



ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ДВУХ ФЕНОТИПОВ *PLANTAGO MEDIA* L. НА ЮЖНОМ ТИМАНЕ

© И.Г. Захожий, Д.М. Шадрин, Я.И. Пылина, И.Ф. Чадин, Т.К. Головки

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар

Для цитирования: Захожий И.Г., Шадрин Д.М., Пылина Я.И., и др. Генетическая дифференциация двух фенотипов *Plantago media* L. на Южном Тимане // Экологическая генетика. – 2020. – Т. 18. – № 2. – С. 139–148. <https://doi.org/10.17816/ecogen15605>.

Поступила: 09.08.2019

Одобрена: 16.01.2020

Принята: 23.06.2020

✿ Исследован уровень генетической дифференциации двух фенотипических вариаций *Plantago media* L. на Южном Тимане. Популяционно-генетический анализ с использованием межмикросателлитных маркеров (ISSR) по 210 локусам выявил два кластера, границы которых совпадали с границами между растениями светового и теневого фенотипа. Результаты дискриминационного анализа главных компонент и AMOVA ($F_{ST} = 0,07$, $p = 0,001$) подтвердили, что на фоне высокого генетического сходства существуют статистически значимые генетические различия между этими фенотипами. Полученные результаты свидетельствуют о роли экологических факторов в адаптивной дифференциации и проявлении генетического полиморфизма растений.

✿ **Ключевые слова:** *Plantago media* L.; популяционный генетический анализ; межмикросателлитные маркеры; генетический полиморфизм; экологические условия; адаптация; свет; фенотип.

GENETIC DIFFERENTIATION OF TWO PHENOTYPES OF *PLANTAGO MEDIA* L. IN SOUTH TIMAN

© I.G. Zakhzhiziy, D.M. Shadrin, Ya.I. Pylina, I.F. Chadin, T.K. Golovko

Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

Cite this article as: Zakhzhiziy IG, Shadrin DM, Pylina YaI, et al. Genetic differentiation of two phenotypes of *Plantago media* L. in South Timan. *Ecological genetics*. 2020;18(2):139-148. <https://doi.org/10.17816/ecogen15605>.

Received: 09.08.2019

Revised: 16.01.2020

Accepted: 23.06.2020

✿ **Background.** The investigation of the genetic nature of plant phenotypic variability is of great importance for understanding biological diversity, distribution and adaptation of plants to environmental conditions. **The aim** of our work was to study the genetic differentiation of two phenotypes of *Plantago media* in South Timan. **Materials and methods.** The genetic differentiation of light and shadow phenotypes of *Plantago media* plants was evaluated using intersimple sequence repeats (ISSR) markers. **Results.** The population-genetic analysis of 210 loci revealed two clusters, which boundaries coincided with the boundaries between plants of light and shadow phenotypes. The results of the discriminatory analysis of the main components and AMOVA ($F_{ST} = 0.07$, $p = 0.001$) confirmed that there are statistically significant genetic differences between these phenotypes even though they possess a high genetic similarity. **Conclusion.** Light and shadow *Plantago media* phenotypes adapted to different ecological conditions are genetically differentiated. The population genetic analysis using ISSR markers is a sensitive tool for identifying the genetic diversity of phenotypic plant variations formed under the influence of environmental factors.

✿ **Keywords:** *Plantago media* L.; genetic analysis of population; microsatellite markers; genetic polymorphism; environmental condition; adaptation; light; phenotype.

ВВЕДЕНИЕ

Способность того или иного генотипа быть пластичным, то есть выражать различные фенотипические состояния, имеет адаптивное значение и контролируется генетически. В адаптации к конкретным условиям окружающей среды могут участвовать

как отдельные гены, так и группы генов. Другими словами, пределы модификационной изменчивости определяются заданной генотипом нормой реакции организма на воздействие внешней среды. Полагают, что некоторые адаптивные модификации могут сказываться на наследственной изменчивости [1].

В последнее время проявляется все большее внимание к генетическим и молекулярным механизмам пластичности и роли экологической гетерогенности среды обитания в структуре генетической дифференциации растений [2]. Исследования генетической природы модификационной изменчивости растений в природных популяциях имеют особое значение для понимания их распространения, колонизации конкретной среды обитания и поддержания себя в этой среде. Следует, однако, иметь в виду, что в отличие от животных, фенотипы растений не столь жестко канализованы, что затрудняет выявление генотипической основы (если таковая имеется) наблюдаемой фенотипической вариации в природных популяциях.

Plantago media L. (подорожник средний) — многолетнее травянистое короткокорневищно-стержнекорневое растение сем. *Plantaginaceae*. Ареал охватывает Европу, Сибирь, Переднюю и Среднюю Азию. На европейском северо-востоке России он доходит до Арктики (Воркута), вероятно, как заносное растение [3]. Встречается на пойменных лугах, в разреженных лесах, сельскохозяйственных угодьях, по обочинам дорог, зачастую выступает пионером на отмелях и обнажениях известняков. *P. media*, как и многие другие виды рода *Plantago* L., характеризуется высокой фенотипической пластичностью [4]. Габитус растений, размер и форма листьев, длина черешка листа и цветочной стрелки, накопление и распределение биомассы по органам, семенная продуктивность в значительной степени зависят от экологических факторов среды (температурного и светового режимов, химического состава почв и др.).

Проведенные нами ранее исследования показали, что растения *P. media*, обитающие на открытом, хорошо освещаемом склоне в несомкнутом ценозе, отличались от растений затененных местообитаний по морфологическим показателям и активности процессов жизнедеятельности [5–7]. Анализ анатомо-морфологической структуры листьев, содержания и соотношения пигментов, интенсивности фотосинтеза и ряда других показателей растений позволил отнести их к световому и теневому фенотипам, а наблюдаемые различия — к адаптивным модификациям [5].

Целью данной работы было исследовать уровень генетической дифференциации двух фено-

типических вариантов растений *Plantago media*, произрастающих в различающихся по световому режиму условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор растений и оценку почвенно-климатических условий проводили в июле 2014 г. в среднем течении р. Сойва (приток р. Печора) на территории Троицко-Печорского р-на (Республика Коми). Район исследований входит в Тиманскую таежную провинцию Восточно-Европейской таежной зоны. Ценопопуляции растений *P. media* локализовались на контрастных по условиям инсоляции и тепловому режиму участках: 1) на осыпном склоне от водораздела к надпойменной террасе р. Сойва (62.74908° с. ш., 55.82615° в. д.). Экспозиция склона юго-восточная, крутизна около 30°, растительный покров слабо развит; 2) на водоразделе (62.74761° с. ш., 55.82187° в. д.) под пологом древесного и травянистого ярусов в ельнике разнотравном. Площадь, занимаемая каждой из ценопопуляций, составляла около 350 м². Расстояние между наиболее удаленными точками сбора образцов в двух ценопопуляциях составляло около 400 м, ближними — в 2 раза меньше. Параллельно с отбором проб *P. media* были взяты образцы листьев *P. major* (подорожник большой), произрастающего на прилегающей к району проведения работ территории.

Для изучения морфометрических признаков в каждой ценопопуляции в фазу начала цветения (первая декада июля) отбирали по 30 типичных растений *P. media*. Для каждого растения определяли количество листьев, длину, ширину и площадь листа со средней части розетки, сырую массу надземной и подземной части, длину корней (укороченное корневище + главный корень). Удельную поверхностную плотность листьев рассчитывали как соотношение массы высушенного при 80 °С листа к его площади.

Измерения микроклиматических показателей (температуры, освещенности в области 400–700 нм — фотосинтетически активная радиация (ФАР)) проводили с помощью портативной метеостанции (Data Logger LI-1400, США), поступление к растениям ультрафиолетового (УФ) излучения в диапазоне длин волн 400–315 нм (УФ-А) и 315–280 нм (УФ-Б) оценивали с помощью

УФ-радиометра (ТКА-ПКМ 12, Россия). Почвенные образцы отбирали на глубине корнеобитаемого слоя (0–10 см). Анализ физико-химических свойств почв и элементного состава растений выполняли в соответствии с общепринятыми методами [8]. Содержание азота оценивали методом газовой хроматографии с применением специализированного элементного CHNS-O-анализатора в ЦКП «Хроматография» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар).

Генетическую дифференциацию растений двух ценопопуляций *P. media* оценивали с помощью межмикросателлитных маркеров (intersimple sequence repeats, ISSR). Для проведения анализа в каждой ценопопуляции отбирали функционально зрелые листья срединной формации (по одному с каждого из 30 растений), фиксировали в жидком азоте и хранили при температуре $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для сравнительных исследований были также отобраны образцы листьев 5 растений *P. major*. Всего для дальнейших лабораторных исследований было собрано 65 образцов листьев.

Тотальную ДНК выделяли с помощью набора реагентов FastDNA Spin Kit (QBioGene). Реакцию амплификации проводили в объеме 50 мкл. Реакционная смесь включала флуоресцентно-меченный праймер (Applied Biosystems, США) — 20 мкл, 10 мкл Screenmix (Applied Biosystems), 18 мкл свободной от нуклеаз воды (Ambition, США) и 2 мкл выделенной ДНК. Использовали два праймера ISSR-1.2 ((GT)₇-YG) и ISSR-AG8 ((AG)₈-YT), меченных флуоресцентным красителем 6FAM™. Полимеразную цепную реакцию проводили согласно протоколу: начальная денатурация — 5 мин при 94 °C; 5 циклов по схеме 90 °C (30 с), 45 °C (60 с), 72 °C (90 с); 27 циклов по схеме 90 °C (30 с), 55 °C (45 с), 72 °C (60 с) и конечная элонгация 5 мин при 72 °C. Денатурацию продукта амплификации проводили с использованием формамида (Applied Biosystems) в течение 3 мин при 95 °C. Полученные образцы анализировали на генетическом анализаторе ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) на базе ЦКП «Молекулярная биология» ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Все образцы были проанализированы в трехкратной аналитической повторности.

Для установления длин полученных фрагментов электрофореграммы анализировали с исполь-

зованием внутреннего стандарта в программе GeneMapper 5.0 (Applied Biosystems). ISSR-маркеры относятся к маркерам доминантного типа наследования, полиморфизм которых тестируется по наличию/отсутствию фрагмента. Фрагменты, различающиеся по длине менее чем на одну пару нуклеотидов (п. н.), объединяли вручную. В анализ были включены фрагменты размером от 20 до 600 п. н. Наличие или отсутствие фрагментов кодировалось как «1» или «0» соответственно. Матрицы, содержащие длины полученных фрагментов и соответствующие им высоты пиков из трехкратной аналитической повторности, были объединены с использованием программы на языке R [9] собственной разработки [10]. Популяционно-генетический анализ проводили с использованием локусов, воспроизводившихся в трех аналитических повторностях.

Молекулярный дисперсионный анализ (Analysis of molecular variance — AMOVA), в том числе определение индекса фиксации F_{ST} , выполнен в среде R с использованием пакета «poprg» [11]. Индекс фиксации F_{ST} означает меру генетической дифференциации подразделенной популяции, измеряет межпопуляционные генетические различия и является количественной мерой дивергенции субпопуляций. Варьирует от 0 (панмиксия, равные частоты аллелей в субпопуляциях, нет дивергенции) до 1 (полная изоляция, крайняя дифференциация, субпопуляции фиксированы по различным аллелям, чистые линии). Дискриминационный анализ главных компонент был выполнен в этой же среде при помощи пакета «adegenet» [12]. Кластеризацию на основе моделей, описанных в работах [13, 14], выполняли с помощью программы STRUCTURE v. 2.3.4. Полученные с помощью STRUCTURE результаты обрабатывали в онлайн-сервисе CLUMPAK (<http://clumpak.tau.ac.il/>), включая определение наиболее вероятного числа кластеров по методу, описанному в работе [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Микроклиматические и почвенные условия местообитаний

Почва на участке 1 (средняя часть осыпного склона) слаборазвитая, с прерывистым, гумусово-аккумулятивным горизонтом, сформирована

Таблица 1

Физико-химические свойства корнеобитаемого слоя почвы (0–10 см) в местообитаниях *Plantago media* на Южном Тимане

Местообитание	pH (водн.)	N (общ.), %	Ca (обм.), ммоль/100 г	Mg (обм.), ммоль/100 г	K ₂ O (подв.), мг/кг	P ₂ O ₅ (подв.), мг/кг	Fe (общ.), г/кг	Al (общ.), г/кг
Открытый склон	7,6 ± 0,1*	0,12 ± 0,2	20,9 ± 1,6	13,8 ± 1,0	126 ± 15	17 ± 4	15 ± 4	16 ± 4
Лес	7,2 ± 0,1	0,27 ± 0,4	21,7 ± 1,6	12,3 ± 1,0	81 ± 12	14 ± 3	15 ± 4	15 ± 4

Примечание. * ±Δ — граница интервала абсолютной погрешности результата измерений при $p = 0,95$.

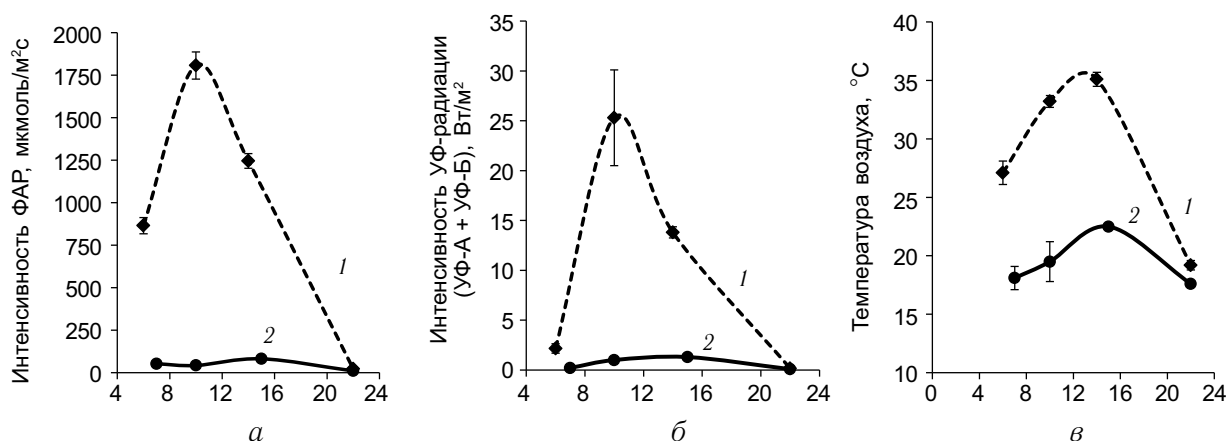


Рис. 1. Суточные изменения освещенности (а), интенсивности ультрафиолетовой радиации (б) и температуры воздуха (в) в местообитаниях *Plantago media*: 1 — на открытом склоне, 2 — в лесу. Измерения выполнены в первой декаде июля 2014 г. в ясный солнечный день. ФАР — фотосинтетически активная радиация

на щебнисто-мелкоземистой толще с близким подстиланием крупных обломков карбонатных пород. Почва участка 2 (лес) сформирована на карбонатных породах, мощность подстилки 3–5 см, гумусово-аккумулятивный горизонт хорошо развит. Корнеобитаемый слой почвы имеет слабощелочную реакцию среды (табл. 1) и относительно высокое содержание обменных форм кальция и магния, что обусловлено близким залеганием карбонатных пород. Верхний слой почвы водораздельного участка под ельником разнотравным отличается более высоким содержанием общего азота. Разница в валовом содержании фосфора, калия, алюминия и железа менее значительна.

Местообитания *P. media* существенно отличались по микроклиматическим условиям. В ясные солнечные дни растения на склоне получали на порядок больше фотосинтетически активной радиации и УФ-радиации (рис. 1). Максимальная температура воздуха в полуденные часы в травостое под лесным пологом была на 10–12 $^{\circ}\text{C}$ ниже, чем на открытом склоне под прямыми солнечными лучами.

Морфофизиологические показатели растений

Сравнительный анализ выявил достоверные различия между растениями двух ценопопуляций по ряду морфометрических показателей (табл. 2). Растения на склоне имели существенно меньший габитус, мелкие, более опушенные листья, и накапливали меньше биомассы по сравнению с растениями лесного экотопа. Листовые пластинки отличались и по величине удельной поверхностной плотности, косвенно характеризующей фотосинтетическую активность листа. Следует отметить более высокое соотношение надземная/подземная масса у растений из лесного экотопа.

Листья растений лесного экотопа содержали больше калия и фосфора, тогда как растения на склоне накапливали больше железа и алюминия (табл. 3). Несмотря на отличия почв участков по содержанию азота, разница в содержании этого элемента в листьях растений была незначительной.

Генетическая дифференциация растений

Согласно полученным данным, количество фрагментов ДНК, интерпретируемых при популяционно-генетическом анализе как локусы,

Таблица 2

Морфометрические показатели растений *Plantago media*, обитающих на открытом склоне и в лесу

Показатель	Открытый склон	Лес	<i>p</i> -значение для <i>t</i> -критерия
Количество листьев, шт./растение	6,2 ± 1,2	6,0 ± 1,1	0,544
Длина листовой пластинки*, см	4,6 ± 2,0	9,2 ± 2,4	<0,001
Ширина листовой пластинки*, см	4,2 ± 1,7	3,0 ± 0,7	<0,001
Площадь листовой пластинки*, см ²	12,5 ± 4,2	19,0 ± 7,5	<0,001
Удельная поверхностная плотность*, г/дм ²	0,76 ± 0,02	0,36 ± 0,02	<0,001
Длина черешка листа*, см	1,5 ± 0,5	4,2 ± 1,9	<0,001
Масса надземной части, г/растение	1,5 ± 1,1	3,1 ± 1,3	<0,001
Длина корней, см	13,6 ± 3,4	10,1 ± 3,2	<0,001
Масса корней, г/растение	1,2 ± 0,8	1,5 ± 0,5	0,144
Соотношение масс надземной и подземной части растений	1,3 ± 0,7	2,1 ± 0,9	<0,001

Примечание. * Данные представлены для листьев срединной формации.

Таблица 3

Валовое содержание химических элементов в листьях *Plantago media*, мг/г сухого растительного материала

Местообитание	N	Ca	Mg	K	P	Fe	Al
Открытый склон	10,8 ± 1,9*	35 ± 10	6,6 ± 2	20 ± 8	1,3 ± 0,4	0,38 ± 0,11	0,46 ± 0,12
Лес	13,8 ± 2,5	31 ± 9	6,1 ± 1,8	31 ± 12	2,5 ± 0,8	0,25 ± 0,07	0,29 ± 0,08

Примечание. * ±Δ — граница интервала абсолютной погрешности результата измерений при *p* = 0,95.

Таблица 4

Результаты анализа молекулярной дисперсии между группами растений *Plantago major* и *Plantago media*, и между группами растений *Plantago media*, произрастающих в контрастных по условиям освещенности местообитаниях (AMOVA)

Источник изменчивости		Степени свободы	Сумма квадратов отклонений	Процент изменчивости
Две группы: <i>P. media</i> и <i>P. major</i>	Между группами	1	95,0	37,7
	Внутри каждой из групп $F_{ST} = 0,38$ ($p = 0,001$)	63	909,9	62,3
Две группы: <i>P. media</i> на склоне и <i>P. media</i> в лесном экотопе	Между группами	1	44,7	6,8
	Внутри каждой из групп $F_{ST} = 0,07$ ($p = 0,001$)	58	809,2	93,2

различалось между тремя повторными анализами одних и тех же образцов *P. media* и *P. major*. Количество полиморфных локусов, воспроизводившихся в трех аналитических повторностях — 210; в двух из трех аналитических повторностей — 397; в одной повторности — 592. Молекулярный дисперсионный анализ (AMOVA), с использованием 210 локусов, ожидаемо показал значительную дифференциацию между растениями двух видов рода *Plantago*: индекс фиксации (F_{ST}) составил 0,38 ($p = 0,001$) (табл. 4). Величина F_{ST} между растениями *P. media*, обитающими на открытом склоне и в лесном экотопе, была равна 0,07 ($p = 0,001$). Таким образом,

тест AMOVA показывает наличие небольших, но статистически значимых различий между двумя фенотипами *P. media*.

Генетическую структуру изученной совокупности растений оценивали с использованием двух методов кластеризации. Один метод основан на теоретической модели распределения частот встречаемости аллелей в популяции диплоидных организмов, размножающихся половым путем [13]. Предполагается, что выявляемые в ходе анализа кластеры (популяции) находятся в равновесии Харди – Вайнберга. Изучаемые локусы должны наследоваться независимо друг от друга и не проявлять неравновесного сцепления генов. Этот метод

анализа был выполнен с помощью компьютерной программы STRUCTURE [13].

Другой метод позволяет проверить один из априори заданных вариантов кластеризации. За счет сокращения размерности данных методом главных компонент с последующим применением дискриминантного анализа для выбора тех главных компонент, которые наилучшим образом разграничивают заданные исследователем кластеры. Метод не накладывает ограничений на свойства исходных данных [12]. Анализ был реализован в среде R при помощи пакета adegenet [16].

Кластеризация результатов ISSR-анализа образцов растений рода *Plantago* по 210 локусам в программе STRUCTURE выявила два четко разделяю-

щих кластера, совпадающих с разделением образцов на виды *P. media* и *P. major* (рис. 2). Повторный анализ выборки, включающий только образцы растений *P. media*, позволил выявить два кластера, границы которых во многом совпадают с границами между растениями разных ценопопуляций.

В результате дискриминационного анализа главных компонент (DAPC) все три группы (растения *P. media* на склоне и лесном экотопе и растения *P. major*) надежно разделялись (рис. 3). Растения двух ценопопуляций *P. media* оказались гораздо ближе друг к другу, чем к растениям *P. major*. Качество кластеризации особей методом DAPC напрямую зависит от количества главных компонент, использованных для дискриминационного анализа.

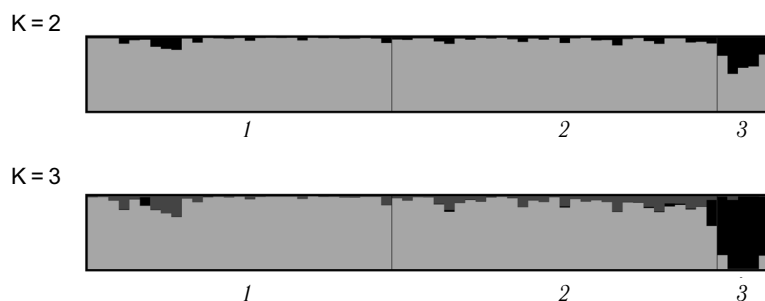


Рис. 2. Результаты кластеризации образцов растений *P. media* и *P. major* по 210 ISSR-локусам в программе STRUCTURE [13]. По горизонтали: каждый отдельный столбец соответствует одному образцу; 1 и 2 — теневые и световые растения *P. media*; 3 — растения *P. major*. По вертикали — вероятность отнесения каждого образца (особи) к одному из кластеров. Варианты количества кластеров указаны над графиками: $K = 2$ — наиболее вероятное число кластеров, определенное по методу Evanno [15]; $K = 3$ — количество кластеров, соответствующее числу изучаемых групп растений

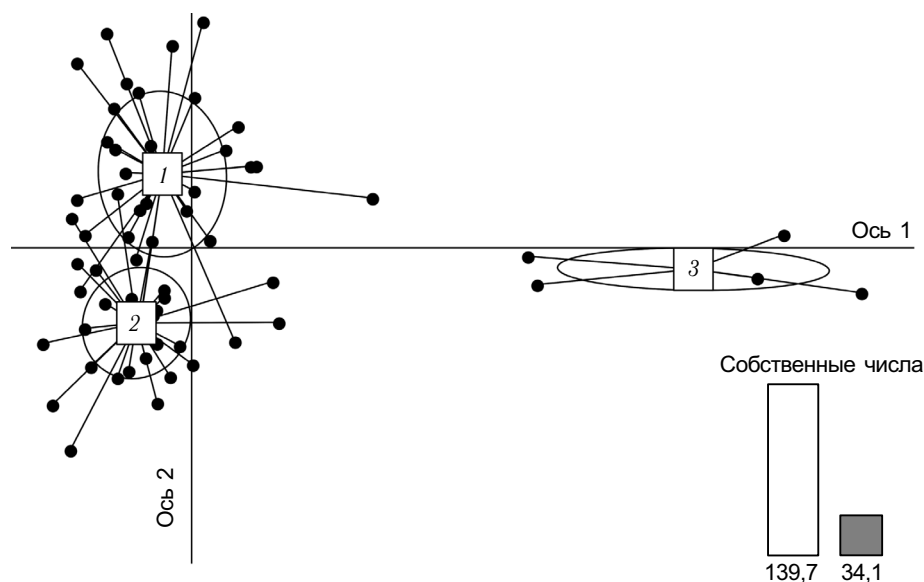


Рис. 3. Диаграмма рассеяния, построенная по результатам дискриминационного анализа главных компонент (DAPC) бинарной матрицы, содержащей 210 ISSR-локусов растений *P. media* и *P. major* с использованием 5 главных компонент. 1 и 2 — растения *P. media* из лесного экотопа и на открытом склоне соответственно, 3 — растения *P. major*. Ось 1 — значения дискриминационной функции 1, ось 2 — значения дискриминационной функции 2. В нижнем правом углу графика представлены относительные величины собственных чисел DAPC

Обычно при увеличении количества главных компонент (вплоть до количества анализируемых локусов) происходит увеличение качества разделения кластеров. Оценить успешность классификации можно с помощью случайного отбора 10 % особей, сведения о которых не будут использоваться при построении кластеров. Далее эти 10 % особей классифицируются по кластерам, с использованием значений дискриминантных функций, рассчитанных на 90 % выборки. Эта процедура повторяется многократно для оценки средних значений результатов испытаний. В нашем случае различия между кластерами сохранялись при использовании минимального количества главных компонент, равного 5, и достигали оптимума при числе главных компонент равном 20 (доля успешно классифицированных особей в этом случае составила 91 % при среднеквадратичной ошибке классификации равной 11 %).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши исследования показали, что адаптация растений *Plantago media* к разным эколого-ценотическим условиям проявляется в формировании фенотипов, свойства которых свидетельствуют о селективном действии светового фактора. Считается, что распределение растений по экотопам с различным световым режимом зависит от генотипически обусловленной изменчивости структуры листьев [17]. Анатомо-морфологические и функциональные характеристики листьев растений теневого и светового типа изучены достаточно полно [18–22].

Весь комплекс морфофизиологических показателей растений *P. media*, обитающих на открытом склоне и под пологом в лесу, свидетельствует о выраженной реакции на световой режим (табл. 1) и подтверждает полученные нами ранее данные о высокой пластичности данного вида по отношению к свету [5, 6]. Растения на склоне получали на порядок больше солнечного света, чем в лесу (рис. 1). При этом местообитания различались не только по интенсивности освещения, но и по спектральному составу света, поступающего к растениям. Растения на открытом склоне получали прямой солнечный свет, обогащенный синими лучами (400–500 нм), и большую часть дня подвергались воздействию УФ-радиации (280–400 нм). Прямые измерения показали, что интенсивность УФ-Б-радиации (280–315 нм)

на открытом склоне достигала 1,5 Вт/м², тогда как под пологом леса была ничтожно малой (менее 0,1 Вт/м²). Контрастные условия инсоляции сочетались с различиями в терморегиме. Наши данные показывают, что теплообеспеченность растений на склоне заметно выше, чем под лесным пологом. Растения на склоне подвержены также действию более значительного перепада дневных и ночных температур. Высокая фенотипическая пластичность листьев растений *P. media*, произрастающих при разной освещенности, обеспечивает оптимальную среду для функционирования фотосинтетического аппарата.

Что касается условий почвенного питания (табл. 1), то различия в обеспеченности растений основными биогенными элементами (азот, фосфор, калий, кальций и магний) были не столь выражены, как условия воздушного питания. Нами также не выявлено существенных различий в содержании в корнеобитаемом слое почвы микроэлементов: меди, цинка, марганца, бора и молибдена (данные не приводятся). Элементный состав надземной биомассы растений, обитающих на склоне и в лесу, не имел выраженных отличий (табл. 3), что, по всей видимости, отражает сходный режим минерального питания.

В литературе имеются сведения о фенотипической лабильности и физиологических реакциях некоторых видов рода *Plantago* по отношению к освещенности [23], условиям минерального питания [24], влажности почвы [25]. В комплексном исследовании четырех видов рода *Plantago*, проведенном экологами, физиологами и популяционными генетиками в Нидерландах [4] отмечено, что высокая фенотипическая пластичность, свойственная представителям данного рода, может контролироваться генетически и иметь генетическую основу. Показано, что генетическое разнообразие может являться одним из факторов, обеспечивающих способность *Plantago lanceolata* существовать в разных сообществах [26].

Проведенный нами популяционно-генетический анализ с использованием ISSR-маркеров по 210 локусам выявил два кластера, границы которых совпадали с границами между растениями *P. media* светового и теневого фенотипа. Результаты дискриминационного анализа главных компонент подтвердили, что на фоне высокого генетиче-

ского сходства существуют статистически значимые генетические различия между этими фенотипами, что свидетельствует о генетической дифференциации двух фенотипов *P. media*, произрастающих в разных экологических условиях. По-видимому, различия экологических условий, проявляющиеся в первую очередь в световом и температурном режиме местообитаний, оказывали определенное селективное воздействие. Однако, несмотря на близость локализации ценопопуляций, нельзя полностью исключить наличие репродуктивных барьеров, снижающих обмен генетической информацией. *P. media* является ветроопыляемым травянистым многолетником, семена которого не имеют приспособлений для распространения на большие расстояния. Кроме того, перенос пыльцы воздушными потоками к растениям, обитающим в лесном экотопе, может быть ограничен из-за слабого проникновения ветра под лесной полог. Это затрудняет выявление причин генетической дифференциации близкорасположенных ценопопуляций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обитание в разных эколого-ценотических условиях приводит к формированию адаптивных морфофизиологических реакций. Световая и теневая формы *Plantago media* на Южном Тимане имели высокое генетическое сходство, но вместе с тем проявляли статистически значимую генетическую дифференциацию, о чем свидетельствует полиморфизм генетических маркеров. Следовательно, можно полагать, что фенотипические вариации генетически обусловлены по крайней мере частично. Поддержание определенного уровня генетического разнообразия в популяциях важно для сохранения вида и проявления его потенциала. Популяционный генетический анализ с использованием ISSR-маркеров является чувствительным инструментом для выявления генетического разнообразия и дифференциации популяций растений в зависимости от экологических факторов.

Работа выполнена в рамках темы госбюджетных НИОКТР «Физиология и стресс-устойчивость фотосинтеза растений и пойкилогидрических фотоавтотрофов в условиях Севера» (№ АААА-А17-117033010038-7) и поддержана Проектом Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН «Фототрофные организмы как компонент живой природы

и индикатор климатических изменений» (№ 18-4-4-20)

ЛИТЕРАТУРА

1. Инге-Вечтомов С.Г. Что мы знаем об изменчивости? // Экологическая генетика. — 2010. — Т. 8. — № 4. — С. 4–9. [Inge-Vechtomov S.G. What do we know about variability? *Ecological genetics*. 2010;8(4):4-9. (In Russ.)]
2. Sultan SE. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci*. 2000;5(12):537-542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0).
3. Флора Северо-Востока Европейской части СССР. Семейства Umbelliferae-Compositae / Под ред. А.И. Толмачева. Т. 4. — Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1977. — 312 с. [Flora Severo-Vostoka Evropeiskoi chasti SSSR. Semeistva Umbelliferae-Compositae. Vol. 4. Ed. by A.I. Tolmachev. Leningrad: Nauka. Leningr. otd-nie; 1977. 312 p. (In Russ.)]
4. Kuiper PJ, Bos M. Plantago: a multidisciplinary study. *Ecological Studies*. 1992. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-76392-2>.
5. Golovko TK, Dalke IV, Zakhochiy IG, et al. Functional plasticity of photosynthetic apparatus and its resistance to photoinhibition in *Plantago media*. *Russ J Plant Physiol*. 2011;58:549-59. <https://doi.org/10.1134/S1021443711040054>.
6. Golovko T, Dymova O, Zakhochiy I, et al. Photoprotection by carotenoids of *Plantago media* photosynthetic apparatus in natural conditions. *Acta Biochimica Polonica*. 2012;59:145-7. https://doi.org/10.18388/abp.2012_2192.
7. Rozentsvet OA, Golovko TK, Bogdanova ES, et al. Polar lipid pool modification in leaves of hoary plantain (*Plantago media* L.) plants during their light adaptation under natural conditions. *Biology Bulletin*. 2013;40:138-145. <https://doi.org/10.1134/S1062359013020118>.
8. Воробьева Л.А. Теория и практика химического анализа почв. — М.: Изд-во МГУ, 2006. — 400 с. [Vorob'eva LA. Teoriya i praktika khimicheskogo analiza pochv. Moscow: Publishing house Moscow State University; 2006. 400 p. (In Russ.)]
9. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2015.

10. ISSR321 – The R-script for merging ISSR data replications [Online] GitHub / Accessed 16.08.2016. Доступно по: <https://github.com/chadinkomi/ISSR321>. Ссылка активна на 06.08.2019.
11. Kamvar ZN, Tabima JF, Grünwald NJ. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *Peer J*. 2014;2:e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>.
12. Jombart T, Devillard S, Balloux F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet*. 2010;11:94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>.
13. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155(2):945-959.
14. Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes*. 2007;7(4):574-578. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x>.
15. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol Ecol*. 2005;14(8):2611-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.
16. Jombart T. Adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*. 2008;24(11):1403-1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>.
17. Bazzaz FA. Plants in changing environments: linking physiological, population, and community ecology. Cambridge; New York: Cambridge University Press; 1996.
18. Любименко В.Н. Избранные труды. Работы по фотосинтезу и приспособлению растений к свету. Т. 1 / под ред. А.С. Оканенко. – Киев: Изд-во АН Украинской ССР, 1963. – 614 с. [Lyubimenko VN. Izbrannyye trudy. Raboty po fotosintezu i prispobleniyu rastenii k svetu. Vol. 1. Kiev: Izdatel'stvo AN Ukrainskoi SSR; 1963. 614 p. (In Russ.)]
19. Горышина Т.К., Заботина Л.Н., Пружина Л.Г. Пластидный аппарат травянистых растений в разных условиях освещения // Экология. – 1975. – № 5. – С. 15–22. [Goryshina TK, Zabolina LN, Pruzhina LG. Plastidnyi apparat travyanistykh rastenii v raznykh usloviyakh osveshcheniya. *Ekologiya*. 1975;(5):15-22. (In Russ.)]
20. Boardman NK. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annu Rev Plant Physiol*. 1977;28(1):355-377. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.28.060177.002035>.
21. Masarovicová E, Štefančík L. Some ecophysiological features in sun and shade leaves of tall beech trees. *Biol Plant*. 1990;32(5):374-387. <https://doi.org/10.1007/BF02898503>.
22. Larcher W. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. 4th ed. Berlin; New York: Springer; 2003.
23. Kuiper D, Smid A. Genetic differentiation and phenotypic plasticity in *Plantago major* ssp. I. The effect of differences in level of irradiance on growth, photosynthesis, respiration and chlorophyll content. *Physiol Plant*. 1985;65(4):520-528. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1985.tb08684.x>.
24. Lambers H, Posthumus F, Stulen I, et al. Energy metabolism of *Plantago major* ssp. major as dependent on the supply of mineral nutrients. *Physiol Plant*. 1981;51(1):85-92. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1981.tb00883.x>.
25. Mudrik V, Kosobrukhov A, Knyazeva I, Pigulevskaya T. Changes in the photosynthetic characteristics of *Plantago major* plants caused by soil drought stress. *Plant Growth Regulation*. 2003;40(1):1-6. <https://doi.org/10.1023/A:1023009025426>.
26. Odat N, Hellwig FH, Jetschke G, Fischer M. On the relationship between plant species diversity and genetic diversity of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) within and between grassland communities. *J Plant Ecology*. 2010;3(1):41-48. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtp017>.

✿ Информация об авторах

Илья Григорьевич Захожий — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория экологической физиологии растений. ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар. SPIN: 3615-9301. E-mail: zakhozhiy@ib.komisc.ru.

✿ Authors and affiliations

Ilya G. Zakhozhiy – PhD, Researcher, Laboratory of Ecological Physiology of Plants, Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia. SPIN: 3615-9301. E-mail: zakhozhiy@ib.komisc.ru.

✿ Информация об авторах

Дмитрий Михайлович Шадрин — канд. биол. наук, научный сотрудник, Центр коллективного пользования «Молекулярная биология». ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар. SPIN: 1453-3893. E-mail: shdimas@yandex.ru.

Яна Игоревна Пылина — мл. научный сотрудник, Центр коллективного пользования «Молекулярная биология». ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар. SPIN: 5636-5693. E-mail: yanapylina@yandex.ru.

Иван Федорович Чадин — канд. биол. наук, руководитель, Центр коллективного пользования «Молекулярная биология». ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар. SPIN: 9787-2449. E-mail: chadin@ib.komisc.ru.

Тамара Константиновна Головко — д-р биол. наук, главный научный сотрудник, лаборатория экологической физиологии растений. ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар. SPIN: 4344-7144. E-mail: golovko@ib.komisc.ru.

✿ Authors and affiliations

Dmitry M. Shadrin — PhD, Researcher, Center for Collective Use “Molecular Biology”, Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia. SPIN: 1453-3893. E-mail: shdimas@yandex.ru.

Yana I. Pylina — Junior Research Scientist, Center for Collective Use “Molecular Biology”. Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia. SPIN: 5636-5693. E-mail: yanapylina@yandex.ru.

Ivan F. Chadin — PhD, Head of Molecular Biology Core Facility. Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia. SPIN: 9787-2449. E-mail: chadin@ib.komisc.ru.

Tamara K. Golovko — Doctor of Science, Main Researcher, Laboratory of Ecological Physiology of Plants. Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia. SPIN: 4344-7144. E-mail: golovko@ib.komisc.ru.