

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*Juniperus communis* L.)

© 2020 г. С. Г. Князева<sup>1, \*</sup>, Е. В. Хантемирова<sup>2, \*\*</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Сибирского отделения Российской академии наук, Институт леса им. В.Н. Сукачева, Красноярск, 660049 Россия

<sup>2</sup>Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, 620144 Россия

\*e-mail: knyazevas@mail.ru

\*\*e-mail: hantemirova@mail.ru

Поступила в редакцию 05.02.2019 г.

После доработки 21.03.2019 г.

Принята к публикации 09.04.2019 г.

Генетическими и анатомо-морфологическими методами проведено комплексное изучение биологического разнообразия 27 природных популяций *Juniperus communis* L. на основном ареале. Подтвержден таксономический статус кавказской разновидности *J. communis* var. *oblonga*. В свою очередь, популяции этой разновидности на Северном Кавказе разделились по хлоропластным маркерам на две части – западную и восточную. Североамериканский *J. communis* var. *depressa* и дальневосточный *J. communis* var. *saxatilis* не отличаются по морфолого-анатомическим и ядерным маркерам, но различаются по хлоропластным, и, вероятно, являются родственными генетическими линиями, которые в сходных экологических условиях приобрели внешнее конвергентное сходство. Отличить их можно только генетическими методами. *J. communis* var. *communis* и *J. communis* var. *saxatilis*, растущие в Европе и Азии, не дифференцируются генетически, но имеют статистически значимые отличия по ряду морфологических и анатомических параметров хвои и преобладающей жизненной форме. Поэтому кажется вероятным, что данные разновидности можжевельника являются экотипами, которые приобрели отличия в морфологии и анатомии, произрастая в разных экологических условиях.

**Ключевые слова:** можжевельник обыкновенный, хлДНК, изофермент, ядерные маркеры, изменчивость, морфология, генетика, внутривидовая таксономия.

**DOI:** 10.31857/S0016675820010075

Главными факторами, влияющими на распределение биологической изменчивости внутри и между популяциями видов растений, являются их географическое распространение, система размножения и опыления, способ рассеивания семян. Не последнюю роль играют эволюционная история видов, периодические изменения численности их популяций, направления миграций, уменьшение и расширение ареалов, которые происходили в результате климатических флуктуаций [1–3]. С другой стороны, некоторые эколого-морфологические свойства видов (устойчивость к низким температурам, например) могут отражаться на выживаемости видов во время ледниковых периодов и скорости их послеледниковых экспансий [4].

Объект нашего исследования – можжевельник обыкновенный *J. communis* L. – вечнозеленый хвойный вид из семейства кипарисовых, имею-

щий обширный циркумбореальный ареал. Благодаря морфологической пластичности и широкой экологической амплитуде, этот вид распространен не только в умеренной зоне – горах Европы и Азии и в подлесках хвойных лесов, но и смог расселиться далеко на север, в арктические горные тундры. Обладая свойствами холодостойкости и ксероморфности, а также способностью образовывать стланиковую форму, можжевельник обыкновенный, по всей видимости, способен был переживать ледниковые периоды не только в южных, но и в северных рефугиумах [5]. Важное эволюционное приобретение *J. communis* – своеобразные “плоды” в виде сочных шишкоягод, которые распространяются птицами и мелкими млекопитающими, позволяло ему быстро расселяться в межледниковые периоды. А свойство ветроопыляемости способствовало перемешиванию генных потоков. Сочетание этих свойств свидетельствует о большом эволюционном потенциале можжевель-

ника и способности его успешно справляться с климатическими изменениями.

Широкое географическое распространение *Juniperus communis* L. при большом экологическом диапазоне вызвало образование разнообразных жизненных форм (от стлаников до деревьев). С высокой изменчивостью морфологических признаков этого вида связаны и трудности в подвидовой таксономической классификации. Это весьма полиморфный вид с запутанной и часто спорной таксономией [6, 7]. Форма роста наряду с признаками хвои являются основными критериями для выделения синтаксонов. Так, Альйос Фарджун (A. Farjon) [6] выделяет в Евразии две разновидности можжевельника обыкновенного: *J. communis* L. var. *communis* (форма прямостоячего или раскидистого кустарника, или дерева) и *J. communis* var. *saxatilis* Pall. (форма стелющегося или приподнимающегося кустарника). Последняя разновидность имеет обширную синонимику в ранге вида, подвида, разновидности и формы (*J. nana* Willd., *J. alpina* S.F. Gray, *J. pygmaea* C. Koch, *J. communis* var. *saxatilis* Pall., *J. communis* f. *sibirica* Rydb., *J. communis* f. *nana* Loud.) [8–11]. В России для этой разновидности принято название *J. sibirica* — сибирский можжевельник. Обе разновидности имеют сходные морфологические признаки и перекрывающийся ареал на территории России, охватывающий Европейскую часть России, Урал, Сибирь. Фактически не существует ни четких границ ареалов этих разновидностей, ни четких морфологических различий между ними [12–15].

На Кавказе произрастает другая разновидность можжевельника обыкновенного — *J. communis* var. *oblonga* hort. ex Loudon. (= *J. oblonga* Vieb., *J. albanica* Penzes, *J. communis* var. *caucasica* Endl., *J. communis* var. *saxatilis* Pall.) [16–18]. Н.Н. Имханицкая [19] поддерживает мнение А.Н. Галушко о подвидовом статусе этого таксона: *J. communis* subsp. *oblonga* (Vieb) Galushko. А. Фарджун [6] не признает выделения этого можжевельника даже в качестве разновидности, хотя он имеет достаточно четкие морфологические отличия; в то же время выделяет в качестве отдельной североамериканской разновидности *J. communis* var. *depressa*, не имеющего четких морфологических отличий от евроазиатского *J. communis* var. *saxatilis*.

Возможно такая неопределенность в трактовке внутривидовых категорий *J. communis* связана и со сложной филогеографической историей, обнаруженной у этого вида с помощью генетических маркеров [5]. Проблему таких таксономически сложных групп видов могут решить комплексные исследования с применением методов классической морфометрии и молекулярной биологии.

Цель нашей работы — провести комплексное исследование изменчивости природных популяций можжевельника обыкновенного в широком

географическом масштабе с помощью анатомо-морфологических и генетических методов — аллозимным методом [20] и путем анализа изменчивости хлоропластной (хлДНК) [5], чтобы выявить закономерности, характеризующие вид и его разновидности на протяжении всего ареала.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами изучены 27 природных популяций *Juniperus communis* L., произрастающих на территории Европы, Азии и Северной Америки (рис. 1, табл. 1). Популяции из Томска, Подмосковья и Таллина имеют форму прямостоячего кустарника и скорее всего представляют собой *J. communis* L. var. *communis*. Можжевельник из Аляски является разновидностью *J. communis* var. *depressa*. Кавказские популяции — это, вероятно, *J. communis* var. *oblonga*. Остальные популяции вероятно относятся к самой распространенной на территории Евразии вариации: *J. communis* var. *saxatilis*.

Проводилось исследование анатомо-морфологической изменчивости параметров хвои (длина, ширина, длина кончика, высота и толщина среза, периметр и площадь среза, периметр и площадь смоляного хода и проводящего пучка, ширина устьичной полоски, число устьичных полосок, толщина покровных тканей, число устьиц и их размеры, число обкладочных клеток, коэффициент Адамса, высота, ширина и форма килля).

Образцы хвои выдерживали в спирте, затем делали поперечные срезы лезвием. С каждой особи брали по пять хвоинок четырех возрастов. Срезы помещали в каплю глицерина и фотографировали с помощью микроскопа Микромед-Р1 с камерой DCM500. Измерения проводились с помощью программы Scorerphoto 3.0. Полученные данные обрабатывались статистическими методами.

Также изучена генетическая изменчивость с помощью ядерных (аллозимный анализ, 23 популяции) и хлоропластных (PCR-RFLP) маркеров (30 популяций). Для аллозимного анализа подготовку проб, электрофорез белков и гистохимическое окрашивание выявленных зон ферментативной активности проводили в соответствии с методиками [21, 22], описанными подробно в наших предыдущих работах [20, 23]. Для оценки генетического разнообразия растений использованы восемь локусов (*Fdh*, *Idh*, *Pgi-A*, *Pgi-B*, *6-Pgd-A*, *6-Pgd-B*, *Sod-A*, *Sod-B*). Генетические расстояния (*D*) между популяциями определялись с помощью генетических дистанций Nei [24]. Матрицы значений *D* были использованы для ординации популяций с применением анализа главных координат (с использованием NTSYS-рс). Данные анализировались с использованием программ BIOSYS-2 [25] и NTSYS-рс [26].

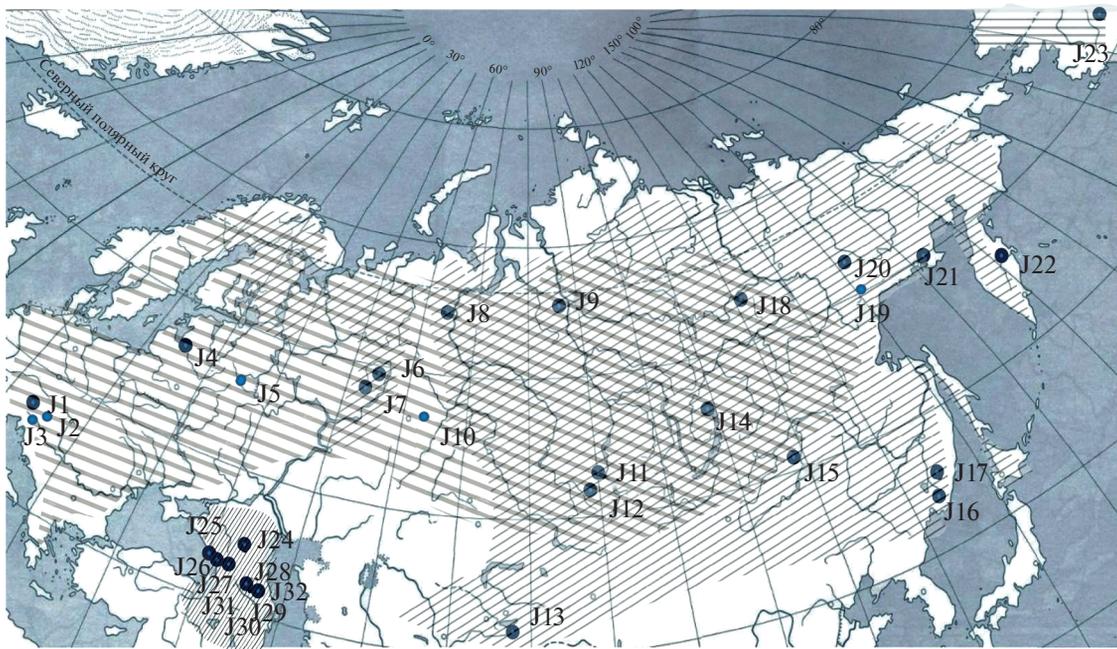


Рис. 1. Места сбора популяций и схема ареалов вариаций можжевельника обыкновенного (▨) – *J. communis* var. *saxatilis*; (▬) – *J. communis* var. *communis*; (▮) – *J. communis* var. *oblonga*, (▩) – *J. communis* var. *depressa*).

Хлоропластную ДНК экстрагировали из свежей или высушенной в силикагеле хвои можжевельника с помощью СТАБ-метода [27] и использовали ее, как темплату для ПЦР-амплификации двух фрагментов хпДНК: *trnT-trnF* регион с праймерами a, b, c, d [28] и *16S-trnA* регион с праймерами 5'-gaaggctgggctagtactg-3' and 5'-gagataagcggactcgaacc-3' (Семериков, неопубликованное) и дополнительным внутренним праймером 5'-gaaacsaatgcataagcaa-3'. ПЦР-продукты были разрезаны рестриктазой *TaqI* для *16S-trnA* региона и *HinfI* для *trnT-trnF* региона. Продукты рестрикции были разделены индивидуально в 6%-ном денатурирующем полиакриламидном геле с последующим окрашиванием серебром. Для каждого фрагмента все гаплотипы, идентифицированные с помощью RFLP, были секвенированы методом Сэнгера. Подробнее методика PCR-RFLP и секвенирование описаны в нашей предыдущей работе [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Морфолого-анатомический анализ

Исследование морфологии и анатомии хвои показывает высокую пластичность ее анатомо-морфологических признаков. Кавказские популяции резко отличаются от остальных по большинству изученных признаков. Самая длинная хвоя наблюдается у можжевельника из Ногайской степи – 22 мм, самая широкая – у растений из Гунибского плато – 2.3 мм. Самые высокие

средние значения параметров хвои характерны для можжевельника из Гунибской популяции (табл. 2). Растения с плато Гуниб являются уникальными и отличаются значительно по многим признакам (высота и толщина хвои, площадь поперечного разреза, периметр проводящего пучка, высота килля) от всех других популяций, в том числе кавказских. В то же время группа очень неоднородная: с высокой межпопуляционной изменчивостью.

Остальные популяции разделены нами по географическому признаку на три группы: европейско-сибирскую, дальневосточную и североамериканскую. В первой группе предположительно могут быть популяции *J. communis* L. var. *communis* и *J. communis* var. *saxatilis*, во второй – *J. communis* var. *saxatilis*, в третьей – *J. communis* var. *depressa*.

Анализ методом главных компонент (рис. 2, 3) четко отделил кавказские популяции можжевельника как в плоскости первой и второй компонент, так и в плоскости первой и третьей компонент. Кавказские растения отличаются широкой и длинной хвоей, развитым проводящим пучком с большим количеством обкладочных клеток, крупным поперечным срезом, длинным кончиком хвои, широкой устьичной полоской с двумя полосками и  $Ka > 2$  (коэффициент Адамса [7]). Переходной оказалась популяция из Сочи, которая по ряду параметров близка к альпийским растениям.

Таблица 1. Популяции *Juniperus communis*

№	Популяция	Широта	Долгота	Высота над ур. м., м
J1	Альпы (Сев. Тироль)	N 47°11'	E 12°0'	1700
J2	Восточные Альпы	N 47°04'	E 14°34'	1800
J3	Южные Альпы	N 46°30'	E 14°45'	1759
J4	Эстония	N 57°27'	E 24°52'	22
J5	Подмосковье	N 56°50'	E 36°55'	141
J6	Таганай	N 55°10'	E 59°40'	1000
J7	Машак	N 54°19'	E 58°06'	669
J8	Полярный Урал	N 66°50'	E 65°40'	250
J9	Туруханск	N 65°48'	E 87°59'	40
J10	Томск	N 56°70'	E 84°76'	133
J11	Ергаки	N 53°08'	E 92°56'	1750
J12	Горная Шория	N 52°55'	E 88°00'	1570
J13	Тянь-Шань	N 43°06'	E 77°04'	3000
J14	Северобайкальск	N 55°42'	E 109°04'	536
J15	Газимур	N 52°09'	E 119°2'	936
J16	Лазо	N 43°31'	E 134°06'	1287
J17	Сихотэ-Алинь	N 45°00'	E 136°30'	842
J18	Якутия	N 63°28'	E 120°3'	120
J19	Колыма	N 63°25'	E 140°36'	120
J20	Оймякон	N 63°03'	N 138°09'	193
J21	Магадан	N 59°35'	E 150°4'	118
J22	Камчатка	N 56°01'	E 161°11'	50
J23	Аляска	N 64°50'	E 147°4'	135
J24	Ногайская степь	N 44°04'	E 45°35'	60
J25	Сочи	N 43°42'	E 40°10'	1000
J26	Архыз	N 43°34'	E 41°16'	2034
J27	Нальчик	N 43°08'	E 43°29'	1470
J28	Гуниб	N 42°24'	E 46°54'	1850
J29	Талги	N 42°62'	E 47°26'	458
J30	Теберда	N 43°22'	E 41°43'	1700
J31	Цудахар	N 42°19'	E 47°09'	1200
J32	Губден	N 42°32'	E 47°26'	870

Вторую отдельную группу составили популяции *J. communis* var. *communis* Томска, Подмосковья и Таллина. В то же время в плоскости первой и третьей компонент эти популяции объединились с другими европейско-сибирскими можжевельниками. Эти популяции, помимо преобладающей прямостоячей формы растений, отличаются длинной, но узкой хвоей, мелкими смоляными ходами и проводящими пучками.

Остальные европейско-сибирские, дальневосточные и североамериканская популяции образовали единое облако. При этом дальневосточные популяции характеризуются более длинной,

остроконечной, но узкой хвоей с  $Ka < 1.5$ , в то время как европейско-сибирские – более короткой, но широкой с  $Ka > 1.5$ . Можжевельник из Аляски по параметрам хвои не отличается от растений дальневосточных популяций.

*Аллозимный анализ и анализ изменчивости хлоропластной ДНК*

Закономерности, полученные при помощи анатомо-морфологического метода, нашли свое объяснение и стали более понятными, когда мы сгруппировали популяции по их генетическим

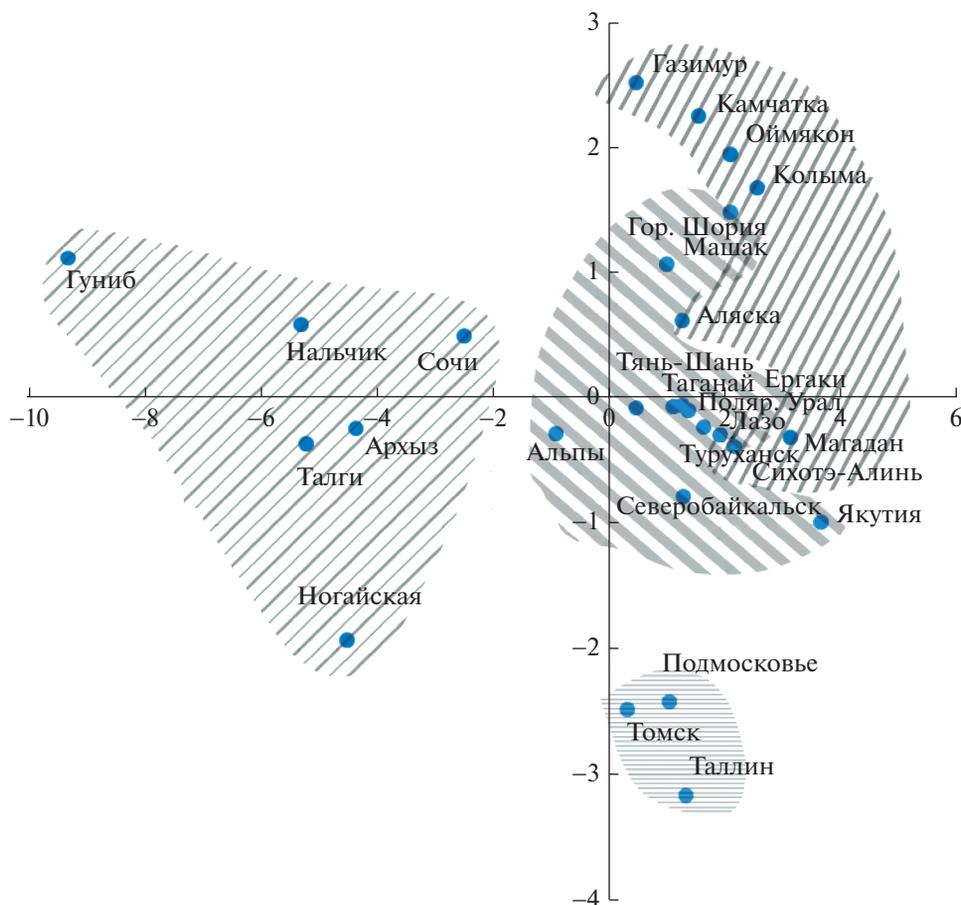
Таблица 2. Количественные показатели исследованных признаков ( $X_{cp} \pm S_x$ )

Популяция	Длина хвои, см	Длина кончика хвои, мм	Ширина хвои, мм	Высота хвоинки, мм	Площадь разреза, мм <sup>2</sup>
Альпы	8.52 ± 1.9	0.37 ± 0.08	1.5 ± 0.34	0.5 ± 0.11	0.47 ± 0.1
Таллин	13.7 ± 2.7	0.5 ± 0.1	1.22 ± 0.24	0.4 ± 0.07	0.29 ± 0.05
Подмосковье	11.7 ± 2.6	0.4 ± 0.09	1.31 ± 0.29	0.43 ± 0.1	0.31 ± 0.07
Таганай	8.8 ± 1.9	0.5 ± 0.11	1.3 ± 0.29	0.44 ± 0.1	0.32 ± 0.07
Машак	8.01 ± 1.7	0.39 ± 0.09	1.45 ± 0.32	0.5 ± 0.11	0.38 ± 0.09
Пол. Урал	5.9 ± 1.3	0.29 ± 0.07	1.36 ± 0.3	0.44 ± 0.1	0.34 ± 0.08
Туруханск	7.66 ± 1.7	0.49 ± 0.11	1.27 ± 0.28	0.38 ± 0.08	0.3 ± 0.07
Томск	13.6 ± 3.05	0.62 ± 0.14	1.3 ± 0.29	0.38 ± 0.08	0.27 ± 0.06
Ергаки	8.11 ± 1.8	0.402 ± 0.09	1.34 ± 0.3	0.46 ± 0.1	0.36 ± 0.08
Горная Шория	5.36 ± 1.2	0.25 ± 0.06	1.27 ± 0.28	0.46 ± 0.1	0.34 ± 0.08
Тянь-Шань	8.29 ± 1.8	0.48 ± 0.11	1.45 ± 0.33	0.5 ± 0.11	0.38 ± 0.09
Северобайкальск	9.9 ± 2.2	0.42 ± 0.09	1.32 ± 0.29	0.43 ± 0.09	0.33 ± 0.07
Газимур	12.7 ± 2.8	0.54 ± 0.12	1.33 ± 0.3	0.51 ± 0.12	0.46 ± 0.1
Лазо	10.8 ± 2.4	0.47 ± 0.11	1.36 ± 0.3	0.43 ± 0.1	0.35 ± 0.08
Сихотэ-Алинь	11.1 ± 2.5	0.42 ± 0.09	1.28 ± 0.29	0.41 ± 0.09	0.33 ± 0.07
Якутия	7.2 ± 1.5	0.4 ± 0.08	1.12 ± 0.22	0.38 ± 0.08	0.25 ± 0.05
Колыма	8.3 ± 1.8	0.36 ± 0.08	1.23 ± 0.28	0.42 ± 0.09	0.36 ± 0.08
Оймякон	9.1 ± 2.03	0.52 ± 0.12	1.22 ± 0.27	0.46 ± 0.1	0.37 ± 0.08
Магадан	9.9 ± 2.2	0.41 ± 0.09	1.2 ± 0.27	0.39 ± 0.09	0.28 ± 0.06
Камчатка	7.8 ± 1.1	0.37 ± 0.05	1.36 ± 0.19	0.43 ± 0.14	0.41 ± 0.06
Аляска	10.8 ± 1.2	0.31 ± 0.06	1.35 ± 0.25	0.5 ± 0.09	0.38 ± 0.07
Ногайская степь	15.2 ± 3	0.74 ± 0.15	1.67 ± 0.33	0.59 ± 0.11	0.56 ± 0.11
Сочи	9.6 ± 1.9	0.5 ± 0.1	1.65 ± 0.33	0.58 ± 0.11	0.52 ± 0.1
Архыз	12.8 ± 2.5	0.58 ± 0.11	1.61 ± 0.32	0.56 ± 0.11	0.56 ± 0.11
Нальчик	12.3 ± 2.7	0.62 ± 0.14	1.7 ± 0.38	0.61 ± 0.14	0.56 ± 0.13
Гуниб	14.2 ± 2.8	0.96 ± 0.2	1.85 ± 0.37	0.76 ± 0.15	0.76 ± 0.15
Талги	13.2 ± 2.6	0.85 ± 0.17	1.58 ± 0.32	0.58 ± 0.11	0.57 ± 0.11

Таблица 2. Окончание

Популяция	$S$ смоляного хода, мм <sup>2</sup>	$S$ проводящего пучка, мкм <sup>2</sup>	Число обкладочных клеток	Число полосок	$Ka$
Альпы	0.016 ± 0.003	8006.4 ± 1790	2.9 ± 0.7	1.37 ± 0.31	2.54 ± 0.57
Таллин	0.009 ± 0.0001	5348.9 ± 1069.7	17.8 ± 3.6	2 ± 0.4	2.51 ± 0.5
Подмоск.	0.0105 ± 0.002	6215.7 ± 1389.9	1.85 ± 0.41	1.46 ± 0.33	1.66 ± 0.37
Таганай	0.027 ± 0.006	7021.3 ± 1570	1.8 ± 0.4	1.4 ± 0.3	2.35 ± 0.52
Машак	0.032 ± 0.007	6894.1 ± 1541.6	1.2 ± 0.3	1.1 ± 0.25	1.78 ± 0.4
Полярный Урал	0.017 ± 0.004	6260.2 ± 1399.8	1.7 ± 0.4	1.02 ± 0.23	2.47 ± 0.55
Туруханск	0.03 ± 0.06	5912.6 ± 1322.1	3.25 ± 0.72	1.39 ± 0.31	2.48 ± 0.55
Томск	0.012 ± 0.002	5215 ± 1166.1	3.45 ± 0.77	1.7 ± 0.38	1.69 ± 0.38
Ергаки	0.03 ± 0.007	6605.7 ± 1477	2.7 ± 0.6	1.24 ± 0.27	2.1 ± 0.47
Г. Шор.	0.033 ± 0.008	6974.2 ± 1559.5	0.2 ± 0.04	1.2 ± 0.26	2.21 ± 0.5
Тянь-Шань	0.024 ± 0.005	7361.5 ± 1646.1	2.5 ± 0.6	1.1 ± 0.25	1.69 ± 0.38
Северобайк.	0.021 ± 0.005	6643.6 ± 1503.5	2.5 ± 0.6	1.2 ± 0.3	2.01 ± 0.45
Газимур	0.05 ± 0.01	8890.5 ± 1988	0.4 ± 0.09	1.2 ± 0.27	1.4 ± 0.31
Лазо	0.026 ± 0.006	7063.1 ± 1579	0.9 ± 0.2	1.01 ± 0.22	1.3 ± 0.29
С. Алинь	0.026 ± 0.006	6969.2 ± 1558	0.9 ± 0.2	1.005 ± 0.22	1.37 ± 0.3
Якутия	0.022 ± 0.004	4329.7 ± 893.2	1.37 ± 0.27	1.04 ± 0.21	1.65 ± 0.33
Колыма	0.041 ± 0.01	7269.2 ± 1625.5	1.8 ± 0.4	1 ± 0.22	1.46 ± 0.33
Оймякон	0.047 ± 0.01	6785.1 ± 1517.2	2.1 ± 0.5	1 ± 0.2	1.75 ± 0.39
Магадан	0.029 ± 0.01	5440.1 ± 1216.5	0.87 ± 0.19	1 ± 0.22	1.42 ± 0.32
Камчатка	0.043 ± 0.06	8983.6 ± 1270	0.95 ± 0.13	1 ± 0.14	1.94 ± 0.27
Аляска	0.023 ± 0.004	6814.6 ± 1265.4	1.3 ± 0.2	1 ± 0.18	1.41 ± 0.26
Ногайск	0.007 ± 0.001	11055.4 ± 2211	7.13 ± 1.42	1.82 ± 0.36	2.28 ± 0.46
Сочи	0.02 ± 0.004	9758.5 ± 1951.7	5.19 ± 1.03	1.14 ± 0.22	2.48 ± 0.5
Архыз	0.02 ± 0.003	12033.8 ± 2406.8	7.45 ± 1.49	1.96 ± 0.39	2.84 ± 0.56
Нальчик	0.022 ± 0.004	13560 ± 3019.4	15 ± 3.3	2 ± 0.45	2.41 ± 0.54
Гуниб	0.015 ± 0.003	17727.7 ± 3545.5	17.7 ± 3.5	2 ± 0.4	2.51 ± 0.5
Талги	0.015 ± 0.003	13202.1 ± 2640.4	13.8 ± 2.7	1.76 ± 0.35	2.51 ± 0.5

Примечание.  $X_{cp}$  – арифметическое среднее,  $S$  – площадь,  $Ka$  – коэффициент Адамса,  $S_x$  – ошибка средней.



**Рис. 2.** Ординация популяций *J. communis* в плоскости первых двух главных компонент (▨ — *J. communis* var. *saxatilis* (Дальний Восток), ▩ — *J. communis* var. *saxatilis* (Европа, Сибирь); ▨ — *J. communis* var. *communis*; ▧ — *J. communis* var. *oblonga*).

дистанциям с помощью аллозимного метода и на основании парных  $F_{st}$  по данным изменчивости хлДНК.

Оба метода подтвердили результаты морфолого-анатомического анализа об отсутствии значительных различий между *J. c.* var. *saxatilis* и *J. c.* var. *communis* и показали слабую подразделенность изученных популяций на основной части ареала (Европа, Сибирь). Это косвенно указывает на значительный поток генов между этими популяциями и их недавнее общее происхождение.

В то же время по обоим молекулярным маркерам выявлена генетическая оригинальность североамериканской и всех дальневосточных популяций. Причем по ядерным маркерам эти две группы оказались близки, что совпадает с результатами морфолого-анатомического анализа (рис. 4). Однако по хлоропластным маркерам гаплотипы этих разновидностей образуют разные ветви на филогенетическом дереве [5], а популяции не объединяются в одну группу (рис. 5). Это несоответствие очевидно объясняется разным типом на-

следования данных маркеров. Ядерные маркеры наследуются у можжевельника и по материнской, и по отцовской линии, а хлоропластные — только по отцовской. Поток генов с пыльцой вероятно был ограничен гораздо раньше (со времени исчезновения Берингового моста суши), чем с семенами, которые могли распространять перелетные птицы. В целом, это может свидетельствовать об относительно недавнем расхождении этих популяций.

Аллозимный анализ однозначно подтверждает морфологические данные об обособленности *J. communis* var. *oblonga* (*J. oblonga* Vieb.) на Северном Кавказе. В данном регионе хлДНК и данные морфологии указывают на значительную неоднородность этого таксона.

Так на графике ординации по хлоропластным маркерам (рис. 5) видно, что популяции центральной части Северного Кавказа (Нальчик) и западной (Сочи, Архыз), а также полупустынная популяция из Ногайской степи находятся в общей группе со всеми евросибирскими популяци-

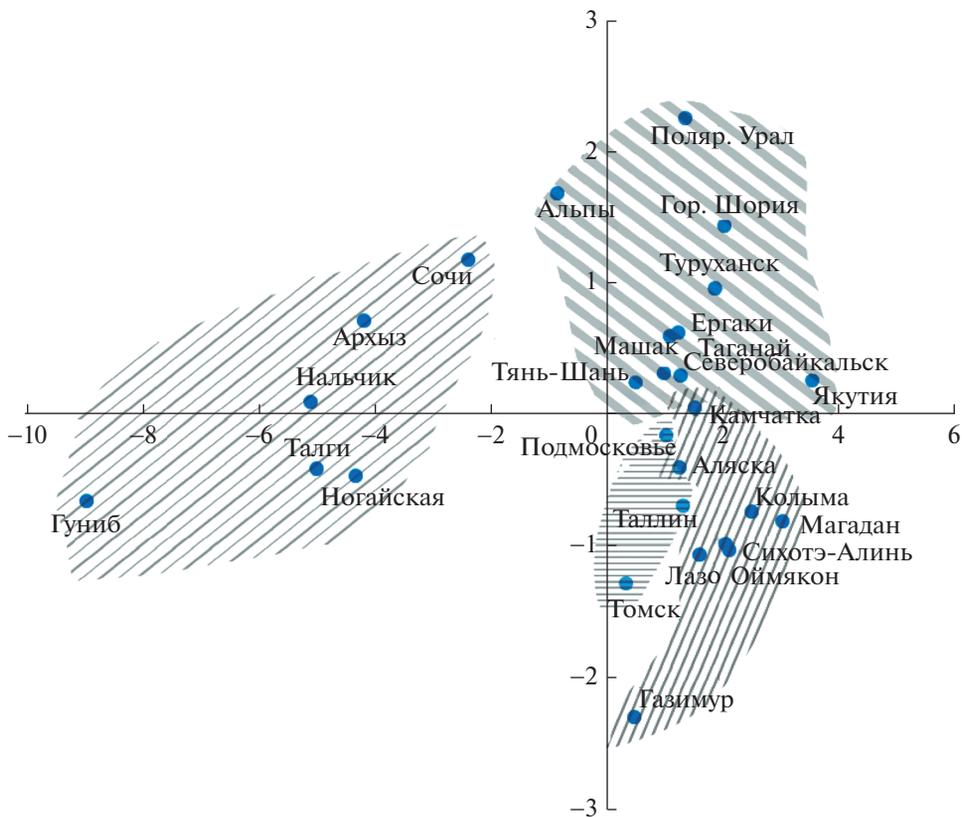


Рис. 3. Ординация популяций можжевельника обыкновенного в плоскости первой и третьей главных компонент (▨ – *J. communis* var. *saxatilis* (Дальний Восток), ▧ – *J. communis* var. *saxatilis* (Европа, Сибирь); ▩ – *J. communis* var. *communis*; ▪ – *J. communis* var. *oblonga*).

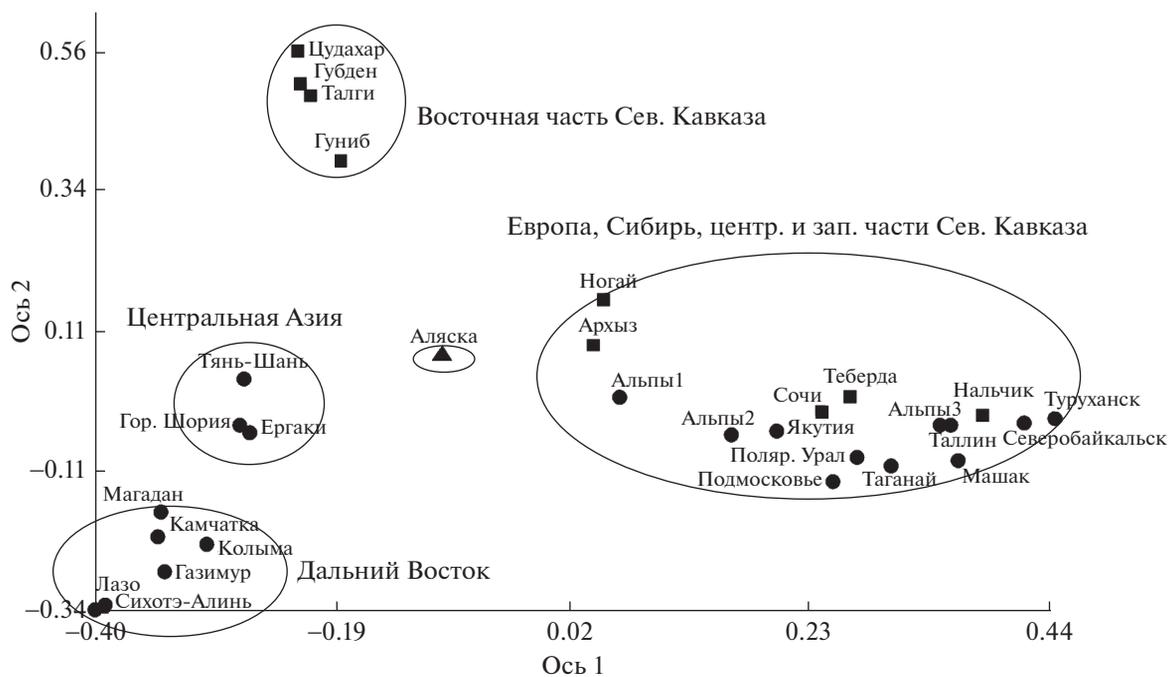


Рис. 4. Ординация популяций *J. communis*, построенная на основании парных  $F_{st}$  по данным изменчивости хлДНК.

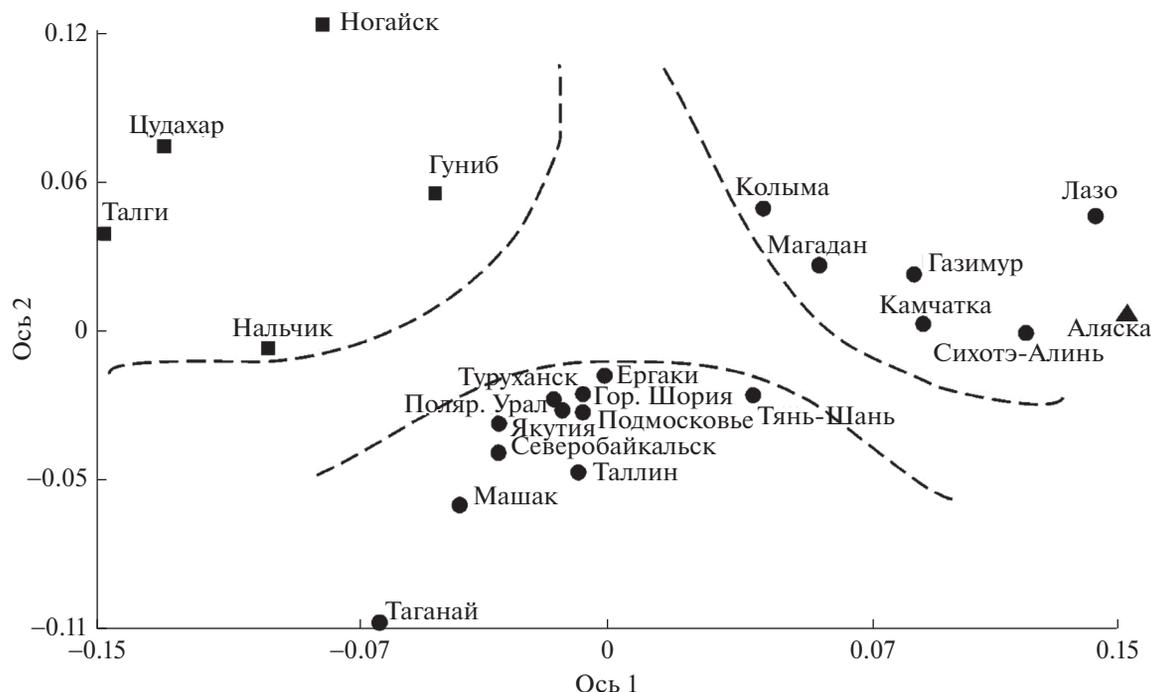


Рис. 5. Ординация популяций *J. communis*, построенная на основании генетических дистанций по аллозимным локусам.

ями, в то время как высокогорные популяции восточной части Северного Кавказа (Гуниб, Талги) образуют отдельную группу.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование анатомо-морфологической и генетической изменчивости позволяет выделить несколько в разной степени обособленных групп. У можжевельника, произрастающего в восточной части Северного Кавказа все три метода подтверждают особый статус *J. communis* var. *oblonga*, а в западной и центральной частях Северного Кавказа — только морфологический и изоферментный методы. Тем не менее можно утверждать, что все кавказские популяции, имея крупную, остроколючую хвою с двумя полосками и  $Ka > 2$ , скорее всего являются отдельным таксоном (возможно следует поддержать его таксономический статус как самостоятельного вида *J. oblonga* Vieb. или подвида).

Близость гаплотипов можжевельника из западной и центральной частей Северного Кавказа к евросибирским гаплотипам может свидетельствовать о существовании в прошлом потока генов в этой более гумидной части Северного Кавказа в сторону других европейских горных систем, например Альп. В нашем исследовании в популяции из окрестностей Сочи, которая является крайней западной точкой на Кавказе, обнаружен редкий хлоропластный гаплотип, такой же, как в популяции из австрийских Альп. На многих графиках ор-

динации по морфологическим параметрам популяция из Сочи занимает промежуточное положение между кавказской и евросибирской группами. А по такому показателю, как число полосок, эта популяция вообще не вошла в кавказскую группу.

Популяции восточной части Северного Кавказа, особенно выборка можжевельника, собранная на Гунибском плато, — это древний рефугиум, который оказался изолирован после каких-то климатических или топографических изменений, не вносил вклад в реколонизацию Европы и не имел вторичных контактов с ее популяциями. В Гунибской популяции при аллозимном анализе обнаружены редкие аллели, один из которых (в локусе *SodA*) был найден также только в популяциях Сихотэ-Алиня и южного Сахалина. По-видимому когда-то эти популяции были связаны непрерывным ареалом вида, сформировавшимся в плиоцене, который был разорван в результате климатических изменений в плейстоцене, в результате чего можжевельник оказался изолирован в рефугиумах Дальнего Востока и Восточного Кавказа. Это предположение подтверждается тем, что в результате анализа изменчивости хлоропластной ДНК группы гаплотипов можжевельника из популяций Дальнего Востока и Восточного Кавказа оказались принадлежащими к одной генетической линии, более древней по отношению к другим линиям [5]. Биогеографическая значимость Кавказского региона и деление его на юге на две части — западную и восточную, отмечены и в ис-

следовании разных видов дубов [29]. Считают, что этот регион, благодаря своей геологической истории, климатическим особенностям и топографии, вероятно с конца миоцена играл важную роль в сохранении и возникновении биологического разнообразия видов.

Генетическая неоднородность кавказских можжевельников, сложность и комплексность их филогеографической истории и, возможно, явления гибридизации отразились и на их морфологических признаках. С этим же по-видимому связаны и различия в оценке таксономического статуса кавказских можжевельников у разных исследователей. Однако по главному морфологическому признаку — числу полосок хвоинки, все кавказские популяции (кроме Сочи) хорошо отличаются от других популяций *J. communis*. Кроме того они отличаются по ядерным маркерам. Принято считать, что изменчивость ядерных маркеров больше отражает таксономическую подразделенность видов, а изменчивость хлоропластная — географическую.

В этом отношении интересна картина, полученная для популяций можжевельника из Центральной Азии (Тянь-Шань, Горная Шория, Ергаки). Эта группа значимо отделилась при анализе хлоропластной ДНК, однако ни морфологический, ни аллозимный методы не показали дифференциации. Возможно такая картина отражает географическую изоляцию этой группы, но не таксономическую.

Методы генетической изменчивости дифференцируют североамериканскую разновидность *J. communis* var. *depressa*, произрастающую на Аляске. В то же время по параметрам хвои она не отделилась от дальневосточных популяций. Дальневосточный можжевельник, растущий на востоке за Верхоянским хребтом, имеет ряд особенностей, делающих его ближе к североамериканским растениям, чем сибирским. Этот можжевельник с длинной, но узкой хвоей с одной полосой и *Ka* (как правило) < 1.5 вероятно можно считать типичным *J. communis* var. *saxatilis*, к которому морфологически близка североамериканская популяция. Аллозимный метод также показывает бóльшую близость дальневосточных популяций к североамериканской *J. communis* var. *depressa*, чем к европейско-сибирским популяциям.

Генетические методы не выявили различий между *J. communis* var. *communis* и *J. communis* var. *saxatilis*, произрастающими в Европе и Азии (до Верхоянского хребта). Данные методы также показали слабую подразделенность изученных популяций на этой части ареала. Исследование же морфологии и анатомии хвои показывает высокий уровень изменчивости и неоднородности можжевельника на этой территории. Популяции из Томска, Подмосковья и Таллина характеризуются ти-

пичными для *J. communis* var. *communis* признаками (жизненная форма в виде дерева или конусовидного кустарника, длинная остроконечная хвоя), в то время как остальные популяции в разной степени проявляют особенности одной или другой вариации и, возможно, являются переходными формами между двумя вариациями. Тем не менее все можжевельники в этой части ареала являются стелющимися или раскидистыми кустарниками, они вероятнее всего относятся к *J. communis* var. *saxatilis*.

Отсутствие четких генетических границ, которое указывает на их общее происхождение и значительный поток генов между этими популяциями в последний ледниковый период и в межледниковье в результате существования северных микрорефугиумов. Различия же в морфологии и анатомии скорее всего объясняются экологическими и климатическими особенностями мест произрастания. Растения из Томска, Подмосковья и Таллина растут под пологом леса в условиях затенения, повышенной влажности, в то время как остальные популяции произрастают либо в горах, либо в суровых северных условиях.

В целом разные методы исследования биологической изменчивости в применении к можжевельнику обыкновенному подтверждают и уточняют друг друга. Некоторая противоречивость полученных результатов может быть отражением общих закономерностей, касающихся несовпадения скоростей морфологической, молекулярной и хромосомной эволюций.

Таким образом, проведенное комплексное исследование биологического разнообразия и генетической структуры можжевельника обыкновенного на основном ареале показывает высокий уровень изменчивости как морфолого-анатомических, так и генетических признаков, что приводит к большим трудностям при изучении внутривидовой таксономии вида. Не было найдено явных корреляций между фенотипом, генетической изменчивостью и таксономической принадлежностью изученных популяций (за исключением кавказского можжевельника).

Проведенное исследование подтверждает особый таксономический статус *J. communis* s. l., произрастающего на Кавказе, вероятно подвидового уровня или даже, самостоятельного вида (*J. oblonga* Vieb.). Реликтовые популяции кавказского можжевельника, особенно в восточной части Северного Кавказа, заслуживают дальнейшего изучения.

Североамериканский *J. communis* var. *depressa* и дальневосточный *J. communis* var. *saxatilis* не отличаются морфологически и анатомически, но различаются генетически и вероятно являются родственными генетическими линиями, которые произрастают в сходных климатических условиях

и приобрели конвергентное внешнее сходство. Отличить их можно только генетически.

*J. communis* var. *communis* и *J. communis* var. *saxatilis*, произрастающие в Европе и Азии, не дифференцируются генетически, но имеют статистически значимые отличия по ряду морфологических и анатомических параметров хвои и преобладающей жизненной форме. Это позволяет заключить, что *J. communis* var. *communis* и *J. communis* var. *saxatilis* являются экотипами, которые произрастают на обширном ареале, в разных экологических условиях (под пологом или в горах) и в результате высокой экологической пластичности вида приобретают отличия в морфологии и анатомии. Другими словами, обладая высокой полиморфностью, можжевельник обыкновенный существует одновременно в виде нескольких жизненных форм. Под действием отбора в разных экологических условиях начинает преобладать одна из них, в то же время постоянно существующий обмен генами между популяциями поддерживает генетическое единообразие на обширном ареале.

За помощь в сборе материала на Кавказе мы выражаем благодарность д.б.н. З.М. Асадулаеву и А.М. Мусаеву (Горный ботанический сад Дагестанского научного центра РАН).

Исследования выполнены по базовому проекту № АААА-А17-117101820003-0 и при поддержке гранта РФФИ № 18-04-00616.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A.-G., Cosson J.-F.* Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe // *Mol. Ecol.* 1998. V. 7. P. 453–464.
2. *Hewitt G.M.* The genetic legacy of the Quaternary ice ages // *Nature.* 2000. V. 405. P. 907–913.
3. *Petit R., Aguinagalde I., de Beaulieu J.-L. et al.* Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity // *Science.* 2003. V. 300. P. 1563–1565.
4. *Myking T.* Evaluating genetic resources of forest trees by means of life history traits – a Norwegian example // *Biodiversity and Conservation.* 2002. V. 11. P. 1681–1696.
5. *Hantemirova E.V., Heinze B., Knyazeva S.G. et al.* A new Eurasian phylogeographical Paradigm? Limited contribution of southern populations to the recolonization of high latitude populations in *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) // *J. Biogeogr.* 2017. V. 44. P. 271–282.
6. *Farjon A.* World Checklist and Bibliography of Conifers. England: The Royal Botanic Gardens, 2001. 309 p.
7. *Adams R.P.* Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. 4th edn. Trafford Publishing, 2014. 422 p.
8. *Ареалы деревьев и кустарников СССР.* Ленинград: Наука, 1977. Т. 1. 164 с.
9. *Деревья и кустарники СССР.* М.: Изд-во Акад. наук СССР, 1949. Т. 1. 461 с.
10. *Комаров В.Л.* Сем. XIII. Cupressaceae F.W. Neger. Флора СССР. Т. 1. М.–Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1934. С. 179–191.
11. *Коропачинский И.Ю., Встовская Т.Н.* Древесные растения азиатской России. Новосибирск, 2002. 402 с.
12. *Князева С.Г.* Опыт применения многомерных методов для определения таксономического положения *Juniperus sibirica* Burgsd. (Cupressaceae) // *Ботан. журн.* 2004. № 2. С. 236–244.
13. *Князева С.Г.* Изменчивость морфологических признаков сибирских видов можжевельника // *Лесоведение.* 2007. № 1. С. 65–69.
14. *Князева С.Г.* Внутривидовая изменчивость можжевельника обыкновенного на территории Сибири и Дальнего Востока // *Лесоведение.* 2010. № 4. С. 36–44.
15. *Фарушкина Г.Г., Путенихин В.П.* Можжевельники обыкновенный и казацкий на Южном Урале: распространение, популяционная структура, сохранение генофонда. Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2016. 168 с.
16. *Галушко А.И.* Флора Северного Кавказа. Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 1978. 318 с.
17. *Джанаева В.М.* Определитель семейства можжевельных. Фрунзе: Изд-во Илим, 1969. 93 с.
18. *Черепанов С.К.* Сосудистые растения России и сопредельных государств. С-Пб: Мир и семья, 1995. 990 с.
19. *Имханицкая Н.Н.* Критическая заметка о кавказских видах секции *Juniperus* рода *Juniperus* L. // *Новости сист. высш. раст.* 1990. № 27. С. 5–16.
20. *Хантемирова Е.В., Беркутенко А.Н., Семерилов В.Л.* Систематика и география *Juniperus communis* L. по данным изоферментного анализа // *Генетика.* 2012. Т. 48. № 9. С. 1–8.
21. *Harris H., Hopkinson D.A.* Handbook of Enzyme Electrophoresis. Amsterdam: North\_Holland Publ. Comp., 1976.
22. *Подогас А.В., Шурхал А.В., Семерилов В.Л., Ракицкая Т.А.* Генетическая изменчивость ферментов хвои сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour) // *Генетика.* 1991. Т. 27. № 4. С. 695–703.
23. *Хантемирова Е.В., Семерилов В.Л.* Аллозимный полиморфизм разновидностей можжевельника обыкновенного // *Лесоведение.* 2009. № 1. С. 74–77.
24. *Nei M.* Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // *Genetics.* 1978. V. 83. P. 583–590.
25. *Swofford D.L., Selander R.B.* BIOSYS\_1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electropho-

- retic data in population genetics and systematics // J. Heredity. 1981. V. 72. P. 281–283.
26. Rohlf F.J. NTSYS\_pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Ver. 2.02. [Computer progr.]. N.Y.: Exeter Publ. Ltd., 1988.
27. Devey M.E., Bell J.S., Smith D.N. et al. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers // Theor. Applied Genet. 1996. V. 92. P. 673–679.
28. Taberlet P.T., Geilly L., Patou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Mol. Biol. 1991. V. 17. P. 1105–1109.
29. Ekhyvaia J., Simeone M.K., Silakadze N., Abdaladze O. Morphological diversity and phylogeography of the Georgian durmast oak (*Q. petraea* subsp. *iberica*) and related Caucasian oak species in Georgia (South Caucasus) // Tree Genetics & Genomes. 2018. V. 14. P. 17.

## Comparative Analysis of Genetic and Morpho-Anatomical Variability of Common Juniper (*Juniperus communis* L.)

S. G. Knyazeva<sup>a,\*</sup> and E. V. Hantemirova<sup>b,\*\*</sup>

<sup>a</sup>Federal Research Center Sukachev Institute of Forest of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, 660049 Russia

<sup>b</sup>Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, 620144 Russia

\*e-mail: knyazevas@mail.ru

\*\*e-mail: hantemirova@mail.ru

A complex study of the biological diversity of 27 natural populations of *Juniperus communis* L. on the main part of distribution range was carried out by morphological, anatomical and genetic methods. The taxonomic status of caucasian juniper *J. communis* var. *oblonga* was confirmed. In turn, the populations of this juniper in the North Caucasus are splitted by chloroplast markers into two parts — the western and the eastern. North American *J. communis* var. *depressa* and Far Eastern *J. communis* var. *saxatilis* do not differ in morphological traits and nuclear markers, but differ in chloroplast markers. These varieties are probably related genetic lines, which in similar environmental conditions have acquired external convergent similarity. They can only be distinguished by genetic methods. *J. communis* var. *communis* and *J. communis* var. *saxatilis*, growing in Europe and Asia, are not genetically differentiated, but have statistically significant differences in a number of morphological and anatomical parameters of needles and the predominant life form. Therefore, it seems likely that *J. communis* var. *communis* and *J. communis* var. *saxatilis* are ecotypes that growing in different environmental conditions and have acquired differences in morphology and anatomy.

**Keywords:** Juniper, cpDNA, isoenzyme, nuclear markers, variability, morphology, genetics, intraspecific taxonomy.