

ИНВАЗИЯ *CENCHRUS LONGISPINUS* (POACEAE) В ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЕ: РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ

© 2025 Шанцер И.А.*¹, Кулакова Ю.Ю.², Галкина М.А.¹, Разумова О.В.^{1,3},
Дьяченко Е.А.⁴, Кочиева Е.З.⁴

¹ Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН, Россия, 127276 Москва, Ботаническая ул. 4

² Всероссийский центр карантина растений (ВНИИКР), Россия, 140150, Московская область,
г. о. Раменский, р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32

³ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии,
ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550

⁴ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН,
119071 Россия, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2
e-mail: *ischanzer@gmail.com

Поступила в редакцию 21.11.2024. После доработки 14.07.2025. Принята к публикации 14.08.2025

Представлены результаты популяционно-генетического исследования карантинного инвазионного сорняка *Cenchrus longispinus* на юге европейской части России и Украины. Установлено, что, по данным AFLP-маркирования, во всех изученных локальных популяциях наблюдается исключительно низкий уровень генетической изменчивости при полном отсутствии различий в последовательно-стях ДНК ядерных ITS и пяти пластидных регионов. Вероятно, это связано с эффектом основателя и единичностью первоначальной инвазии, произошедшей, скорее всего, во время Великой Отече-ственной войны. Несмотря на это, все популяции можно разделить на две почти не смешивающиеся между собой группы, различающиеся географическим распространением и векторами расселения. В популяциях вероятно присутствие факультативного апомиксиса и самоопыления, представляющих основные стратегии размножения этого вида.

Ключевые слова: инвазия, *Cenchrus longispinus*, AFLP, популяции, генетическая изменчивость, кластерный анализ.

DOI: 10.35885/1996-1499-18-3-188-205

Введение

Ценхрус длинноколочковый (*Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald) – однолетний североамериканский злак, распространившийся в XX–XXI вв. по Южной и Восточной Европе, Среднему Востоку, Северной Африке, Южной Америке и Юго-Восточной Австралии [Greuter, Raus, 2005; Szigetvári, 2008; Făgăraș, 2018; *Cenchrus longispinus...*, 2024]. Во второй половине XX в. этот вид начал распространяться и по территории юга европейской части СССР [Ларионов, 1951; Протопопова, 1973; Маслова, 1992; Мосякин, 1995; Тохтарь, Фомина, 2010; Schanzer et al., 2013; Есипенко, Саламатин, 2013; Муртазалиев, Мухумаева, 2023]. В систематике рода *Cenchrus* L. до последнего времени наблюдался ряд противоречий, вследствие кото-

рых растение было известно под несколькими названиями, такими как *C. pauciflorus* Benth., *C. incertus* M.A. Curtis и *C. tribuloides* L. Позднее было показано, что правильным и приоритетным названием этого расселившегося в Южной и Восточной Европе вида следует считать *C. longispinus* [Мосякин, 1995; Verloove, Sánchez Gullón, 2012; Кулаков, Кулакова, 2014].

Cenchrus longispinus представляет потенциальную, а местами уже и реальную, опасность для сельского хозяйства юга России и Украины. В связи с этим он включён в перечень карантинных объектов РФ (Приложение к приказу Минсельхоза России от 15 декабря 2014 г. № 501). Опасность этого инвазионного сорняка определяется рядом особенностей его морфологии и экологии. Соцве-

тие у видов ценхруса представляет собой видоизмененную метёлку [Doust, Kellogg, 2002]. Двухцветковые колоски в парциальных соцветиях собраны по два-три и окружены крайне твёрдой колючей шаровидной обёрткой, образованной видоизмененными осями метёлки, в англоязычной литературе называемой специальным термином «bug». Колючки чрезвычайно остры и могут серьёзно ранить людей и домашний скот, особенно опасны они для овец и крупного рогатого скота, у которых при поедании они способны вызвать изъязвления губ, ротовой полости и пищеварительного тракта [Knight, Walter, 2001; Тохтарь, Фомина, 2010]. Эти колючие парциальные соцветия после созревания семян легко обламываются и служат единицами диссеминации. Они легко цепляются не только к одежде людей и шерсти животных, но даже к автомобильным шинам и могут расселяться как путём зоохории, так и путём анемо- и гидрохории [Făgăraş, 2018]. Благодаря этому злак может быстро расселяться по различным местообитаниям с песчаной почвой, в том числе как сорняк пропашных культур, таких как картофель, сорго, арбузы, дыни и кукуруза [Tanji, 2020], снижая урожай за счёт корневой конкуренции и аллелопатического воздействия на культурные растения [Roder et al., 1988; Настуева, 2011], а при массовом разрастании затрудняя или делая вовсе невозможной прополку [Тохтарь, Фомина, 2010]. Семена, находящиеся в твёрдой колючей обёртке, могут прорасти на следующий год после посева или впасть в состояние покоя, оставаясь жизнеспособными в течение последующих 3–5 лет [Тохтарь, Фомина, 2010] или даже больше. По крайней мере, в наших экспериментах семена, полученные из гербарных образцов собранных 10 лет назад, легко и дружно проросли. Перечисленные особенности морфологии и биологии делают *C. longispinus* опасным сорняком, способным причинить значительный экономический ущерб в случае широкой натурализации.

При этом ценхрус длинноколючковый до сих пор остаётся малоизученным видом. Основная масса публикаций, прямо или косвенно затрагивающих различные аспекты изучения ценхруса, посвящена либо указани-

ям на новые местонахождения этого вида во вторичном ареале и на его участие в составе группировок растительности, фенологии и экологии [Настуева, 2011], либо его характеристике как опасного сорняка и методам борьбы с ним, обычно в совокупности с другими сорно-полевыми видами [Даниленкова, 2012]. Сведения по биологии этого вида крайне скудны. Известно, что большинство видов рода *Cenchrus* диплоидны. Основным хромосомным числом для азиатских и африканских видов рода *Cenchrus* считается $n = 9$, а для всех американских видов, в том числе *C. longispinus*, характерно основное число хромосом $n = 17$ [Donadío et al., 2009]. Содержание ДНК в ядрах клеток у североамериканских представителей этого вида составляет $2C = 3,9$ пг [Bai et al., 2012].

Молекулярно-генетические исследования представителей рода *Cenchrus* также ограничены. Монофилия рода была показана в филогенетическом исследовании трибы Paniceae [Doust et al., 2007]. Однако позднее, в специальном исследовании филогении близких родов *Cenchrus* и *Pennisetum*, было показано, что они не вполне монофилетичны, так как ряд видов *Pennisetum* оказываются включёнными в кладу *Cenchrus* [Donadío et al., 2009]. Также была определена последовательность пластидного генома *C. longispinus* и *C. echinatus* и на основе сравнительного анализа разработаны видоспецифичные маркеры [Hyun et al., 2019]. Молекулярно-генетические данные подтвердили наличие факультативного апомиксиса (апоспории) у африканского вида *C. ciliaris* L., широко используемого в Африке и на Ближнем Востоке как фуражная культура (буфельская трава), а также у близкородственных родов трибы Paniceae, в первую очередь видов рода *Pennisetum* [Roche et al., 1999]. Установлено, что апоспория у этих видов контролируется гемизиготной наследуемой группой тесно сцепленных генов [Goel et al., 2003]. Для выявления этого региона у *C. ciliaris* был разработан набор SCAR-маркеров [Ozias-Akins et al., 1998].

Вместе с тем исследований, посвящённых структуре и генетике популяций *C. longispinus* или каких-либо иных видов этого рода, до настоящего времени нигде не проводилось.

Целью нашей работы стали оценка внутри- и межпопуляционной изменчивости *C. longispinus* на юге России и Украине, а также вероятные источники, число и время вселений. Так как в силу ряда причин работа над данной статьей заняла очень длительное время, на картах государственные границы показаны так, как они проходили в 2012–2013 гг., когда была собрана основная масса материала. Однако с учётом вхождения в последние годы ряда инфицированных *C. longispinus* территорий юга Украины в состав РФ актуальность нашего исследования за это время только возросла.

Материал и методы

Материал для исследования был собран в 2012–2013 гг. из большого числа локальных популяций на юге России, на Украине, а также в Венгрии и на севере Италии. Как правило,

мы собирали из каждой локальной популяции от 5 до 10 растений (гербарий и высушенные в силикагеле листья), чтобы учесть возможность внутривидовой изменчивости. Для целей дальнейшего анализа некоторые близко расположенные локальные популяции в дальнейшем рассматривались как одна. Так, мы сгруппировали образцы из близко расположенных локальных популяций в 12 условных популяций. Локальной популяцией мы считали любой конкретный пространственно ограниченный участок, на котором были встречены растения *C. longispinus*. Как правило, такие участки не превышали по площади нескольких десятков квадратных метров. В условную популяцию группировались растения из локальных популяций, расположенных на расстоянии от нескольких сот метров до 4–5 км друг от друга. Изученные образцы и популяции перечислены в таблице 1.

Таблица 1. Изученные образцы *Cenchrus* для AFLP-анализа и проверки на вероятность присутствия апомиксиса с использованием SCAR-маркеров

Вид	Популяция-образец (AFLP)	Образец (SCAR)	Гербарная этикетка и полевой номер образца или [условный номер]	Гербарий*
<i>C. longispinus</i>	1-1		Италия, пров. Венеция, Лидо-ди-Йезоло, 500 м к ЮЗ от устья р. Пьяве. Шанцер, Григорьева. 25.07.2013. IEM04	МНА
"-"		5	"-" IEM06	МНА
"-"	2-1	8	Венгрия, Кишкуншаг нац. парк, пишаний степ, стешки. Мойсиенко. 16.08.2012. KNP01	МНА
"-"	2-2		"-" KNP02	МНА
"-"	2-3		"-" KNP03	МНА
"-"	2-4		"-" KNP03	МНА
"-"	2-5		Венгрия, ок. 8 км к З от г. Кечкемет, 1 км к ЮВ от дер. Фулопхаза, распаханное песчаное поле по краю виноградника. Шанцер, Григорьева. 24.07.2013. HF04	МНА
"-"		6	"-" HF01	МНА
"-"		7	Венгрия, ок. 40 км к ЮЮВ от Будапешта, в окраине дер. Кунбаракс, на рыхлом песке по меже среди посадок Robinia. Шанцер, Григорьева. 24.07.2013. НК10	МНА
"-"	3-1		Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, окр. пос. Голая Пристань, Черноморский заповедник, Соленоозерный участок, близ Сторожевого кордона. Шанцер, Кулакова, Уманец. 18.07.2012. S2-03	МНА
"-"	3-2		Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, окр. пос. Голая Пристань, Черноморский заповедник, Ивано-Рыбальчанский участок, близ Рыбальчанского кордона. Шанцер, Кулакова, Уманец. 18.07.2012. R5-08	МНА
"-"	3-3	13	Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, окр. пос. Голая Пристань, Черноморский заповедник, Ивано-Рыбальчанский участок, близ Ивановского кордона Шанцер, Кулакова, Уманец. 18.07.2012. R7-01	МНА

Таблица 1. Продолжение

-"-	3-4		-"- R7-03	МНА
-"-	3-5		-"- R7-04	МНА
-"-	4-1	12	Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, пос. Голая Пристань, под забором частного дома. Шанцер, Кулакова, Уманец. 17.07.2012. GP2-03	МНА
-"-	4-2		Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, окр. пос. Голая Пристань, у забора мукомольного комбината, на песке. Шанцер, Кулакова, Уманец. 18.07.2012. GP3-10	МНА
-"-	4-3		Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, пос. Голая Пристань, поле стадиона Детской спортивной школы, разбитые участки, песок. Шанцер, Кулакова. 19.07.2012. GP4-02	МНА
-"-	4-4		Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, пос. Голая Пристань, парк, на песке. Шанцер, Кулакова. 19.07.2012. GP5-01	МНА
-"-	4-5		-"- GP5-04	МНА
-"-	5-1		Украина, Херсонская обл., окраина г. Херсон, лев. берег Днепра, песчаная дорога по дамбе около дач. Шанцер, Кулакова. 21.07.2012. HR1-03	МНА
-"-	5-2		Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, 1 км к С от пос. Труд, на кукурузном поле. Шанцер, Кулакова, Мойсиенко. 21.07.2012. HR2-05	МНА
-"-		10	Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, 2 км к ЮЗ от с. Проминь, на разбитом песке. Шанцер, Кулакова, Мойсиенко. 21.07.2012. HR4-05	МНА
-"-	5-3	9	Украина, Херсонская обл., Скадовский р-н, с. Проминь, обочина песчаной дороги. Шанцер, Кулакова, Мойсиенко. 21.07.2012. HR5-05	МНА
-"-	6-1		Украина, Николаевская о., Октябрьский р-н, окр. Николаевского глиноземного завода. Обочина дороги. Шанцер, Кулакова, Мойсиенко. 22.07.2012. N5-01	МНА
-"-		11	Украина, Херсонская обл., ж.-д. вокзал г. Херсон. На путях и гранитном щебне между путями. Шанцер, Кулакова. 23.07.2012. N9-04	МНА
-"-	7-1		Украина, г. Киев, Броварской просп., между ст. метро «Левобережная» и «Дарница», на рыхлом песке вдоль ж.-д. полотна. Шанцер, Кулакова. 15.07.2012. LD6-01	МНА
-"-	7-2	15	Украина, г. Киев, Броварской просп., между ст. метро «Левобережная» и «Дарница», на рыхлом песке вдоль ж.-д. полотна. Шанцер, Кулакова. 15.07.2012. LD7-01	МНА
-"-	7-3		Украина, г. Киев, Броварской просп., между ст. метро «Левобережная» и «Дарница», на рыхлом песке вдоль ж.-д. полотна. Шанцер, Кулакова. 15.07.2012. LD8-01	МНА
-"-	8-1		Украина, г. Киев, ул. Героев Днепра. На песке у тротуара. Шанцер, Кулакова. 14.07.2012. GD1-01	МНА
-"-	8-2		-"- GD1-02	МНА
-"-	8-3	14	-"- GD1-03	МНА
-"-	9-1		Украина, Крым, близ сортировочного узла ж.-д. ст. в г. Инкерман. Кулакова, Кулаков. 07.2013. I-02	ВНИИКР
-"-	9-2		-"- I-03	ВНИИКР
-"-	9-3		-"- I-04	ВНИИКР
-"-	10-1		[Россия], г. Ростов-на-Дону, ЮВ окраина ботанического сада, ж.-д. насыпь. Куропятников. 13.09.2004. Rost1	RWBG
-"-	10-2		[Россия], Ростов-на-Дону, ж.-д. ст. Кизитеринка. Кулакова, Кулаков. 08.2012. CR3-1	ВНИИКР

-"-	10-3	21	-"- CR3-2	ВНИИКР
-"-	10-4		-"- CR3-4	ВНИИКР
-"-	11-1	20	[Россия], Краснодар, кольцо трамвая. Кулакова, Кулаков. 08.2012. СКР-1	ВНИИКР
-"-	11-2		[Россия], Краснодарский край, ж.-д. ст. Горячий Ключ. Кулакова, Кулаков. 08.2012. GQ-1	ВНИИКР
-"-	11-3		[Россия], Краснодарский край, г. Новороссийск, ж.-д. пути в районе порта. Кулакова, Кулаков. 08.2012. Nov-2	ВНИИКР
-"-	11-4		[Россия], Краснодарский край, Порт Кавказ, вблизи паромной переправы в Крым, по ж.-д. путям. Кулакова, Кулаков. 08.2012. Port10	ВНИИКР
-"-	11-5		[Россия], Краснодарский край, Горячий Ключ, ж.-д. ст. Саратовская. Кулакова, Кулаков. 08.2012. Sar7	ВНИИКР
-"-	12-1	23	Россия, Волгоградская обл., Ворошиловский р-н г. Волгоград. Трамвайные пути в окрестностях остановки «Ул. Ростовская». На супесчаной почве и отсыпке путей. Чиркина. 12.08.2002. VL02-5	МНА
-"-	12-2		Россия, Волгоградская обл., г. Волгоград. Пойма р. Царица близ устья. На песке. Кулакова. 07.08.2012. Volg8	МНА
-"-	12-3	22	Россия, Волгоградская обл., г. Волгоград. Пойма р. Царица близ устья. На песке. Кулакова. 07.08.2012. CV12	МНА
-"-	12-4		Россия, Волгоградская обл., г. Волгоград, автопарковка близ ост. трамвая «Моздокская» на ул. Кулакова. 21.09.2012. CV6/1 (Volg7)	МНА
-"-		16	[Россия], 1 км юго-восточнее ж.-д. вокзала г. Астрахань, на песке у ж.-д. насыпи. Лактионов, Юрцева. 18.08.2003. [MW2]	MW
-"-		17	[Украина], Крым, Симферополь, 9 км N ст. Битумная, на отвалах песка. Ена 7.10.2003 [MW6]	MW
-"-		18	[УССР], Донецкая обл., ж.-д. ст. Дебальцево, на рельсах ж.-д. Тохтарь. 06.10.1990 [МНА1]	МНА
-"-		19	[Россия], Белгородская обл., г. Белгород. Рядом с ж.-д. полотном в 300 м южнее здания ж.-д. вокзала Белгорода. Тохтарь, Фомина. 23.07.2009 [МНА3]	МНА
<i>C. echinatus</i>	ech1		Egypt, Southern Sinai, Sharm el Sheik. J. Rybensky. no. 2007-219 15.04.2002. Ce-219	PRC
<i>C. echinatus</i>	ech2		[USA]: Florida, Alachua County, Morningside Nature Center, disturbed garden. Kabat 55 16.05.2001. Flg01	FLAS
<i>C. spinifex</i>	spi1		SE USA, N Carolina, Carteret Co., Beaufort, Pivers Island, near the bridge. Sandy places. J. Kirschner no. 889 26.09.2008. CsK889	PRA
<i>C. spinifex</i>	spi2		SE USA, N Carolina, Carteret Co., Beaufort, Pivers Island, near the bridge. Sandy places. J. Kirschner no. 890 26.09.2008. CsK890	PRA
<i>C. ciliaris</i>	cil1		Марокко, Рабат, во дворе университета. Шанцер и др. 09.09.2013. RV2b	МНА
<i>C. ciliaris</i>	cil2		-"- RV2f	МНА
<i>C. ciliaris</i>		1, 2, 3, 4	-"- RV1, RV2c, RV2d, RV2e	МНА

* Акронимы гербарных хранилищ приведены по Index Herbariorum (<https://sweetgum.nybg.org/science/ih/>), кроме Гербария Всероссийского центра карантина растений (ВНИИКР), который не имеет акронима.

В работе были также использованы материалы гербариев Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА), Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (MW), Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE), Ботанического сада Южного федерального университета (RWBG), Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины (KW), Херсонского государственного университета (KHER), Флоридского музея естественной истории (FLAS), Карлова университета в Праге (PRC), Института ботаники Чешской академии наук в Пругонице (PRA) и Всероссийского центра карантина растений (ВНИИКР). В том числе был изучен ряд образцов близких видов (*C. echinatus* L. и *C. spinifex* Cav.), использованных в качестве внешней группы, в которую также были включены образцы *C. ciliaris*, собранные нами в Марокко в 2013 г.

Выделение ДНК и проведение ПЦР

Все наши попытки получить ДНК хорошего качества из листьев гербарных или высушенных в силикагеле образцов оказались безуспешными. Поэтому в дальнейшем для извлечения ДНК использовались только свежие листья проростков. Семена извлекали из колючих соплодий и в дальнейшем проращивали на смоченной водой фильтровальной бумаге в чашках Петри в темноте при комнатной температуре. Всхожесть семян варьировала от 50 до 100%. ДНК выделяли из листьев 3–5 дневных проростков СТАВ методом [Doyle, Doyle, 1987].

Маркеры пластидного и ядерного геномов. Для оценки изменчивости различных потенциальных маркеров ДНК у *C. longispinus* были использованы праймеры для некодирующих пластидных (*psbA-trnH*, *trnL-trnF*, *trnQ-rps16*, *rpl32-trnL*, интрон гена *rps16*) и ядерных (внутренний транскрибируемый спейсер рибосомального оперона (ITS)) участков, ранее успешно применённых другими авторами в филогеографических и популяционно-генетических исследованиях различных групп растений [Taberlet et al., 1991; Wen, Zimmer, 1996; Shaw et al., 2005, 2007]. Для тестирования образцов *C. longispinus* на возможное присутствие апомиксиса исполь-

зовали набор праймеров, опубликованных в работе [Ozias-Akins et al., 1998]. Условия ПЦР были те же, что в упомянутой работе. Визуализацию продуктов ПЦР проводили электрофорезом в 1,5% агарозном геле в 0,5 × TBE (pH = 8,3) буфере с окрашиванием бромидом этидия (0,5 мкг/мл) при 125 В и фотографировали с использованием гель-документирующей системы GelDoc-It (UVP, США). Контролем служили образцы *C. ciliaris* из Марокко. Во всех случаях была использована ДНК, извлечённая из проростков, полученных из семян, собранных с гербарных образцов.

Фрагментный анализ ДНК (AFLP).

AFLP-анализ проводили по стандартной методике [Vos et al., 1995]. В AFLP-анализ брали 300 мкг ДНК каждого образца, гидролизовали рестриктазами *EcoRI* и *TruI* по 3 часа при температуре 37 и 65 °С соответственно, лигировали с соответствующими адаптерами и подвергали двум последовательным раундам селективной амплификации. В первом раунде амплификации были использованы стандартные адаптерные праймеры *Eco+1* и *Tru+1* с одним селективным нуклеотидом на 3'-конце каждого праймера. Для второго раунда амплификации были использованы различные сочетания *EcoRI/TruI* праймеров с двумя или тремя селективными нуклеотидами 3'-конца каждого праймера.

Полученные ПЦР фрагменты разделяли в 6%-м денатурирующем полиакриламидном геле. Электрофорез проводили с помощью гель-анализатора LiCOR 4300 по стандартной методике (LiCOR operator manual). В анализ были включены 40 образцов *C. longispinus* из 12 популяций, в том числе один образец из популяции на севере Италии и 5 образцов из двух локальных популяций в Венгрии (см. табл. 1). В анализ были также включены 6 образцов внешней группы: по 2 образца *C. echinatus*, *C. spinifex* и *C. ciliaris*.

Анализ полученных AFLP-фрагментов проводили в полуавтоматическом режиме с использованием программы CrossChecker [Buntjer, 1999]. Учитывались только чёткие фрагменты. Полученная в результате бинарная матрица (0/1) была проанализирована методами главных координат (PCoA) и кластерного (UPGMA) анализа в программе

PAST 4.11 [Hammer et al., 2001], а также методом байесовской кластеризации в программе STRUCTURE 2.3.4. [Pritchard et al., 2000]. В последнем случае использовалась модель генетического смешения (admixture) со скоррелированными частотами аллелей (allele frequencies correlated). Анализ проводили в течение 600 000 итераций марковской цепи в шести повторностях для $K = 1-7$, период burn-in во всех случаях составлял 100 000 итераций. Результаты анализа в программе STRUCTURE были интерпретированы с использованием ресурсов STRUCTURE Harvester [Evanno et al., 2005; Earl & Holdt, 2012] и CLUMPack [Kopelman et al., 2015]. Популяционно-генетические параметры выборов рассчитывали в программе PopGene 1.32 [Yeh et al., 1999]. Иерархический анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) проводили в программе Arlequin 3.5.2.2 [Excoffier et al., 2007]. Для оценки дифференциации локальных популяций также рассчитывали статистику D Джоста [Jost, 2008; Jost et al., 2018; Кузнецов, 2021], характеризующую «истинную дифференциацию», по формуле $D = [(H_T - H_S) / (1 - H_S)] \times [k / (k - 1)]$, где H_T – средняя ожидаемая гетерозиготность для популяции, H_S – средняя ожидаемая гетерозиготность для субпопуляции, k – число субпопуляций.

Определение чисел хромосом и оценка плоидности. Для определения числа хромосом проращивали семена, собранные с образцов HF05 (Венгрия, ок. 8 км к З от г. Кечкемет, 1 км к ЮВ от дер. Фулопхаза, распаханное песчаное поле по краю виноградника. Шанцер, Григорьева 24.07.2013) и VL02 (Россия, Волгоградская обл., Ворошиловский р-н г. Волгоград. Трамвайные пути в окрестностях остановки «Ул. Ростовская». На супесчаной почве и отсыпке путей. Чиркина 12.08.2002), хранящихся в Гербарии ГБС РАН (МНА). Препараты хромосом готовили из молодых, активно растущих корней проростков методом SteamDrope [Kirov et al., 2014] с небольшими модификациями. Предфиксационную обработку проводили в 2 мМ растворе 8-гидроксихинолина при комнатной температуре в течение 4 часов. Фиксацию производили уксусным алкоголем (3 части 96%-го этанола и одна часть ледяной уксусной кислоты), за-

фиксированный материал хранили при -20°C . Полученные постоянные препараты анализировали с использованием фазово-контрастного конденсора. Далее наиболее удачные окрашивали DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндола) в растворе 2xSSC в течение 10 минут и фотографировали на максимальном увеличении (объектив 100x, масляная иммерсия) на флуоресцентном микроскопе Leica DM6 В камерой DFC 9000 GTC (Leica) с использованием программного обеспечения LAS X.

Плоидность растений определяли методом проточной цитометрии на анализаторе плоидности Partec Flo Max в лаборатории Института Ботаники АН Чехии (Пругонице, Чешская Республика) согласно протоколу, описанному в публикациях [Suda, Trávníček, 2006; Doležel et al., 2007]. Были исследованы 7 образцов *C. longispinus* из разных популяций с территории Украины (GD1-02, GP2-02, GP2-03, LD7-01, R7-04) и Венгрии (KNP01, KNP03) (см. табл. 1). Были исследованы высушенные листья гербарных образцов, в качестве внутреннего стандарта использовались листья *Pisum sativum* сорта 'Ctirad'.

Результаты

Анализ фрагментов пластидного и ядерного геномов *C. longispinus*. Мы успешно амплифицировали и секвенировали пластидные межгенные спейсеры *psbA-trnH*, *trnL-trnF*, *trnQ-rps16*, *rpl32-trnL*, интрон гена *rps16*, а также ядерный внутренний транскрибируемый спейсер рибосомального оперона (ITS). Для предварительной оценки внутривидового полиморфизма этих участков использовали ограниченный, от 9 до 12, набор образцов из географически удалённых местонахождений, а также несколько образцов других видов (*C. echinatus*, *C. spinifex* и *C. ciliaris*) в качестве внешней группы. В результате для каждого из 9–12 образцов *Cenchrus* было суммарно проанализировано 2040 н.п. пластидного и 630 н.п. ядерного генома. Однако, несмотря на то что выбранные участки считаются наиболее полиморфными у большинства растений, ни в одном из пяти пластидных участков у *C. longispinus* не удалось выявить внутривидовой изменчивости; последовательности всех образцов оказались

идентичными. Единичные замены и/или индели были выявлены только для образцов внешней группы. Также никакой изменчивости не удалось выявить в последовательностях ядерного внутреннего транскрибируемого спейсера ITS, единичные замены или индели здесь также наблюдались только в сравнении с образцами внешней группы. Это говорит о достаточно высоком внутривидовом консерватизме как *C. longispinus*, так и, вероятно, всего рода. Так как проведённые исследования не выявили полиморфизма у образцов наиболее отдалённых популяций, анализ этих фрагментов на всем массиве образцов не проводили.

AFLP-анализ образцов *C. longispinus*. В AFLP-анализ было взято 50 образцов: 42 образца из локальных популяций *C. longispinus* из России, Украины, Италии и Венгрии и по 2 образца *C. spinifex*, *C. echinatus* и *C. ciliaris* в качестве внешней группы. Для анализа было взято семь AFLP-праймеров с различным сочетанием двух или трёх селективных нуклеотидов на 3'-конце (Е-ACA/М-CGA, Е-ACA/М-CTG, Е-AGG/М-CGA, Е-ACA/М-CCC,

Е-AC/М-CCG, Е-AC/М-CTG, Е-AC/М-CC). Всего было получено 257 AFLP-маркеров, из которых 221 был полиморфным с учётом внешней группы, 52 были полиморфными в пределах исследуемой группы *C. longispinus* с учётом образцов из Италии и Венгрии, 48 – без учёта образца из Италии и только 34 – были полиморфными для образцов ценхруса длинноколючкового из России и Украины. Таким образом, проведённый AFLP-анализ выявил достаточно низкий уровень генетического разнообразия.

Проведённый кластерный анализ (UPGMA, дистанция Жаккара) чётко отделил 42 образца *C. longispinus* от шести образцов родственных видов с высокими (79–100%) бутстреп-поддержками (рис. 1). Наиболее генетически далёкими от остальных видов, как и ожидалось, оказались два образца *C. ciliaris* из Марокко. Также на дендрограмме в отдельный кластер выделяются два образца *C. echinatus* из США и Египта. Наиболее близкий к *C. longispinus* кластер образуют два образца *C. spinifex* из Флориды (США). Тем не менее дистанция между ними и кластером

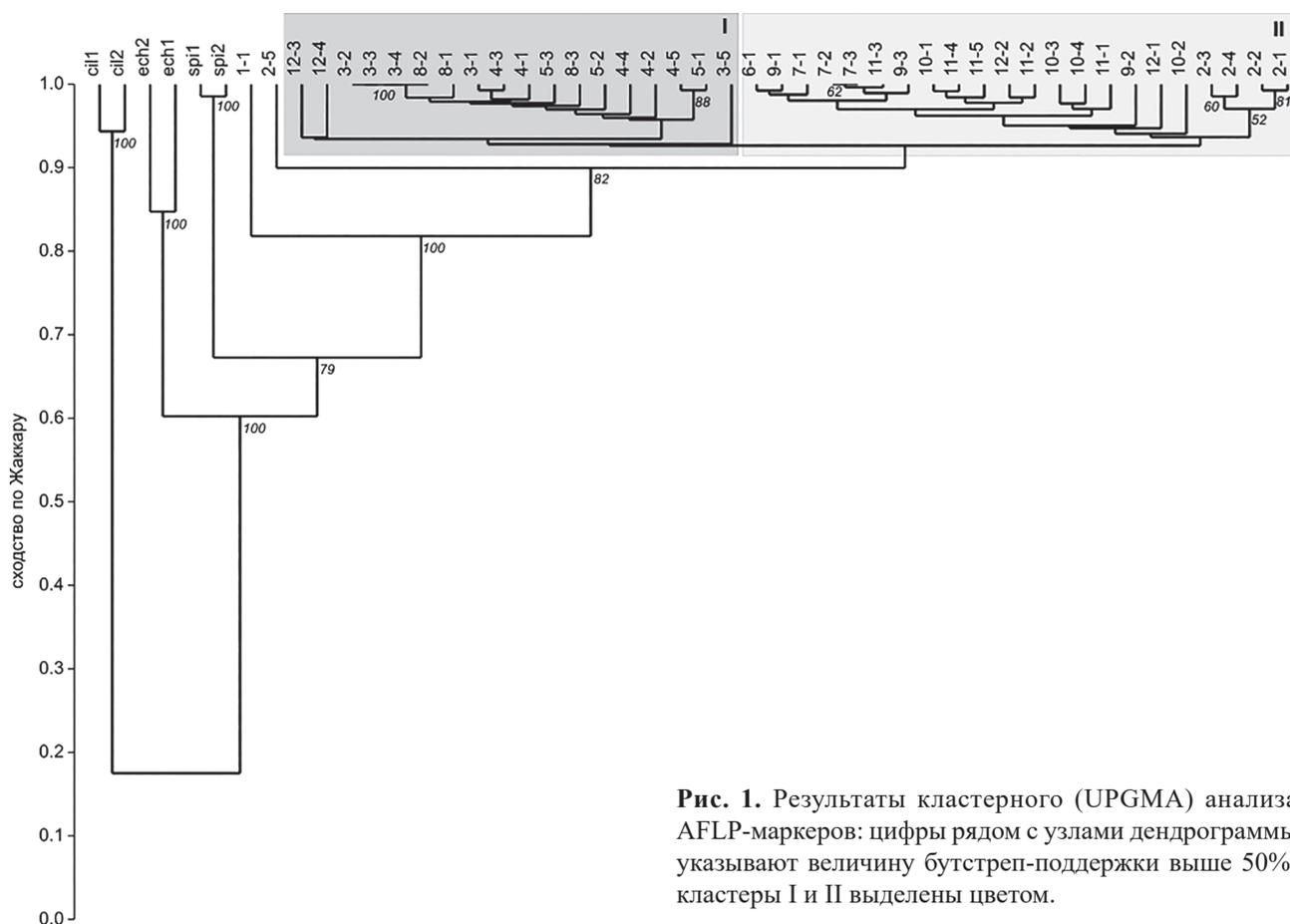


Рис. 1. Результаты кластерного (UPGMA) анализа AFLP-маркеров: цифры рядом с узлами дендрограммы указывают величину бутстреп-поддержки выше 50%; кластеры I и II выделены цветом.

C. longispinus выше, чем между образцами в пределах последнего, что подтверждает правильность определения образцов этих двух морфологически очень сходных видов.

Кластер *C. longispinus* распадается на несколько субкластеров с разной степенью сходства. В пределах исследуемой группы наиболее генетически отличным от остальных оказывается образец из Италии (1-1), образовавший самостоятельный кластер, сестринский по отношению ко всем остальным. Вторым по удалённости оказался образец из Венгрии из окрестностей с. Фулопхаза (2-5), в то время как остальные четыре образца из Венгрии (2-1, 2-2, 2-3, 2-4), хоть и сгруппировались вместе, но кластеризовались с образцами из России и Украины (см. рис. 1).

Остальные 36 образцов *C. longispinus* разделились на два генетически очень близких субкластера I и II, в которых оказались отчасти перемешаны образцы из разных локальных популяций. В I субкластер попали все популяции с территории Херсонской обл. и правобережной части Киева (3, 4, 5 и 8). Во II субкластер оказались объединены образец из окрестностей Николаева (6), образцы с ж.-д. путей в левобережной части Киева (7), образцы из Крыма (9), Ростова-на-Дону (10) и Краснодарского края (11), а также 4 образца из национального парка Кишкуншаг в Венгрии, образовавшие самостоятельный субкластер с низкой поддержкой (2). Образцы из Волгограда (12) попали в оба кластера.

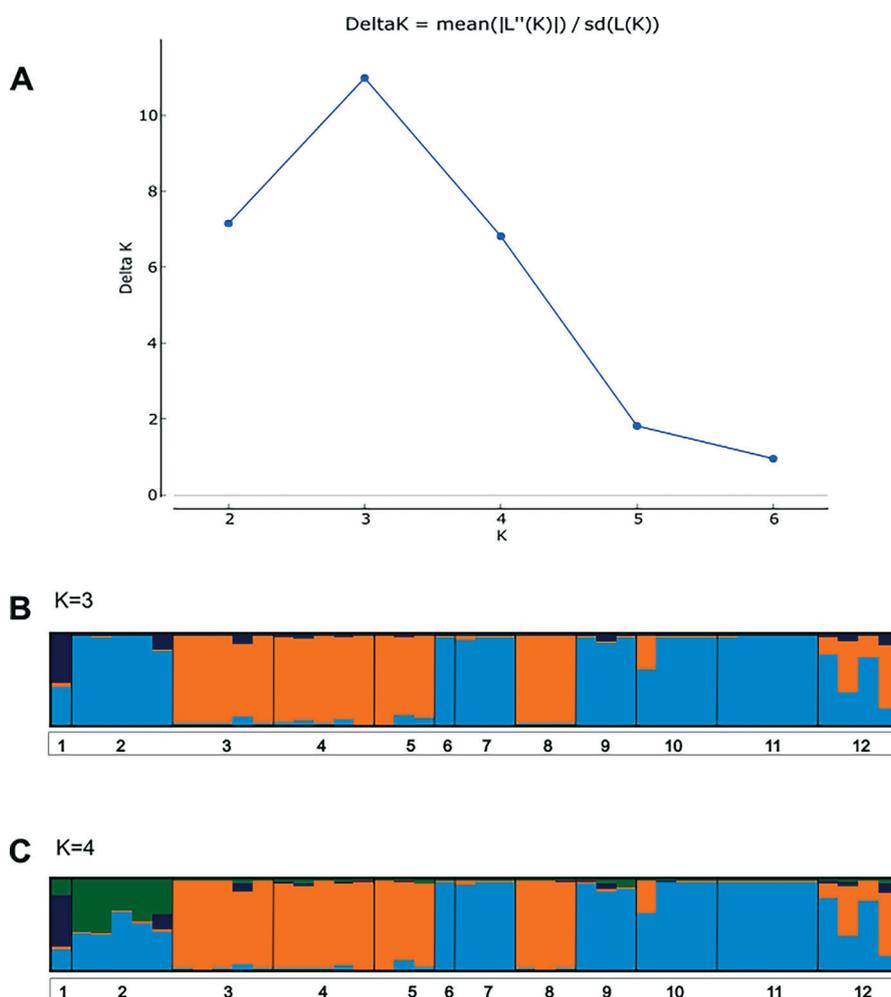


Рис. 2. Результаты анализа в программе STRUCTURE: А – график изменения величины ΔK ; по вертикальной оси указаны значения ΔK , по горизонтальной – число кластеров; В – столбчатая диаграмма распределения апостериорных вероятностей отнесения исследованных образцов к одному из трёх кластеров ($K = 3$); С – столбчатая диаграмма распределения апостериорных вероятностей отнесения исследованных образцов к одному из четырёх кластеров ($K = 4$); кластеры показаны разным цветом: фиолетовый – кластер 0; оранжевый – кластер 1; голубой – кластер 2; зелёный – кластер 3; популяции на столбчатых диаграммах разделены вертикальными линиями, их номера (см. табл. 1) указаны под столбчатыми диаграммами.

Байесовский анализ 42 образцов *C. longispinus* в программе STRUCTURE определил оптимальное число генетических групп в выборке равным трём в соответствии с методом ΔK (рис. 2, А, В). Группа 0 представлена единственным образцом из Италии, который оказался генетически смешанным (admixed) с группой 2 в соотношении примерно 1:1. Остальные образцы всех популяций распределились между группами 1 и 2, в большинстве случаев с низкой степенью генетического смешения. Группа 1, как и в случае иерархического кластерного анализа, включила популяции 3, 4, 5 и 8 (юг Херсонской обл. и правобережье Днепра в Киеве). Для всех образцов группы 1 примесь генетического материала из других групп оказалась крайне низкой.

В группу 2 вошли образцы из популяций 2 (Венгрия), 6 (Николаев), 7 (с ж.-д. путей в левобережной части Киева), 9 (Крым), 10 (Ростов-на-Дону), 11 (Краснодарский край) и 12 (Волгоград). Три образца из Ростова-на-Дону (10-1) и два из Волгограда (12-2, 12-4) оказались значительно генетически смешанными с группой 1. Один образец из Венгрии оказался генетически смешанным с группой 0. При субоптимальном разделении выборки на 4 группы ($K = 4$: рис. 2, С) все образцы из Венгрии выделяются в четвёртую

группу (группа 3), генетически смешанную с группой 2. При этом состав и степень генетического смешения образцов из групп 1 и 2 остаются неизменными по сравнению с $K = 3$. Географическое распространение групп (для $K = 4$) показано на рис. 3. Как видно из рис. 3, образцы и популяции, отнесённые к группе 1, имеют локальное распространение на юге Херсонской обл. и на правобережье Днепра в Киеве. Отдельные генетически смешанные образцы из популяций группы 2 встречены в Ростове-на-Дону и Волгограде. Популяции группы 2 распространены наиболее широко и всегда географически отдельно от популяций группы 1, за исключением отдельных генетически смешанных образцов (10-1; популяция 12).

При этом необходимо также отметить, что в двух из шести запусков программа STRUCTURE не смогла найти оптимального разделения выборки на генетические группы, объединяя все образцы в один кластер при любом заданном числе групп K .

Популяционно-генетический анализ.

Анализ изменчивости AFLP-маркеров в программе PopGen проводили, исключив популяцию 1 из Италии, так как она была представлена единственным образцом, наиболее сильно генетически отличающимся от остальных и

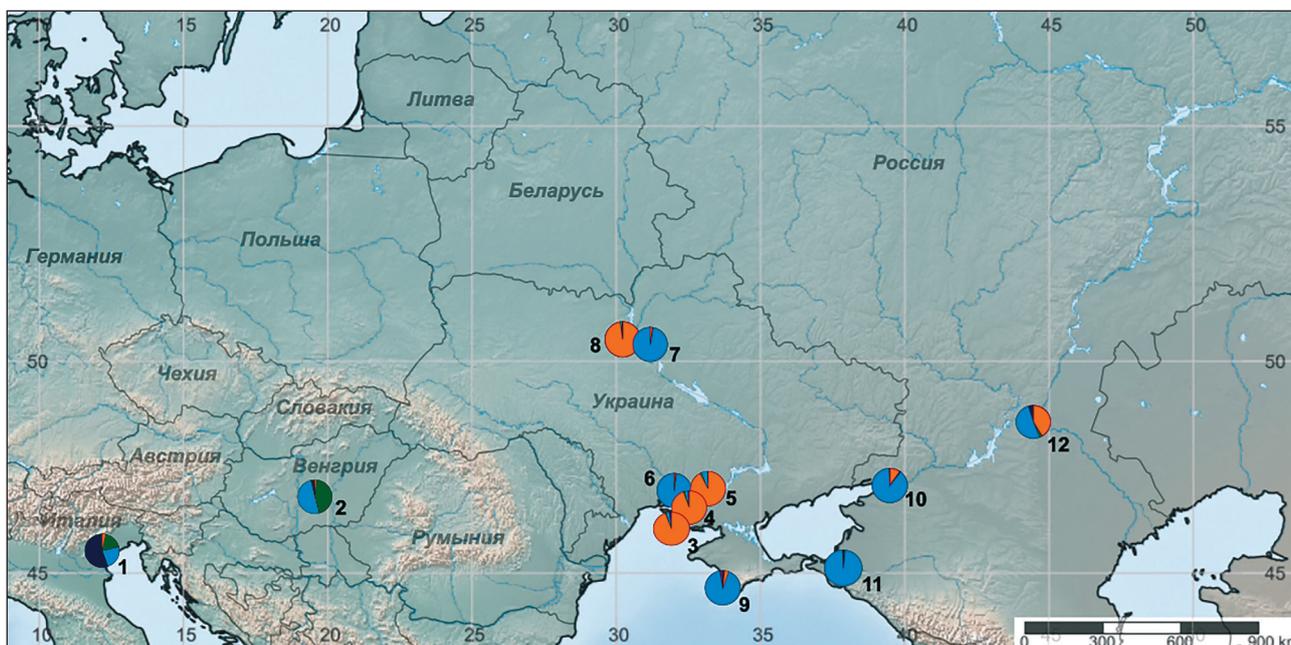


Рис. 3. Географическое распространение кластеров, выявленных в программе STRUCTURE ($K = 4$) в популяциях *Cenchrus longispinus*: номера популяций соответствуют значениям табл. 1; цвета, обозначающие кластеры, соответствуют столбчатой диаграмме на рис. 2, В: 0 – фиолетовый, 1 – оранжевый, 2 – голубой, 3 – зелёный.

Таблица 2. Генетическое разнообразие в популяциях *C. longispinus*

Локальная популяция	N*	na**	ne***	h****	I*****	Число полиморфных локусов	% полиморфных локусов
2	5	1.05±0.21	1.02±0.12	0.02±0.07	0.02±0.11	12	4.67
3	5	1.03±0.16	1.02±0.11	0.01±0.06	0.01±0.09	7	2.72
4	5	1.05±0.22	1.02±0.10	0.01±0.06	0.02±0.09	13	5.06
5	3	1.03±0.16	1.02±0.11	0.01±0.06	0.02±0.09	7	2.72
6	1	—	—	—	—	—	—
7	3	1.00±0.06	1.00±0.06	0.00±0.03	0.00±0.04	1	0.39
8	3	1.02±0.12	1.01±0.09	0.01±0.05	0.01±0.07	4	1.56
9	3	1.03±0.16	1.02±0.10	0.01±0.06	0.02±0.09	7	2.72
10	4	1.05±0.21	1.02±0.12	0.02±0.07	0.02±0.11	12	4.67
11	5	1.03±0.16	1.02±0.11	0.01±0.06	0.01±0.09	7	2.72
12	4	1.06±0.23	1.03±0.14	0.02±0.08	0.03±0.12	14	5.45
Группа 1: 3+4+5+8	15	1.08±0.28	1.02±0.10	0.02±0.06	0.03±0.10	21	8.17
Группа 2: 2+6+7+9+ 10+11+12	24	1.14±0.34	1.04±0.13	0.02±0.08	0.04±0.12	35	13.62
Всего	40	1.19±0.39	1.05±0.17	0.03±0.10	0.05±0.14	48	18.68

* N = число исследованных образцов; ** na = среднее число аллелей; *** ne = эффективное число аллелей; **** h = генетическое разнообразие по Нею; ***** I = информационный индекс Шеннона.

образовавшим самостоятельную, хотя и генетически смешанную, группу 0. Анализ выявил крайне низкое генетическое разнообразие для всех локальных популяций (табл. 2).

Только в двух локальных популяциях (города Волгоград и Херсон) доля полиморфных локусов оказалась чуть выше 5%, в остальных она существенно ниже. Индекс генетического разнообразия Нея (h) для всех локальных популяций оказался близким по величине и не превышающим 0,02 (0,03 для всех популяций в целом). Для двух выявленных кластеров доля полиморфных локусов оказалась 8,17 и 13,62% соответственно, а генетическое разнообразие Нея $h = 0,02$ для обоих. Средняя ожидаемая гетерозиготность для обоих кластеров оказалась крайне низкой, а оценка дифференциации локальных популяций противоречивой: если значения G_{st} в обоих случаях достаточно высоки, то величина D близка к нулю (табл. 3).

Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) показал, что 64,07% дисперсии приходится на изменчивость внутри локальных популяций, 23,0% – на изменчивость внутри групп популяций и только 12,93% – на изменчивость между группами. Все индексы фиксации оказались статистически достоверными ($p \ll 0,01$) и равными $F_{sc} = 0.264$ для популяций и $F_{st} = 0.359$ для двух групп.

Числа хромосом и уровень плоидности. Прямой подсчет чисел хромосом был произведен в корешках проростков из семян двух образцов (из г. Волгоград и Венгрии). В обоих случаях было установлено $2n = 34$ (рис. 4). Из литературы известно, что для американских видов *Cenchrus* характерно основное число хромосом $x = 17$ [Donadío et al., 2009], так что наши растения следует считать диплоидами. Дополнительно мы исследовали ещё 12 образцов методом проточной цитометрии, которые показали одинаковый уровень

Таблица 3. Генетическая дифференциация групп популяций *C. longispinus*

Группа	H_T^*	H_S^{**}	G_{st}	Nm^{***}	D^{****}
1	0,0148±0,0037	0,0095±0,0015	0,3615	0,8832	0,004
2	0,0190±0,0053	0,0098±0,0010	0,4841	0,5327	0,008

* H_T – средняя ожидаемая гетерозиготность для кластера; ** H_S – средняя ожидаемая гетерозиготность для локальной популяции; *** Nm – оценка величины потока генов (число мигрантов на поколение), рассчитанная из G_{st} : $Nm = 0,5(1 - G_{st}) / G_{st}$ [McDermott & McDonald, 1993]; **** D – статистика Джоста.

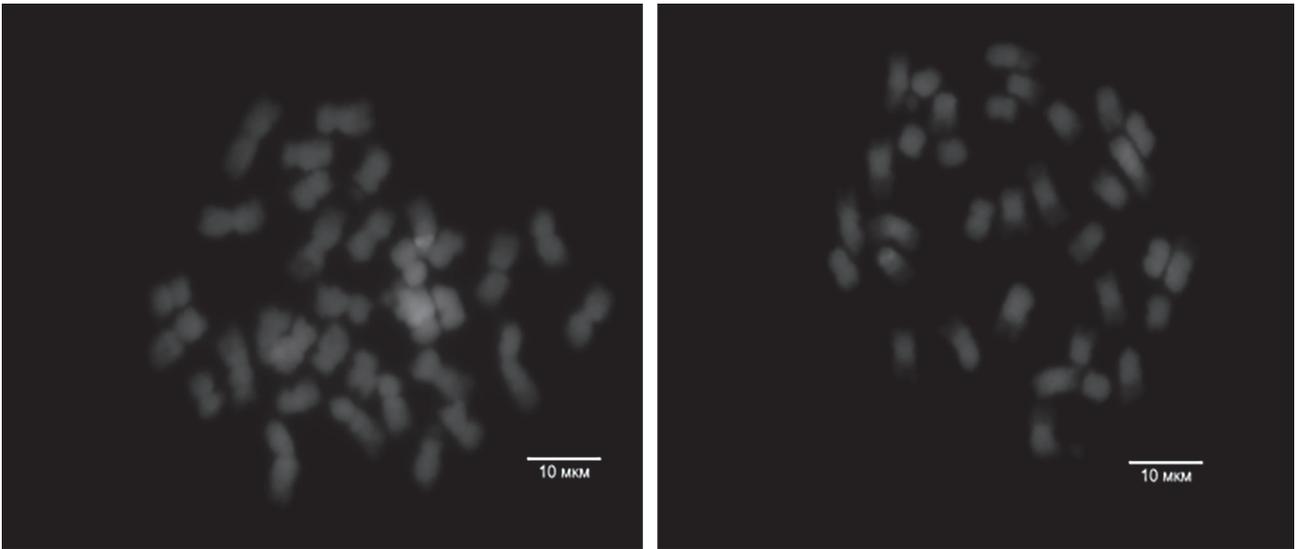


Рис. 4. Метафазные пластинки образцов *C. longispinus* HF05 (слева) и VL02 (справа).

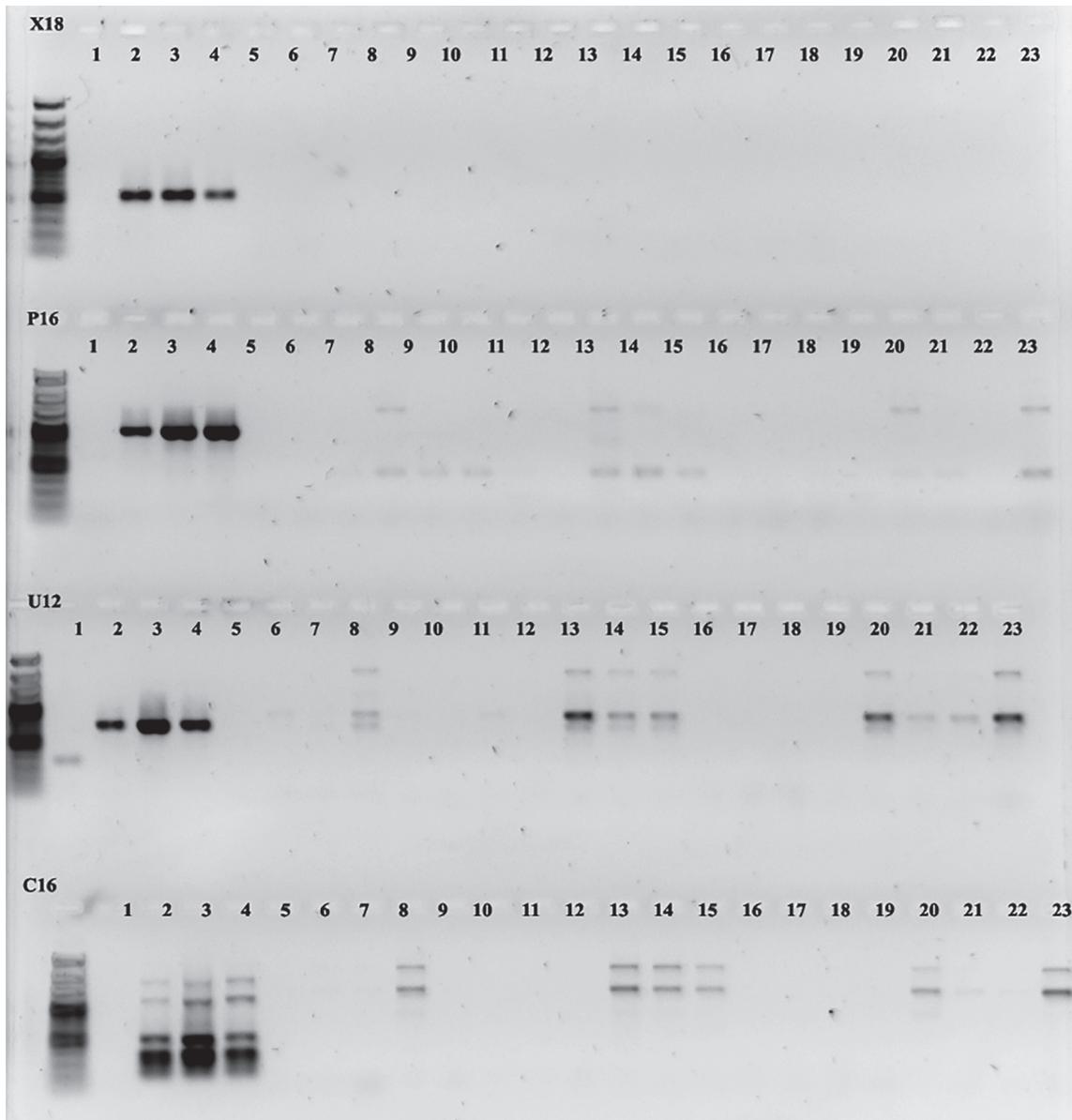


Рис. 5. Результаты электрофореза продуктов ПЦР SCAR-маркеров на гены, контролирующие апоспорию у *C. ciliaris* (1–4) и *C. longispinus* (5–23).

плоидности, у всех образцов было определено количество ДНК 2С около 3,9 пг, что полностью соответствует литературным данным для североамериканских представителей этого вида [Bai et al., 2012].

Апомиксис. Для выявления генов, контролирующих апоспорию у анализируемых образцов *Cenchrus*, было использовано четыре SCAR-маркера (X18, P16, U12, C16). В результате они были выявлены у трёх образцов *C. ciliaris* из четырёх изученных (см. табл. 1; рис. 5). Так, положительный результат дали растения (2–4), выращенные из семян образца RV2, однако у растения (1), полученного из семени образца RV1, маркеров апоспории выявлено не было.

При анализе образцов *C. longispinus* с использованием этих же SCAR-маркеров результат оказался ещё более неоднозначным: удалось амплифицировать только часть маркеров и не у всех образцов. Так, маркер X18 не удалось амплифицировать ни у одного образца. Маркеры P16, U12 и C16 были амплифицированы у образцов 8, 13 (Краснодар), а также 20 и 23 (Волгоград) (рис. 6). У образцов из Киева (14, 15), как с право-, так и с левобережья Днепра, удалось амплифицировать только маркеры U12 и C16, а у образцов 21 и 22, с ж.-д. путей в Ростове-на-Дону и из

устья р. Царица в Волгограде соответственно, был амплифицирован только маркер U12. Не удалось выявить маркеры апомиксиса у образцов 5 (Италия), 6 и 7, собранных в агроценозах в окрестностях деревень Фулопхаза и Кунбаракс в Венгрии; у образцов 9 и 10 из окрестностей с. Проминь в Херсонской обл., образцов 11 с ж.-д. путей в г. Херсон и 12 из пос. Голая Пристань Херсонской обл. Также ни один из маркеров не был выявлен у образцов 16 (Астрахань), 17 (Крым), 18 (Донецкая обл., Дебальцево) и 19 (Белгород) во всех случаях собранных на железнодорожных путях.

Обсуждение

Наше исследование выявило удивительно низкий уровень генетического разнообразия в популяциях *C. longispinus* на территории России и Украины. Оценка уровня генетической дифференциации популяций оказалась неоднозначной. Несмотря на довольно высокие значения индексов G_{ST} , F_{ST} и F_{SC} , значение статистики D , оценивающей «истинный» уровень дифференциации [Jost et al., 2018; Кузнецов, 2021], оказалось близко к нулю. При этом иерархический анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) показал, что на межгрупповые различия приходится только 12,93% общей изменчивости, хотя различия

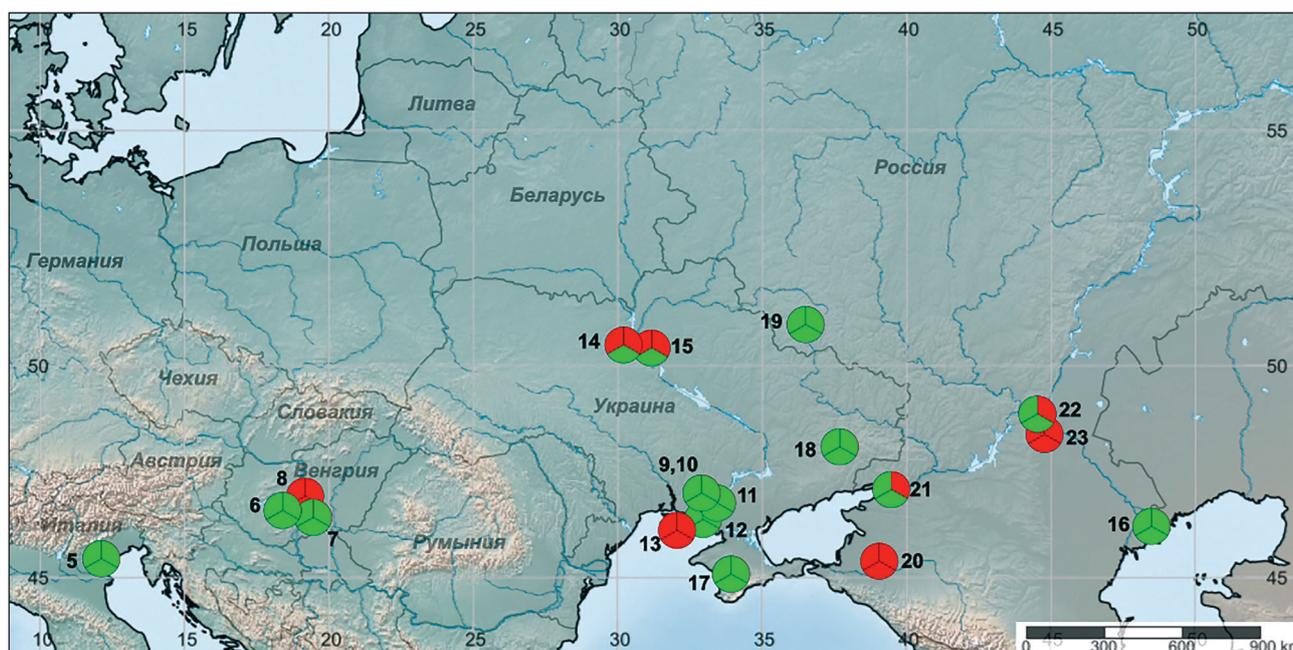


Рис. 6. Географическое распространение образцов *Cenchrus longispinus*, исследованных с помощью SCAR-маркеров P16, U12, C16 на присутствие генов контроля апоспории: номера образцов соответствуют значениям табл. 1; цвета обозначают присутствие (красный) или отсутствие (зелёный) каждого из трёх маркеров.

двух групп популяций достоверны и достаточно значительны ($F_{ST} = 0.359$).

Мы связываем такой результат с общим низким уровнем генетического разнообразия изученных популяций, на что косвенно указывают и упомянутые выше неудачные запуски Байесовского анализа в программе STRUCTURE, не выявившие в выборке различных генетических групп. При этом, несмотря на низкий уровень генетической изменчивости, анализ AFLP-маркеров все же позволил разделить эти популяции на две почти не смешивающиеся друг с другом группы.

Первая группа (субкластер/группа 1) географически приурочена к югу Херсонской обл. и включает в себя в том числе образцы (5-2, 5-3) из окрестностей с. Проминь, где вид *C. longispinus* был впервые обнаружен в 1950 г. (Ларионов, 07.1950, KW!). К этой же группе относятся все образцы из правобережной части Киева. Так же, как и в Херсонской обл., они чаще всего приурочены к приречным и приморским пескам и, как мы предполагаем, могли быть случайно интродуцированы в Киев речным транспортом по Днепру, вероятно, с песчаным грузом.

Вторая генетическая группа (субкластер/группа 2) представлена образцами из Николаева, левобережной части Киева, а также из всех локальных популяций из России, включая Крым и Краснодарский край. Данные популяции чаще всего приурочены к ж.-д. путям с песчаным или мелкогравийным субстратом на путях и насыпях. Таким образом, вторая группа оказалась распространяемой преимущественно ж.-д. транспортом. В популяциях из городов Ростов-на-Дону (10) и Волгоград (12) были обнаружены генетически смешанные образцы с достаточно высокими апостериорными вероятностями отнесения их к обоим кластерам. При этом если в Ростове-на-Дону растения *C. longispinus* были встречены только на ж.-д. путях, то в Волгограде они встречаются как на ж.-д., так и на трамвайных путях, а также на песчаных пустырях близ берега Волги.

Следует отметить, что в этих локальных популяциях генетически смешанными во всех случаях оказались отдельные конкрет-

ные растения. Если в ростовской (10) популяции генетически смешанным оказалось одно растение, а другие три с почти 100%-й вероятностью можно отнести к кластеру II, то в волгоградской популяции (12) генетически смешанными оказались все четыре изученных растения, собранные в разных частях города. Во всех же остальных изученных популяциях практически никакого генетического смешения не наблюдалось. Так как рассматриваемый вид представляет собой однолетник, размножающийся исключительно семенами, подобный характер изменчивости, скорее всего, может говорить о преобладании у него самоопыления, вероятно, в сочетании с факультативным апомиксисом. Последнее отчасти подтверждается нашими результатами, указывающими на присутствие генов комплекса, контролирующего апоспорию, у ряда изученных образцов *C. longispinus*. В сочетании с вероятными различиями в предпочтительных путях проникновения семян обеих групп на новые территории это приводит к поддержанию некоторой изолированности этих групп друг от друга. Мы предполагаем, что в Волгоград представители обоих кластеров были интродуцированы разными путями: по железной дороге и с речным транспортом через Волго-Донской канал. Это впоследствии обеспечило возможность гибридизации между ними и образования генетически смешанной популяции.

Характер генетической изменчивости указывает также на то, что проникновение *C. longispinus* на территорию СССР произошло скорее всего дважды, с последующим расселением этого вида из первоначального места инвазии в Херсонской обл. Наличие только двух генетических групп на территории бывшего СССР говорит о двух вселениях, которые, однако, могли быть и одновременно. Предположения Кухарской и Мырзы [1989], а также Протопоповой [1973] о том, что ценхрус был вселён в Херсонскую обл. ещё до Великой Отечественной войны или даже до революции 1917 г. вместе с семеном или семенами, полученными по почте из США, не имеют никаких документальных подтверждений. Скорее можно согласиться с неизвестным нам (подпись на этикет-

ке неразборчива) коллектором, собравшим *C. longispinus* на виноградниках в Скадовском районе Херсонской обл. 01.06.1951 (образец в Гербарии KW!): «Рослина занесена під час війни».

К сожалению, нам не удалось получить пригодного для выделения ДНК материала *C. longispinus* из Северной Америки, чтобы оценить генетическую близость нашего материала к образцам из естественного ареала. Однако оказалось, что образцы из России и Украины генетически очень сходны с образцами из Венгрии и Северной Италии, где *C. longispinus* появился в 20–30-х годах XX века [Szigetvári, 2008; Făgăraș, 2018]. Это позволяет предполагать, что именно с этих территорий он мог быть вселён на юг Украины во время войны немецкими или венгерскими войсками. Наличие только двух крайне близких генетических групп, вероятно, свидетельствует о единичности первоначального вселения *C. longispinus* в Херсонскую обл. из, вероятнее всего, общего источника. Скорее, именно со случайностью этого вселения и малочисленностью исходных популяций, т.е. эффектом основателя, а также преобладания самоопыления и/или факультативного апомиксиса, связано низкое генетическое разнообразие инвазионных популяций ценхруса.

В инвазионных популяциях филогенетически близкого облигатно апомиктического злака *Pennisetum setaceum* (Forsk.) Chiov. в Аризоне, Калифорнии и на Гавайских островах с помощью ISSR-маркеров вообще не удалось выявить никакой изменчивости [Poulin et al., 2005]. Успешность расселения при низкой генетической изменчивости, возможно, также связана с наличием факультативного апомиксиса и/или самоопыления, обеспечивающего высокую семенную продуктивность: во всех исследованных нами колючих обёртках *C. longispinus* присутствовало по 2–3 хорошо развитых зерновки по числу колосков. При этом ограничение перекрёстного опыления у ценхруса никак не связано с полиплоидизацией или изменениями в содержании ДНК у растений в инвазионных популяциях. Примеры генетически дифференцированных популяций, обладающих крайне низким генетическим разнообразием, известны во вторичных

частях ареала у ряда других инвазионных злаков, таких как однолетние средиземноморский *Aegilops triuncialis* L. в Калифорнии [Meimberg et al., 2006], евроазиатский *Bromus tectorum* L. в Канаде [Valliant et al., 2007] или многолетняя южноамериканская *Cortaderia selloana* (Schult. & Schult.f.) Asch. & Graebn. в Новой Зеландии [Houliston, Goeke, 2017]. Как правило, подобные ситуации интерпретируются, как возникающие вследствие сочетания эффекта основателя и ограниченной способности вида к перекрёстному опылению, т.е. характерны для самоопылителей и апомиктов. При этом, как показано в упомянутых работах, повышенная инвазионная активность отдельных генотипов или их групп часто оказывается никак не связанной с общим уровнем генетического разнообразия популяций.

Вероятно, в случае с *C. longispinus* мы имеем дело с подобной ситуацией. Генетическая структура изученных популяций *C. longispinus* свидетельствует об отсутствии более поздних вселений. С другой стороны, тот факт, что расширение вторичного ареала этого вида на территории России происходит почти исключительно за счёт представителей второго генетического кластера, говорит о его большей способности к расселению на новые территории. Судя по всему, расселение его происходит преимущественно путём случайной интродукции с ж.-д. транспортом.

Благодарности

Мы благодарны проф. И.И. Мойсиенко (Херсонский государственный университет) за помощь в проведении полевых исследований в 2012 г. и за передачу материала из национального парка Кишкуншаг (Венгрия); директору Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины акад. С.Л. Мосякину и кураторам гербариев KW, KHER, FLAS, PRC, PRA за возможность работать с их коллекциями и разрешения на деструктивный отбор образцов фрагментов листьев и семян для молекулярно-генетического анализа.

Финансирование работы

В статье приведены результаты исследований, выполненных в рамках государствен-

ного задания ГБС РАН № 122042600141-3 и 122042700002-6 и ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН № 122040800167-7.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

Статья не содержит никаких исследований с участием живых организмов в экспериментах, выполненных кем-либо из авторов.

Литература

- Даниленкова Г.Н. Ситуация с ценхрусом малоцветковым близка к чрезвычайной // Защита и карантин растений. 2012. № 11. С. 35–36.
- Есипенко Л.П., Саламатин В.Н. Новая находка ценхруса малоцветкового в Краснодарском крае // Защита и карантин растений. 2013. № 7. С. 35–36.
- Кузнецов В.М. Оценка генетической дифференциации популяций молекулярным дисперсионным анализом (аналитический обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2021. Т. 22 (2). С. 67–187. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2021.22.2.167-187>
- Кулаков В.Г., Кулакова Ю.Ю. Современная номенклатура и таксономия карантинного для России вида ценхруса // Карантин растений. Наука и практика. 2014. № 7. С. 11–19.
- Кухарская Л.Г., Мырза М.В. *Cenchrus pauciflorus* Benth. – новое в Молдавии адвентивное растение // Флора и растительность. Ботанические исследования. Вып. 5. Кишинев: Штиинца, 1989. С. 112–115.
- Ларіонов Д.К. Ценхрус якорцевий (*Cenchrus tribuloides* L.) на Україні // Ботанічний журнал. 1951. Т. 8, № 3. С. 78–79.
- Маслова И.И. Находка *Cenchrus pauciflorus* (Poaceae) в Крыму // Ботан. журн. 1992. Т. 77 (7). С. 118–119.
- Мосякін С.Л. Рід *Cenchrus* L. (Poaceae) в Україні: огляд номенклатури, систематики та сучасного поширення // Укр. бот. журн. 1995. Т. 52 (1). С. 120–126.
- Муртазалиев Р.А., Мухумаева П.О. О находках некоторых чужеродных видов семейства Poaceae в Дагестане // Российский журнал биологических инвазий. 2023. № 3. С. 126–130. DOI:10.35885/1996-1499-16-3-126-130
- Настуева Л.А. Особенности развития и вредоносность ценхруса малоцветкового // Защита и карантин растений. 2011. № 6. С. 36.
- Протопопова В.В. Адвентивні рослини лісостепу I степу України. Киев: Наукова думка, 1973. С. 141–142.
- Тохтарь В.К., Фомина О.В. Ценхрус длинноколочковый – ещё один американский «гость» Центрального Черноземья // Защита и карантин растений. 2010. № 12. С. 26–27.
- Bai C., Alverson W.S., Follansbee A., Waller D.M. New reports of nuclear DNA content for 407 U.S. plant species // Annals of Botany. 2012. Vol. 110 (8). P. 1623–1629. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs222>
- Buntjer J.B. Cross Checker v. 2.91. Laboratory of Plant Breeding, Wageningen Agricultural University, Netherlands, 1999.
- Cenchrus longispinus* (Hack.) Fernald in GBIF Secretariat (2021). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. <https://doi.org/10.15468/39omei> Accessed via <https://www.gbif.org/species/5289731> (дата обращения 1.11.2024).
- Doležel J., Greilhuber J., Suda J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry // Nat. Protoc. 2007. No 2. P. 2233–2244. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.310>
- Donadio S., Giussani L.M., Kellogg E.A., Zuolaga F.O., Morrone O. A preliminary molecular phylogeny of *Pennisetum* and *Cenchrus* (Poaceae-Paniceae) based on the *trnL-F*, *rpl16* chloroplast markers // Taxon. 2009. Vol. 58 (2). P. 392–404. <https://doi.org/10.1002/tax.582007>
- Doust A.N., Kellogg E.A. Inflorescence diversification in the panicoid “bristle grass” clade (Paniceae, Poaceae): evidence from molecular phylogenies and developmental morphology // Am. J. Bot. 2002. Vol. 89 (8). P. 1203–22. DOI: 10.3732/ajb.89.8.1203
- Doust A.N., Penly A.M., Jacobs S.W.L., Kellogg E.A. Congruence, conflict, and polyploidization shown by nuclear and chloroplast markers in the monophyletic “Bristle Clade” (Paniceae, Panicoideae, Poaceae) // Systematic Botany. 2007. Vol. 32 (3). P. 531–544. DOI: <http://dx.doi.org/10.1600/036364407782250670>
- Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull. 1987. Vol. 19. P. 11–15.
- Earl D., von Holdt B. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method // Conserv. Genet. Resour. 2012. Vol. 4. P. 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // Mol. Ecol. 2005. Vol. 14, No 8. P. 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online. 2007. Vol. 1. P. 47–50. PMID: 19325852; PMCID: PMC2658868.
- Făgăraș M. *Cenchrus longispinus* (Hack) Fernald, one of the most aggressive alien plants on the Romanian Black Sea coast // Diversity in Coastal Marine Sciences. Coastal Research Library. Eds. C.W. Finkl, C. Makowski Vol. 23. P. 383–395. Springer International Publishing AG, 2018. DOI 10.1007/978-3-319-57577-3_1
- Goel S., Chen Z., Conner J.A., Akiyama Y., Hanna W.W., Ozias-Akins P. Delineation by fluorescence in situ hybridization of a single hemizygous chromosomal region associated with aposporous embryo sac formation in *Pennisetum squamulatum* and *Cenchrus ciliaris* // Genetics. 2003. Vol. 163 (3). P. 1069–1082. DOI: 10.1093/genetics/163.3.1069.

- Greuter W., Raus Th. (eds.) Med-Checklist Notulae, 23. // Willdenowia. 2005. Vol. 35. P. 55–64. DOI:10.3372/wi.35.35103
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. Palaeontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontol. Electron. 2001. Vol. 4. http://palaeoelectronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Houlston G.J., Goeke D.F. *Cortaderia* spp. in New Zealand: patterns of genetic variation in two widespread invasive species // New Zealand Journal of Ecology. 2017. Vol. 41 (1). P. 107–112. DOI: 10.20417/nzjecol.41.13
- Hyun J., Do H.D.K., Jung J., Kim J.-H. Development of molecular markers for invasive alien plants in Korea: a case study of a noxious weed, *Cenchrus longispinus* L., based on next generation sequencing data // PeerJ. 2019. 7:e7965. DOI: 10.7717/peerj.7965
- Jost L. Gst and its relatives do not measure differentiation // Mol. Ecol. 2008. Vol. 17 (18). P. 4015–4026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03887.x>
- Jost L., Archer F., Flanagan S., Gaggiotti O., Hoban S., Latch E. Differentiation measures for conservation genetics // Evol. Appl. 2018. Vol. 11. P. 1139–1148. <https://doi.org/10.1111/eva.12590>
- Kirov I., Divashuk M., Van Laere K., Soloviev A., Khrustaleva L. An easy “SteamDrop” method for high quality plant chromosome preparation // Mol. Cytogenet. 2014. Vol. 7 (1). P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/1755-8166-7-21>
- Knight A.P., Walter R.G. Plants affecting the digestive system / A guide to plant poisoning of animals in North America, 1st ed. Eds. Knight A.P., Walter R.G. Teton NewMedia: Jackson, WY, USA. 2001. 367 p.
- Kopelman N.M., Mayzel J., Jakobsson M. et al. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K // Mol. Ecol. Resour. 2015. No 15. P. 1179–1191. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- McDermott J.M., McDonald B.A. Gene flow in plant pathosystems // Ann. Rev. Phytopathol. 1993. Vol. 31. P. 353–373. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.31.090193.002033>
- Meimberg H., Hammond J.I., Jorgensen C.M., Park T.W., Gerlach J.D., Rice K.J., McKay J.K. Molecular evidence for an extreme genetic bottleneck during introduction of an invading grass to California // Biological Invasions. 2006. Vol. 8. P. 1355–1366. DOI: 10.1007/s10530-005-2463-7
- Ozias-Akins P., Roche D., Hanna W.W. Tight clustering and hemizygoty of apomixis-linked molecular markers in *Pennisetum squamulatum* implies genetic control of apospory by a divergent locus that may have no allelic form in sexual genotypes // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1998. Vol. 95 (9). 5127–32. DOI: 10.1073/pnas.95.9.5127
- Poulin J., Weller S.G., Sakai A.K. Genetic diversity does not affect the invasiveness of fountain grass (*Pennisetum setaceum*) in Arizona, California and Hawaii // Diversity and Distributions. 2005. Vol. 11. P. 241–247. DOI: 10.1111/j.1366-9516.2005.00136.x
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. Vol. 155. P. 945–959.
- Roche D., Cong P., Chen Z., Hanna W.W., Gustine D.L., Sherwood R.T., Ozias-Akins P. An apospory-specific genomic region is conserved between Buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.) and *Pennisetum squamulatum* Fresen // Plant J. 1999. Vol. 19 (2). P. 203–208. DOI: 10.1046/j.1365-313x.1999.00514.x
- Roder W., Waller S.S., Stubbendieck J.L. Allelopathic effects of sandbur leachate on switchgrass germination: observations // J. of range management. 1988. Vol. 41 (1). P. 86–87.
- Schanzer I., Kochieva E.Z., Kulakova Y.Y. *Cenchrus longispinus* invasion in Russia and Ukraine: a preliminary analysis of molecular data. The IV International Symposium “Invasion of alien species in Holarctic”: Programme and book of abstracts. 2013. September, 22–28 th, Borok, Russia. Yaroslavl: Publisher’s Bureau Filigran. P. 155.
- Shaw J., Lickey E.B., Beck J.T., Farmer S.B., Liu W., Miller J., Siripun K.C., Winder C.T., Schilling E.E., Small R.L. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis // Am. J. Bot. 2005. Vol. 92 (1). P. 142–166. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
- Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III // Am. J. Bot. 2007. Vol. 94 (3). P. 275–288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
- Suda J., Trávníček P. Estimation of relative nuclear DNA content in dehydrated plant tissues by flow cytometry // Current Protocols in Cytometry. 2006. Vol. 38. P. 7.30.1–7.30.14. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy0730s38>
- Szigetvári C. Coast sandspur (*Cenchrus incertus* M. A. Curtis) // The most important invasive plants in Hungary. Eds. Botta-Dukát Z., Balogh L. Institute of Ecology and Botany Hungarian Academy of Sciences: Vácrátót, Hungary, 2008. P. 9–12.
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Mol. Biol. 1991. Vol. 17 (5). P. 1105–1109. <https://doi.org/10.1007/BF00037152>
- Tanji A. Notes about two summer annual grass weeds in Morocco: *Dinebra retroflexa* and *Cenchrus longispinus* (Poaceae). Fl. Medit. 2020. Vol. 30. P. 113–119. <https://doi.org/10.7320/FIMedit30.113>
- Valliant M.T., Mack R.N., Novak S.J. Introduction history and population genetics of the invasive grass *Bromus tectorum* (Poaceae) in Canada // American Journal of Botany. 2007. Vol. 94 (7). P. 1156–1169. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.7.1156>
- Verloove F., Sánchez Gullón E. A taxonomic revision of non-native *Cenchrus* s.str. (*Panicaceae*, *Poaceae*) in the Mediterranean area // Willdenowia. 2012. Vol. 42. P. 67–75. <http://dx.doi.org/10.3372/wi.42.42107>
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Friters A., Pot J., Paleman J., Kuiper M., Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting // Nucleic Acids Research. 1995. Vol. 23, No 21. P. 4407–4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>

Wen J., Zimmer E. Phylogeny and biogeography of *Panax* L. (the ginseng genus, Araliaceae): Inferences from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // Molec. Phylogen. Evol. 1996. No 6. P. 167–177. DOI: 10.1006/mpev.1996.0069

Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T. POPGENE Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis. 1999. University of Alberta, Edmonton.

AN INVASION OF *CENCHRUS LONGISPINUS* (POACEAE) IN EASTERN EUROPE: RESULTS OF MOLECULAR GENETIC ANALYSES

Schanzer I.A.¹, Kulakova Y.Y.², Galkina M.A.¹, Razumova O.V.^{1,3}, Dyachenko E.A.⁴, Kochieva E.Z.⁴

¹Tsitsin Main Botanical Garden, Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya Ul. 4, Moscow, Russia, 127276

²All-Russian Plant Quarantine Center (VNIKR), Pogradichnaya ul. 32, Bykovo, Ramenskiy distr., Moscow prov., Russia, 140150

³All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Timiryazevskaya ul. 42, Moscow, Russia, 127550

⁴Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology”, Leninskiy pr. 33, 2, Moscow, Russia, 119071
e-mail: [*ischanzer@gmail.com](mailto:ischanzer@gmail.com)

Here we present the results of population genetic study of a quarantine invasion weed *Cenchrus longispinus* in the south of European Russia and Ukraine. AFLP analyses revealed an extremely low genetic variability in all the populations studied. The DNA sequences of nuclear ITS and five plastid regions appeared to be identical in all the samples of *C. longispinus*. We suppose this is due to the founder effect and singularity of the introduction event, probably occurred during the World War II. Despite this low genetic variability, all the populations in Russia and Ukraine can be divided into two almost not mixing groups differing from each other by geographic distribution and vectors of spreading. It seems highly probable that self-fertilization and facultative apomixis are the main breeding strategies of *C. longispinus*.

Keywords: invasion, *Cenchrus longispinus*, AFLP, populations, genetic variability, cluster analysis.