

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Морфологические и филогенетические особенности крымской популяции *Juniperus deltoides* R.P. Adams

А.О. Лантушенко¹, О.О. Коренькова²✉, А.А. Сыровец¹, Я.В. Мегер¹, П.А. Кореньков³, О.М. Шевчук²

¹ Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

² Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук, Ялта, Республика Крым, Россия

³ Национальный исследовательский Московский государственный строительный университет, Москва, Россия

✉ o.o.korenkova@mail.ru

Аннотация. *Juniperus deltoides* – это реликтовый вид третичного периода. Является типичным представителем средиземноморской группы секции *Juniperus*. Включен в Красные книги Республики Крым и города Севастополя. До недавнего времени считалось, что на территории Крыма произрастает популяция *J. oxycedrus*. Сейчас *J. deltoides* описывают как криптический вид, морфологически сложно отличимый от *J. oxycedrus*. В результате возникла необходимость проведения ряда детальных исследований по определению морфологических и филогенетических особенностей криптической популяции Крыма с целью установления ее принадлежности к одному из видов криптической пары. Исследования проходили в два этапа: на первом этапе определяли морфологические особенности вегетативных и генеративных органов и их отличие от *J. oxycedrus*, на втором – выполняли генетические исследования. Длина хвои крымской популяции составляет 12.94 ± 0.19 мм, что соответствует восточноитальянской популяции *J. deltoides*. При этом ширина хвои равна 1.39 ± 0.02 мм, что свойственно португальской популяции *J. oxycedrus*. Размеры шишкочагод составляют: d_1 (условно высота) – 7.54 ± 0.14 мм, d_2 (условно ширина) – 9.11 ± 0.09 мм, что больше соответствует *J. deltoides*. Форма шишкочагод варьирует весьма сильно. Встречаются особи с шишкочагодами, кроющие чешуи которых визуально не отличимы, их верхушки полностью сростаются. Подобное явление характерно для западносредиземноморских популяций *J. oxycedrus*. Морфологический анализ вегетативных и генеративных органов *J. deltoides* показал, что при сочетании двух этих признаков достоверно различить особи *J. deltoides* и *J. oxycedrus* не представляется возможным. Для генетического анализа использовали ядерные (внутренний транскрибируемый спейсер ITS) и хлоропластные (petN-psbM, trnS-trnG) некодирующие участки генома. Исследования показали, что ядерные участки генов обладают большей вариабельностью, чем хлоропластные. Последовательности, полученные в данной работе, образовали кладу с образцами *J. deltoides* 9430 и 9431 (BAYLU), произрастающими в Турции, что позволяет отнести изученные образцы к виду *J. deltoides*.

Ключевые слова: *Juniperus deltoides*; популяция; хвоя; шишкочагоды; криптический вид; филогенетический анализ; ядерные гены; хлоропластные гены.

Для цитирования: Лантушенко А.О., Коренькова О.О., Сыровец А.А., Мегер Я.В., Кореньков П.А., Шевчук О.М. Морфологические и филогенетические особенности крымской популяции *Juniperus deltoides* R.P. Adams. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):306-315. DOI 10.18699/VJGB-23-37

Morphological and phylogenetic features of the Crimean population of *Juniperus deltoides* R.P. Adams

А.О. Lantushenko¹, О.О. Korenkova²✉, А.А. Syrovets¹, Ya.V. Meger¹, P.A. Korenkov³, O.M. Shevchuk²

¹ Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

² The Order of the Red Banner of Labour Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Yalta, Republic of the Crimea, Russia

³ Moscow State University of Civil Engineering (National Research University), Moscow, Russia

✉ o.o.korenkova@mail.ru

Abstract. *Juniperus deltoides* is a relict species from the Tertiary Period. It is a typical representative of the Mediterranean group of the section *Juniperus*. It is included in the Red Books of the Republic of Crimea and the city of Sevastopol. Until recently, it was believed that a population of *J. oxycedrus* grew in Crimea. Currently, *J. deltoides* is described as a cryptic species, morphologically difficult to distinguish from *J. oxycedrus*. As a result, it became necessary to conduct a series of detailed studies to determine the morphological and phylogenetic features of the Crimean cryptic population in order to identify it as being one of the species of the cryptic pair. The studies were carried out in two stages: at the first stage, the morphological features of the vegetative and generative organs and their difference from *J. oxycedrus* were determined; the second stage included genetic research. The length of the needles of the Crimean

population is 12.94 ± 0.19 mm, which corresponds to the Eastern Italian population of *J. deltoides*. At the same time, the width of the needles is 1.39 ± 0.02 mm, which is typical of the Portuguese population of *J. oxycedrus*. The dimensions of the cones are d_1 (conditional height) = 7.54 ± 0.14 mm, and d_2 (conditional width) = 9.11 ± 0.09 mm, which is more in line with *J. deltoides*. The shapes of the cones are very diverse. Some individuals have cones, the covering scales of which are visually indistinguishable, and their tops are completely fused. A similar phenomenon is characteristic of the Western Mediterranean populations of *J. oxycedrus*. Morphological analysis of the vegetative and generative organs of *J. deltoides* showed that when these two traits are combined, it is not possible to reliably distinguish between *J. deltoides* and *J. oxycedrus* individuals. Nuclear (ITS internal transcribed spacer) and chloroplast (petN-psbM, trnS-trnG) non-coding regions of the genome were used for genetic analysis. Studies have shown that the nuclear regions of genes have greater variability than chloroplast regions. The sequences obtained in this work formed a clade with *J. deltoides* samples 9430 and 9431 (BAYLU) growing in Turkey, which makes it possible to assign the samples studied to *J. deltoides*.

Key words: *Juniperus deltoides*; population; needles; cone berries; cryptic view; phylogenetic analysis; nuclear genes; chloroplast genes.

For citation: Lantushenko A.O., Korenkova O.O., Syrovets A.A., Meger Ya.V., Korenkov P.A., Shevchuk O.M. Morphological and phylogenetic features of the Crimean population of *Juniperus deltoides* R.P. Adams. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(4):306-315. DOI 10.18699/VJGB-23-37

Введение

Род *Juniperus* L. – самый крупный в семействе Кипарисовые (Cupressaceae Bartl.), отнесен к подсемейству Можжевельные (*Juniperoideae* Endl.) и включает в себя 76 видов (Писарев, 2007; Adams, 2014b).

Можжевельники отличаются значительным полиморфизмом, на основании чего в роду выделяют ряд подродов, секций и серий. Систематика рода строится по двум отличительным морфологическим признакам: по строению генеративных органов (шишкоягод) и строению вегетативных органов (хвои) (Колесников, 1974).

Впервые род был описан в 1700 г., с этого времени его систематика претерпела значительные изменения (Новиков и др., 2014). Сейчас род подразделяют на три секции, среди которых: секция *Caryocedrus* (с одним видом *J. drupacea* Labill.), секция *Juniperus* (синоним *Oxycedrus*), включающая в себя 14 видов, и секция *Sabina*, которая состоит из оставшегося 61 вида (Писарев, 2007; Абаимов, 2009; Adams, 2014b). При этом часто секцию *Caryocedrus* рассматривали как отдельный род, но проведенные Р.П. Адамсом ПЦР-исследования доказали общность ее происхождения с секцией *Juniperus* (Adams, 2014b).

В Крыму произрастают пять видов можжевельников: *J. communis* L., *J. deltoides* R.P. Adams, *J. excelsa* M.-Bieb., *J. foetidissima* Willd., *J. sabina* L., относящиеся к двум секциям – *Juniperus* и *Sabina*. Все они включены в Красные книги Республики Крым и города Севастополя (Ена, Фатерыга, 2015; Красная книга..., 2018).

Juniperus deltoides – это реликтовый вид третичного периода, типичный представитель средиземноморской группы секции *Juniperus*. Распространен в Средиземноморье и на Ближнем Востоке. В значительной степени его ареал ограничен средиземноморским климатом, но на Балканах *J. deltoides* встречается в более континентальных условиях. В Крыму проходит северная граница его ареала. Площадь криптической популяции Крыма, по данным 2006 г., составляет 4843 га (Adams, 2014b; Плугатарь, 2015; Farjon, 2017; Садыкова, Нешатаева, 2020; Rajčević et al., 2020; Yousefi et al., 2021).

До начала 2000-х гг. считалось, что на территории Крыма произрастает популяция *J. oxycedrus*. Этот вид был включен в Определитель высших растений Крыма

(Рубцов, 1972). Однако Р.П. Адамс на основе проведенного секвенирования ДНК установил, что в большей части Средиземноморья – от Италии на восток через Турцию до гор Кавказа и Ирана (в том числе в Крыму) – распространен можжевельник, отличный от *J. oxycedrus*, который он описал как новый вид – *J. deltoides*. При этом непосредственного анализа генетического материала с территории Крыма не делалось. Адамс пришел к подобному заключению исходя из географической локализации популяций. В своих работах он писал, что можжевельники, произрастающие западнее Италии, относятся к виду *J. oxycedrus*, а можжевельники, встречающиеся восточнее, – это *J. deltoides* (Adams et al., 2005; Adams, 2014a; Roma-Marzio et al., 2017).

В настоящее время *J. deltoides* описывают как криптический вид, морфологически сложно отличимый от *J. oxycedrus* (Adams et al., 2005; Adams, 2014a; Roma-Marzio et al., 2017). В результате возникла необходимость проведения детальных исследований по определению морфологических и филогенетических особенностей крымской популяции *J. deltoides* с целью установления ее принадлежности к одному из видов криптической пары.

Изучение крымской популяции можжевельника включает в себя две основные задачи: определение соответствия морфологических признаков вегетативных и генеративных органов криптической популяции Крыма виду *J. deltoides*; генетический анализ с использованием ядерных и хлоропластных участков маркерных последовательностей.

Материалы и методы

Для морфологических и филогенетических исследований в пределах популяции были заложены пробные площади по 0.2 га на высоте от 40 до 620 м над ур. моря в различных эдафо-орографических условиях от Инкермана до Судака (рис. 1).

Согласно общепринятым методикам, в пределах пробных площадей выделяли по 10 модельных деревьев (Ярмишко, Лянгузова, 2002). Для каждого модельного дерева выполняли замеры 30 шишкоягод в двух взаимно перпендикулярных плоскостях (условно ширина и высота). Кроме того, согласно ключу-определителю, разработан-

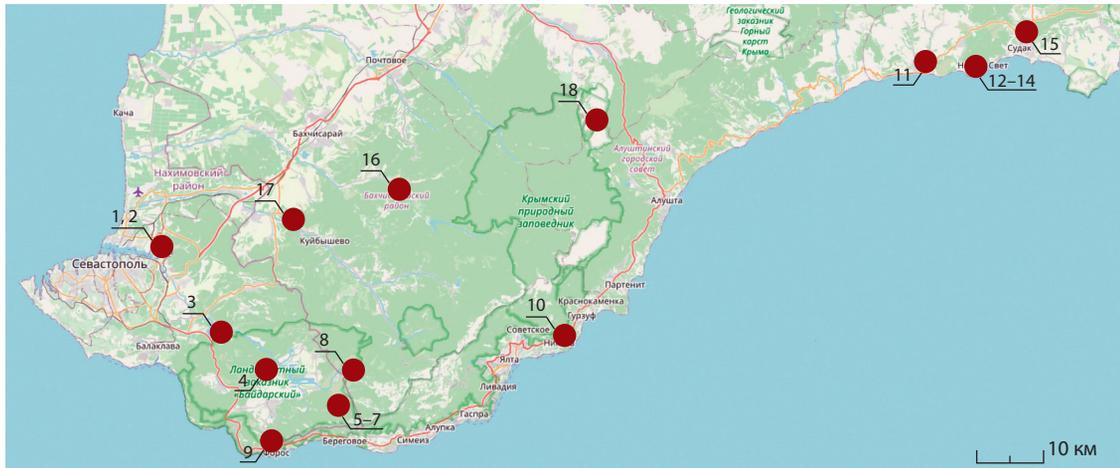


Рис. 1. Схема расположения пробных площадей в криптических популяциях Горного Крыма.

1, 2 – окрестности г. Инкерман; 3 – г. Чирка-Каясы; 4 – г. Самналых; 5–7 – г. Кара-Даг; 8 – г. Толака-Баир; 9 – г. Дракон; 10 – мыс Мартыан; 11 – г. Папая-Кая; 12, 13 – г. Коба-Кая; 14 – г. Сокол; 15 – г. Каршитерс; 16 – скалы Куллю-Кая; 17 – окрестности с. Кудрино; 18 – г. Чатыр-Даг.

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и протокол ПЦР, использованные в данной работе (Hojjati et al., 2018)

Название последовательности	Размер, п. о.	Последовательности праймеров	Протокол ПЦР
ITS	1100	F: GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG R: CTTTTCTCCGCTTATTGATATG	1. 94 °C – 4 мин 2. 34 цикла: 94 °C – 40 с
petN-psbM	764	F: AACGAAGCGAAAATCAATCA R: AAAGAGAGGGATTCTGATGGA	50 °C – 40 с 50 °C – 1.5 мин 3. 72 °C – 7 мин
trnS-trnG	700	F: GCCGTTTAGTCCACTCAGC R: GAACGAATCACACTTTACCAC	

ному Адамсом для *J. deltooides* (Adams, 2014a), визуально устанавливали степень срастания чешуй шишкоягод.

Чтобы найти параметры вегетативных органов, измеряли длину и ширину хвои и вычисляли ошибку среднего (по 30 хвоинок для каждого модельного дерева). Затем делали поперечный срез хвои с целью установления наличия или отсутствия искривленности адаксиальной поверхности хвоинки. Определяли форму основания хвои (Adams, 2014a, b).

Для генетических исследований были отобраны 18 образцов *J. deltooides* с разных географических локаций Крымского полуострова (см. рис. 1). ДНК из хвои выделяли с использованием набора DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия). Количество и качество полученной ДНК анализировали при помощи нанофотометра InPlex (Германия). Для ПЦР-анализа использовали ядерные (внутренний транскрибируемый спейсер ITS) и хлоропластные (petN-psbM, trnS-trnG) некодирующие участки генома. Амплификацию маркерных генов проводили с помощью ранее описанных универсальных праймеров и протоколов (табл. 1, Hojjati et al., 2018) и набора реактивов ScreenMix («Евроген», Россия).

Секвенирование полученных фрагментов осуществляли на секвенаторе НАНОФОР-05 («Синтол», Россия) в

ЦКП «Молекулярная структура вещества». Для двух образцов при секвенировании ядерного фрагмента ITS были получены не пригодные для анализа электрофореграммы, и в дальнейшем исследовались нуклеотидные последовательности 16 образцов крымской популяции, указанные в табл. 2. Полученные последовательности ITS, petN-psbM и trnS-trnG сравнивали с имеющимися в базе данных Национального центра биотехнологической информации (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Образцы для сравнения взяты из работы (Hojjati et al., 2018) (см. табл. 2). Выравнивание нуклеотидных последовательностей для каждого маркерного участка и их интеграцию в комбинированную матрицу осуществляли в программе MegaX (Kumar et al., 2018). Филогенетическая реконструкция выполнена с применением байесовского метода, реализованного в MrBayes версии 3.2.6 (Ronquist et al., 2012).

Разнообразие гаплотипов (HD), разнообразие нуклеотидов (π) и количество нуклеотидных замен (M) были рассчитаны для каждого вида с использованием DnaSP 6.0 (Rozas et al., 2017).

Взаимосвязи между гаплотипами последовательностей из трех маркерных генов были реконструированы методом TCS, реализованным в программе PopArt (Bandelt et al., 1999).

Таблица 2. Коды, географическое расположение и коды генбанка проанализированных образцов

Код образца / вид*	Местонахождение	Последовательности	Код Генбанка
CRMD1	г. Чирка-Каясы	ITS	OP303319
		petN-psbM	OP321223
		trnS-trnG	OP321239
CRMD4	г. Самналых	ITS	OP303320
		petN-psbM	OP321224
		trnS-trnG	OP321240
CRMD7	г. Кара-Даг	ITS	OP303321
		petN-psbM	OP321225
		trnS-trnG	OP321241
CRMD10		ITS	OP303322
		petN-psbM	OP321226
		trnS-trnG	OP321242
CRMD14		ITS	OP303323
		petN-psbM	OP321227
		trnS-trnG	OP321243
CRMD16	г. Толака-Баир	ITS	OP303324
		petN-psbM	OP321228
		trnS-trnG	OP321244
CRMD19	г. Папая-Кая	ITS	OP303325
		petN-psbM	OP321229
		trnS-trnG	OP321245
CRMD22	г. Сокол	ITS	OP303326
		petN-psbM	OP321230
		trnS-trnG	OP321246
CRMD25	г. Коба-Кая	ITS	OP303327
		petN-psbM	OP321231
		trnS-trnG	OP321247
CRMD27		ITS	OP303328
		petN-psbM	OP321232
		trnS-trnG	OP321248
CRMD28		ITS	OP303329
		petN-psbM	OP321233
		trnS-trnG	OP321249
CRMD29		ITS	OP303330
		petN-psbM	OP321234
		trnS-trnG	OP321250
CRMD33	г. Каршитерс	ITS	OP303331
		petN-psbM	OP321235
		trnS-trnG	OP321251
CRMD35	Окрестности г. Инкерман	ITS	OP303332
		petN-psbM	OP321236
		trnS-trnG	OP321252
CRMD38		ITS	OP303333
		petN-psbM	OP321237
		trnS-trnG	OP321253
CRMD40	г. Чатыр-Даг	ITS	OP303334
		petN-psbM	OP321238
		trnS-trnG	OP321254
BAYLU 13730* <i>J. communis</i>	Болгария	ITS	LC420860
		petN-psbM	LC420856
		trnS-trnG	LC420859
BAYLU 8765* <i>J. communis</i>	Армения	ITS	LC420870
		petN-psbM	LC420866
		trnS-trnG	LC420869

Окончание табл. 2

Код образца / вид*	Местонахождение	Последовательности	Код Генбанка
BAYLU 9431* <i>J. deltooides</i>	Турция	ITS	LC420895
		petN-psbM	LC420891
		trnS-trnG	LC420894
BAYLU 8795* <i>J. drupacea</i>	Греция	ITS	LC420930
		petN-psbM	LC420926
		trnS-trnG	LC420929
BAYLU 8796* <i>J. drupacea</i>		ITS	LC420935
		petN-psbM	LC420931
		trnS-trnG	LC420934
BAYLU 8785* <i>J. excelsa</i>		ITS	LC420800
		petN-psbM	LC420796
		trnS-trnG	LC420799
BAYLU 9433* <i>J. excelsa</i>	Турция	ITS	LC420850
		petN-psbM	LC420846
		trnS-trnG	LC420849
BAYLU 5645* <i>J. foetidissima</i>	Греция	ITS	LC420900
		petN-psbM	LC420896
		trnS-trnG	LC420899
BAYLU 9039* <i>J. oxycedrus</i>	Франция	ITS	LC420880
		petN-psbM	LC420876
		trnS-trnG	LC420879
BAYLU 9040* <i>J. oxycedrus</i>		ITS	LC420885
		petN-psbM	LC420881
		trnS-trnG	LC420884
TARI IRN30492* <i>J. oxycedrus</i>	Иран	ITS	LC420974
		petN-psbM	LC420970
		trnS-trnG	LC420973
BAYLU 14171* <i>J. polycarpus</i> var. <i>polycarpus</i>	Азербайджан	ITS	LC420790
		petN-psbM	LC420786
		trnS-trnG	LC420789
BAYLU 8757* <i>J. polycarpus</i> var. <i>turcomanica</i>	Туркменистан	ITS	LC420690
		petN-psbM	LC420686
		trnS-trnG	LC420689
BAYLU 14316* <i>J. sabina</i>	Азербайджан	ITS	LC420910
		petN-psbM	LC420906
		trnS-trnG	LC420909
BAYLU 9430* <i>J. deltooides</i>	Турция	ITS	LC420890
		petN-psbM	LC420886
		trnS-trnG	LC420889
BAYLU 14317* <i>J. sabina</i>	Азербайджан	ITS	LC420920
		petN-psbM	LC420916
		trnS-trnG	LC420919
TARI 17035* <i>J. foetidissima</i>	Азербайджан, Иран	ITS	LC420989
		petN-psbM	LC420985
		trnS-trnG	LC420988

* Отмечены образцы, взятые для сравнения из работы (Hojjati et al., 2018), для них указаны названия видов.

Результаты и обсуждение

В 2014 г. Р.П. Адамсом (Adams, 2014a) был разработан и опубликован ключ-определитель для *J. deltooides*, позволяющий отличить особи этого вида от *J. oxycedrus*. Согласно определителю, максимальная длина хвои *J. deltooides* меньше, чем у *J. oxycedrus*, и равна 13.0 мм (у *J. oxycedrus* – 15.0 мм). Длина хвои крымской популяции *J. del-*

tooides составляет 12.94 ± 0.19 мм, что соответствует размеру, заявленному Адамсом. При этом обнаружено значительное количество особей (в окрестностях г. Инкерман и с. Кудрино, на горах Кара-Даг, Коба-Кая, Дракон, на скалах Куллию-Кая и на мысе Мартыян), у которых длина хвои варьирует от 18 до 20 мм. Данные особи вызвали наибольший интерес для дальнейших исследований.

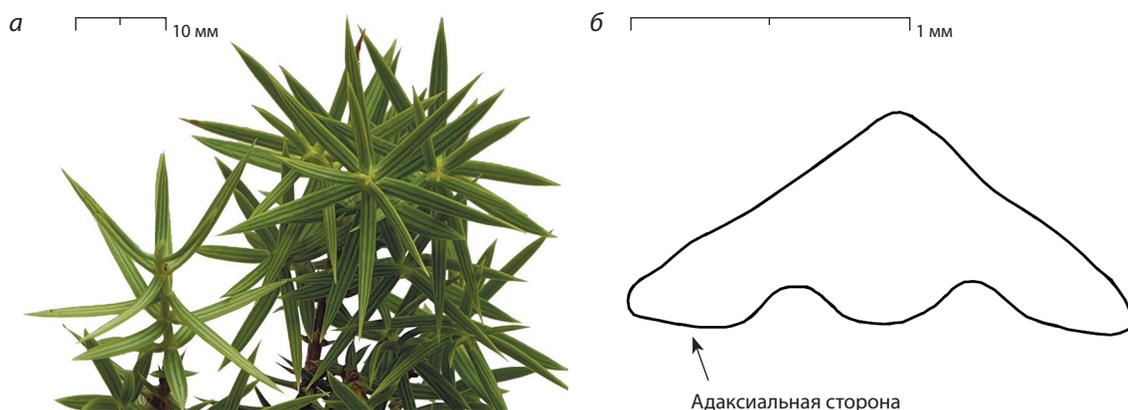


Рис. 2. Хвоя криптоической популяции Крыма (локализация – г. Толака-Баир).

а – общий вид; б – схематическое представление искривленности адаксиальной поверхности хвои.



Рис. 3. Морфологическая неоднородность шишкочегод криптоической популяции Крыма.

Ширина хвои тоже является определяющим признаком (Adams, 2014a). В условиях Крыма этот показатель составил 1.39 ± 0.02 мм, что соответствует западной группе можжевельников, а именно *J. oxycedrus*.

По окраске и форме основания хвои различий не имела. Вся хвоя светло-зеленая, с дельтовидным основанием, что свойственно для *J. deltoides* (рис. 2, а). Поперечный срез хвои показал, что значительная часть особей (34 %) характеризуется искривленной адаксиальной поверхностью хвои (см. рис. 2, б). Согласно (Adams, 2014a), это отличительная особенность *J. oxycedrus*. Длина хвои с таким типом устьичных полос составляет 11.87 ± 0.24 мм. Таким образом, морфологические особенности хвои крымской популяции *J. deltoides* проявляют одновременно признаки как *J. deltoides*, так и *J. oxycedrus*, т.е. на основании выявленных особенностей вегетативных органов отнести особи к одному из видов не представляется возможным.

Вторым отличительным морфологическим признаком можжевельников являются шишкочегоды. В случае с криптоической парой *J. deltoides*/*J. oxycedrus* основную роль в определении играет срастание чешуй, в меньшей степени – размер и окраска шишкочегоды, наличие или отсутствие налета на ней.

Шишкочегоды криптоической популяции Крыма имеют множество морфологических вариантов (рис. 3). При этом

окраска у всех практически одинаковая, а сизый налет проявляется в разной степени, вне зависимости от формы шишкочегод. Форма, в свою очередь, варьирует весьма сильно: от шаровидной до треугольной. Встречаются особи с шишкочегодами, кроющие чешуи которых визуальнo не различимы, а их верхушки полностью срастаются. Подобное явление характерно для *J. oxycedrus*. Хвоя данных особей определяется как хвоя *J. deltoides*. Другой тип шишкочегод – практически треугольные из-за четко прослеживающихся трех кроющих чешуй (свойственны *J. deltoides*). Хвоя этих особей проявляет признаки обоих видов. Чаще всего встречаются промежуточные варианты, у которых основания чешуй срастаются, а верхушки в различной степени отходят друг от друга.

Размеры шишкочегод оказались самым стабильным признаком и на всех пробных площадях отличались в пределах ошибки. Средние размеры шишкочегод: d_1 (условно высота) равна 7.54 ± 0.14 мм, d_2 (условно ширина) – 9.11 ± 0.09 мм, что больше соответствует турецкой популяции *J. deltoides*.

Таким образом, морфологический анализ вегетативных и генеративных органов *J. deltoides* показал, что при сочетании двух этих признаков достоверно различить особи *J. deltoides* и особи *J. oxycedrus* невозможно. *J. oxycedrus* является базисным видом, а *J. deltoides* – криптоическим.

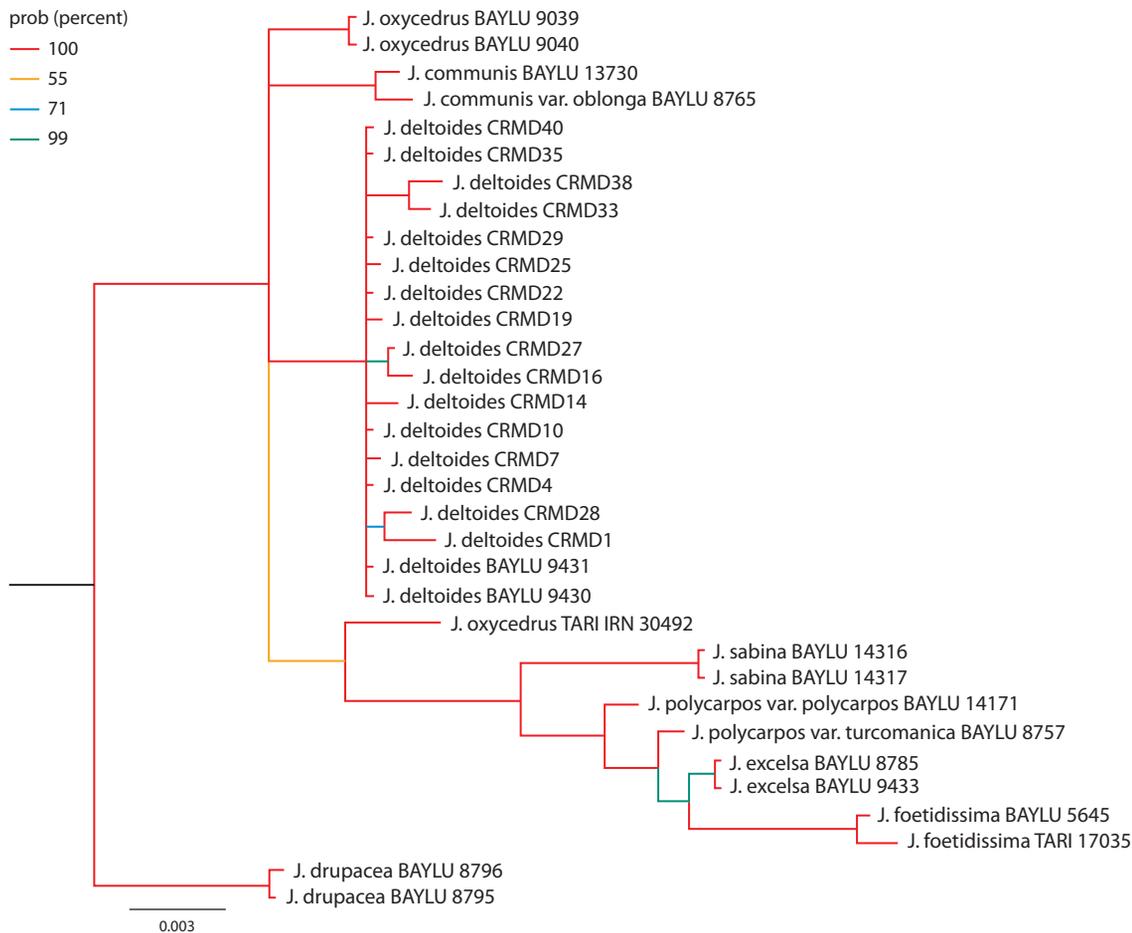


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное по методу Байеса, на основе комбинированной последовательности, включающей ядерные (ITS) и хлоропластные (petN-psbM, trnS-trnG) некодирующие участки генома. Значения поддержки узлов показаны цветом.

В результате особенно остро стоит вопрос проведения филогенетических исследований, чтобы установить систематическую принадлежность крымской популяции к одному из видов.

Для филогенетического анализа применяли нуклеотидные последовательности трех маркерных участков (ITS, petN-psbM и trnS-trnG) 16 крымских образцов и 17 образцов из работы (Hojjati et al., 2018) (см. табл. 2).

Филогенетические деревья, построенные по отдельным маркерным последовательностям, представлены в Приложениях 1–3¹. Использование маркерных последовательностей ITS и petN-psbM позволило получить топологии, где каждый вид формирует отдельную кладу и их филогенетическое определение является однозначным. Топология, полученная по анализу последовательностей trnS-trnG, не позволяет разделить виды *J. communis* и *J. deltooides*.

Также было построено филогенетическое дерево с учетом всех исследованных в данной работе нуклеотидных фрагментов (рис. 4). Образцы каждого вида сформировали клады с высокой (более 75%) поддержкой. Исключение составляет *J. oxycedrus* TARI IRN 30492, для которого филогенетическое определение неоднозначно: по после-

довательностям trnS-trnG и petN-psbM он попал в одну кладу с представителями вида *J. deltooides*, а по фрагменту ITS и анализу объединенных последовательностей – с видами секции *Sabina*. Весь изученный в нашей работе генетический материал из Крыма образовал кладу с последовательностями вида *J. deltooides* 9430 и 9431 (BAYLU), произрастающими в Турции. В этой кладе три пары образцов (CRMD1 и CRMD28, CRMD16 и CRMD27, CRMD33 и CRMD38) формируют отдельные ветви с высокой поддержкой, но между ними отсутствует корреляция по фенотипам и по географическому расположению.

Гаплотипическая сеть, построенная по ядерным и хлоропластным участкам генома для образцов, перечисленных в табл. 2, представлена на рис. 5. Видно, что для крымской популяции *J. deltooides* характерно большое количество гаплотипов – 11.

В исследованных ранее популяциях можжевельников других видов (*J. excelsa*, *J. polycarpos* и *J. foetidissima*) на северной границе ареала распространения – в Крыму, на Кавказе и Дагестане (Sadykova et al., 2021) – обнаружено гораздо меньшее гаплотипическое разнообразие: последовательности 17 образцов *J. excelsa* образуют два гаплотипа, 16 образцов *J. foetidissima* – четыре гаплотипа, 15 образцов *J. polycarpos* – один гаплотип.

¹ Приложения 1–3 см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx13.pdf>

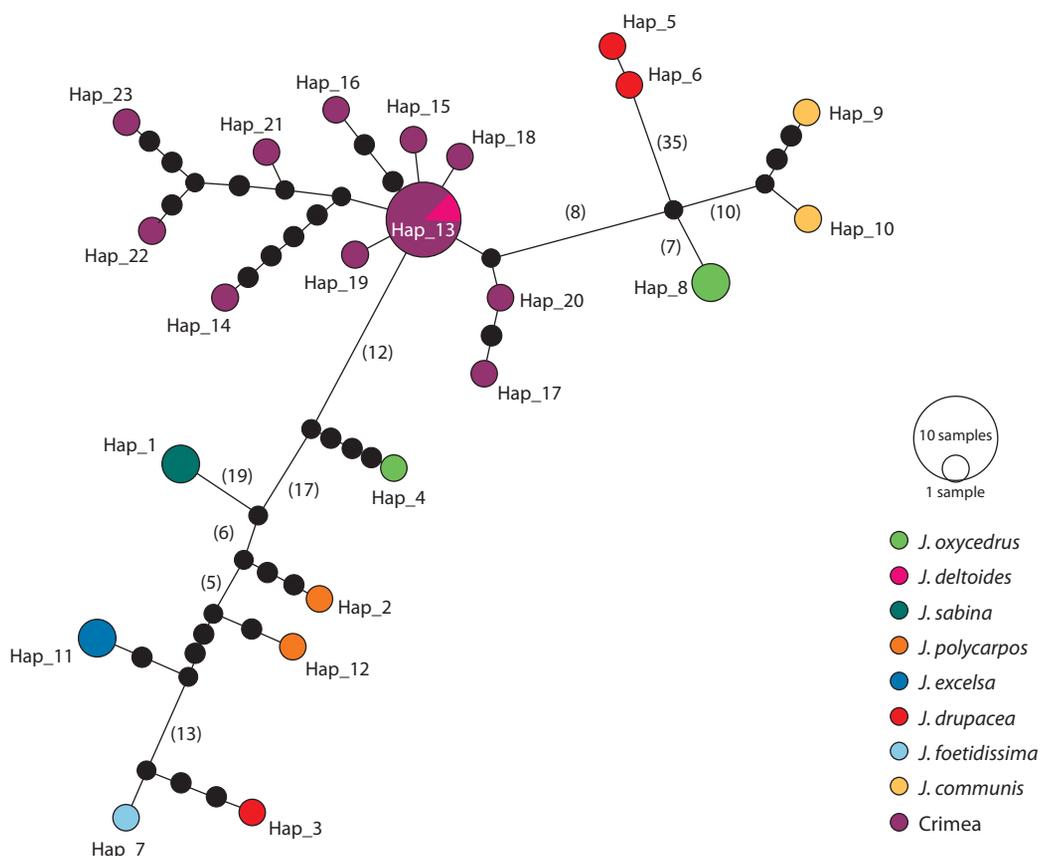


Рис. 5. Гаплотипическая сеть, построенная методом TCS.

Цветом показана принадлежность к виду, размер окружности отражает количество образцов в гаплотипе, малые расстояния представлены в виде точек (1 точка – 1 замена), большие – числом замен в скобках.

Таблица 3. Характеристики нуклеотидных последовательностей, рассмотренных в данной работе

Показатель	Длина	H	H _p	π	M
ITS	1295	10	0.867	0.00419	14
petN-psbM	896	4	0.442	0.00140	7
trnS-trnG	785	3	0.242	0.0005	3
Объединенная последовательность	2976	11	0.875	0.002	24

Примечание. H – число гаплотипов; H_p – гаплотипическое разнообразие; π – нуклеотидное разнообразие; M – число мутаций.

Была проанализирована генетическая изменчивость ядерных и хлоропластных участков генов. Анализ параметров, представленных в табл. 3, позволяет заключить, что наибольшая изменчивость характерна для ядерного фрагмента ITS, а наименьшая – для trnS-trnG фрагмента. Наибольшая изменчивость ядерных участков маркерных нуклеотидных последовательностей свойственна для других видов можжевельников (Mao et al., 2010; Hojjati et al., 2018).

Из рис. 5 видно, что нуклеотидные последовательности образцов CRMD4, CRMD10, CRMD22, CRMD29, CRMD35, CRMD40 сформировали общий гаплотип с последовательностями BAYLU:9430 и BAYLU:9431.

Последовательности, полученные в настоящей работе, попали в одну кладу с образцами *J. deltooides* 9430 и 9431

(BAYLU), произрастающими в Турции (табл. 4). Таким образом, проведенный нами анализ позволяет отнести исследованный материал к виду *J. deltooides*.

Заключение

На основе исследований вегетативных органов установлено, что длина хвои особой криптоической популяции Крыма составляет 12.94 ± 0.19 мм, что характерно для данного вида. Встречаются также особи с хвоей значительно большей длины (18–20 мм). Поперечный разрез хвои, вне зависимости от ее длины, в 34 % случаев проявляет признаки *J. oxycedrus*, выраженные в искривленности адаксиальной поверхности хвои.

Шишкягоды отличаются значительной морфологической неоднородностью. Их форма варьирует от шаровид-

Таблица 4. Перечень гаплотипов нуклеотидных последовательностей образцов крымской популяции, взятых для сравнения из работы (Hojjati et al., 2018)

Гаплотип	Вид
Нар_1	<i>Juniperus sabina</i> BAYLU:14317, BAYLU:14316
Нар_2	<i>Juniperus polycarpos</i> var. <i>polycarpos</i> BAYLU:14168
Нар_3	<i>Juniperus foetidissima</i> TARI 17035
Нар_4	<i>Juniperus oxycedrus</i> TARI IRN: 30492
Нар_5	<i>Juniperus drupacea</i> BAYLU:8796
Нар_6	<i>Juniperus drupacea</i> BAYLU:8795
Нар_7	<i>Juniperus foetidissima</i> BAYLU:5645
Нар_8	<i>Juniperus oxycedrus</i> BAYLU:9040, BAYLU:9039
Нар_9	<i>Juniperus communis</i> var. <i>oblonga</i> BAYLU:8765
Нар_10	<i>Juniperus communis</i> BAYLU:13730
Нар_11	<i>Juniperus excelsa</i> BAYLU:9433, BAYLU:8785
Нар_12	<i>Juniperus polycarpos</i> var. <i>turcomanica</i> BAYLU:8757
Нар_13	<i>Juniperus deltooides</i> BAYLU:9430, BAYLU:9431, CRMD4, CRMD10, CRMD22, CRMD29, CRMD35, CRMD40
Нар_14	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD1
Нар_15	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD7
Нар_16	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD14
Нар_17	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD16
Нар_18	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD19
Нар_19	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD25
Нар_20	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD27
Нар_21	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD28
Нар_22	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD33
Нар_23	<i>Juniperus deltooides</i> CRMD38

ной до треугольной в зависимости от степени срастания кроющих чешуй. При этом установлено, что одни и те же особи могут одновременно обладать признаками *J. deltooides* (по вегетативным органам) и *J. oxycedrus* (по генеративным органам).

Можно сделать вывод о том, что данные морфологические признаки являются недостоверными для определения систематической принадлежности особей. Единственно возможный способ определения – проведение генетических исследований.

Филогенетический анализ показал, что ядерные участки генов обладают большей вариабельностью, чем хлоропластные. Последовательности, полученные в нашей работе для крымской популяции, сформировали кладу с образцами *J. deltooides* 9430 и 9431 (BAYLU), произрастающими в Турции, что позволяет отнести исследованные образцы к виду *J. deltooides*.

Список литературы / References

Абаимов В.Ф. Дендрология. М., 2009.
[Abaimov V.F. Dendrology. Moscow, 2009. (in Russian)]
Ена А.В., Фатерыга А.В. Красная книга Республики Крым. Растения, водоросли и грибы. Симферополь, 2015.
[Yena A.V., Fateryga A.V. Red Book of the Republic of Crimea: Plants, algae, and fungi. Simferopol, 2015. (in Russian)]
Колесников А.И. Декоративная дендрология. М., 1974.
[Kolesnikov A.I. Ornamental Dendrology. Moscow, 1974. (in Russian)]

Красная книга города Севастополя. Севастополь, 2018.
[Red Book of the City of Sevastopol. Sevastopol, 2018. (in Russian)]
Новиков О.О., Писарев Д.И., Жиликова Е.Т., Трифанов Б.В. Можжевелник: фитохимия и фармакология рода *Juniperus* L. М., 2014.
[Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Trifanov B.V. Juniper: Phytochemistry and pharmacology of the genus *Juniperus* L. Moscow, 2014. (in Russian)]
Писарев Д.И. Обзор современного состояния исследований в области систематики, химии и фармакологии рода *Juniperus* L. В: Современные проблемы фитодизайна: материалы междунар. науч.-практ. конф. Белгород, 2007;296-304.
[Pisarev D.I. Current state of research in the taxonomy, chemistry, and pharmacology of the genus *Juniperus* L. In: Proceedings of the international scientific and practical conference "Current Issues in Phytodesign". Belgorod, 2007;296-304. (in Russian)]
Плугатарь Ю.В. Леса Крыма. Симферополь, 2015.
[Plugatar Yu.V. Forests of Crimea. Simferopol, 2015. (in Russian)]
Рубцов Н.И. Определитель высших растений Крыма. Л., 1972.
[Rubtsov N.I. Guide to Higher Plants of Crimea. Leningrad, 1972. (in Russian)]
Садькова Г.А., Нешатаева В.Ю. Редколесья *Juniperus excelsa* subsp. *polycarpos* в предгорном Дагестане. *Ботан. журн.* 2020;105(2): 179-195. DOI 10.31857/S0006813619110164.
[Sadykova G.A., Neshataeva V.Yu. Woodlands of *Juniperus excelsa* subsp. *polycarpos* in foothill Dagestan. *Botanicheskij Zhurnal = Botanical Journal.* 2020;105(2):179-195. DOI 10.31857/S0006813 619110164. (in Russian)]

- Ярмишко В.Т., Лянгузова И.В. Методы изучения лесных сообществ. СПб., 2002.
[Yarmishko V.T., Lyanguzova I.V. Methods for Studying Forest Communities. St. Petersburg, 2002. (in Russian)]
- Adams R.P. Morphological comparison and key to *Juniperus deltoides* and *J. oxycedrus*. *Phytologia*. 2014a;96(2):58-62.
- Adams R.P. Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. Bloomington: Trafford Publ., 2014b.
- Adams R.P., Morris A.J., Pandey R.N., Schwarzbach A.E. Cryptic speciation between *Juniperus deltoides* and *Juniperus oxycedrus* (*Cupressaceae*) in the Mediterranean. *Biochem. Syst. Ecol.* 2005;33(8): 771-787. DOI 10.1016/j.bse.2005.01.001.
- Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 1999;16(1):37-48. DOI 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036.
- Farjon A. A Handbook of the World's Conifers. Brill, 2017.
- Hojjati F., Kazempour-Osaloo S.H., Adams R.P., Assadi M. Molecular phylogeny of *Juniperus* in Iran with special reference to the *J. excelsa* complex, focusing on *J. seravschanica*. *Phytotaxa*. 2018; 375(2):135-157. DOI 10.11646/phytotaxa.375.2.1.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz M., Tamura C. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018;35(6):1547-1549. DOI 10.1093/molbev/msy096.
- Mao K., Hao G., Liu J., Adams R.P., Milne R.I. Diversification and biogeography of *Juniperus* (*Cupressaceae*): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytol.* 2010; 188(1):254-272. DOI 10.1111/j.1469-8137.2010.03351.x.
- Rajčević N., Dodoš T., Novaković J., Janačković P., Marin P.D. Epicuticular wax variability of *Juniperus deltoides* R.P. Adams from the central Balkan – ecology and chemophenetics. *Biochem. Syst. Ecol.* 2020;89:104008. DOI 10.1016/j.bse.2020.104008.
- Roma-Marzio F., Najar B., Alessandri J., Pistelli L., Peruzzi L. Taxonomy of prickly juniper (*Juniperus oxycedrus* group): a phytochemical-morphometric combined approach at the contact zone of two cryptospecies. *Phytochemistry*. 2017;141:48-60. DOI 10.1016/j.phytochem.2017.05.008.
- Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M.A., Huelsenbeck J.P. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.* 2012;61(3):539-542. DOI 10.1093/sysbio/sys029.
- Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S.E., Sánchez-Gracia A. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2017;34(12):3299-3302. DOI 10.1093/molbev/msx248.
- Sadykova G.A., Hantemirova E.V., Polezhaeva M.A., Aliev K.U. Genetic variability of tree junipers of section Sabina: data from Dagestan, Armenia, and Crimea. *Russ. J. Genet.* 2021;57:1223-1228. DOI 10.1134/S1022795421100100.
- Yousefi S., Avand M., Yariyan P. Identification of the most suitable afforestation sites by *Juniperus excelsa* specie using machine learning models: Firuzkuh semi-arid region, Iran. *Ecol. Inform.* 2021;65: 101427. DOI 10.1016/j.ecoinf.2021.101427.

ORCID ID

Lantushenko A.O. orcid.org/0000-0003-3614-9387
Korenkova O.O. orcid.org/0000-0001-6482-7312
Korenkov P.A. orcid.org/0000-0003-1847-4303
Shevchuk O.M. orcid.org/0000-0002-6565-7930

Благодарности. Генетические исследования выполнены в ЦКП «Молекулярная структура вещества» при поддержке программы Приоритет-2030 Севастопольского государственного университета (стратегический проект № 3, № 121121700318-1).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 12.09.22. После доработки 03.02.23. Принята к публикации 28.02.23.