

UDC 582.736.311:504.6

Тетяна Морозова

**ФЕНОТИПІЧНА ПЛАСТИЧНІСТЬ *TRIFOLIUM REPENS* L.  
ЯК ІНФОРМАТИВНА ІНДИКАТОРНА ОЗНАКА ЕКОФІТОМОНІТОРИНГУ**

Tetiana Morozova

**PHENOTYPIC PLASTICITY *TRIFOLIUM REPENS* L.  
AS AN INFORMATIVE INDICATOR SIGN OF ECOPHYTOMONITORING**

DOI: 10.58407/bht.2.24.5

**АНОТАЦІЯ**

**Мета роботи.** Порівняльний аналіз внутрішньо- і міжпопуляційної мінливості локальних популяцій *Trifolium repens* за малюнком «сивої» плями на листку рослин у різних екологічних умовах.

**Методологія** досліджень базувалася на камеральних та польових дослідженнях, матеріали зібрано із використанням геоботанічних методів. Аналіз генетичного поліморфізму та індивідуальної мінливості проводили за загальноприйнятими методиками.

**Наукова новизна.** Здійснено аналіз поліморфізму популяцій *T. repens* у різнофункціональних зонах урбоекосистеми. Встановлено морфогенетичну однорідність, з переважанням фенотипів О, А та С у природних популяціях. Індукована середовищем фенотипічна пластичність може бути критичним компонентом реакції на зміну середовища. Механізм збереження поліморфізму в урбосередовищі обумовлений адаптивними ефектами наддомінування, коли в популяції зберігаються різні алелі завдяки балансуєчому добору, що сприяє гетерозиготності. Територіям із високим антропогенним навантаженням властива така різноманітність фенотипів: А<sup>н</sup> та В<sup>н</sup>С. У селитебних зонах переважає фенотип В<sup>н</sup>, а в індустріальних – В<sup>н</sup>С, що може слугувати індикаційною ознакою.

Виявлені відмінності в біомасі стебел та листків у різних екосистемах: агрокультурні та девастровані зони мають найбільшу біомасу, а лучна екосистема вирізняється найбільшими значеннями висоти квітконоса та черешка біомаси стебел та листків, але найменшою кількістю листків. Зменшення діаметра, маси суцвіття та кількості квіток в суцвітті є неспецифічною реакцією на антропогенний вплив, з максимальним відхиленням стійкості розвитку конюшини в зоні витопування.

**Висновки.** Досліджено поліморфізм популяцій *T. repens* методом кількісного підрахунку неоднорідності популяцій за наявністю та різноманітністю «сивої» плями на листках. Проаналізовано форму малюнка, частоту появу фенотипів, відзначено наявність рослин з унікальними фенотипами (малюнок іншого кольору, листки з 4 і більше листочками). Встановлено відмінність за частотою трапляння генотипів у різнофункціональних зонах, відмічена залежність ступеня гетерогенності популяцій від віку та виду антропогенного навантаження. Виявлено 10 фенотипічних класів, мінімальна кількість різноманітних фенів склала – 4, що вказує на різний ступінь морфогенетичного поліморфізму.

**Ключові слова:** референтні види, поліморфізм популяцій, фенотип, «сіра пляма», генетичний поліморфізм, індекс частоти трапляння фенів, множинний алелізм

**ABSTRACT**

**Purpose of the work.** Comparative analysis of intra- and interpopulation variability of *Trifolium repens* L. by the pattern of a «grey» spot on the leaf of plants in different environmental conditions.

**Methodology.** The research was based on office and field research, the materials were collected using by means of geobotanic method. The analysis of genetic polymorphism and individual variability was carried out according by using generally accepted methodologies.

**Scientific novelty.** The analysis of polymorphism of *T. repens* populations was carried out in multifunctional zones of urban ecosystems. Morphogenetic homogeneity was established, with a predominance of phenotypes O, A and C in

natural populations. Environment-induced phenotypic plasticity may be a critical component of the response to environmental change. The mechanism of conservation of polymorphism in the urboenvironment is due to the adaptive effects of overdominance, when different alleles are preserved in the population due to balancing selection, which favors heterozygosity. Territories with high anthropogenic load are characterized by the following variety with phenotypes: A<sup>H</sup> and B<sup>H</sup>C. In residential zones, the B<sup>H</sup> phenotype predominance in population, and in industrial zones – B<sup>H</sup>C, which can serve as an indicator.

Differences in the biomass of stems and leaves in different ecosystems were found: agricultural and devastic zones have the highest biomass, and the meadow ecosystem is distinguished by the highest values of the height of the peduncle and petiole of the biomass of stems and leaves, but the smallest number of leaves. A decrease in the diameter, weight of the inflorescence and the number of flowers in the inflorescence is a non-specific reaction to anthropogenic influence, with the maximum deviation of the stability of clover development in the trampling zone.

**Conclusions.** The polymorphism of *T. repens* populations was investigated by the method of quantitative calculation of heterogeneity of populations by the presence and diversity of the "gray" spot on the leaves. The shape of the pattern shape and phenotype frequency of phenotypes were analyzed, the presence of plants with unique phenotypes (a pattern of a different color, leaves with 4 or more leaflets) was noted. A difference in the frequency of occurrence of genotypes in multifunctional zones has been established, the dependence of the degree of heterogeneity of populations on age was noted and the type of anthropogenic load. Ten phenotypic classes were identified, the minimum number of various phenophiles was 4, which indicates different degrees of morphogenetic polymorphism.

**Key words:** reference species, population polymorphism, phenotype, gray spot, genetic polymorphism, phenoid frequency index, multiple allelism

### Постановка проблеми

Екофітомоніторинг зумовлює пошук референтних видів, які можуть служити індикаторами змін у довкіллі. Цікавими об'єктами можуть бути не лише рідкісні, але й поширені види. Континуальність, широка ценотична амплітуда, евритопність – ці поняття добре характеризують особливості синантропних видів. Ми спробували оцінити можливість використання *Trifolium repens*, як універсального біоіндикатора. Вибір об'єкта дослідження обумовлений тим, що *T. repens*, відповідає багатьом вимогам ідеального біоіндикатора. Це типовий представник флори оселищ, пов'язаних з людиною, характеризується високою чисельністю в екотопах, знаходиться на одній території протягом багатьох років і легко піддається збору, швидко змінює фенофази протягом вегетаційного сезону.

Вивченню природних популяцій *T. repens* присвячені дослідження J.L. Brewbaker, A. Cresswell, R.S. Hamilton, P.P. Валієва, Н.В. Глотова, Л.Н. Денисової, І.Е. Камчатової, М.Ю. Купріянової, С.Н. Левицького, В.І. Нахаєвої, Д.Б. Орлинського, Г.Г. Соколової, Н. Хох, Н.Н. Шаригіної, П.Я. Шварцмана та ін., в яких наводиться аналіз просторової, вікової структури популяцій, характеризується еколого-генетична та міжпопуляційна мінливість за ознакою «сивої» плями на листку, вказується на наявність залежності ступеня фенотипічної та генотипічної різноманітності популяцій *T. repens* за даною ознакою від рівня антропогенного навантаження.

*T. repens* – гетерозиготний алотетраплоїдний вид із високим ступенем ауткросингу (Tashiro et al., 2010), це багаторічна бобова рослина, росте в регіонах з помірним кліматом і має високий потенціал як декоративна рослина. Екологічна особливість виду – адаптація до абіотичних умов, в тому числі екстремальних, стійкість до механічних пошкоджень, зокрема, витоптування, що сприяє поширенню на порушених територіях, в рослинних угрупованнях під впливом інтенсивних антропогенних чинників. *T. repens* добре адаптується до антропогенного навантаження, характеризується широким діапазоном толерантності до ряду абіотичних чинників (Hirano, 2005; Helgadottir et al., 2007), однак не витримує конкуренції з іншими видами, в природних угрупованнях для неї більш уразливим є ценотичний стрес. На порушених ділянках конюшина представлена особинами насінневого походження генетами (вегетативно-рухома життєва форма); в непорушених ценозах – видовженими плагіотропними пагонами, що нарастають за рахунок верхівкової меристеми і активно утворюють пазушні бічні пагони. Листки трійчасті, на поверхні наявні білуваті смужки у вигляді ромбоподібного малюнка – «сиза пляма».

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили в екотопічних елементарних популяціях, що представляють угруповання ценопопуляцій у подібних еколого-ценотичних умовах, враховуючи

морфометричні й кількісні показники індивідуальної мінливості *T. repens* та ландшафтно-функціональне зонування урбо-екосистеми (Руденко, 2008). На території кожної різнофункціональної зони (парки, пустища, двори, узбіччя автомагістралей, автозаправні станції, котельні, заводи, сміттєзвалища) обстежено 15 рендомізованих ділянок розміром 2x3 м з покриттям *T. repens* до 85-90 %. Природну популяція на луках за межами міста брали за контроль. Листки збирали у другій декаді червня (у період максимального розвитку вегетативної частини та масового цвітіння) так, щоб з однієї рослини брати лише один листок (на відстані п'яти кроків від місця попереднього збору). Ідентифікацію малюнка «сивої» плями здійснювали за методикою І.Т. Папонової та П.Я. Шварцмана з використанням таблиці Дж. Л. Брюейкера. Розраховували частоту трапляння фенів (%).

Для кількісної оцінки фенотипового різноманіття популяцій застосовували індекс Шеннона-Вінера (Shannon-Weiner index) – показник внутрішньопопуляційного різноманіття ( $\mu$ ) і частку рідкісних фенотипів ( $h$ ), запропоновані Л. А. Животовським.

$$\mu = - \sum_{i=1}^S p_i \cdot \ln(p_i)$$

S – кількість різних фенотипів у популяції,  
 $p_i$  – частка кожного фенотипу у популяції

Для розрахунку подібності між популяціями використовували індекс Жаккара, як співвідношення кількості спільних елементів до загальної кількості унікальних елементів у множинах:

$$J = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|}$$

$|A \cup B|$  – кількість унікальних генотипів, які зустрічаються в популяціях А або В (сума унікальних елементів обох множин)

$|A \cap B|$  – кількість елементів, які присутні як у множині А, так і в множині В (спільні елементи).

$$\begin{aligned} & \text{Критерій ідентичності} = \\ & = \frac{\sum_{i=1}^n \sqrt{p_{i1} \cdot p_{i2}}}{\sum_{i=1}^n p_{i1} + \sum_{i=1}^n p_{i2} - \sum_{i=1}^n \sqrt{p_{i1} \cdot p_{i2}}} \end{aligned}$$

$p_{i1}$  та  $p_{i2}$  – частоти генетичних варіантів у першій і другій популяціях.

## Результати та їх обговорення

Екомоніторинг компонентів довкілля та екосистем можна здійснювати за допомогою фенотипових біоіндикаторів. Один із таких показників (фен) – це відтінок будь-якої ознаки, яка відображає генетичні особливості індивідів. Альтернативні зміни прояву морфологічних ознак біологічних об'єктів можуть кількісно оцінити гетерогенність популяцій, особливості організації та структури, рівень антропогенного впливу (Caradus et al., 1993; David et al., 2001; Welham et al., 2002). Ступінь реалізації фенотипового різноманіття слугує показником рівня сприятливості умов середовища (Sokolova, 2018). Під фенотипічною пластичністю розуміють здатність організму адаптуватися до змінних умов середовища. Поліморфізм популяцій характеризує внутрішньо- та міжвидову мінливість, може обумовлюватися природним добром або адаптивною перебудовою генетичної структури у відповідь на зміни чинників середовища. Внутрішньопопуляційний поліморфізм є одним із проявів генетичної гетерогенності, зумовленої безперервним мутаційним процесом та комбінаціями генетичного матеріалу (Крижановська та ін., 2021).

*T. repens* – багаторічна рослина з сильно розгалуженою стрижневою кореневою системою, зимуючою розеткою, укороченими основними надземними пагонами і бічними повзучими вкоріненими пагонами довжиною до 10-50 см. Листки з крупними прилистками, трійчастоскладні. *T. repens* росте на різноманітних ґрунтах з достатньою кількістю поживних речовин і води, але не переносить надлишку вологи, сухих і сильнокислих ґрунтів. Геліофіт, за сприятливих умов швидко розростається і утворює зімкнутий покрив, витісняючи з травостою злаки і різнотрав'я. Росте на луках, серед чагарників, на узліссях, на полях, на городах, дорогах.

*T. repens* характеризується вегетативно рухливою життєвою формою, представленою особинами насінневого походження (генетами) і нащадками вегетативного розмноження різного ступеня галузнення. Генети зустрічаються на ділянках з порушеним рослинним покривом. Вегетативне розмноження сприяє утриманню і поширенню по всій території, а генеративне розмноження, завдяки потужному насінне-

вому банку, служить для захоплення нових територій при порушенні там рослинного покриву.

**Оцінка генетичного поліморфізму.** В природних популяціях *T. repens* існують особини з повністю зеленими листками і з «сивою» плямою, яка відрізняється за розміщенням, формою, інтенсивністю прояву та розміром. На її вираженість впливає вік, форма і відносний розмір листка. Наявність «сивої» плями на листках пов'язана з особливою групою палісадних клітин мезофілу (менш витягнуті, переважно неправильної форми), у яких менша кількість хлоропластів, або вони відсутні (Han, et al., 2022; Ma et al., 2020).

Однією з особливостей *T. repens* є поліморфізм на основі «сизої» плями. Наявність «сивої» плями пов'язана з порушенням нормального розвитку хлорофілу, алелі гена *V* сприяють зменшенню розмірів палісадних клітин і збільшенню простору між ними, більш ранній загибелі клітин. Спадкових характер зрушень доведено на генетичному рівні з використанням методів ПЛР. Алелі (домінантні/кодомінантні) часто мають нечіткий фенотиповий прояв, лише близько 10% рослин можна однозначно віднести до

того чи іншого генетичного типу, тому аналіз може бути проведений за допомогою частоти тих чи інших фенотипів. Ступінь реалізації генофонду виду може служити індикатором умов середовища.

Плямистість листка генетично детермінована, успадковується як моногенна ознака і визначається серією множинних алелей гена *V*, які по-різному взаємодіють за ступенем домінування. Алель *v* рецесивна по відношенню до *V*, *V<sup>H</sup>*, *V<sup>B</sup>*, *V<sup>Bh</sup>*, *V<sup>P</sup>*, *V<sup>F</sup>*, *V<sup>S</sup>*. Різні плями відповідають впливу відповідних алелей. Алель *V<sup>B</sup>* домінує над *V<sup>P</sup>*, тому малюнки у генотипів *V<sup>B</sup>V<sup>P</sup>* та *V<sup>B</sup>V<sup>B</sup>* однакові. Часто вони діють як неоморфи і в компаунді дають продукти обох алелей (Sokolova, 2018), тому у фенотипі з'являються плями обох домінуючих алелей, зокрема, генотип *V<sup>B</sup>v* має фенотип *B*, а *V<sup>Bh</sup>v* – фенотип *B<sup>H</sup>*, але в компаунді *V<sup>Bh</sup>V<sup>B</sup>* виявляється новий малюнок з фенотипом *B<sup>H</sup>*. Для більшості комбінацій алелей притаманна сумісна дія з утворенням різноманітних варіантів. На досліджуваних ділянках зустрічаються 10 фенотипів (рис. 1), фенотипова різноманітність в природних умовах менша порівняно з антропогенними.

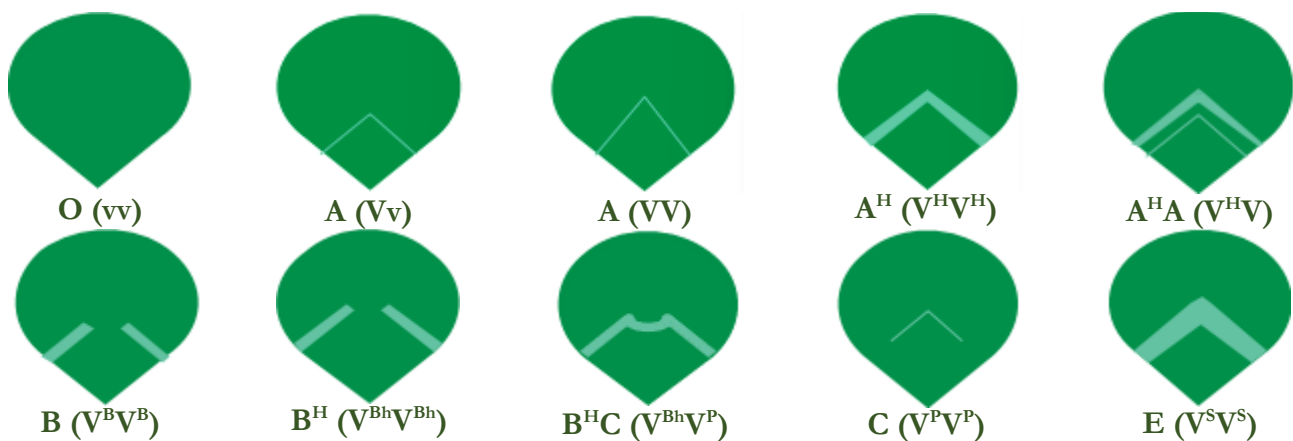


Рис. 1. Гомо- і гетерозиготи (компаунди) за алелями гена *V*

В досліджених популяціях нараховується від 4 до 10 фенотипів (рис. 2). Лише в індустріальних зонах зустрічається генотип *V<sup>S</sup>V<sup>S</sup>*. Алель *V<sup>B</sup>* є одним з рідкісних, які зустрічаються з низькою частотою також до числа відносяться рослини з гомозиготним генотипом *V<sup>B</sup>V<sup>B</sup>* і гетерозиготи *V<sup>Bh</sup>V<sup>P</sup>*, у домінуючі алелі діють в компаунді, що проявляється в фенотипі плямами обох

алелів (подвійними плями). Показано суттєву відмінність за кількістю фенотипів у досліджених популяціях (табл. 1), що відображає різноманіття. Індекс подібності можна розглядати як частоту загальних фенотипів малюнка «сизих» плям у популяціях, оскільки подібність у них визначається тими фенотипами, які є спільними для всіх популяцій: *O*, *A*, *C*.

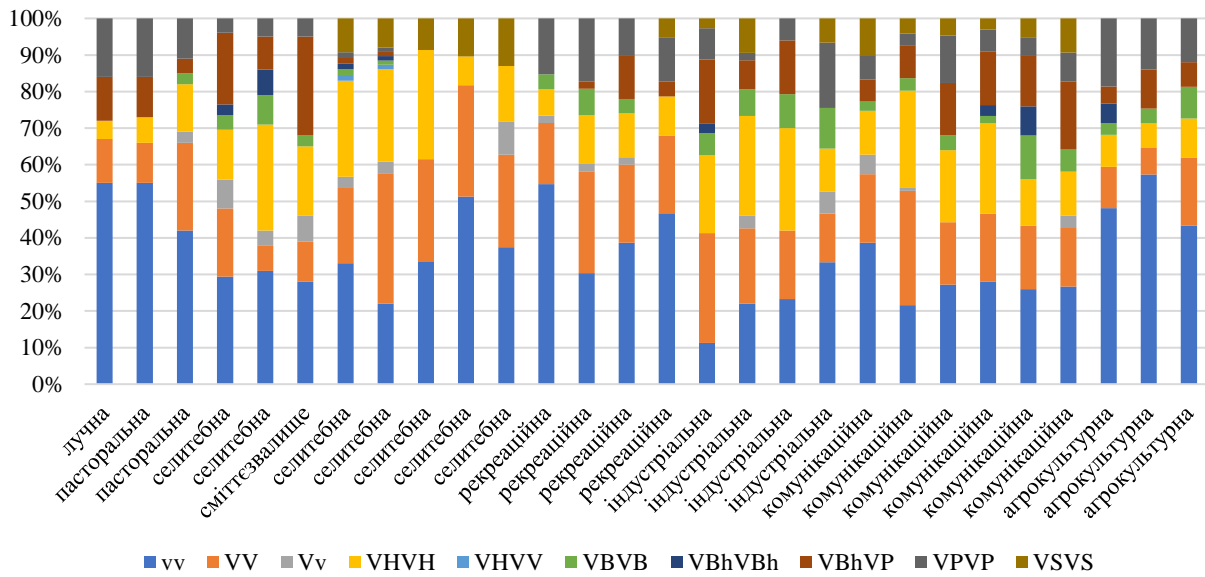


Рис. 2. Відсоток трапляння фенотипів *T. Repens* у різних ландшафтно-функціональних екотопах

Таблиця 1

**Фенотипове різноманіття *T. repens*: показник внутрішньопопуляційного різноманіття ( $\mu$ ), частка рідкісних фенотипів ( $h$ )**

Ландшафтно-функціональні екотопи	$\mu$	$h$	Рідкісні фенотипи							Кількість фенотипів	
			VHVH	VHvV	VBVB	VBhVBh	VBhVP	VPVP	VSVS		
лучний	0,5317	0,17	VHVH	VBhVP						5	
пасторальні	0,5272	0,18	VHVH	VBhVP						5	
	0,7336	0,07		VHV	VBhVBh					7	
селитебні	0,8114	0,0686			VBhVBh	VBVB				8	
	0,7914	0,29		VBhVP	VBhVBh	VBVB	VPVP			8	
	0,7696	0,0781		VBhVP	VHV	VBhVBh	VBVB	VPVP		10	
	0,7362	0,0667		VBhVP	VHV	VBhVBh	VBVB	VPVP		10	
	0,6778	0,0667		VBhVP	VHV	VBhVBh	VBVB	VPVP		10	
	0,7127	0									
	0,6271	0									
0,7477	0										
смітгезвалище	0,7922	0,03				VBVB	VPVP			7	
рекреаційні	0,6415	0,06				VBVB		Vv		6	
	0,7642	0,06				VBVB		Vv		7	
	0,7777	0,0398		VBhVP		VBhVBh	VBVB		Vv	7	
	0,7062	0						Vv		6	
індустріальні	0,809	0,087			VHV		VBVB		Vv	VSVS	8
	0,8125	0,207		VBhVP			VBVB	VPVP	Vv		8
	0,7989	0						Vv	VSVS		6
	0,8052	0,1256									7
комунікаційні	0,7793	0,026				VBVB					8
	0,7683	0,119				VBVB	VPVP	Vv	VSVS		8
	0,8343	0,267				VBVB	VPVP	Vv	VSVS		8
	0,818	0,088				VBVB			VSVS		7
	0,7986	0,05				VBVB			VSVS		8
	0,842	0,1				VBVB			VSVS		8
агрокультурні	0,7073	0,132		VBhVP		VBhVBh	VBVB				7
	0,6292	0,04					VBVB				6
	0,7400	0,154		VBhVP			VBVB				6

Порівняльний аналіз пасторальних популяцій показав достатню усталеність цих популяцій. *T. repens* серед рясної лучної

рослинності росте суцільним килимом і піддається частому витоптуванню. Тенденція розподілу частоти трапляння генотипів

зберігається. В інших популяціях *T. repens* росте скупченнями, відмічається збільшення генетичної різноманітності, якщо в лучних екосистемах виявлено 5, у пасовищних – 7 генотипів, то в селитебних (молоді популяції) – 10. Таке збільшення досягається за рахунок генотипів, що трапляються рідко: рослини з генотипом  $V^H V$  трапляються з частотою  $\approx 1\%$ , генотипи  $V^{Bh} V^{Bh}$ ,  $V^{PVP}$  та  $V^{BV^B}$  – з частотою – 2-2,5 %.

Відмічено, що ділянка з мінімальним антропогенним навантаженням (лучна екосистема) проявляє найменшу різноманітність фенотипів. Тут виявлено лише п'ять фенотипів, переважає  $O$  (без плями,  $vv$ ) з частотою трапляння 55 % (рис. 1-3). На другому місці з частотою трапляння 16 % фенотип  $C$  (з плямою в центрі,  $V^{PVP}$ ). Це найбільш поширені алелі, присутні в популяціях, пов'язаних спільним походженням, з яких алель  $v$  зустрічається по всьому ареалу. Варто відзначити, що в цій екосистемі не виявлено фенотипів  $A$  (повна пляма,  $VV$ ),  $B$  (пляма з розривом,  $V^{BV^B}$ ) та  $B^H$  (висока пляма з розривом,  $V^{Bh} V^{Bh}$ ). У пасторальних екосистемах також переважає фенотип  $O$  з частотою трапляння 42 %,  $A$  – 24 % та  $A^H$  (повна висока пляма,  $V^H V^H$ ) – 13 %. Селитебні зони відрізняються найбільшою різноманітністю фенотипів (9-10). Частота

трапляння фенотипу  $O$  коливається від 18,6 до 39,3 %,  $A$  – від 7 до 30 %,  $A^H$  – від 6 до 29 %. У рекреаційних зонах частота фенотипу  $O$  становить 30,6-54,7 %,  $A$  – 16,7-28 % та  $C$  – 10-17,4 %. Проте спостерігається зменшення різноманітності фенотипів (7), фенотипи  $A$  та  $B^H$  в цих зонах відсутні. У комунікаційних зонах виявлено 8 фенотипів, із переважанням фенотипів  $O$  (20,7-38,7 %),  $A$  (16-30 %),  $A^H$  (12-25,3 %) та  $B^H C$  (6 – 18,6 %). Фенотип  $B^H$  також зустрічається в цих зонах. Схожа ситуація і в індустріальних зонах, де виявлено 6-8 фенотипів, але переважають фенотипи  $A$  (12-30 %),  $A^H$  (10,7-28 %) та  $B^H C$  (8-17,4 %), а частота фенотипу  $O$  найнижча (11,3-30 %). Фенотип  $B^H$  зустрічається лише в Чернівцях. У агрокультурних зонах фенотип  $O$  має найвищу частоту – 43,3-57,3 %, фенотипи  $C$  (12-18,6 %) та  $A$  (7,3-18,6 %). Відсутні фенотипи  $A$  (генотип  $Vv$ ),  $A^H A$  та  $E$ . Практично для всіх популяцій відмічене переважання фенотипу  $O$  ( $vv$ ), за винятком індустріальної зони – тут переважає  $A^H$  ( $V^H V^H$ ). Рідше зустрічаються  $A$  ( $VV$ ) – у селитебних, комунікаційних та рекреаційних зонах та  $C$  ( $V^{PVP}$ ) – у агрокультурних, лучній та пасторальних зонах (рис. 3). Лише в житлових зонах виявлено фенотип  $E$  ( $V^S V^S$ ) не притаманні природним популяціям.

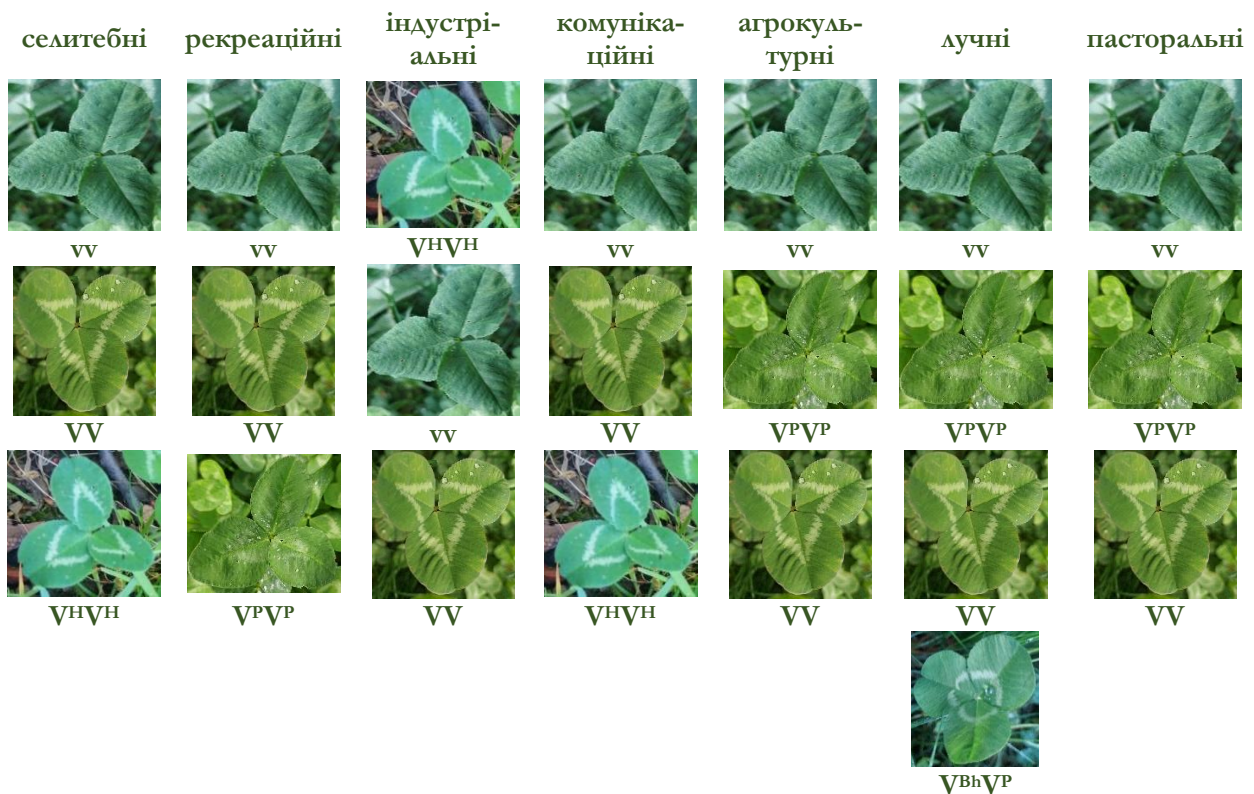


Рис. 3. Переважаючі фенотипи (перші три позиції)

Для оцінки стану компонентів довкілля використовували розрахунок індексу співвідношення фенотипів. Показано, що лише дві з досліджених ділянок мали низький рівень забруднення та характеризувалися як слабкозабруднені, що відноситься до популяцій луки та дендропарку. Найвищий рівень антропогенного навантаження – у індустріальних та комунікаційних зонах. Відомо, що ступінь гетерогенності пов'яза-

ний з віком популяції. Усталені популяції (лучні, пасторальні) більш однорідні та стабільні, характеризуються більш-менш однорідним складом, рідкісні генотипи V<sup>H</sup>V<sup>H</sup> та V<sup>B</sup>V<sup>B</sup> трапляються переважно по периферії популяції. Молоді популяції – більш гетерогенні, однак крім віку має значення також антропогенне навантаження (рис. 4).

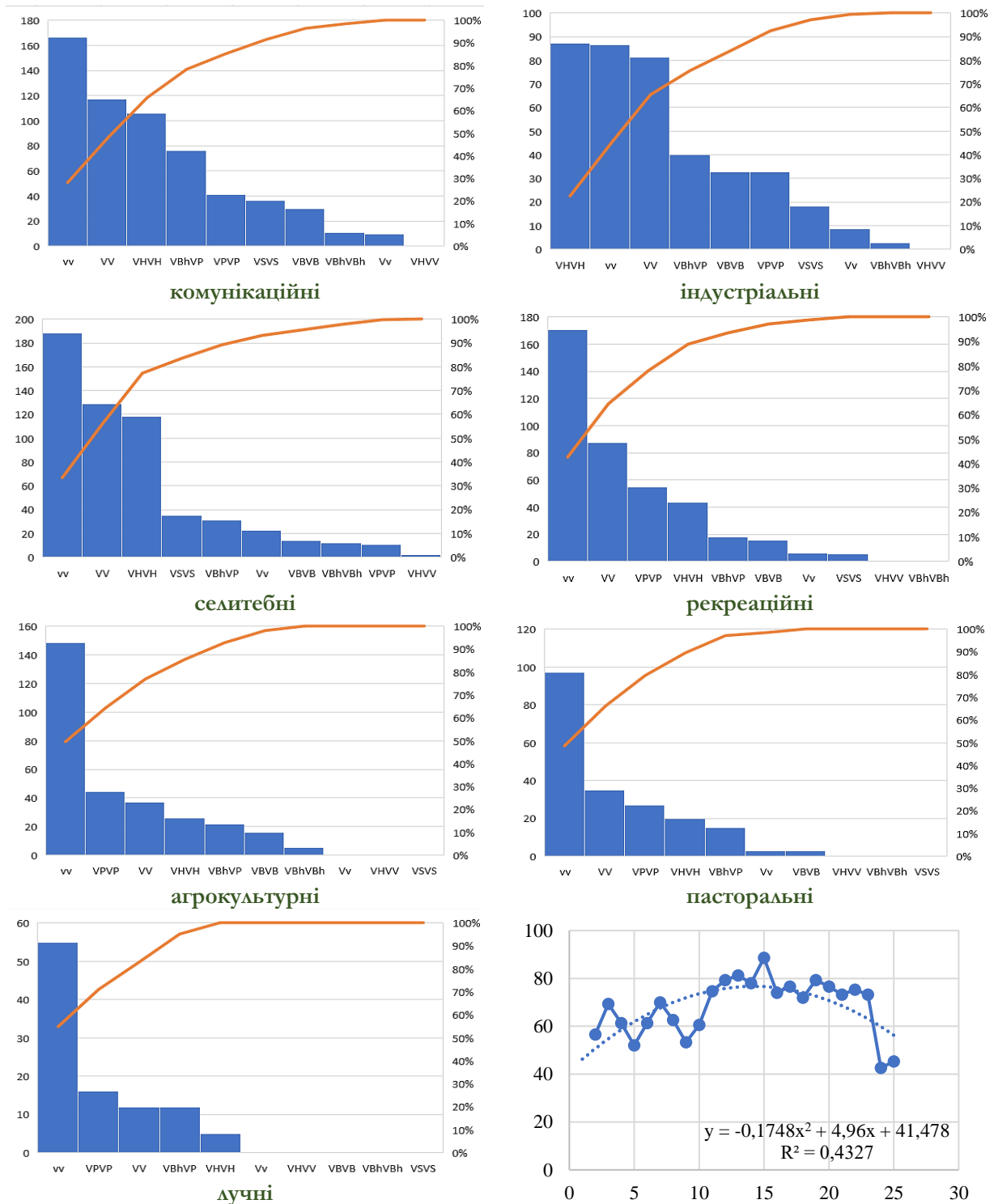


Рис. 4. Генотипи елементарних популяцій *T. repens* у різних ландшафтно-функціональних екоотопах та рівень забруднення довкілля, розрахований за індексом співвідношення фенотипів у популяціях

У багатовидових угрупованнях конюшина може пригнічуватися іншими видами, що призводить до виникнення своєрідної рівноваги: абіотичні умови кращі, але ценотичний стрес більш виражений. У забруднених районах конкуренція практично відсутня. Це призводить до того, що немає потреби змінювати вектор відбору. У екологічно напружених районах за впливу антропогенних чинників природний добір і мутаційний процес призводять до розширення наборів фенотипів, збільшення частоти їх виникнення та появи специфічних. Механізм збереження поліморфізму може обумовлюватися адаптивними ефектами надмірного домінування, коли в популяції зберігаються різні алелі завдяки балансуєчому добору, що надає перевагу гетерозиготним особинам. Згідно з теорією нейтралітету, більшість поліморфних молекулярних варіантів спочатку піддаються впливу мутацій, а потім генетичного дрейфу, що призводить до фіксації цих варіантів. В природних популяціях *T. repens* спостерігається мотивуючий відбір, спрямований на збільшення частоти трапляння певних генотипів. Це може бути зумовлене відхиленням від норми екологічних чинників, таких як режим освітлення, відкритість простору, вологість та температура повітря (IPCC, 2014). Тому *T. repens* можна використовувати як фенотиповий біоіндикатор для оцінки стану компонентів довкілля та рівня антропогенного впливу. (Nicotra et al., 2010). Фенотипова пластичність дозволяє забезпечити генетичну гнучкість популяцій та адаптацію у змінних умовах середовища (Nicotra et al., 2010; 2015; Cooper et al., 2019; Kelly et al., 2019; Kooke et al., 2015).

Фенотипове різноманіття походить від генетичної та епігенетичної варіації. Генетична варіація виникає внаслідок алельних різноманітностей у послідовності ДНК (Medrano et al., 2014), тоді як епігенетична варіація – це фенотипові зміни, не пов'язані зі зміною послідовності ДНК (Richards, 2006; Medrano et al., 2014). Метилювання ДНК цитозину, як один із найбільш вивчених епігенетичних механізмів, може модулюватися за впливу стресових умов (Verhoeven et al., 2010; 2016) і впливати на екологічно важливі фенотипові ознаки (Cubas et al., 1999; Marfil et al., 2009; 2012; Zhan et al., 2013; Cortijo et al., 2014). Епігенетичне різно-

маніття в природних популяціях може впливати на різноманітність умов середовища (Lira-Madeiros et al. 2010; Herrera and Bazaga 2011; Dubin et al. 2015; Richards et al. 2017), а фенотипова варіація, спричинена епігенетичними змінами, може служити швидким механізмом адаптації до змін у середовищі (Gao et al. 2010; Nicotra et al. 2015). У вищих рослин поки мало досліджень епігенетичних змін та фенотипічної пластичності, спричинених середовищем, особливо в природних умовах.

В літературі наявні дані щодо позитивного кореляційного зв'язку між генотипами vv, VV, V<sup>HV<sup>H</sup></sup> та вмістом Zn у ґрунтах, генотипами VV, Vv, V<sup>HV<sup>H</sup></sup> та вмістом Fe, генотипами V<sup>HV<sup>H</sup></sup>, V<sup>BhV<sup>P</sup></sup> та вмістом Cu (Antosiewicz, 2000). Однак, автор наголошує, що для валідації кореляції необхідно збільшити вибірку.

*Індивідуальна мінливість T. repens.* Різноманітність підходів до вивчення внутрішньовидової мінливості трав'янистих рослин стимулює особливий інтерес до аналізу морфометричних ознак, що є ключовим адаптаційним механізмом рослинних організмів. Під час досліджень фенотипічної мінливості рослин в межах ареалу дослідники виявили, що крайові популяції часто відрізняються від центральних (Ibañez et al., 2021) Вони мають підвищений поліморфізм, зменшення розмірів та кількісних характеристик, а також зміни в зв'язках між ними та розмаху мінливості органів у вегетативній та генеративній сферах.

У *селитебних* екотопах середня довжина квітконосів становить 11,84 см (рис. 5), коливаючись від 10,46 до 13,20 см, у *рекреаційних* – спостерігається трохи більша довжина квітконоса, із середнім значенням 14,34 см (з варіативним діапазоном від 11,48 до 15,94 см). В *індустріальних* – середнє значення складає 12,57 см, і варіює від 10,84 см (біля хімічного заводу) до 15,61 см (меблевий комбінат). В *комунікаційних* екотопах середнє значення становить 11,25 см (мінімум 9,15 см, максимум 13,87 см). Найвищий середній показник для висоти квітконоса зафіксовано в агрокультурних екотопах (15,18 см), при коливанні від 13,08 см до 16,41 см. Варто відзначити, що максимальне значення цього показника (17,2 см) виявлено у рослин, що ростуть у



девастрованих зонах, зокрема поблизу сміттєзвалищ.

Довжина черешка листка коливалася від 7,71 см (індустріальна зона) до 12,25 см (агрокультурна), у селитебних – 9,1 см (при діапазоні 6,24-10,26 см), у рекреаційних зонах відзначається трохи більша довжина черешка – середнє значення 11,0 см (із варіацією – від 9,28 до 13,75 см). В індустріальних екоотопах середнє значення складає 7,71 см (найменше серед зафіксованих значень), з варіацією від 6,14 см (біля

хімічного заводу), до 9,02 см (меблевий комбінат). У комунікаційних зонах середнє значення досліджуваного показника становить 9,04 см (мінімум 7,88 см, максимум 10,12 см). Найбільше середнє значення довжини черешка листка відмічене у рослин, що зростаються в агрокультурних зонах і становить 12,25 см, з варіацією від 10,52 см до 14,02 см. Максимальне значення цього показника (13,24 см) зафіксовано у рослин, що ростуть у девастрованих зонах.

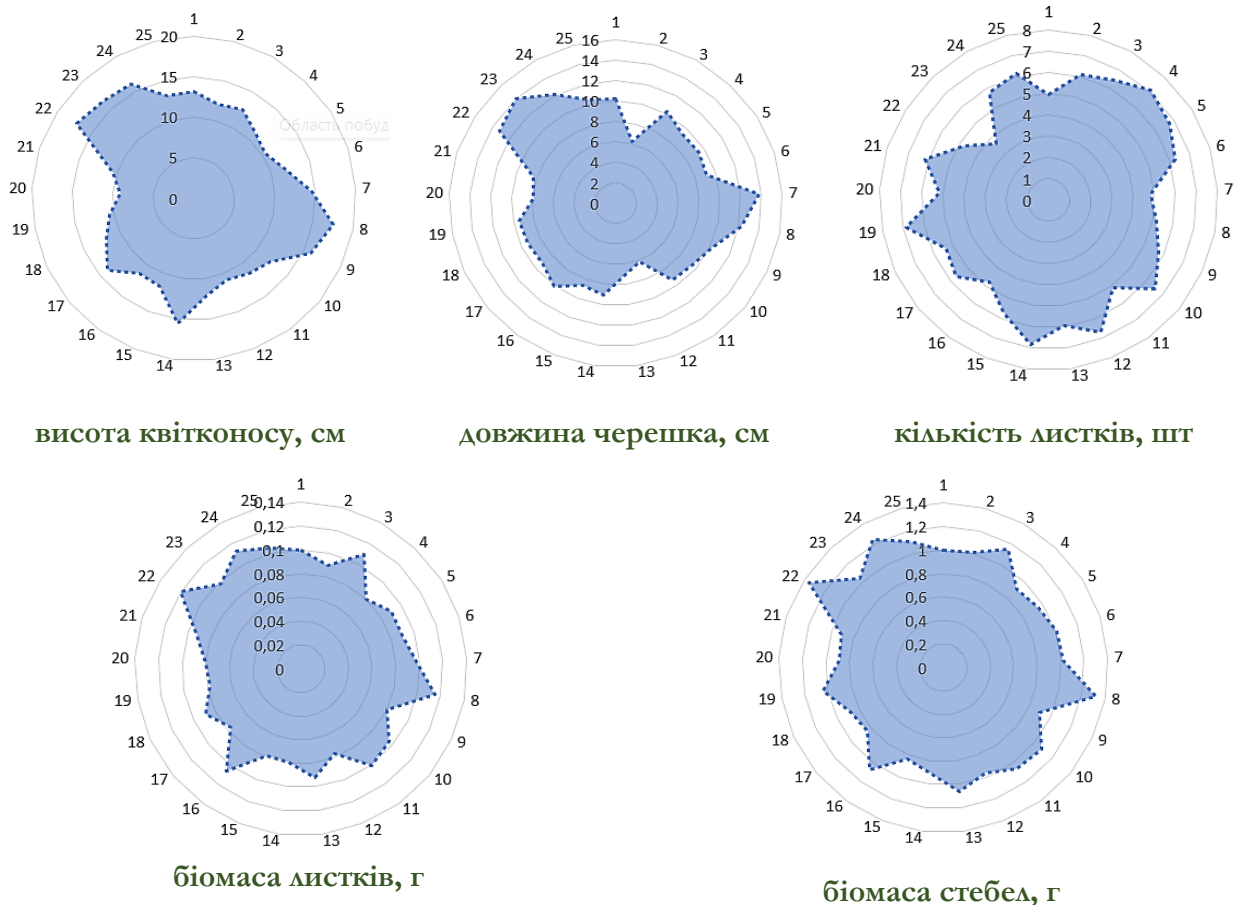


Рис. 5. Дендрограми індивідуальної мінливості *T. repens* з урахуванням ландшафтно-функціонального зонування

Ознаки *T. repens* в межах норми для виду, але порівняно з даними з різних частин оселища, отримані значення суттєво знижені до найнижчого рівня мінливості. Крім морфометричних параметрів, також аналізувалася кількість листків на одній рослині. Середнє значення серединної формації на одній рослині становило 5-6 штук.

Мінімальна середня біомаса листка (0,08 г) та стебла (0,884 г) спостерігалася в комунікаційних зонах.

З метою узагальнення придатності даного виду для біоіндикації проведений аналіз вегетативних та генеративних структур *T. repens* на ділянках з різними видами антропогенного навантаження. Аналіз

вегетативних та генеративних структур в різних зонах антропогенного впливу вказує на зміни в параметрах витривалості рослин. В зонах з автотранспортним навантаженням та в зонах інтенсивного вищипування спостерігається зниження середньої маси листків та пагонів, площі листової пластинки, а також довжини черешка листка і квітконоса. Скошування на розділових смугах автодоріг призводить до зниження біомаси та площі листка, а також довжини черешка листка і квітконоса. Ці зміни, ймовірно, пов'язані не з забрудненням ґрунту та атмосфери, а з частішим скошуванням.

Кількість листків на пагонах в зонах вищипування та автотранспортного навантаження не суттєво відрізняється одна від одної, але значно більша, ніж на контрольній території. Це пов'язано з укороченням міжвузлів та зближенням бічних структур пагонів за умов погіршення середовища існування. Аналогічна залежність спостерігається щодо кількості квітконосів на пагонах. Кількість бічних пагонів суттєво більша на ділянках з автотранспортним навантаженням, а в інших зонах значних відмінностей не спостерігається. Порушення в стабільності розвитку, оцінені змінами в індексі флуктуючої асиметрії, виявлені в популяціях *T. repens*, які піддаються інтенсивному вищипуванню, де індекс значно вищий, ніж на контрольній території. Таким чином, збільшення індексу флуктуючої асиметрії, ймовірно, можна вважати специфічним індикатором вищипування.

За впливу антропогенних чинників у популяціях збільшується частота появи специфічних фенотипів у різних видів рослин та тварин. Зокрема, форма «сивого» малюнка на листках *T. repens* та частота його трапляння може використовуватися як індикатор забруднення середовища. Ймовірно, дана ознака чутлива до забруднення, пов'язаного з вихлопними газами автомобільного

транспорту. Однак не варто виключати можливий внесок у високий рівень цього показника чинника інтенсивного механічного пошкодження – подвійного скошування на цих територіях, на відміну від одноразового на контрольній території.

### Висновки

Механізм збереження поліморфізму в урбосередовищі обумовлений адаптивними ефектами наддомінування, коли в популяції зберігаються різні алелі за рахунок балансуєчого добору, що дає перевагу гетерозиготним особинам. У природних умовах популяції *T. repens* проявляють більшу морфогенетичну однорідність, виявлено переважання фенотипів O, A та C. У природних популяціях реалізується русійський відбір, спрямований на збільшення частоти трапляння окремих генотипів. Територіям із високим антропогенним навантаженням властива така різноманітність фенотипів: O, A, A<sup>H</sup> та B<sup>H</sup>C. У селитебних зонах переважає фенотип B<sup>H</sup>, а в індустріальних – B<sup>H</sup>C, що може слугувати індикаційною ознакою.

Найбільшою висотою квітконоса та довжиною черешка характеризуються *T. repens*, що зростають в агрокультурних та девастованих зонах, найбільша кількість листків спостерігається в індустріальній та селитебній зонах; агрокультурна, девастована та рекреаційна зони характеризуються найбільшою біомасою стебел та листків; лучна екосистема – найбільшими значеннями висоти квітконоса, черешка біомаси стебел та листків, проте найменшою кількістю листків. Зменшення діаметра, маси суцвіття і кількості квіток в суцвітті є неспецифічною реакцією на антропогенне навантаження. Максимальне відхилення стійкості розвитку конюшини спостерігається в зоні вищипування.

**Заява інституційної ревізійної ради / Institutional Review Board Statement**

Не застосовується / Not applicable.

**Заява про інформовану згоду / Informed Consent Statement**

Не застосовується / Not applicable.

## References

- Antosiewicz, D. M. (2000). Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals. *Biol. Plant.*, 6(2), 599-601. <https://doi.org/10.5586/asbp.1992.026>
- Caradus, J. R., Hay, M. J., Mackay, A. D., et al. (1993). Variation within white clover (*Trifolium repens* L.) for phenotypic plasticity of morphological and yield related characters, induced by phosphorus supply. *New Phytologist*, 123(1), 175-184. <https://www.jstor.org/stable/2557783>
- Cooper, H. F., Grady, K. C., Cowan, J. A. et al. (2019). Genotypic variation in phenological plasticity: Reciprocal common gardens reveal adaptive responses to warmer springs but not to fall frost. *Glob. Change Biol.*, 25(1), 187-200. <https://doi.org/10.1111/gcb.14494>
- Cortijo, S., Wardenaar, R., Colomé-Tatché, M., et al. (2014). Mapping the epigenetic basis of complex traits. *Science*, 343(6175), 1145-8. <https://doi.org/10.1126/science.1248127>
- Cubas, P., Vincent, C., & Coen, E. (1999). An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature*, 401(6749), 157-61. <https://doi.org/10.1038/43657>
- David, L., Matt, G., & Sanderson, A. (2001). Molecular Analysis of White Clover Population Structure in Grazed Swards during Two Growing Seasons. *Crop Science*, 41(4), 1143-1149. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4141143x>
- Dubin, M. J., Zhang, P., Meng, D. et al. (2015). DNA methylation in *Arabidopsis* has a genetic basis and shows evidence of local adaptation. *Elife*, 4:e05255. <https://doi.org/10.7554/eLife.05255>
- Gao, L., Geng, Y., Li, B., Chen, J., & Yang, J. (2010). Genome-wide DNA methylation alterations of *Alternanthera philoxeroides* in natural and manipulated habitats: Implications for epigenetic regulation of rapid responses to environmental fluctuation and phenotypic variation. *Plant Cell Environ.*, 33(11), 1820-1827. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02186>
- Han, S. S., Sun, H. J., Eun, C. H. et al. (2022). Morphological classification and molecular marker development of white clover (*Trifolium repens* L.) parents and hybrids. *Plant Biotechnol. Rep.*, 16, 721-728. <https://doi.org/10.1007/s11816-022-00803-8>
- Helgadottir, A., Dalmanndottir, S., & Collins, R. P. (2001). Adaptational Changes in White Clover Populations Selected Under Marginal Conditions. *Annals of Botany*, 88 (Special Issue), 771-780. [https://doi.org/10.1093/annbot/88.suppl\\_1.771](https://doi.org/10.1093/annbot/88.suppl_1.771)
- Herrera, C. M., & Bazaga, P. (2011). Untangling individual variation in natural populations: ecological, genetic and epigenetic correlates of long-term inequality in herbivory. *Mol. Ecol.*, 20(8), 1675-88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05026.x>
- Hirano, R. (2005). Ecogeographic and genetic survey of white clover (*Trifolium repens* L.) on St. Kilda. School of Biosciences University of Birmingham. Birmingham, UK 9. 26-78.
- Ibañez, V. N., Masuelli, R. W., & Marfil, C. F. (2021). Environmentally induced phenotypic plasticity and DNA methylation changes in a wild potato growing in two contrasting Andean experimental gardens. *Heredity*, 126, 50-62. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-00355-z>
- IPCC (2014). Climate Change 2014: Synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, In: Core Writing Team, R.K. Pachauri, L.A. Meyer (eds). IPCC, Geneva, Switzerland.
- Kelly, M., (2019). Adaptation to climate change through genetic accommodation and assimilation of plastic phenotypes. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 8, 374(1768), 20180176. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0176>

- Kooke, R. F., Wardenaar, R., Becker, F., et al. (2015). Epigenetic basis of morphological variation and phenotypic plasticity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 27(2), 337-48. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.133025>
- Kryzhanovska, M. M., Golub, N. Ya., Prokopiak, M. Z., & Goliney, G. M. (2021). Study of intrapopulation polymorphism of *Trifolium repens* L. Lanivtsi city under conditions of anthropogenic load of different intensity. *Factors of experimental evolution of organisms*, 29, 185-190. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v29.1429> (in Ukrainian)  
Крижановська М. М., Голуб Н. Я., Прокоп'як М. З., Голіней Г. М. Вивчення внутрішньопопуляційного поліморфізму *Trifolium repens* L. м. Ланівці в умовах антропогенного навантаження різної інтенсивності. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2021. Т. 29. С. 185-190. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v29.1429>
- Lira-Madeiros, C. F., Parisod, C., Fernandes, R. A. et al. (2010). Epigenetic variation in mangrove plants occurring in contrasting natural environment. *PLoS ONE*, 5(4), e10326 1-8. <https://doi.org/10.1371>
- Ma, S., Han, C., Zhou, J. et.al. (2020). Fingerprint identification of white clover cultivars based on SSR molecular markers *Molecular Biology Reports*, 47(11), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05893-7>
- Marfil, C. F., Asurmendi, S., & Masuelli, R.W. (2012). Changes in micro RNA expression in a wild tuber-bearing *Solanum* species induced by 5-Azacytidine treatment. *Plant Cell. Rep.*, 31(8), 1449-61. <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1260-x>
- Marfil, C. F., Camadro, E. L., & Masuelli, R. W. (2009). Phenotypic instability and epigenetic variability in a diploid potato of hybrid origin, *Solanum ruiz-lealii*. *BMC Plant Biol.*, 9(21), 1-16. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-21>
- Medrano, M., Herrera, C. M., & Bazaga, P. (2014). Epigenetic variation predicts regional and local intraspecific functional diversity in a perennial herb. *Mol. Ecol.*, 23(20),4926-38. <https://doi.org/10.1111/mec.12911>
- Morozova, T. V. (2020). Aspects of environmental monitoring. Kyiv (in Ukrainian)  
Морозова Т. В. Аспекти екологічного моніторингу. Київ, 2020. 380 с.
- Nicotra, A. B, Atkin, O. K, Bonser, S. P. et al. (2010). Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends plant Sci.*, 15(12), 684-92. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.008>
- Nicotra, A. B., Segal, D. L., Hoyle, G. L. et al. (2015). Adaptive plasticity and epigenetic variation in response to warming in an Alpine plant. *Ecol. Evolution.*, 5(3), 634-47. <https://doi.org/10.1002/ece3.1329>
- Richards, C. L., Alonso, C., Becker, C. et al. (2017). Ecological plant epigenetics: Evidence from model and non-model species, and the way forward. *Ecol. Lett.*, 20(12), 1576-1590. <https://doi.org/10.1111/ele.12858>
- Richards, E. J. (2006). Inherited epigenetic variation revisiting soft inheritance. *Nat. Rev. Genet.*, 7(5), 395-401. <https://doi.org/10.1038/nrg1834>
- Sokolova, G. G., & Borodulina, I. D. (2018). Polymorphism in populations of white clover *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(4), 375-378. <http://surl.li/svfay>

Tashiro, R. M., Han, Y., Monteros, M. J., Bouton, J. H., & Parrott, W. A. (2010). Leaf Trait Coloration in White Clover and Molecular Mapping of the Red Midrib and Leaflet Number Traits. *Grup. Science*, 50(4), 1260-1268. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.08.0457>

Verhoeven, K. J. F., Jansen, J. J., van Dijk, P. J., & Biere, A. (2010). Stress-induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions. *N. Phytologist*, 185(4), 1108-18. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03121.x>

Verhoeven, K. J. F., Von Holdt, B. M., & Sork, V. L. (2016). Epigenetics in ecology and evolution: what we know and what we need to know. *Mol. Ecol.*, 25(8), 1631-8. <https://doi.org/10.1111/mec.13617>

Welham, C., Turkington, R., & Sayre, C. (2002). Morphological plasticity of white clover Ancestors of white clover (*Trifolium repens* L.) in response to spatial and temporal resource heterogeneity. *Oecologia*, 130(2), 231-238. <https://doi.org/10.1007/s004420100791>

Zhang, Y. Y., Fischer, M., Colot, V., & Bossdorf, O. (2013). Epigenetic variation creates potential for evolution of plant phenotypic plasticity. *N. Phytologist*, 197(1), 314-322. <https://doi.org/10.1111/nph.12010>

**Received:** 24.04.2024. **Accepted:** 30.05.2024. **Published:** 18.09.2024.

**Ви можете цитувати цю статтю так:**

Морозова Т. Фенотипічна пластичність *Trifolium repens* L. як інформативна індикаторна ознака екофітомоніторингу. *Biota. Human. Technology*. 2024. №2. С. 57-69.

**Cite this article in APA style as:**

Morozova, T. (2024). Phenotypic plasticity *Trifolium repens* L. as an informative indicator sign of ecophytomonitoring. *Biota. Human. Technology*, 2, 57-69. (in Ukrainian)

**Information about the author:**

**Morozova T. [in Ukrainian: Морозова Т.]**, Ph.D. in Biol. Sci., Assoc. Prof., email: tetiana.morozova@ukr.net  
ORCID: 0000-0003-4836-1035 Scopus-Author ID: 57219053455  
Department of Ecology and Environmental Protection Technologies, National Transport University  
1 Mykhaylo Omelyanovycha-Pavlenko Street, Kyiv, 02000, Ukraine