних генотипів за 5–7 локусами. В цілому у популяціях вона становила 7,3 %. Досить високий відсоток мультилокусних гомозиготних генотипів зафіксовано у загальній вибірці зародків – 9,8 %. У материнських дерев природних популяцій встановлено тільки один такий гомозиготний генотип (0,67 %). Серед дерев у популяціях найбільш часто і досить в близькому

співвідношенні зустрічались гетерозиготні генотипи за 2–5 локусами: 14,8–28,8 %, склавши загалом 85,9 %.

У дерев, гетерозиготних за 2–8 локусами, середня наявна гетерозиготність вища, ніж у зародків їхнього насіння. Підвищення індивідуальної гетерозиготності рослин, починаючи з 0,167, не супроводжується адекватним зростанням наявної гетерозиготності їхніх зародків. Для всіх ранжованих за гетерозиготністю вибірок дерев характерна значна нестача гетерозигот у їхніх зародків, яка становила 26,6–43,1 %. Очевидно, що в зниження середньої гетерозиготності зародків насіння досліджуваних деревостанів вносять усі рослини, але найбільший внесок характерний для високогетерозиготних генотипів. Слід зазначити, що всередині популяцій немає будь-якої окремої групи дерев, яка забезпечує формування високогетерозиготного потомства. Раніше аналогічна ситуація була зазначена для рослин природних популяцій ялиці білої (*Abies alba* Mill.), сосни кримської (*Pinus pallasiana* D. Don) та сосни крейдяної (*P. sylvestris* var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom.) [12] і *P. sylvestris* [27].

Як і більшість хвойних рослин, *P. kochiana* має змішану систему схрещування з переважанням перехресного запилення і певною часткою самозапилення. У досліджуваних попу-

Таблиця 3. Розподіл кількості зародків та їхньої середньої гетерозиготності в залежності від кількості поліморфних локусів у материнських дерев об'єднаної вибірки популяцій *Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch в Криму

Гетерозиготні локуси у материнських дерев	Материнські дерева	Гетерозиготні локуси (0–7) у зародків та їхня вибіркова кількість								Загальна кількість зародків	Середня гетерозиготність вибірок зародків		Коефіцієнт інбридингу, F_{IS}
		0	1	2	3	4	5	6	7		наявна, H_O	очікувана, H_E	
0 (0,000)	1	1	2	1	2	–	–	–	–	6	0,139 ± 0,029	0,100 ± 0,029	–0,390
1 (0,083)	9	16	20	14	7	2	–	–	–	59	0,109 ± 0,011	0,167 ± 0,013	0,347
2 (0,167)	30	47	60	56	26	12	3	–	–	204	0,128 ± 0,006	0,225 ± 0,008	0,431
3 (0,250)	40	19	58	74	64	30	25	1	–	271	0,200 ± 0,007	0,289 ± 0,007	0,308
4 (0,333)	36	9	61	67	64	31	13	2	2	249	0,201 ± 0,007	0,320 ± 0,008	0,372
5 (0,417)	22	4	21	37	43	27	13	6	–	151	0,239 ± 0,010	0,355 ± 0,011	0,327
6 (0,500)	10	3	9	12	22	12	7	2	–	67	0,241 ± 0,014	0,352 ± 0,016	0,315
8 (0,667)	1	1	1	1	3	1	–	–	–	7	0,190 ± 0,035	0,259 ± 0,043	0,266
Усього та в середньому	149	100	232	262	231	115	61	11	2	1014	0,188 ± 0,003	0,299 ± 0,004	0,371

ляцій показники, що характеризують систему схрещування, отримані за допомогою 12 алозимних локусів. Вони виявилися різними із значним перевищенням багатолокусної оцінки над однолокусною (табл. 4).

Найбільш високі оцінки перехресного запилення встановлено в популяції урочища «Гурзуфське сідло». Значна різниця між багатолокусною ($t_m = 0,841$) і однолокусною ($t_s = 0,673$) оцінками свідчить про наявність близькоспоріднених схрещувань поряд з самозапиленням. В популяції урочища «Червоний камінь» обидві оцінки виявилися найменшими та t_m , як і в популяції урочища «Гурзуфське сідло», перевищувала t_s , що також свідчить про наявність близькоспоріднених схрещувань. У середньому частка перехресного запилення за однолокусною оцінкою становила 47,5 %, за багатолокусною – 71,5%. Отже, загальна частка самозапилення для цих популяцій була досить значною, склавши в середньому 29–53 %. Загалом наведені дані вказують на досить високий рівень самозапилення в природних популяціях *P. kochiana* Гірського Криму. Невелика чисельність та ізольованість популяції *P. kochiana* в Гірському Криму сприяє самозапиленню рослин, рівень якого близький, наприклад, до популяцій *Pinus cembra* L. Українських Карпат [19], *Abies alba* у Франції, *Picea glauca* та *Picea mariana* в Канаді, *Pinus lucodermis* в Італії, але вище, ніж у популяції *Picea martinezii* та *Picea mexicana* з Мексики і *Pinus rubens* з Канади [20]. В результаті близькоспоріднених схрещувань і самозапилення у хвойних частково формується інбредне потомство [21–25].

Відомо, що інбридинг може негативно впливати як на життєздатність окремих особин, так і на стійкість популяції в цілому [26].

Отже, у зародків насіння природних популяцій *P. kochiana* Криму встановлено істотне зниження гетерозиготності порівняно з материнськими деревами, що, як показує аналіз системи схрещування, пов'язано з близькоспорідненим запиленням. Однак у врожаї кожної з популяцій відтворюються алейна різноманітність та генетична структура, про що свідчать дуже низькі значення D_N (0,001–0,002) при порівнянні алейних частот материнських дерев і зародків їхнього насіння.

Необхідно підкреслити, що самозапилення сприяє надмірному утворенню порожнього насіння. Високогетерозиготні дерева часто продукують значно більше нежиттєздатного насіння, ніж дерева з більш низькою гетерозиготністю, що пов'язують з переходом леталів батьків в гомозиготний стан у потомстві [28]. Експрес гомозигот у вибірках зародків, зникаючий з віком у рослин *P. kochiana*, демонструє перевагу в життєздатності ауткросного потомства. Відбір проти гомозиготних особин, реалізований на ранніх стадіях онтогенезу, є загальним феноменом для багатьох видів деревних рослин [1, 29]. Очевидно, завдяки балансуєчому відбору відбувається «вирівнювання» генетичної структури популяцій [25], що ми і спостерігаємо в нашому випадку.

Таким чином, дослідження алозимної мінливості випадкових вибірок рослин і зародків їхнього насіння з невеликих популяцій *P. kochiana* Криму показали, що вони мають ефек-

Таблиця 4. Частка перехресного запилення в популяціях *Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch в Криму

Місце зростання рослин	Частка перехресного запилення		Фактичний коефіцієнт інбридингу, F
	t_s	t_m	
Урочище «Червоний камінь»	0,384 ± 0,056	0,639 ± 0,069	0,462
Никитська яйла, південно-західний схил	0,434 ± 0,050	0,641 ± 0,054	0,355
Урочище «Гурзуфське сідло»	0,673 ± 0,055	0,841 ± 0,043	0,223
Бабуган яйла, північний схил	0,531 ± 0,047	0,755 ± 0,044	0,289
Кордон «Верхній»	0,539 ± 0,048	0,767 ± 0,055	0,391
У середньому	0,475 ± 0,024	0,715 ± 0,025	0,368

Примітка. t_s – однолокусна, t_m – багатолокусна оцінка системи схрещування.

тивний розмір, достатній для підтримки генетичного різноманіття в наступних поколіннях. У цілому можна констатувати, що популяції вузьколокальної географічно ізольованої *P. kochiana* характеризуються меншим рівнем генетичної мінливості, ніж близькоспоріднена широкоареальна *P. sylvestris* [30, 31]. Встановлений рівень мінливості *P. kochiana* можна розглядати як оптимальний для даного таксону, що підтверджується високою життєздатністю рослин. Враховуючи, що природне відновлення *P. kochiana* в ізольованих популяціях Криму відбувається локально-дифузно за рахунок насіння з високою долею інбредного потомства, виникають передумови скорочення популяційної мінливості цього таксону. Це в цілому може призвести до зміни еволюційно виробленого співвідношення генотипів в репродуктивній частині наступних поколінь існуючих популяцій. Однак можливість таких змін залежить від сили дії природного добору, а також від надмірного антропогенного впливу. Невеликі популяції *P. kochiana* в Криму необхідно ретельно охороняти, особливо від пожеж та підвищеного рекреаційного навантаження.

GENETIC VARIABILITY OF MATERNAL PLANTS AND SEED EMBRYOS OF KOCH PINE POPULATIONS (*PINUS KOCHIANA* KLOTZSCH EX KOCH) IN CRIMEA

I.I. Korshikov, L.O. Kalafat,
O.M. Vynogradova, D.Y. Podgorniy

Kryvyi Rih Botanical Garden of NAS of Ukraine
E-mail: ivivkor@gmail.com
Institute of Food Biotechnology and Genomics of NAS of Ukraine, Kyiv
Donetsk Botanical Garden of NAS of Ukraine
Nikita Botanical Garden of UAAS – National scientific center

Comparative studies of genetic variability were undertaken for 12 allozyme loci selections of trees and embryos of seed, and also for the crossing systems in five populations of Koch pine of (*Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch) in Crimea. It was shown that in seed embryos the allelic variety peculiar to the maternal plants was restored, however the level of the available (H_o) heterozygosity was considerably lower, 0,286 and 0,189 respectively. For the embryos unlike the trees, in the majority of the analyzed loci the considerable divergence was specific in the actual distribution of genotypes from the theoretically expected according to Hardy-

Weinberg law. The proportion of cross pollination at the unilocal (t_c) estimation varied from 0,384 to 0,673 in the populations, while at the multilocal ones (t_m) it was 0,639–0,841.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Altukhova, Y.P., The dynamics of population gene pools under anthropogenic influences, Moscow: Nauka, 2004, 619 p.
2. Didukh, Ya.P., *The vegetation cover of the Crimean Mountains (structure, dynamics, and evolution of the security)*, Kyiv: Naukova dumka, 1992, 256 p.
3. Korshikov, I.I., Podgorniy, D.Y., Kalafat, L.A., and Pirko, Ya.V., Taxonomic status of *Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch from Mountain Crimea on data comparative population and genetic research to *Pinus sylvestris* L., *Ukr. Bot. J.*, 2011, vol. 68, no. 1, pp. 133–142.
4. Delgado, P., Cuenca, A., Escalante, A.E., Molina-Freaner, F., and Picero, D., Comparative genetic structure in pines: evolutionary and conservation consequences, *Rev. chil. hist. nat.*, 2002, vol. 75, no. 1, pp. 27–37.
5. Политов, Д.В. *Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. Pinaceae) северной Евразии*: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук, Москва, 2007, 47 с.
6. Davis, B.J., Disk electrophoresis. 2. Methods and application to human serum proteins, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1964, vol. 121, pp. 404–427.
7. Nei, M., Genetic distance between populations, *Amer. Natur.*, 1972, vol. 106, no. 949, pp. 283–292.
8. Swofford, D.L., and Selander, R.B., BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics, *J. Hered.*, 1981, vol. 72, no. 4, pp. 281–283.
9. Peakall, R., and Smouse, P.E., GenAlex 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, *Mol. Ecol. Notes*, 2006, vol. 6, no. 1, pp. 288–295.
10. Ritland, K., Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci, *Heredity*, 2002, vol. 88, pp. 221–228.
11. Bower, A.D., and Aitken, S.N., Mating system and inbreeding depression in whitebark pine (*Pinus alba-caulis* Engelm.), *Tree Genet. Genom.*, 2007, vol. 3, no. 4, pp. 379–388.
12. Korshikov, I.I., Pirko, N.N., Mudrik, E.A., and Pirko, Ya.V., Maintenance of genetic structure in progenies of marginal mountainous and steppe populations of three species of *Pinaceae* Lindl. family in Ukraine, *Silvae Genet.*, 2007, vol. 56, no. 1, pp. 1–10.
13. Belokon, M.M., Belokon, Yu.S., and Politov D.V.,

- The mating system and the dynamics of allozyme heterozygosity in *Pinus pumila* (Pall.) Regel. populations, *Conifers of the Boreal Zone*, 2010, vol. 27, no. 1–2, pp. 13–18.
14. Ledig, F.T., Capo-Arteaga, M.A., Hodgskiss, P.D., Sbay, H., Flores-Lopez, C., Conkle, M.T., and Bermejo-Velazquez, B., Genetic diversity and the mating system of a rare Mexican pinon, *Pinus pinceana*, and a comparison with *Pinus maximartinezii* (Pinaceae), *Am. J. Bot.*, 2001, vol. 88, no. 11, pp. 1977–1987.
 15. Fady, B., Forest, I., Hochu, I., Ribiollet, A., de Beaulieu, J.-L., and Pastuszka, P., Genetic differentiation in *Abies alba* Mill. populations from southeastern France, *Forest Genet.*, 1999, vol. 6, no. 3, pp. 129–138.
 16. Ledig, F.T., Hodgskiss, P.D., and Johnson, D.R., Genic diversity, genetic structure, and mating system of Brewer spruce (*Pinaceae*), a relict of the Arcto-Tertiary forest, *Am. J. Bot.*, 2005, vol. 92, no. 12, pp. 1975–1986.
 17. Muona, O., Yazdani, R., and Rudin, D., Genetic change between life stages in *Pinus sylvestris*: allozyme variation in seeds and planted seedlings, *Silvae Genet.*, 1987, vol. 36, no. 1, pp. 39–42.
 18. Yazdani, R., Muona, O., Rudin, D., and Szmídt, A.E., Genetic structure of *Pinus sylvestris* L. seed-tree stand and naturally regenerated understorey, *Forest Sci.*, 1985, vol. 31, no. 2, pp. 430–436.
 19. Politov, D.V., Pírko, Y.V., Pírko, N.N., Mudrik, E.A., and Korshikov, I.I., Analysis of mating system in two *Pinus cembra* L. populations of the Ukrainian Carpathians, *Ann. Forest Res.*, 2008, vol. 51, no. 1, pp. 11–18.
 20. Restoux, G., Silva, D.E., Sagnard, F., Torre, F., Klein, E., and Fady, B., Life at the margin: the mating system of Mediterranean conifers, *Web Ecol.*, 2008, vol. 8, pp. 94–102.
 21. Korshikov, I.I., Mudrik, E.A., and Terlyga, N.C., Analysis of genetic variability of seed embryos in trees characterized by different seed productivity in Crimean population of *Pinus pallasiana* D. Don, *Tsitol. Genet.*, 2005, vol. 39, no. 2, pp. 27–33.
 22. Korshikov, I.I., and Mudrik, E.A., Comparative analysis of genetic heterogeneity of seed progenies in the isolated population of *Pinus sylvestris* var. *cretacea* Kalenicz ex Kom. in Donbass, *Tsitol. Genet.*, 2006, vol. 40, no. 3, pp. 17–23.
 23. Korshikov, I.I., and Mudrik, E.A., Elevation-dependent genetic variation of plants and seed embryos in the Crimea Mountain population of *Pinus pallasiana* D. Don, *Russ. J. Ecol.*, 2006, vol. 37, no. 2, pp. 79–83.
 24. Privalikhin, S.N., and Makogon, I.V., Analysis of the mating system in two populations of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) from Ukrainian Polissya, *The science of forest XXI century: Proc. Int. Sci.-Pract. Conf.*, Gomel, 2010, pp. 268–269.
 25. Altukhov, Yu.P., Genetic processes in populations, Moscow: Akademkniga, 2003, 431 p.
 26. *Conservation and management of forest genetic resources in Europe*, eds Th. Geburek, J. Turok, Zvolen: Arbora Publ., 2005, 693 p.
 27. Korshikov, I.I., Kalafat, L.A., Lisnichuk, A.N., Velikorid'ko, T.I., and Mudrik, E.A., Allozyme variation of seed embryos and mating system in relict populations of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from the Kremenets Hill ridge and Maloe Poles'e, *Russ. J. Genet.*, 2011, vol. 47, no. 7, pp. 829–835.
 28. Hosius, B., Bergmann, F., Konnerth, M., and Henkel, W., A concept for seed orchards based on isoenzyme gene markers, *Forest Ecol. Manage.*, 2000, vol. 131, no. 1–3, pp. 143–152.
 29. Bush M.R., Smouse P.E. Evidence for the adaptive significance of allozymes in forest trees, *New Forests*, 1992, vol. 6, no. 1, pp. 179–196.
 30. Korshikov, I.I., Podgorny, D.Yu., Kalafat, L.A., and Velikorid'ko, T.I., Population-and-genetic variation of the *Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch in the Mountain Crimea, *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 2010, no. 5, pp. 161–167.
 31. Korshikov, I.I., Podgorny, D.Yu., and Lisnichuk, A.N., Population and genetic differences between Koch pine (*Pinus kochiana* Klotzsch ex Koch) of mountain Crimea and Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) of Kremenets hill, *Bul. Nikit. Bot. Sada*, 2012, no. 104, pp. 22–26.
 32. Korshikov, I.I., Velikorid'ko, T.I., Koba, V.P., Podgorny, D.Yu., Kalafat, L.A., and Gorlova, E.V., Genetic control of isozymes pine Koch in the mountain Crimea, *Trudy Nikit. Bot. Sada*, 2008, vol. 130, pp. 112–119.

Надійшла 30.04.15