

УДК 581.15

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA* ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

А. С. Кашин, Т. А. Крицкая, Н. А. Петрова, А. С. Пархоменко,
А. О. Кондратьева, И. В. Шилова

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского,
Россия, 410010, Саратов, ул. Астраханская, 83
E-mail: kashinas2@yandex.ru

Поступила в редакцию: 15.08.2016 г.

Морфологическая и генетическая изменчивость популяций видов *Chondrilla* европейской части России. – Кашин А. С., Крицкая Т. А., Петрова Н. А., Пархоменко А. С., Кондратьева А. О., Шилова И. В. – Нумерический анализ морфологической изменчивости в популяциях видов *Chondrilla* методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA) показал, что из 7 видов рода, произрастающих на территории европейской части России, только *C. ambigua* обладает несомненным видовым статусом. С высокой бутстреп поддержкой разделяются между собой *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. brevirostris* и смешанные популяции *C. juncea* / *graminea*, с одной стороны, и все популяции *C. graminea* и *C. acantholepis* – с другой. Однако в целом между собой эти виды слабо изолированы. Факторный анализ методом главных координат (PCO) дал сходные результаты. Предполагается, что запутанная картина межвидовой изменчивости в секции *Chondrilla* обусловлена гибридационными процессами на базе факультативного апомиксиса и/или отбором под давлением экологических факторов. Методом ISSR анализа изучено генетическое разнообразие в 21 популяции 7 видов *Chondrilla* Европейской части России. Кластерный анализ (UPGMA) и неукорененное дерево, построенное методом Neighbour Joining, сходно разделяют выборку на две группы: 1). *C. ambigua* и *C. brevirostris* в виде двух устойчивых подкластеров; 2). все остальные образцы.

Ключевые слова: *Chondrilla*, Asteraceae, виды, популяции, морфологическая изменчивость, таксономическая структура, ISSR, молекулярная систематика.

Morphological and genetical variability in populations of *Chondrilla* L. (Asteraceae) in European Russia. – Kashin A. S., Kritskaya T. A., Petrova N. A., Parchomenko A. S., Kondratieva A. O., Shilova I. V. – The morphological variability in populations of *Chondrilla* was subject to the numerical analysis using

А. С. Кашин, Т. А. Крицкая, Н. А. Петрова и др.

the unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA). The study showed that out of the seven species of the genus found in European Russia, it is only *C. ambigua* that has the status of undoubted species. A distinct difference is observed between the two groups of populations: the first group comprising *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. brevirostris*, and the mixed population of *C. juncea* / *graminea*; and the second group comprising the populations of *C. graminea* and *C. acantholepis*. In general, all the species are poorly isolated. The factor analysis using principal coordinate analysis (PCO) yielded similar results. It is assumed that a complex pattern of interspecific variability in *Chondrilla* is due to the hybridization by facultative apomixis and / or the selection impacted by the ecotopic factors. The genetic diversity of twenty-one populations of *Chondrilla* found in European part of Russia was subject to the analysis using the inter-sequence simple repeat method (ISSR). The cluster analysis (UPGMA) and the unrooted tree built using the neighbour joining method yielded similar results according to which the samples were subdivided into the two following groups: the first group comprising *C. ambigua* and *C. brevirostris* as the two stable sub-clusters; and the second group containing the other samples.

Key words: *Chondrilla*, Asteraceae, species, population, morphological variability, taxonomic structure, ISSR, molecular systematic.

В роде *Chondrilla* выделяют около 30 видов, объединяемых в два подрода с четырьмя секциями (Леонова, 1964). Географически род широко распространен в степных и пустынных районах Евразии и Северной Африки. Большая часть видов имеет обширные ареалы. Например, *C. juncea*, имея ранее и без того обширный естественный ареал в пределах большей части Южной и Центральной Европы, Кавказа и Южной Азии, в последнее время ещё и существенно расширил его. Будучи случайно занесённым в Австралию, Аргентину, Канаду и США, он в настоящее время наносит существенный урон урожаю на полях и пастбищах, демонстрируя чрезвычайно высокий инвазионный потенциал (Gaskin et al., 2013). Из всех видов рода девять произрастает в пределах европейской части России. Семь из них принадлежат к секции *Chondrilla* подрода *Chondrilla* (*C. acantholepis* Boiss., *C. brevirostris* Fisch. et Mey, *C. canescens* Kat. et Kir., *C. graminea* Bieb., *C. juncea* L., *C. laticoronata* Leonova, *C. latifolia* M.B.) и два вида (*C. ambigua* Fisch., *C. pauciflora* Ledeb.) – к подроду *Brachyrinchus*.

В настоящее время нет однозначного представления о таксономической структуре рода *Chondrilla*. В секции *Chondrilla* подрода *Chondrilla* *C. juncea*, *C. graminea* Bieb. и *C. canescens* Kat. et Kir. одни авторы рассматривают как самостоятельные виды (Маевский, 1940, 2014;

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

Леонова, 1964, 1989; Благовещенский и др., 1984; Губанов и др., 1992), другие объединяют в один вид *C. juncea* L. (Ильин, 1930; Еленевский и др., 2008а, б). Ряд авторов относят сюда и *C. latifolia* Bieb. в качестве *C. juncea* var. *latifolia* (Bieb.) Koch (Талиев, 1928; Флора..., 1936) или в качестве *C. juncea* ssp. *canescens* var. *latifolia* (Bieb.) Koch ex Fl. (Ильин, 1930), *C. glabrescent* в виде *C. juncea* ssp. *glabrescent* Iljin (Флора..., 1936), *C. acantholepis* Boiss. в качестве *C. juncea* ssp. *acantholepis* (Boiss.) Takht. (Флора..., 1961; Черепанов, 1995). *C. macrocarpa* некоторые авторы (Ильин, 1930) относят к *C. ambigua* f. *crassicola* Iljin., а сам вид *C. ambigua* Fisch. считают не самостоятельным, а лишь разновидностью *C. juncea* var. *ambigua* Fisch. (Талиев, 1928). Однако по последней системе рода виды *C. juncea* и *C. ambigua* относят к разным под родам (Леонова, 1964, 1989).

Усложняет таксономическую структуру рода распространение среди его видов апомиктического способа воспроизводства, который, как известно, размывает границы видов и порождает сложную картину таксономической структуры, зачастую обретающую черты агамных комплексов (Грант, 1984).

Исходя из вышеизложенного, представляется весьма актуальным изучение биогеографических закономерностей изменчивости морфологических признаков у растений рода *Chondrilla* и их генетической структуры.

Материал и методы

Исследования проводились в 2015 г. в 26 популяциях 7 видов из Астраханской, Волгоградской и Саратовской областей, Краснодарского края, республик Калмыкия и Крым (табл. 1), с 21 популяции из которых собран материал для молекулярно-генетических исследований (рис.1, табл. 2). Расстояние между популяциями варьировало от 33 до 1240 км.

Учитывая то, что в пределах Саратовской области *C. juncea* и *C. graminea* произрастают повсеместно в одних и тех же местообитаниях, и особи в них по большинству признаков образуют непрерывный спектр переходов от одной крайней формы до другой, в большинстве местообитаний этих видов исследовали случайную выборку растений, понимая её как выборку из симпатрических популяций *C. juncea* / *gra-*

Таблица 1

Перечень образцов 7 видов *Chondrilla* L., включенных
в морфометрический анализ

№ п/п	Обозначение ОТЕ	Вид	Место произрастания
1	2	3	4
1	ACA	<i>C. acantholepis</i>	Респ. Крым, окр. г. Коктебель
2	ACA	<i>C. acantholepis</i>	Респ. Крым, окр. г. Феодосия
3	JUN	<i>C. juncea</i>	Респ. Крым, окр. г. Феодосия
4	JUN	<i>C. juncea</i>	Краснодарский край, Ейский р-н, окр. ст. Должанская
5	ACA	<i>C. acantholepis</i>	Краснодарский край, Ейский р-н, окр. ст. Должанская
6	AMB	<i>C. ambigua</i>	Респ. Калмыкия, Яшкульский р-н, окр. пос. Хулхута
7	AMB	<i>C. ambigua</i>	Астраханская обл., Красноярский р-н, окр. с. До-санг
8	BRE	<i>C. brevirostris</i>	Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Вольное
9	BRE	<i>C. brevirostris</i>	Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. с. Болхуны
10	GRA	<i>C. graminea</i>	Волгоградская обл., окр. г. Калач-на-Дону
11	LAT	<i>C. latifolia</i>	Волгоградская обл., окр. г. Калач на Дону
12	LAT	<i>C. latifolia</i>	Волгоградская обл., окр. г. Камышин
13	JUN	<i>C. juncea</i>	Волгоградская обл., окр. г. Камышин
14	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Садовое
15	CAN	<i>C. canescens</i>	Саратовская обл., Краснокутский р-н, окр. с. Дьяковка
16	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Краснокутский р-н, окр. с. Дьяковка
17	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Калининский р-н, окр. г. Калининск
18	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Аткарский р-н, окр. с. Приречное
19	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Саратовский р-н, окр. с. Поповка
20	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Марксовский р-н, окр. с. Волково
21	JUN-gr	<i>C. juncea / graminea</i>	Саратовская обл., Балаковский р-н, окр. с. Кормежка

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

Окончание табл. 1

1	2	3	4
22	JUN	<i>C. juncea</i>	Саратовская обл., Б.-Карабулакский р-н, окр. с. Алексеевка
23	GRA	<i>C. graminea</i>	Саратовская обл., Б.-Карабулакский р-н, окр. с. Алексеевка
24	CAN	<i>C. canescens</i>	Саратовская обл., Хвалынский р-н, гора Беленькая
25	JUN	<i>C. juncea</i>	Саратовская обл., Хвалынский р-н, гора Беленькая
26	GRA	<i>C. graminea</i>	Саратовская обл., Хвалынский р-н, гора Беленькая

Примечание: ОТЕ – операциональная таксономическая единица

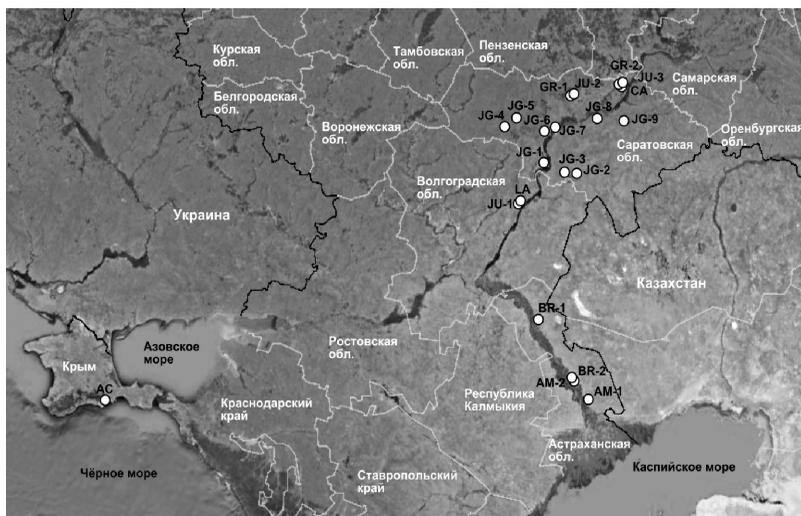


Рис. 1. Географическое положение исследованных популяций на территории европейской части России: AC – *C. acantholepis*, AM – *C. ambigua*, BR – *C. brevirostris*, CA – *C. canescens*, CH-? – *Chondrilla* sp. (невозможно определить видовую принадлежность по морфологическим ключам), GR – *C. graminea*, JU – *C. juncea*, JG – симпатрические популяции *C. juncea* и *C. graminea*, LA – *C. latifolia*

minea. Только в местообитаниях из Б.-Карабулакского и Хвалынского р-нов для анализа взяты крайние формы растений, по совокупности

А. С. Кашин, Т. А. Крицкая, Н. А. Петрова и др.

морфологических признаков близкие, с одной стороны, к *C. juncea*, а с другой – к *C. graminea*.

Таблица 2
Перечень образцов 7 видов *Chondrilla*, включенных в ISSR анализ

Таксон	Популяция
<i>C. ambigua</i>	1 – Астраханская обл., Красноярский р-н, окр. с. Досанг
	2 – Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Вольное
<i>C. acantholepis</i>	1 – Крым, окр. г. Феодосия
	2 – Крым, окр. г. Коктебель
<i>C. brevirostris</i>	1 – Астраханская обл., Ахтубинский р-н, окр. с. Болхуны
	2 – Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. с. Вольное
<i>C. canescens</i>	1 – Саратовская обл., Хвалынский р-н., гора Беленькая
	2 – Саратовская обл., Б.-Карабулакский р-н., окр. с. Алексеевка
	3 – Саратовская обл., Краснокутский р-н, окр. с. Дьяковка
<i>C. graminea</i>	1 – Саратовская обл., Б.-Карабулакский р-н., окр. с. Алексеевка
	2 – Саратовская обл., Хвалынский р-н., гора Беленькая
<i>C. juncea</i>	1 – Волгоградская обл., окр. г. Камышин;
	2 – Саратовская обл., Б.-Карабулакский р-н., окр. с. Алексеевка
	3 – Саратовская обл., Хвалынский р-н., гора Беленькая
	4 – Краснодарский край, Ейский р-н, окр. ст. Должанская
	5 – Крым, окр. г. Феодосия
<i>C. juncea</i> и <i>C. graminea</i>	1 – Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Садовое
	2 – Саратовская обл., Краснокутский р-н, окр. с. Дьяковка
	3 – Саратовская обл., Ровенский р-н, окр. с. Луговское
	4 – Саратовская обл., Калининский р-н, окр. г. Калининск
	5 – Саратовская обл., Аткарский р-н, окр. с. Приречное
	6 – Саратовская обл., Саратовский р-н, окр. с. Поповка
	7 – Саратовская обл., Саратовский р-н, Ботанический сад СГУ
	8 – Саратовская обл., Марковский р-н, окр. с. Волково
	9 – Саратовская обл., Балаковский р-н, окр. с. Кормежка
<i>C. latifolia</i>	1 – Волгоградская обл., Камышинский р-н, окр. г. Камышин
	2 – Ростовская обл., Тащинский р-н, окр. хут. Верхний Кольцов
	3 – Крым, Балаклава, южный берег
<i>Chondrilla</i> sp.	Волгоградская обл., Калачевский р-н, Калач-на-Дону

Анализ морфологических признаков

В нумерическом анализе использовано по 30 образцов из каждой популяции каждого вида. Для целей анализа виды рассматривались как операциональные таксономические единицы (ОТЕ) (см. табл. 1). С целью наиболее широкого охвата изменчивости в пределах каждого

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

вида каждая ОТЕ представлена набором образцов из разных популяций, произрастающих на большом расстоянии друг от друга. Для каждой популяции ОТЕ количественные признаки усреднялись для всех изученных образцов.

В табл. 3 перечислены изученные признаки вегетативных органов, соцветий и плодов, а также их возможные состояния. Всего для каждого образца каждой популяции было измерено 35 признаков: 17 количественных и 18 качественных. Качественным признакам присваивался балл согласно их состоянию.

Так как у некоторых образцов отдельные признаки были недоступны для изучения (на момент изучения отсутствовали листья прикорневой розетки и т.п.), пропущенные значения кодировались в матрице данных как неизвестные («?»). Для каждой популяции рассчитывали среднее значение признаков, стандартное отклонение и ошибку среднего арифметического (Гланц, 1999).

Факторный анализ методом главных координат (PCO) выполнен с помощью программы PAST 3.0. (Hammer et al., 2001). Метод главных координат предпочтен методу главных компонент как более подходящий для качественных параметров и работающий при наличии в матрице отсутствующих данных (Rohlf, 1972). В качестве меры сходства использовали дистанцию Говера и индекс сходства РНО как наиболее приемлемые для анализа качественных признаков. Кластерный анализ также проведен в программе PAST 3.0 методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA).

Таблица 3

Признаки и их состояния, использованные в морфометрическом анализе видов *Chondrilla* L.

Анализируемый признак	Состояние признака
1	2
1. Цвет растения	1-серый
	2-серо-зелёный
	3-зелёный
	4-тёмно-зелёный
2. Количество боковых побегов первого порядка	шт.
3. Длина ножек корзинок*	мм
4. Характер опушения у листа (3 снизу)	1-опушения нет
	2-паутинистое
	3-щетинистое

1	2
5. Расположение щетинистого опушения у листа (3 снизу)	1 – в верхней части по краю
	2 – по краю и снизу по средней жилке
6. Длина листа (3 снизу)	см
7. Ширина листа (3 снизу)	мм
8. Ширина листа (3 снизу) в выемке	мм
9. Наличие щетинистого покрова стебля	1 – отсутствует
	2 – лишь близ основания стебля
	3 – на всём стебле
10. Направление щетинок на стебле	1 – перпендикулярно стеблю
	2 – вниз отогнутые
	3 – вверх отогнутые
11. Густота щетинистого покрова стебля на вертикальном отрезке 6 мм	шт.
12. Длина щетинок	мм
13. Толщина щетинок	1 – волосовидные
	2 – грубые
14. Опушение корзинки*	1 – отсутствует
	2 – имеется
15. Диаметр бокового побега	мм
16. Количество цветков в корзинке*	шт.
17. Количество внутренних листочков обёртки*	шт.
18. Характер паутинистого опушения корзинки	1 – имеется
	2 – отсутствует
19. Щетинки по средней жилке внутреннего листочка обёртки*	1 нет
	2 есть
20. Характер щетинистого покрова внутренних листочков обёртки*	1 – отсутствуют
	2 – мелкие одиночные
	3 – короткие и редкие
	4 – длинные и густо расположенные жёсткие
21. Число щетинок по средней жилке внутреннего листочка обёртки*	шт.
22. Размер щетинок*	мм
23. Длина расширенной части семянки*	мм
24. Ширина расширенной части семянки*	мм
25. Наличие бугорков и чешуек на семянке*	1. отсутствуют
	2. есть бугорки
	3. есть чешуйки
26. Расположение чешуек на расширенной части семянок*	1 – близ верхушки
	2 – на 1/4–1/3 длины от верхушки

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

Продолжение табл. 3

1	2
27. Форма чешуек на расширенной части семянок*	1 – широкие и цельные
	2 – длинные цельные, налегающие друг на друга
	3 – мелкие и острые бугорки и чешуйки (верхние из которых довольно длинные)
	4 – трёхзубчатые
	5 – трёхлопастные
	6 – с глубокой и широкой выемкой посередине
28. Толщина носика*	1 – тонкий
	2 – толстоватый
	3 – толстый, короткий
29. Длина носика*	мм
30. Ширина носика*	мм
31. Наличие сочленения у носика*	1 – отсутствует (носик не обламывается)
	2 – слабо намечается (носик обламывается неправильно)
	3 – имеется
32. Утолщение носика*	1. нет
	2. слабое утолщение
	3. выраженное булавовидное
33. Размер чешуек коронки*	мм
34. Наличие коронки*	1 – коронка отсутствует или намечается в виде редких бугорков и мелких чешуек
	2 – коронка хорошо развита
35. Характер, коронки (форма чешуек)*	1 – широкие, тупые
	2 – притуплено трёхзубчатые
	3 – трёхлопастные, с более развитой средней лопастью
	4 – широкие и короткие глубоко-трёхлопастные, с лопастями почти одинаковой длины (у отд. Семяннок чешуйки редуцированы до мелких бугорков)
	5 – цельные, заострённые
	6 – цельные, яйцевидные или продолговатые

Примечание * таксономически значимые признаки.

Средняя таксономическая дистанция рассчитывалась с использованием дистанции Говера с целью снижения эффектов разного масштаба измерений для разных признаков.

Выделение ДНК и ISSR анализ

Тотальную ДНК выделяли из лепестков, высушенных в силикагеле, с использованием набора реактивов и колонок NucleoSpin® Plant II (MACHEREY-NAGEL, Germany). Концентрацию экстрагированной ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, США).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany) с 25 ISSR праймерами, синтезированными ЗАО «Синтол» (Москва). Выбор праймеров производили с учётом уже имеющихся литературных данных по другим родам семейства Asteraceae (Dogan et al., 2007; Escaravage et al., 2011; Ryu, Bae, 2012). Из них отобрали 15 (табл. 4). Для ПЦР были использованы реактивы Ready-To-Load Master-mix 5X Mas^{DD}TaqMIX-2025, (Диалат Лтд., Москва).

Таблица 4
ISSR праймеры, амплифицирующие информативные фрагменты ДНК семи видов *Chondrilla*

Название праймера	Последовательность 5'-3'	Количество полиморфных бэндов	Источник
ISSR 3	(AG) ₉ C	5	Dogan et al., 2007
ISSR 4	(AC) ₉ G	6	
ISSR 5	(AC) ₈ CG	15	
ISSR 18	(ACTG) ₅	7	
“Aster”	(TG) ₈ RC	15	Escaravage et al., 2011
UBC 807	(AG) ₈ T	7	Ryu and Bae, 2012
UBC 809	(AG) ₈ G	5	
UBC 810	(GA) ₈ T	6	
UBC 811	(GA) ₈ C	7	
UBC 813	(CT) ₈ T	7	
UBC 820	(GT) ₈ C	8	
UBC 834	(AG) ₈ YT	9	
UBC 835	(AG) ₈ YC	11	
UBC 836	(AG) ₈ YA	7	
UBC 841	(GA) ₈ YC	15	

Примечание: R = A, G; Y = C, T.

Разделение продуктов амплификации проводили электрофоретически в 1.5%-ном агарозном геле. Фрагменты ДНК визуализировали

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

с помощью трансиллюминатора (Vilber Lourmat, Франция) и фотографировали с помощью гель-документирующей системы (Doc-print VX2, Германия).

Типирование ISSR фрагментов было представлено в виде матрицы наличия или отсутствия бэндов, закодированных как «1» или «0», соответственно. В последующий анализ включались только полиморфные бэнды.

Итоговая матрица включала 127 маркеров и 69 образцов из 21 популяции 7 видов *Chondrilla*. Анализ полученной матрицы проводили в программе PAST ver. 3.0. (Hammer et al., 2001) кластеризацией методом невзвешенного попарно-группового среднего (UPGMA) и главных координат с использованием коэффициента Дайса (Nei, Li, 1979) и в программе SplitsTree 4 v. 4.14.2 (Huson, Bryant, 2006; Klopper, Huson, 2008) методом Neighbour Joining (NJ). Оценку зависимости потока генов от географических расстояний между популяциями проводили с помощью теста Мантеля в программе Arlequin ver. 3.1.

Результаты и их обсуждение

Морфологический анализ

Кластерный анализ (UPGMA) выявил две основных группы с уровнем связи 0.6 и высокой бутстреп поддержкой (индекс бутстрепа 100%) (I и II кластеры см. на рис. 2). Первый из них (I) с высокой бутстреп поддержкой (индекс бутстрепа 99%) подразделяется на два подкластера, один из которых включает образцы обоих популяций *C. brevirostris*, обеих популяций *C. latifolia*, всех четырех исследованных популяций *C. juncea*, всех шести симпатрических популяций *C. juncea / graminea* и одной из двух популяций *C. canescens*. Ни один из указанных видов этого подкластера не выделяется при анализе методом невзвешенного попарного среднего. Второй подкластер кластера I включает образцы всех трёх популяций *C. graminea*, одной популяции *C. canescens* и всех трёх исследованных популяций *C. acantholepis*. В пределах этого подкластера с умеренной бутстреп поддержкой (индекс бутстрепа более 60%) разделяются между собой две популяции *C. graminea* из Б.-Карабулакского и Хвалынского р-нов Саратовской области, а также две популяции *C. acantholepis* из окр. г. Коктебель и Феодосия Республики Крым. Остальные не выделяются

при анализе данным методом. Второй кластер (II) включает образцы двух исследованных популяций *C. ambigua* с высокой бутстреп-поддержкой (индекс бутстрепа 100%).

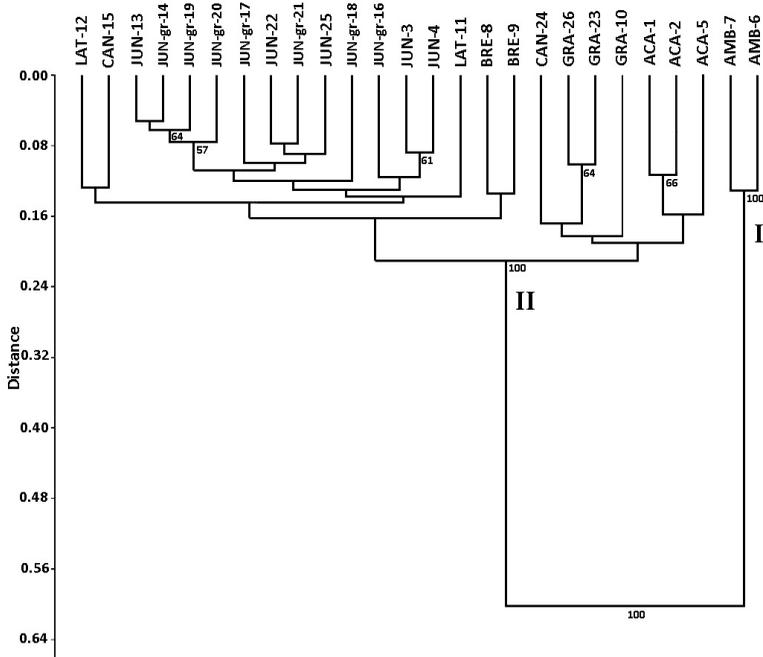


Рис. 2. Фенограмма изученных популяций видов рода *Chondrilla*, полученная при обработке матрицы морфологических признаков (см. табл. 1) методом невзвешенного попарного среднего. Способ объединения – дистанция Говера. Показаны значения бутстреп больше 50%

Результаты факторного анализа всех изученных образцов по 35 признакам позволили выявить те же, что и при кластерном анализе, две отчётливо выраженные группы (рис. 3). При этом первая главная координата объясняет 25.7% вариаций в матрице данных, вто-

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

рая – 6.3%. Первая координата в большей степени отражает изменения растений по форме семянки, вторая – по характеру щетинистого опушения стебля.

В первую группу входят только образцы из двух популяций *C. ambigua*. Вторая группа объединяет в себе представителей 6 видов секции *Chondrilla*. Из рис. 3 видно, что, несмотря на большой разброс, представители *C. brevisrostris*, *C. acantholepis*, *C. graminea*, *C. canescens* тяготеют к периферии факторного пространства, центр которого занят в основном представителями *C. juncea*, *C. latifolia* и симпатрических популяций *C. juncea* / *graminea*.

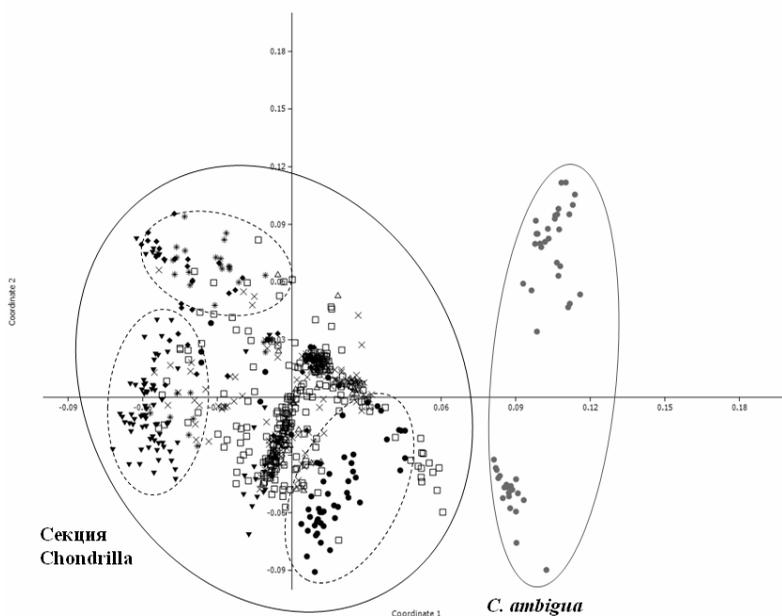


Рис. 3. Диаграмма рассеяния всех изученных представителей рода *Chondrilla* L. методом главных координат по 35 морфологическим признакам. В качестве меры сходства использована дистанция Говера: * – *C. acantholepis*; × – *C. juncea*; ° – *C. ambigua*; • – *C. brevisrostris*; ▼ – *C. graminea*; □ – *C. juncea/graminea*; ◆ – *C. canescens*.

Таким образом, обоими использованными методами анализа морфологической изменчивости выделяются два устойчивых кластера: один включает образцы из двух популяций *C. ambigua*, второй – образцы из популяций всех остальных исследованных видов, относящихся к секции *Chondrilla*. Эти данные поддерживают несомненную видовую самостоятельность *C. ambigua*, что согласуется с представлениями большинства авторов и противоречит представлениям некоторых других авторов (Талиев, 1928). В пользу самостоятельности этого вида говорят и принадлежность его к другому, нежели все остальные исследованные виды, подроду *Brachyrynchus* (Леонова, 1964, 1989), и то, что в отличие от остальных исследованных видов ему свойственно облигатно половое воспроизводство (Кашин и др., 2015), препятствующее межвидовой гибридизации и способствующее сохранению единства структуры вида (Кашин, 1998, 2000; Кашин и др., 2000). Во втором кластере существенной обособленностью по морфологическим признакам выделяется *C. breviostris*, хотя отличия этого вида не являются стопроцентно неперекрывающимися, и один из методов (UPGMA) показал слабую дифференциацию его от остальных видов секции *Chondrilla*, прежде всего от *C. latifolia* и *C. juncea*. Отметим, что исследованные популяции данного вида произрастают в местах отсутствия контакта с другими видами секции, что делает невозможным обмен генами между их генофондами. Это может быть одной из возможных причин его относительной морфологической обособленности.

Для остальных исследованных таксономических единиц данной секции оба использованных метода анализа не поддерживают несомненность их видовой самостоятельности.

ISSR анализ

Всего в результате ISSR анализа представителей рода *Chondrilla* выявлено 143 бэнда, из них 127 были полиморфными (89%). Размер ампликонов варьировал в диапазоне от 300 до 4000 п.н. Количество бэндов, воспроизводимых одним праймером, составило от 5 до 15, в среднем 8.7. У *C. ambigua* выявлено 14 уникальных фрагментов, не встречающихся больше ни у одного вида, 9 – являлись общими только для *C. ambigua* и *C. breviostris*. Кластерный анализ (UPGMA) показал, что 7 видов *Chondrilla* составляют два основных кластера (рис. 4).

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

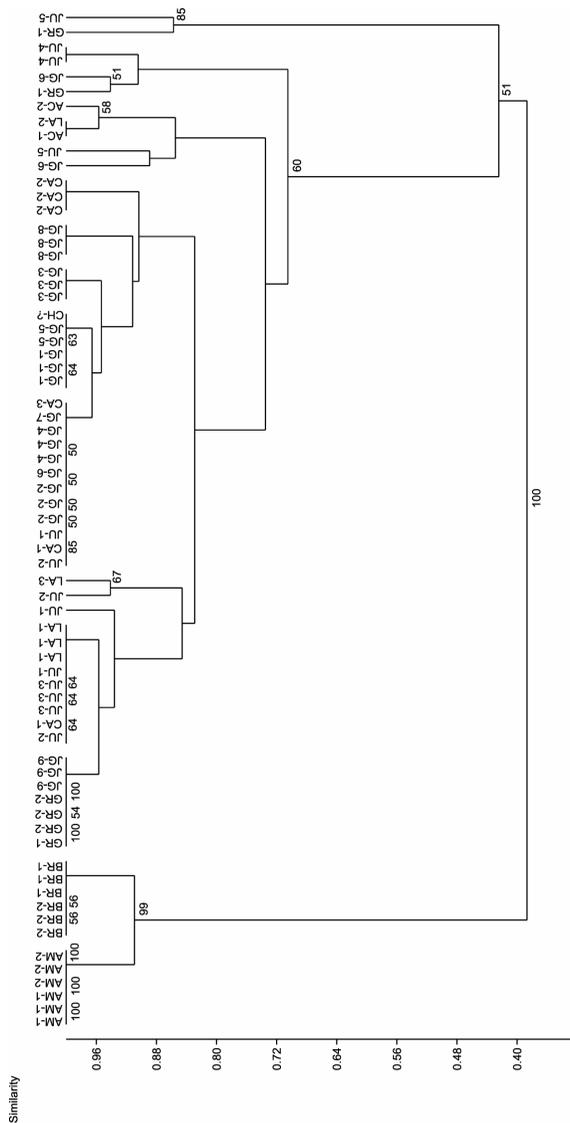


Рис. 4. UPGMA дендрограмма, построенная на основе ISSR данных для 7 видов *Chondrilla* с использованием коэффициента Дайса: AC – *C. acantholepis*, AM – *C. ambigua*, BR – *C. brevirostris*, CA – *C. canescens*, GR – *C. graminea*, JU – *C. juncea*, JG – симпатрические популяции *C. juncea* и *C. graminea*, LA – *C. latifolia*, CH? – *Chondrilla* sp. (невозможно определить видовую принадлежность по морфологическим ключам)

Соответственно, первый кластер, включающий *C. ambigua* и *C. brevirostris*, сходные между собой на уровне около 0.9, имеет поддержку 99%. Сами образцы этих двух видов не обладают внутривидовой изменчивостью и идентичны друг другу. Второй кластер, включающий все остальные образцы, сходные на уровне около 0.42, имеет поддержку 51%. Во втором основном кластере можно выделить пять кластеров второго порядка. Первый кластер на уровне сходства около 0.85 объединил с высокой бутстреп поддержкой (85%) один образец *C. graminea* популяции №1 и образец *C. juncea* популяции №5. Второй кластер объединил на уровне сходства около 0.9 один образец *C. graminea* популяции №1, образец из симпатрической популяции *C. juncea / graminea* №6 и все образцы *C. juncea* популяции №4. Третий кластер сходства на уровне около 0.85 объединил образцы популяций *C. acantholepis* №1 и №2, *C. latifolia* №2 (бутстреп 58%) и с крайне низкой бутстреп поддержкой – образец популяции *C. juncea* №5 и образец из симпатрической популяции *C. juncea / graminea* №6. В четвертый кластер вошли часть образцов популяций *C. juncea* №№1, 2, *C. canescens* №1 – 3 и все образцы симпатрических популяций *C. juncea / graminea* №1 – 8, кроме популяции №6, из которой в этот кластер попал только один образец. Пятый кластер на уровне сходства около 0.86 объединил по одному образцу из популяций *C. graminea* №1 и *C. canescens* №1, все образцы *C. graminea* №2, *C. juncea* №3, *C. latifolia* №1 и №3, большинство образцов *C. juncea* №1 и №2 и все образцы симпатрической популяции *C. juncea / graminea* №9. Некоторые особи или группы особей получали бóльшую бутстреп поддержку в пределах одной популяции, чем популяции между собой.

Предварительные результаты секвенирования пластидной ДНК (регион *trnT-trnF*) образцов 7 исследуемых видов *Chondrilla*, выполненного ЗАО «Синтол» (Москва), также показали сходство между *C. ambigua* и *C. brevirostris*. Число однонуклеотидных замен между всеми семью видами составило 16, из них 8 – общие для *C. ambigua* и *C. brevirostris*. Обнаружено пять 1-3-нуклеотидных делеций и одна делеция последовательности GAAA у всех образцов, кроме *C. ambigua* и *C. brevirostris* (рис. 5).

В целом предварительные данные позволяют сказать, что секвенирование подтверждает результаты ISSR анализа, поскольку и здесь *C. ambigua* и *C. brevirostris* имеют общие замены. Это может быть как

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

результатом межвидовой гибридизации, так и результатом синхронной эволюции (одинаковые замены возникли независимо друг от друга).

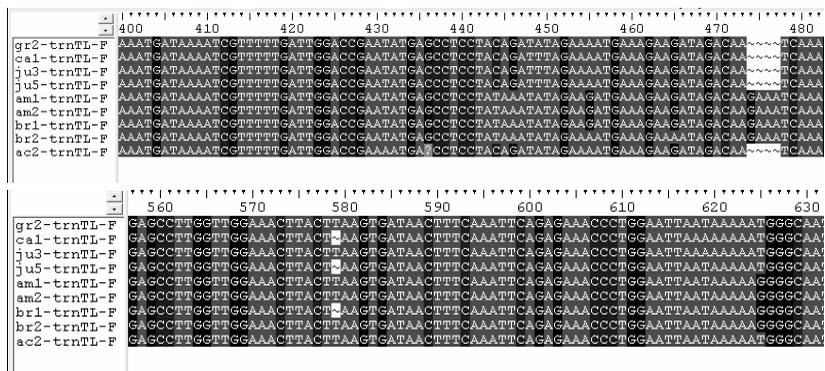


Рис. 5. Фрагменты выравнивания нуклеотидных последовательностей региона пластидной ДНК *trnT-trnF* 7 видов *Chondrilla* в программе Bio Edit: AC – *C. acantholepis*, AM – *C. ambigua*, BR – *C. brevirostris*, CA – *C. canescens*, GR – *C. graminea*, JU – *C. juncea*, LA – *C. latifolia* (номера популяций см. табл. 2)

Заключение

Таким образом, в соответствии с вышеизложенным несомненно видо-вая самостоятельность *C. ambigua* и с меньшей вероятностью – *C. brevirostris*. В то же время полученные результаты позволяют предположить, что *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, *C. latifolia* не являются самостоятельными видами и, скорее всего, представляют собой экотипы или экологические расы, в местах совместного произрастания связанные между собой многочисленными актами гибридизации с последующим воспроизводством путём амфи- или апомиксиса. Наши данные поддерживают мнение ряда авторов (Талиев, 1928; Ильин, 1930; Флора..., 1936; Черепанов, 1995; Еленевский, 2008а, б) о видовой несамостоятельности этих таксонов. *C. juncea*, *C. graminea*, *C. acantholepis*, *C. latifolia* и *C. canescens*, скорее всего, следует считать синонимами с приоритетным названием *C. juncea*. Окончательный статус этих таксонов требует дополнительного уточ-

А. С. Кашин, Т. А. Крицкая, Н. А. Петрова и др.

нения с использованием, прежде всего, молекулярно-генетических методов анализа, в частности секвенирования пластидной и ядерной ДНК большого количества видообразцов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-04087).

Список литературы

- Благовещенский В. В., Пчелкин Ю. А., Раков Н. С. и др. Определитель растений Среднего Поволжья. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1984. 392с.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
- Грант В. Видообразование у растений. М.: Мир, 1984. 528 с.
- Губанов И. А., Кисилёва К. В., Новиков В. С. и др. Определитель сосудистых растений. М.: Изд-во МГУ, 1992. 400 с.
- Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов: ИЦ «Наука», 2008а. 232 с.
- Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Определитель сосудистых растений Саратовской области. Саратов: ИЦ «Наука», 2008б. 248 с.
- Ильин М. М. *Chondrilla* L. // Бюл. отдела каучуконосных. 1930. № 3. С. 1–61.
- Кашин А. С. Половое размножение, агамоспермия и видообразование у цветковых // Журн. общ. биологии. 1998. Т. 59, № 2. С. 171 – 191.
- Кашин А. С. Геномная изменчивость, гибридогенез и возможности хромосомного видообразования при гаметофитном апомиксис // Успехи современной биологии. 2000. Т. 120, № 1. С. 502 – 512.
- Кашин А.С., Залесная С.В., Титовец В.В., Киреев Е.А. Потенциал формообразования агамного комплекса *Pilosella* (Asteraceae). 2. Естественная межвидовая гибридизация // Бот. журн. 2000. Т. 85, № 3. С. 1 – 13.
- Кашин А. С., Попова А. О., Угольников Е. В. и др. Некоторые параметры системы семенного размножения в популяциях видов *Chondrilla* L. Нижнего Поволжья // Бот. журн. 2015. Т.100, № 8. С. 828 – 840.
- Леонова Т. Г. Род. Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора СССР. М.;Л.: Наука, 1964. С. 560 – 586.
- Леонова Т.Г. Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора Европейской части СССР. Т. 8. Л.: Наука. Ленигр. отд-ние, 1989. С. 57 – 61.
- Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2014. 635 с.
- Маевский П. Ф. Флора средней полосы Европейской части СССР. М.;Л.: Сельхозгиз, 1940. 824 с.
- Талиев В. И. Определитель высших растений Европейской части СССР. М.; Л.: Госиздат, 1928. 630 с.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ *CHONDRILLA*

Флора Азербайджана. Т. 8. Баку: Изд-во АН Азербайджанской ССР, 1961. 676 с.

Флора Юго-Востока Европейской части СССР. Вып. VI. Pirolaceae – Compositae / под общ. Ред. Б. К. Шишкина. М.;Л.: Изд-во АН СССР, 1936. 484 с.

Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание. СПб.: Мир и семья-95, 1995. 992 с.

Dogan B., Duran A., Hakki E. E. Phylogenetic analysis of *Jurinea* (Asteraceae) species from Turkey based on ISSR amplification // Ann. Bot. Fennici. 2007. Vol. 44. P. 353 – 358.

Escaravage N., Cambecèdes J., Largier G. et al. Conservation genetics of the rare Pyreneo-Cantabrian endemic *Aster pyrenaicus* (Asteraceae) // AoB PLANTS. 2011. doi:10.1093/aobpla/plr029

Gaskin J. F., Schwarzlònder M., Kinter C. L. et al. Propagule pressure, genetic structure, and geographic origins of *Chondrilla juncea* (Asteraceae): an apomictic invader on three continents // Amer. J. Bot. 2013. Vol. 100 (9). P. 1871 – 1882.

Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4, № 1. 9 p.

Huson D.H., Bryant D. Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies // Mol. Biol. Evol. 2006. V. 23, № 2. P. 254 – 267.

Klopper T.H., Huson D.H. Drawing explicit phylogenetic networks and their integration into SplitsTree // BMC Evol. Biol. 2008. Vol. 8. P. 22.

Nei M., Li W. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1979. Vol. 76. P. 5269 – 5273.

Rohlf F. J. An empirical comparison of three ordination techniques in numerical taxonomy // Syst. Zool. 1972. Vol. 21. P. 271 – 280.

Ryu J., Bae C.-H. Genetic diversity and relationship analysis of genus *Taraxacum* accessions collected in Korea // Korean J. Plant Res. 2012. Vol. 25, № 3. P. 329 – 338.