

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОРАСТЕНИЙ

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРЫМСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ *JUNIPERUS DELTOIDS* R.P. ADAMS НА ОСНОВЕ ЯДЕРНЫХ И ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ

Лантушенко Анастасия Олеговна¹, Коренькова Олеся Олеговна², Сыровец Анастасия Андреевна¹, Мегер Яков Васильевич¹, Шевчук Оксана Михайловна²

¹ФГАУО ВО «Севастопольский государственный университет»

²ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН»

n.sirovets@yandex.ru

В природе достаточно часто встречаются криптические виды растений. *Juniperus deltoides* R.P. Adams и *Juniperus oxycedrus* L. var. *oxycedrus* – одни из таких видов. Оба эти представителя можжевельников морфологически не различимы, при этом генетически явно дифференцированы.

До недавнего времени считалось, что на территории Крыма произрастает популяция *J. oxycedrus*. Однако, ученый Адамс Р.П., на основе проведенного секвенирования ДНК установил, что в большей части Средиземноморья – от Италии на восток через Турцию до гор Кавказа и Ирана (в том числе и в Крыму) распространен можжевельник отличный от *J. oxycedrus*, который он описал, как новый вид – *J. deltoides*. При этом, непосредственного анализа генетического материала с территории Крыма проведено не было. В результате чего возникла необходимость выполнения исследований с целью определения принадлежности крымской популяции к одному из видов криптической пары.

Были отобраны 8 образцов *J. deltoides* с разных географических локаций крымского полуострова, выделение ДНК из хвои осуществляли с помощью набора DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany). Количество и качество выделенной ДНК анализировали с помощью нанофотометра Inplen (Германия). Для ПЦР-анализа использовали ядерные (nrDNA ITS) и хлоропластные (petN-psbM, trnS-trnG) некодирующие участки генома. Амплификацию маркерных генов проводили с использованием ранее описанных универсальных праймеров и протоколов, с помощью набора реактивов ScreenMix (Евроген, Россия). Секвенирование полученных фрагментов осуществлялось на секвенаторе НАНОФОР-05 (Синтол, Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества». Полученные последовательности генов nrDNA ITS, petN-psbM и trnS-trnG сравнивались с имеющимися в базе данных Национального Центра биотехнологической информации (NCBI). Последовательности для сравнения были взяты из работы. Филогенетическая реконструкция была выполнена с использованием байесовского метода, реализованного в MrBayes версии 3.2.6. Для построения дерева для каждого образца использовались объединённые последовательности, содержащие 3 маркерных участка.

Последовательности, полученные в данной работе, образовали кладу с образцами *J. deltoides* 9430 и 9431 (BAYLU), произрастающими в Турции. Таким образом, проведенный в данной работе анализ позволяет отнести исследованные образцы к виду *J. deltoides*.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE CRIMEAN POPULATION OF *JUNIPERUS DELTOIDS* R.P. ADAMS BASED ON NUCLEAR AND CHLOROPLAST GENES

Lantushenko Anastasia Olegovna¹, Korenkova Olesya Olegovna², Syrovets Anastasia Andreevna¹, Meger Yakov Vasilyevich¹, Shevchuk Oksana Mikhailovna²

¹ Sevastopol State University

² Federal State Budgetary Institute of Science «The Order of the Red Banner of Labour Nikita Botanical Gardens - National Scientific Center RAS»

n.sirovets@yandex.ru

Cryptic plant species are quite common in nature. *Juniperus deltoides* R.P. Adams and *Juniperus oxycedrus* L. var. *oxycedrus* are among such species. Both of these representatives of junipers are morphologically indistinguishable, while genetically clearly differentiated.

Until recently, it was believed that the population of *J. oxycedrus* grows on the territory of Crimea. However, Adams R.P., on the basis of DNA sequencing, found that in most of the Mediterranean – from Italy to the east through Turkey to the Caucasus mountains and Iran (including in the Crimea), juniper is distributed other than *J. oxycedrus*, which he described as a new species – *J. deltoides*. At the same time, no direct analysis of genetic material from the territory of Crimea was carried out. As a result, it became necessary to carry out research in order to determine whether the Crimean population belongs to one of the types of the cryptic pair.

8 samples of *J. deltoides* were selected from different geographical locations of the Crimean peninsula, DNA isolation from needles was carried out using the DNeasy Plant Mini Kit (Quagen, Germany). The quantity and quality of the isolated DNA were analyzed using an Inplen nanophotometer (Germany). Nuclear (nrDNA ITS) and chloroplast (petN-psbM, tRNS-trnG) non-coding regions of the genome were used for PCR analysis. Marker genes were amplified using the previously described universal primers and protocols, using a set of ScreenMix reagents (Eurogen, Russia). Sequencing of the obtained fragments was carried out on the NANOPHOR-05 sequencer (Syntol, Russia) in the CCP "Molecular structure of matter". The obtained sequences of the nrDNA ITS, petN-psbM and tRNS-trnG genes were compared with those available in the database of the National Center for Biotechnological Information (NCBI). The sequences for comparison were taken from. Phylogenetic reconstruction was performed using the Bayesian method implemented in MrBayes version 3.2.6. To build a tree for each sample, combined sequences containing 3 marker sections were used.

The sequences obtained in this work formed a clade with samples of *J. deltoides* 9430 and 9431 (BAYLU) growing in Turkey. Thus, the analysis carried out in this work allows us to attribute the studied samples to the species *J. deltoides*.