

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.174.015.3:581.9

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-4-329-339>

Поступила в редакцию 22.05.2024

Received 22.05.2024

А. Н. Мялик, Н. В. Гудная, Т. Г. Кулагина, Д. А. Дубарь, В. В. Титок

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ПРИРОДООХРАННОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ РЕГРЕССИВНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *LOBELIA DORTMANNA* L. В БЕЛАРУСИ

Аннотация. В статье представлен анализ генетического разнообразия популяций *Lobelia dortmanna* L. (лобелии Дортманна), выполненный с помощью молекулярных iPBS-маркеров. Изучены все известные в Беларуси популяции из озер Белое (Лунинецкий р-н), Свитязь (Новогрудский р-н), Белянец и Бредно (Россонский р-н), расположенные в островных локалитетах вдали от юго-восточной границы ареала. Показано, что наибольшее генетическое разнообразие не характерно для популяции оз. Белянец (0,15), наименьшее – для популяции оз. Бредно (0,10). Для данного вида не выявлено взаимосвязи между положением популяции в пределах ареала, ее численностью, жизненностью растений и уровнем генетического разнообразия. Для белорусских популяций *Lobelia dortmanna* L. установлено преобладание межпопуляционной изменчивости (54 %) над внутривидовой (46 %), что указывает на высокий уровень их генетической дифференциации. Поток генов для популяций исследуемого вида равен 0,35, что подтверждает низкий уровень обмена генами между популяциями и согласуется с крайне низкой численностью вида на территории Беларуси, а также с изолированностью популяций как от основного фрагмента ареала вида, так и между собой. Данные кластерного анализа популяций *Lobelia dortmanna* L. показывают их разделение на две генетически разрозненные группы, географическое положение которых подтверждает их генетическую связь с фенноскандинавским и атлантикоевропейским фрагментами ареала вида в Европе.

Ключевые слова: охраняемые растения, водные макрофиты, молекулярные iPBS-маркеры, генетическое разнообразие популяций

Для цитирования: Природоохранное значение генетической структуры регрессивных популяций *Lobelia dortmanna* L. в Беларуси / А. Н. Мялик [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2024. – Т. 69, № 4. – С. 329–339. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-4-329-339>

Aliaksandr M. Mialik, Natallia U. Hudnaya, Tatsiana G. Kulahina, Daniil A. Dubar, Vladimir V. Titok

Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

CONSERVATION SIGNIFICANCE OF THE GENETIC STRUCTURE OF REGRESSIVE POPULATIONS OF *LOBELIA DORTMANNA* L. IN BELARUS

Abstract. The article analyzes the genetic diversity of populations of *Lobelia dortmanna* L. (Dortmann's lobelia) performed using molecular iPBS markers. All known populations in Belarus from lakes Beloye (Luninetsky district), Svityaz (Novogrudsky district), Belyanets and Bredno (Rossonosky district), located in island localities far from the south-east border of the range, were studied. The research results showed that Nei's greatest genetic distance is characteristic of the Belyanets population (0.15), and the least one is characteristic of the Bredno population (0.10). For this species, no relationship has been identified between the position of the population within the range, its size, plant vitality and the level of genetic diversity. For Belarusian populations of *Lobelia dortmanna* L., a predominance of interpopulation variability (54 %) over intrapopulation variability (46 %) was established, which indicates a high level of their genetic differentiation. The gene flow for populations of the species under study is 0.35, which confirms the low level of gene exchange between populations and is consistent with an extremely low population size of the species in the territory of Belarus, as well as the isolation of populations both from the main fragment of the species' range and among themselves. Data of the cluster analysis of *Lobelia dortmanna* L. populations demonstrate their division into 2 genetically distinct groups, the geographical location of which confirms their genetic connection with the Fennoscandian and Atlantic-European fragments of the species' range in the northern part of Europe.

Keywords: protected plants, aquatic macrophytes, molecular iPBS markers, genetic diversity of populations

For citation: Mialik A. M., Hudnaya N. U., Kulahina T. G., Dubar D. A., Titok V. V. Conservation significance of the genetic structure of regressive populations of *Lobelia dortmanna* L. in Belarus. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2024, vol. 69, no. 4, pp. 329–339 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-4-329-339>

Введение. Во флоре Беларуси одним из наиболее редких и уязвимых видов водных растений, состояние которого оценивается как критическое, является *Lobelia dortmanna* L. (лобелия Дортманна) из семейства *Campanulaceae*. На территории страны этот реликтовый вид произрастает

в островных локалитетах за юго-восточной границей ареала и на протяжении многих десятилетий известен только в трех естественных локалитетах – в Лунинецком (оз. Белое), Новогрудском (оз. Свитязь) и Россонском (озера Бредно, Беянец, Белое-Доброплесы) районах. Искусственная популяция *L. dortmanna* известна также в оз. Рогово Городокского района [1]. Встречается данный вид только в прибрежной зоне олиго- и мезотрофных озер единично или небольшими группами, образуя местами сплошные заросли. Соответственно, *L. dortmanna* имеет I категорию охраны Красной книги Республики Беларусь как вид, находящийся на грани исчезновения. Основные факторы угрозы для популяций вида заключаются в загрязнении и обмелении водоемов в результате гидромелиоративных работ, повреждении растений сетями при ловле рыбы, чрезмерных рекреационных и хозяйственно-эксплуатационных нагрузках на водоемы [2, 3]. Для сохранения этого вида во флоре Беларуси необходимо не только ужесточение мер охраны и их реальное соблюдение, но и разработка и реализация плана действий по его сохранению. С учетом реликтового происхождения *L. dortmanna*, изолированности локалитетов и сокращения численности растений в них для дальнейшего сохранения этого вида необходима также оценка генетического разнообразия популяций, так как последний показатель является важным фактором в сохранении видов, поскольку влияет на их способность адаптироваться к изменяющимся условиям среды [4]. Ряд исследователей указывают на то, что сокращающиеся популяции редких видов растений нередко характеризуются низким уровнем генетического разнообразия, которое утрачивается из-за более быстрого генетического дрейфа [5, 6]. Одним из способов оценки генетического разнообразия популяций растений является использование молекулярных маркеров, которые считаются эффективными инструментами для определения генетического разнообразия, поскольку они не ограничены по количеству, демонстрируют высокий полиморфизм и не зависят от факторов окружающей среды [7]. Таким образом, молекулярные маркеры благодаря сравнению генотипов по ряду полиморфных локусов позволяют оценить генетическое разнообразие видов, которое может использоваться как важный и информативный параметр для оценки состояния угрожаемых видов и разработки научно обоснованных способов их сохранения.

Проблема сокращения и исчезновения мест произрастания *L. dortmanna* актуальна не только для Беларуси, но и на всем протяжении европейского фрагмента ареала данного вида. Ухудшение жизненности популяций отмечается в ряде озер Вологодской области России, где данный вид также произрастает на юго-восточной границе ареала [8]. За последние десятилетия *L. dortmanna* исчезла в 48 % известных ранее локалитетах на территории Дании в пределах области сплошного распространения, но причины такого стремительного сокращения численности до конца не изучены [9].

Цель данной работы – оценить перспективы сохранения *L. dortmanna* во флоре Беларуси на основе выявления особенностей генетической структуры популяций.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлась *L. dortmanna* – многолетнее травянистое растение с мочковатой корневой системой и линейными листьями длиной до 7–8 см, собранными в прикорневую розетку, находящуюся под водой. Цветоносные стебли безлистные либо покрыты многочисленными мелкими чешуйками, во время цветения и плодоношения находятся над водой. Цветки бело-голубого цвета, имеют колокольчатую форму и собраны в рыхлую однобокую кисть на верхушке стебля (рис. 1). Их цветение продолжается с конца июля по начало августа, семена созревают в августе. Плод – сухая продолговатая коробочка, – раскрывается двумя створками. Семена мелкие, удлинённо-бугристые, распространяются ветром. Ареал вида охватывает Северную, Среднюю и Восточную Европу, а также Северную Америку. В Беларуси этот вид находится в отдельных локалитетах за юго-восточной границей ареала, встречается в прибрежных зонах олиго- и мезотрофных озер на чистом песчаном дне на глубине до 1 м [3].

Для изучения генетического разнообразия *L. dortmanna* выбрана система праймеров, основанная на консервативных последовательностях PBS (primer binding site) LTR-ретротранспозонов благодаря своей способности определять генетическое разнообразие внутри и между популяциями, что имеет важное значение для разработки научно обоснованных рекомендаций по сохранению данного вида.

Рис. 1. *Lobelia dortmanna* L. (лобелия Дортманна) из оз. СвитязьFig. 1. *Lobelia dortmanna* L. (Dortmann's lobelia) from Lake Svityaz

Исходным материалом для оценки генетического разнообразия популяций *L. dortmanna* послужили образцы вегетативных органов растений, собранные при проведении экспедиционных исследований в сезон 2023 г. С помощью рекогносцировочных и маршрутных методов найдены популяции вида, выполнена оценка их жизнестойкости, изучены морфометрические параметры, дано флористическое описание фитоценозов и отобран растительный материал из 5 растений в каждой популяции для молекулярно-генетических исследований. Собирали также гербарный материал, снабженный ваучерными этикетками, который хранится в гербарии Центрального ботанического сада НАН Беларуси (MSKH¹). Документирование мест сбора образцов (табл. 1) осуществлялось также с помощью информационного ресурса [inaturalist.org](https://www.inaturalist.org), что при необходимости позволит в будущем отыскивать данные популяции и провести мониторинговые исследования.

Таблица 1. Характеристика мест сбора образцов *Lobelia dortmanna* L.Table 1. Characteristic of the collection sites for *Lobelia dortmanna* L.

Популяция	Местоположение	Координаты	Фитоценоз	Авторы сбора и дата	Документирование
Оз. Белое (OzB)	Брестская обл., Лунинецкий р-н, д. Бостынь, 6,4 км к западу	52.385524 N, 26.646170 E	Литоральная зона озера, совместно с <i>Isoetes lacustris</i> L.	Мялик А. Н., Кулагина Т. Г., Дубарь Д. А., 09.08.2023	https://www.inaturalist.org/observations/177551030 , гербарий MSKH
Оз. Беянец (Bel)	Витебская обл., Россонский р-н, д. Лисно, 5,4 км к северо-востоку	56.060783 N, 28.479969 E	Литоральная зона озера, совместно с <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	Мялик А. Н., Дубарь Д. А., 24.08.2023	https://www.inaturalist.org/observations/180023600 , гербарий MSKH
Оз. Свитязь (Sv)	Гродненская обл., Новогрудский р-н, д. Валевка, 3,0 км к юго-востоку	53.435170 N, 25.906113 E	Литоральная зона озера, совместно с <i>Isoetes lacustris</i> L., <i>Littorella uniflora</i> (L.) Aschers.	Мялик А. Н., Дубарь Д. А., Гулис А. Л., 19.07.2023	https://www.inaturalist.org/observations/173807725 , гербарий MSKH
Оз. Бредно (Br)	Витебская обл., Россонский р-н, 2 км к северо-востоку от д. Доброплесы	55.996672 N, 28.478440 E	Литоральная зона озера, совместно с <i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	Мялик А. Н., Дубарь Д. А., 24.08.2023	https://www.inaturalist.org/observations/180024860 , гербарий MSKH

¹ Официально зарегистрированный акроним гербария в Index Herbariorum.

Таблица 2. Праймеры, используемые в исследовании

Table 2. Primers used in the study

Праймер	Оптимальная температура отжига Ta, °C	Последовательность (5'–3')	Праймер	Оптимальная температура отжига Ta, °C	Последовательность (5'–3')
2389	50,0	ACATCCTTCCCA	2232	55,4	AGAGAGGCTCGGATACCA
2373	51,0	GAACCTTGCTCCGATGCCA	2390	56,4	GCAACAACCCCA
2277	52,0	GGCGATGATACCA	2273	56,5	GCTCATCATGCCA
2376	52,0	TAGATGGCACCA	2394	56,5	GAGCCTAGGCCA
2375	52,5	TCGCATCAACCA	2220	57,0	ACCTGGCTCATGATGCCA
2377	53,0	ACGAAGGGACCA	2242	57,0	GCCCCATGGTGGGCGCCA
2378	53,0	GGTCCTCATCCA	2076	59,2	GCTCCGATGCCA
2383	53,0	GCATGGCCTCCA	2271	60,0	GGCTCGGATGCCA
2374	53,5	CCCAGCAAACCA	2415	61,0	CATCGTAGGTGGGCGCCA
2095	53,7	GCTCGGATACCA	2078	62,8	GCGGAGTCGCCA
2083	54,6	CTTCTAGCGCCA	2399	63,0	AAACTGGCAACGGCGCCA
2237	55,0	CCCCTACCTGGCGTGCCA	2080	63,3	CAGACGGCGCCA
2239	55,0	ACCTAGGCTCGGATGCCA	2081	65,0	GCAACGGCGCCA
2272	55,0	GGCTCAGATGCCA	2270	65,0	ACCTGGCGTGCCA
2077	55,1	CTCACGATGCCA	2079	65,2	AGGTGGGCGCCA

Для изучения генетической структуры исследуемых популяций выделяли ДНК из промытых в дистиллированной воде и предварительно высушенных в силикагеле листьев с помощью набора реагентов «ДНК-Экстран-3» («Синтол», Россия). Качество и количество выделенной ДНК проверяли с помощью NanoPhotometer Pearl Implen GmbH (Мюнхен, Германия). В исследовании использовали 30 iPBS-праймеров (табл. 1) [10], ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 25–50 нг ДНК, 5 мкл готовой смеси для ПЦР ScreenMix («Евроген», Россия), 1 мМ праймера для 12–13 п. н. праймеров или 0,6 мМ для 18 п. н. праймеров и воду.

Программа ПЦР состояла из 1 цикла при 95 °C в течение 5 мин; 38 циклов при 95 °C в течение 15 с, отжиг при 50–65,2 °C (в зависимости от праймера) в течение 60 с, элонгацию при 68 °C

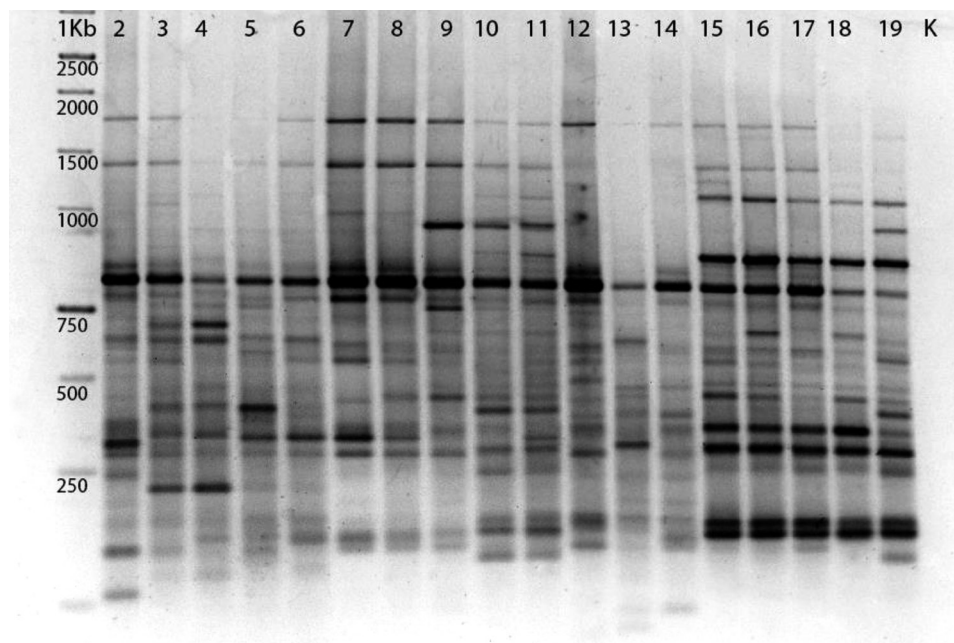


Рис. 2. Результаты ПЦР с использованием 2270 iPBS-праймера. Дорожки: 2–6 – популяция OzB, 7–11 – популяция Bel, 12–14 – популяция Sv, 15–19 – популяция Br, 20 – контроль, первая дорожка – маркер молекулярного веса 1 Кб

Fig. 2. PCR results using 2270 iPBS primer. Lanes: 2–6 – Lake Belye population (OzB), 7–11 – Belyanets population (Bel), 12–14 – Svityaz population (Sv), 15–19 – Bredno population (Br), 20 – control, first lane – 1 Kb molecular weight marker

в течение 90 с. Финальная элонгация проводилась при 72 °С в течение 8 мин. Амплификацию проводили в программируемом терморегуляторе C1000 Touch Thermal Cycler (MJ Research Inc., Bio-Rad Laboratories, США), электрофорез – при напряжении в 65 В на протяжении 4,5 ч в 1,8%-м агарозном геле. Для окрашивания геля использовали бромид этидия в течение 30 мин, а визуализировали с помощью системы UV Imager Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Результаты исследований показали, что для оценки генетического разнообразия и генетической дифференциации *L. dortmanna* подходящими оказались 10 маркеров из 30 используемых (2373, 2242, 2076, 2271, 2415, 2078, 2080, 2081, 2270, 2079). Результаты ПЦР с использованием маркера 2270 представлены на рис. 2.

Для установления оптимальных температур отжига праймеров проведена градиентная ПЦР с образцами *L. dortmanna*. Полученные значения представлены в табл. 3.

Таблица 3. Оптимальные температуры отжига праймеров после оптимизации
Table 3. Optimal primer annealing temperatures after optimization

Прай-мер	Оптимальная температура отжига Ta, °С	Последовательность (5'–3')	Прай-мер	Оптимальная температура отжига Ta, °С	Последовательность (5'–3')
2373	48,4	GAAGTCTGCTCCGATGCCA	2078	63,9	GCGGAGTCGCCA
2242	55,2	GCCCCATGGTGGGCGCCA	2080	60,4	CAGACGGCGCCA
2076	57,0	GCTCCGATGCCA	2081	61,6	GCAACGGCGCCA
2271	59,4	GGCTCGGATGCCA	2270	61,0	ACCTGGCGTGCCA
2415	62,6	CATCGTAGGTGGGCGCCA	2079	62,4	AGGTGGGCGCCA

Для отобранных iPBS-маркеров установлены такие показатели, как количество полиморфных локусов, их доля и мера информационного полиморфизма (PIC) (табл. 4).

Таблица 4. Характеристика отобранных iPBS-маркеров
Table 4. Characteristics of selected iPBS markers

iPBS-маркер	Кол-во локусов	Кол-во полиморфных локусов		Мера информационного полиморфизма (PIC)
		n	%	
2373	24	20	83,33	0,32
2242	25	24	96,00	0,32
2076	25	22	88,00	0,33
2271	15	12	80,00	0,4
2415	14	12	85,71	0,38
2078	34	30	88,24	0,31
2080	37	35	94,59	0,35
2081	37	35	94,59	0,35
2270	29	26	89,66	0,35
2079	33	32	96,97	0,35
Среднее	27,30	24,80	89,71	0,35

Для каждого праймера получено от 14 до 37 локусов (среднее количество 27,30) и от 12 до 35 полиморфных локусов (среднее количество 24,80). В среднем на набор праймеров получено 89,71 % полиморфных локусов. Максимальное значение меры информационного полиморфизма (PIC) получено для маркера 2415 (0,38), а минимальное – для маркера 2078 (0,31). Все маркеры из табл. 4 обладают высоким уровнем PIC, поэтому были использованы нами для изучения генетического разнообразия *L. dortmanna*.

Результаты и их обсуждение. На основе данных, полученных с использованием молекулярных маркеров 2373, 2242, 2076, 2271, 2415, 2078, 2080, 2081, 2270 и 2079, для каждой популяции *L. dortmanna* рассчитаны следующие показатели: доля полиморфных ампликонов (P), эффективное (Ne) и наблюдаемое (Na) число аллелей, информационный индекс Шеннона (I), генное разнообразие Нея (Ne). Вышеперечисленные параметры, а также общее генетическое разнообразие (Ht),

генетическое разнообразие в популяциях (Hs), уровень подразделенности популяций (Gst), поток генов между популяциями (Nm) рассчитаны для всех локусов четырех изученных популяций.

Полученные данные (табл. 5) показали, что наибольшая доля полиморфных локусов обнаружена в популяции Bel (39,78%), а наименьшая – в популяции Br (28,67 %). В исследованных популяциях Na варьируется от 1,29 в популяции Br до 1,39 в популяции Bel. Максимальное эффективное число аллелей (1,26) обнаружено в популяции Bel. На основании значений Ne и I для популяции Bel выявлено наибольшее генетическое разнообразие среди всех исследованных, тогда как наименьшим уровнем по данным показателям выделяется популяция Br. Обе отмеченные популяции находятся в северной части Беларуси – на территории Россонского района Витебской области. Генетическое разнообразие популяций Sv и OzB, расположенных в центральной и южной частях Беларуси, оказалось несколько ниже, чем у популяции Bel.

Таблица 5. Параметры генетического разнообразия популяций *Lobelia dortmanna* L.
Table 5. Parameters of genetic diversity of the studied populations of *Lobelia dortmanna* L.

Параметр	Модельная популяция				Общее для популяций
	OzB	Bel	Sv	Br	
Доля полиморфных локусов, %	37,99	39,78	32,62	28,67	92,11
Na	1,38 ± 0,03	1,39 ± 0,03	1,33 ± 0,03	1,29 ± 0,03	1,92 ± 0,02
Ne	1,24 ± 0,02	1,26 ± 0,02	1,23 ± 0,02	1,18 ± 0,02	1,55 ± 0,02
He	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,32 ± 0,02
I	0,21 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,48 ± 0,01
Ht	–				0,32 ± 0,002
Hs	–				0,13 ± 0,001
Gst	–				0,59
Nm	–				0,35

При анализе генетической изменчивости изученных популяций для всех локусов были рассчитаны: Na, Ne, He, I и доля полиморфных локусов, которые составили 1,92; 1,55; 0,32; 0,48 и 92,11 % соответственно. Разнообразие генов в популяциях (Hs = 0,13) оказалось меньше общего генетического разнообразия (Ht = 0,32). Уровень Gst среди изученных популяций составил 0,59. Эти данные указывают на то, что большинство генетических вариаций встречается между популяциями. Nm для популяций *L. dortmanna* составил 0,35, что свидетельствует о низком уровне обмена генами между ними. Поскольку данный показатель оказался меньше единицы, то, согласно «теории эволюции со смещающимся равновесием», это свидетельствует о нарушении обмена генами между популяциями изучаемого вида [11]. Выявленная особенность согласуется с крайне низкой численностью вида на территории Беларуси, а также с изолированностью белорусских популяций как от основного фрагмента ареала, так и между собой. Расстояние между тремя основными локалитетами *L. dortmanna* (оз. Белое – оз. Свитязь – озера Россонского района) составляет 130 и 320 км соответственно.

Полученные результаты AMOVA указывают на то, что большая часть общей изменчивости (54 %) является межпопуляционной, а меньшая часть (46 %) – внутривидовой. Однако, учитывая небольшую разбежку между данными показателями, для сохранения генофонда *L. dortmanna* в Беларуси необходима охрана всех известных мест произрастания данного вида. Разница между индивидами в популяциях была статистически значимой ($p < 0,001$). Полученное значение PhiPT (0,540) указывает на высокий уровень генетической дифференциации популяций (табл. 6).

Таким образом, с учетом состояния численности и жизнеспособности модельных популяций, их положения относительно европейского фрагмента ареала вида, а также выявленного генетического разнообразия белорусских популяций *L. dortmanna* можно выделить некоторые особенности данного вида (табл. 7), которые могут быть учтены при разработке стратегии его сохранения в долгосрочной перспективе.

Данные табл. 7 показывают, что наиболее высоким генетическим разнообразием Нея (0,15) отличается популяция *L. dortmanna* из оз. Белянец Россонского района. Она является самой

Таблица 6. Результаты AMOVA для популяций *Lobelia dortmanna* L.Table 6. AMOVA results for *Lobelia dortmanna* L. populations

Генетическая дифференциация	Источник изменчивости					Доля в вариации, %
	Число степеней свободы (df)	Сумма квадратов (SS)	Средний квадрат (MS)	Дисперсия	PhiPT	
Общая	17	851,2	—	56,68	0,540*	—
Между популяциями	3	486,56	162,19	30,63		0,54
Внутри популяций	14	364,67	26,05	26,05		0,46

* Различия достоверны при $p < 0,001$.Таблица 7. Особенности генетического разнообразия популяций *Lobelia dortmanna* L. в БеларусиTable 7. Features of genetic diversity of *Lobelia dortmanna* L. populations in Belarus

Модельная популяция	Площадь локалитета, м ²	Удаленность от границы сплошного ареала, км	He	I
OzB	1100	600 (атлантикоевропейский фрагмент)	0,14	0,21
Bel	250	250 (фенноскандинавский фрагмент)	0,15	0,22
Sv	6200	550 (атлантикоевропейский фрагмент)	0,13	0,19
Br	1700	250 (фенноскандинавский фрагмент)	0,10	0,15

северной в Беларуси и в то же время наиболее близкой к южной границе ареала вида, которая находится в 250 км к северу. Однако расположенная рядом популяция Br характеризуется значительно более низким уровнем генетической гетерогенности ($H_e = 0,10$). В то же время популяции Sv и OzB, гораздо более удаленные от основного фрагмента ареала *L. dortmanna*, характеризуются значительно более высоким уровнем генетической гетерогенности по показателю H_e – 0,13 и 0,14 соответственно. Таким образом, у *L. dortmanna* не выявлено взаимосвязи между положением популяции в пределах ареала и уровнем ее генетического разнообразия, что противоречит распространенной теории о генетической обедненности изолированных популяций [5].

Важными данными, позволяющими пересмотреть сложившиеся приоритеты в охране отдельных популяций исчезающих видов, является отсутствие взаимосвязи между численностью растений в популяциях и уровнем их генетического разнообразия. Уже отмеченная ранее популяция Bel, для которой выявлен самый высокий уровень гетерогенности, характеризуется самой малой в Беларуси численностью растений и занимаемой площадью. Локалитет популяции Br, площадь которого превышает 1 700 м², оказался наиболее генетическим обедненным. Таким образом, для сохранения генофонда *L. dortmanna* в Беларуси необходима строгая охрана всех известных популяций независимо от их численности, площади и уровня жизнеспособности растений.

Учитывая, что исследованные популяции *L. dortmanna* находятся в островных локалитетах вдали от основного ареала данного вида, наряду с оценкой их генетической гетерогенности важно выявить их генетическую обособленность. Составленная матрица парных генетических сходств и расстояний H_e (табл. 8) показывает генетические различия между исследованными популяциями.

Представленные данные демонстрируют, что наименьшее значение генетического расстояния H_e (0,22) наблюдалось между популяциями OzB и Sv, а наибольшее (0,46) – между популяциями OzB и Br, что согласуется с их географическим положением. Результаты анализа ward.D2 (рис. 3), основанного на данных матрицы расстояния H_e , также подтверждают эти данные.

Представленная дендрограмма показывает, что популяции Sv и OzB являются наиболее генетически близкими между собой среди всех изученных. Они значительно удалены от популяций Bel и Br (также генетически родственных), расположенных на крайнем севере Беларуси, что

Таблица 8. Матрица парных генетических сходств (над диагональю) и расстояний H_e (под диагональю)

Table 8. Matrix of pairwise genetic similarities (above the diagonal) and Nei's distances (below the diagonal)

Популяция	OzB	Bel	Sv	Br
OzB	—	0,73	0,80	0,63
Bel	0,31	—	0,71	0,73
Sv	0,22	0,34	—	0,66
Br	0,46	0,31	0,41	—

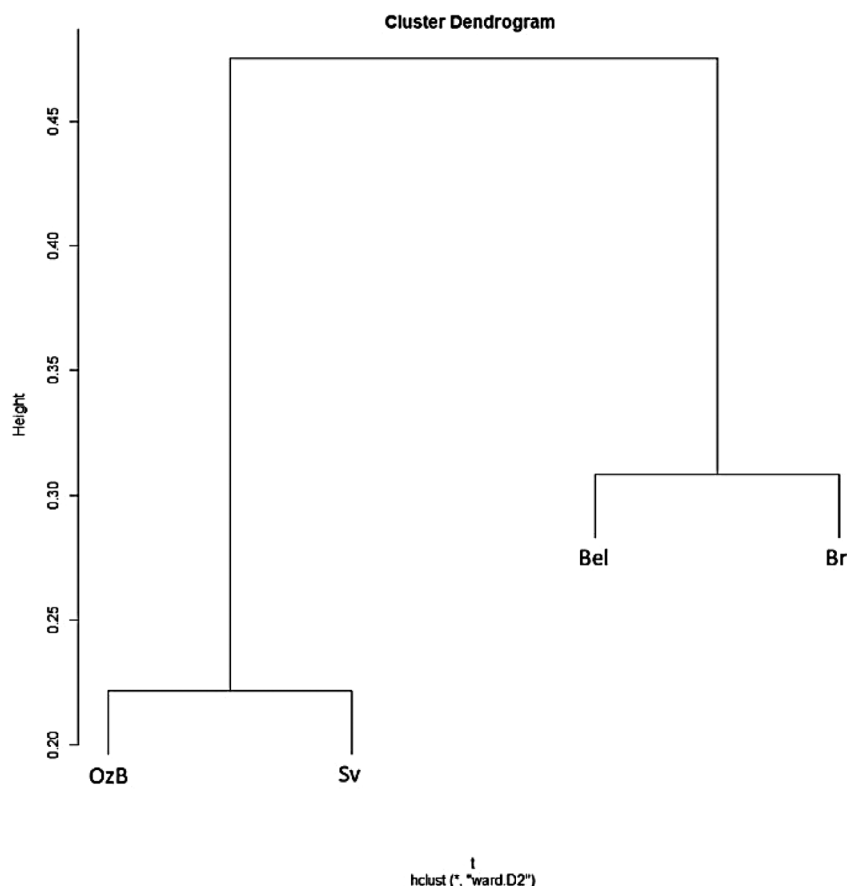


Рис. 3. Дендрограмма на основе генетического расстояния Нея, показывающая взаимосвязь между изученными популяциями *Lobelia dortmanna* L.

Fig. 3. Dendrogram based on Nei's genetic distance showing the relationship between the studied populations of *Lobelia dortmanna* L.

связано с историей развития флоры страны в голоцене. Вероятно, популяции OzB (Припятское Полесье) и Sv (южные склоны Новогрудской возвышенности) генетически родственны с популяциями *L. dortmanna* из Атлантической Европы (южные побережья Балтийского и Северного морей), поскольку проникли на территорию Беларуси после деградации Сожского оледенения. Соответственно, они являются более древними и имеют генетическое родство с атлантикоевропейским фрагментом ареала *L. dortmanna*. Популяции из Россонского района (озера Беянец и Бредно), вероятно, родственны популяциям из фенноскандинавского фрагмента ареала *L. dortmanna*, поскольку их положение находится к северу от южной границы Поозерского (Weichselian glaciation) оледенения. Появление данных популяций на территории северной части Беларуси приходится на ранний голоцен и связано с миграцией комплекса североатлантических видов (*Isoetes lacustris* L., *Leymus arenarius* (L.) Hochst. и др.) [13]. Таким образом, выявленная взаимосвязь между изученными популяциями *L. dortmanna* на основе генетического расстояния Нея согласуется с положением модельных популяций относительно общего ареала вида в Европе (рис. 4), а также соответствует истории развития растительного покрова данной территории в голоцене.

С помощью анализа РСоА выявлено, что на первые три компоненты главных координат приходится 59,6 % всей вариации (рис. 5). Как и ожидалось, популяции Bel и Sv максимально близки и находятся в правом нижнем квадранте. Популяции Bel и Br также генетически родственны между собой (по данным генетического расстояния Нея), однако первая из них находится в верхнем квадранте, а вторая – в нижнем левом. Из этого следует, что данные популяции, несмотря на ожидаемое генетическое родство, характеризуются определенным различием. Данная особенность не согласуется с тем, что популяции Bel и Br находятся в одной группе озер и расстояние между ними не превышает 7 км.

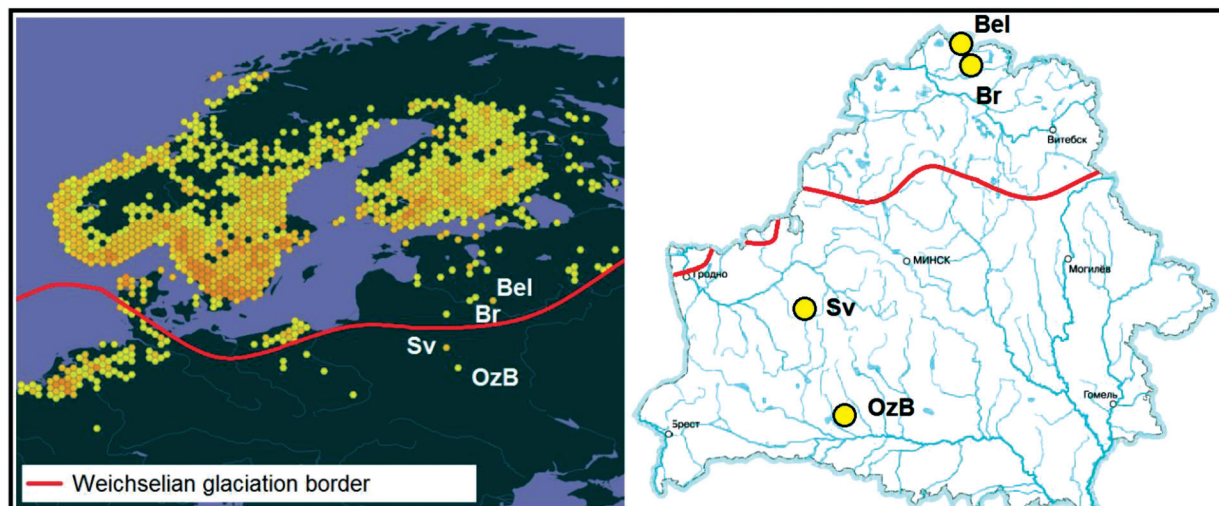


Рис. 4. Положение изученных популяций в ареале *Lobelia dortmanna* L.
Fig. 4. Position of the studied populations in the range of *Lobelia dortmanna* L.

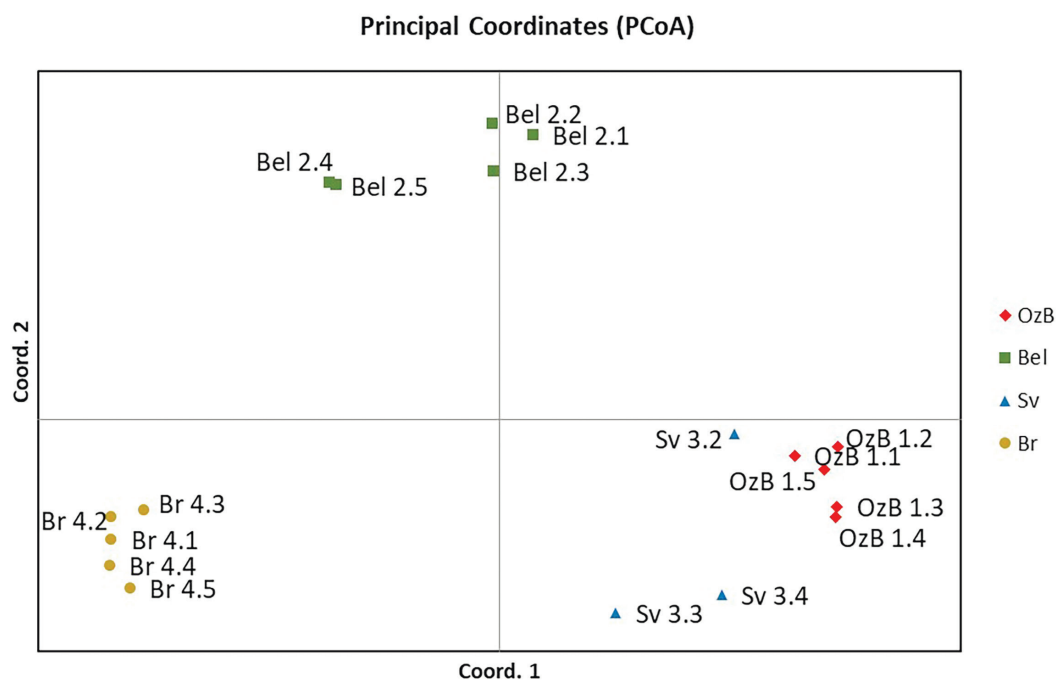


Рис. 5. Распределение исследованных популяций *Lobelia dortmanna* L. на первых двух главных координатах (PCoA)
Fig. 5. Distribution of the studied populations of *Lobelia dortmanna* L. on the first two principal coordinates (PCoA)

Таким образом, представленные данные подтверждают генетическую разнородность белорусских популяций *L. dortmanna*, что свидетельствует не только о их научно-познавательной ценности, но и о важном значении в сохранении генофонда исследуемого вида в пределах Центральной и Восточной Европы. Сохранение вида в настоящее время обеспечивается тем, что все изученные популяции находятся в пределах охраняемых природных территорий – заказников республиканского значения. Кроме того, *L. dortmanna* относится к характерным видам редкого биотопа олигомезотрофных озер с сообществами погруженных гидрофитов [12], которые, в свою очередь, являются популярными объектами отдыха и рыбной ловли. Соответственно, несмотря на низкие показатели генетического разнообразия популяций и их невысокую адаптационную способность,

именно повышенная рекреационная нагрузка должна рассматриваться как преобладающий фактор в исчезновении данного вида.

Заключение. В результате проведенных исследований с использованием молекулярных iPBS-маркеров выполнена оценка генетического разнообразия популяций *L. dortmanna*, расположенных в островных локалитетах на значительном удалении от основного ареала данного вида. Анализ популяционной генетической структуры демонстрирует, что межпопуляционное генетическое разнообразие у данного вида незначительно выше (54 %), чем внутривидовое (46 %). Низкий уровень потока генов между популяциями, а также невысокие показатели генетического разнообразия не указывают на их изолированность и регрессивное состояние. С этим связана необходимость строгой охраны максимально большего числа известных местообитаний вида для обеспечения сохранности генофонда *L. dortmanna* в долгосрочной перспективе.

Данные кластерного анализа популяций *L. dortmanna* демонстрируют их разделение на две генетически разрозненные группы, географическое положение которых подтверждает их генетическую связь с разными фрагментами ареала вида в Европе, а также согласуется с историей развития флоры региона в голоцене.

При разработке стратегии сохранения вида необходимо учитывать выявленные особенности генетической структуры популяций *L. dortmanna*, которые заключаются в отсутствии взаимосвязи между генетическим разнообразием популяций, их положением в пределах ареала, а также численностью и жизненностью растений в них.

В целом анализ полученных данных показывает, что для *L. dortmanna* характерно невысокое генетическое разнообразие отдельных популяций, их изолированность и обедненность. В связи с этим благоприятный прогноз существования вида в условиях дикой природы возможен только при сохранности подходящих природных биотопов (олигомезотрофных озер с сообществами погруженных гидрофитов) и ограничении рекреационной нагрузки на них.

Список использованных источников

1. Расселение Лобелии Дортмана на Витебщине / И. М. Морозов [и др.] // Охраняемые природные территории и объекты Белорусского Поозерья: современное состояние, перспективы развития: материалы III Междунар. науч. конф., Витебск, 16–17 декабря 2009 г. / редкол.: А. М. Дорофеев (отв. ред.) [и др.]; Витеб. гос. ун-т им. П. М. Машерова [и др.]. – Витебск, 2009. – С. 148–150.
2. Власов, Б. П. Особенности уникальных озер Беларуси как формирующая основа ресурсов реликтовых видов *Isoetes L.* и *Lobelia dortmanna L.* // Вестн. БГУ. Сер. 2. Химия. Биология. География. – 2014. – № 1. – С. 62–67.
3. Красная книга Республики Беларусь. Растения: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / М-во природ. ресурс. и охраны окруж. среды Респ. Беларусь, Нац. акад. наук Беларуси; гл. редкол.: Л. И. Хоружик (предс.) [и др.]. – 4-е изд. – Минск: Беларус. энцыкл., 2015. – 445 с.
4. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? / R. Leimu [et al.] // J. Ecol. – 2006. – Vol. 94, N 5. – P. 942–952. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01150.x>
5. Genetic diversity and population structure of naturally rare *Calibrachoa* species with small distribution in southern Brazil / A. L. de Wallau John [et al.] // Genet. Mol. Biol. – 2019. – Vol. 42, N 1. – P. 108–119. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0314>
6. Genetic diversity and population structure of the rare and endangered plant species *Pulsatilla patens* (L.) Mill in East Central Europe / M. Szczecińska [et al.] // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11, N 3. – P. e0151730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151730>
7. Samantaray, S. Evaluation of genetic diversity in *Chlorophytum borivilianum* (Santp. and Fernan.) using molecular markers: An endangered medicinal plant / S. Samantaray, U. Ngangkham // Active ingredients from aromatic and medicinal plants / ed. H. A. El-Shemy. – 2017. <https://doi.org/10.5772/66536>
8. *Lobelia dortmanna* (Lobeliaceae) в Вологодской области / Д. А. Филиппов [и др.] // Вестн. СПбГУ. Сер. 3. Биология. – 2016. – Вып. 1. – С. 84–99.
9. Reasons for the dramatic loss of *Lobelia dortmanna*, a keystone plant species of softwater lakes in the Northern Hemisphere / S. R. Nielsen [et al.] // Freshwater Biol. – 2023. – Vol. 68, N 10. – P. 1673–1684. <https://doi.org/10.1111/fwb.14149>
10. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation / R. Kalendar [et al.] // Theor. Appl. Genet. – 2010. – Vol. 121, N 8. – P. 1419–1430. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1398-2>
11. Wright, S. Random drift and shifting balance theory of evolution / S. Wright // Biomathematics / ed. K. Krickeberg [et al.]. – Berlin [et al.], 1970. – Vol. 1: Mathematical topics in population genetics / ed. K. Kenichi. – P. 1–31. https://doi.org/10.1007/978-3-642-46244-3_1
12. Редкие биотопы Беларуси / А. В. Пугачевский [и др.]. – Минск: Альтиора – Живые краски, 2013. – 234 с.
13. Козловская, Н. В. Флора Белоруссии, закономерности ее формирования, научные основы использования и охраны / Н. В. Козловская. – Минск: Наука и техника, 1978. – 126 с.

References

1. Morozov I. M., Torbenko A. B., Vysotskii Yu. I., Lebedeva Yu. I. Settlement of *Lobelia dortman* in the Vitebsk region. *Otkhranyaemye prirodnye territorii i ob'ekty Belorusskogo Poozer'ya: sovremennoe sostoyanie, perspektivy razvitiya: materialy III Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, Vitebsk, 16–17 dekabrya 2009 goda* [Protected natural areas and objects of the Belarusian Poozerie: current state, development prospects: materials of the III International scientific conference, Vitebsk, December 16–17, 2009]. Vitebsk, 2009, pp. 148–150 (in Russian).
2. Vlasov B. P. Features of the unique lakes of Belarus as the forming basis for the resources of relict species *Isoetes* L. and *Lobelia dortmanna* L. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2: Chemistry. Biology. Geography], 2014, no. 1, pp. 62–67 (in Russian).
3. Kachanovskii I. M., Nikiforov M. E., Parfenov V. I., Borodin O. I., Pugachevskii A. V., Baichorov V. M., Gapienko O. S., Giryayev A. S., Evdaseva T. P. *Red Book of the Republic of Belarus. Plants: rare and endangered species of wild plants. 4th ed.* Minsk, Belaruskaya Entsiklopedyya Publ., 2015. 445 p. (in Russian).
4. Leimu R., Mutikainen P., Koricheva J., Fischer M. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology*, 2006, vol. 94, no. 5, pp. 942–952. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01150.x>
5. de Wallau John A. L., Mäder G., Fregonezi J. N., Freitas L. B. Genetic diversity and population structure of naturally rare *Calibrachoa* species with small distribution in southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 2019, vol. 42, no. 1, pp. 108–119. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0314>
6. Szczecińska M., Sramko G., Wołosz K., Sawicki J. Genetic diversity and population structure of the rare and endangered plant species *Pulsatilla patens* (L.) Mill in East Central Europe. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 3, P. e0151730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151730>
7. Samantaray S., Ngangkham U. Evaluation of genetic diversity in *Chlorophytum borivilianum* (Santp. and Fernan.) using molecular markers: An endangered medicinal. *Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants*, 2017. <https://doi.org/10.5772/66536>
8. Filippov D. A., Bobrov Yu. A., Chkhobadze A. B., Levashov A. N. *Lobelia dortmanna* (Lobeliaceae) in the Vologda region. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3. Biologiya* [Bulletin of Saint Petersburg University. Series 3. Biology], 2016, vol. 1, pp. 84–99 (in Russian).
9. Nielsen S. R., Martinsen K. T., Pedersen O., Baastrup-Spohr L. Reasons for the dramatic loss of *Lobelia dortmanna*, a keystone plant species of softwater lakes in the Northern Hemisphere. *Freshwater Biology*, 2023, vol. 68, no. 10, pp. 1673–1684. <https://doi.org/10.1111/fwb.14149>
10. Kalendar R., Antonius K., Smýkal P., Schulman A. H. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retro-transposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, vol. 121, no. 8, pp. 1419–1430. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1398-2>
11. Wright S. Random drift and shifting balance theory of evolution. *Biomathematics. Vol. 1: Mathematical topics in population genetics*. Berlin, Heidelberg, New York, 1970, pp. 1–31. https://doi.org/10.1007/978-3-642-46244-3_1
12. Pugachevskii A. V., Vershinskaya I. N., Ermokhin M. V., Stepanovich I. M., Sozinov O. V., Sakovich A. A., Rudakovskii I. A., Kulak A. V., Zhuravlev D. V. *Rare biotopes of Belarus*. Minsk, Al'tiora – Zhivye kraski Publ., 2013. 234 p. (in Russian).
13. Kozlovskaya N. V. *Flora of Belarus, patterns of its formation, scientific principles of use and protection*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1978. 126 p. (in Russian).

Информация об авторах

Мялик Александр Николаевич – канд. биол. наук, заведующий сектором. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: aleksandr-myalik@yandex.ru

Гудная Наталья Владимировна – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.Samakhvalava@cbg.org.by

Кулагина Татьяна Геннадьевна – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: T.Shlapakova@cbg.org.by

Дубарь Даниил Александрович – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: d.dubar@tut.by

Титок Владимир Владимирович – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Titok@cbg.org.by

Information about the authors

Aliaksandr M. Mialik – Ph. D. (Biol.), Head of the Sector. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov St., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aleksandr-myalik@yandex.ru

Natallia U. Hudnaya – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov St., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Samakhvalava@cbg.org.by

Tatsiana G. Kulahina – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov St., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: T.Shlapakova@cbg.org.by

Daniil A. Dubar – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov St., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: d.dubar@tut.by

Vladimir V. Titok – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Associate Professor, Chief Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov St., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Titok@cbg.org.by