

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КРЫМСКИХ МОЖЖЕВЕЛЬНИКОВ ВИДОВ *J. DELTOIDES* И *J. EXCELSA*

Мегер Я. В. , Сыровец А. А. , Лантушенко А. О. , Шевчук О. М.

ФГАУО ВО «Севастопольский государственный университет»
megeer_yakov@mail.ru

Juniperus L. — один из самых разнообразных родов хвойных. Род состоит примерно из 75 видов в 3 монофилетических секциях: *Caryocedrus*, *Juniperus* и *Sabina*. На территории Крыма произрастает 5 видов можжевельников: *J. communis L.*, *J. deltoides R.P. Adams*, *J. excelsa M.-Bieb.*, *J. foetidissima Willd.*, *J. sabina L.*, играющие важную роль в формировании растительного покрова Горного Крыма. Их можно отнести к средообразующим растениям, наполняющим целебный воздух Крымского полуострова фитонцидами и оказывающим на организм человека оздоравливающее воздействие.

Наиболее многочисленными в Крыму являются 2 вида можжевельников: *J. deltoides* и *J. excelsa*. *J. excelsa* среди можжевельников Крыма является основной лесообразующей породой. В отличие от *J. excelsa*, особи вида *J. deltoides* не выступают в качестве лесообразующей породы, а чаще всего встречаются в виде подлеска в сообществах *J. excelsa*, *Q. pubescens*, *P. mutica*, *Pinus brutia var. pityusa* (Steven) Silba.

Для генетического анализа были отобраны 16 образцов *J. deltoides* и 17 образцов *J. excelsa* с разных локалитетов Крымского полуострова.

Гомогенизация хвои осуществлялась с использованием ступки и пестика в жидком азоте, последующее выделение ДНК проводилось при помощи набора DNeasy Plant Mini Kit (Quagen, Germany). Амплификация маркерных генов осуществлялась с использованием ранее описанных универсальных праймеров и протоколов, с помощью набора реактивов ScreenMix (Евроген, Россия). Секвенирование полученных фрагментов осуществлялось с помощью набора реактивов ГенСек (Синтол, Россия), визуализация продуктов секвенирования проводилась с помощью генетического анализатора НАНОФОР-05 (Синтол, Россия) в ЦКП «Молекулярная структура вещества». Полученные последовательности сравнивались с имеющимися в базе данных Национального Центра биотехнологической информации (NCBI).

Для популяции *J. deltoides* анализировались пять нуклеотидных последовательностей: ядерный ITS и четыре хлоропластных *petN-psbM*, *trnD-trnT*, *trnL-trnF*, *trnS-trnG* генетических фрагмента. Из этих участков самым вариабельным по числу мутаций оказался ITS, а наименьшая вариабельность характерна для *trnS-trnG* фрагмента.

Для образцов *J. excelsa* также проводилось секвенирование пяти нуклеотидных последовательностей, но для некоторых образцов электрофореграммы ITS участков оказались непригодными для анализа и в дальнейшем исследование были включены только 4 хлоропластные последовательности.

Для сравнения с крымскими образцами были взяты последовательности из работы [2]. Построение филогенетического дерева выполнялось с использованием байесовского метода, реализованного в MrBayes версии 3.2.6., а также программной оболочки BEAST v1.10.4. Дерево строилось на основе объединённых последовательностей, содержащих 4 маркерных участка. Построены хронограммы, отражающие периоды дивергенции различных видов. Проведен анализ генетического разнообразия видов *J. excelsa* и *J. deltoides*.

Количество вариабельных сайтов, среднее число нуклеотидных различий на популяцию и общее количество нуклеотидных замен для популяции *J. excelsa* существенно выше, чем для *J. deltoides*.

Анализ хронограммы позволяет предположить, что дивергенция крымских особей *J. deltoides* произошла несколько раньше, чем можжевельников данного вида, произрастающих в Турции. Для *J. excelsa* время дивергенции крымской и турецкой популяций примерно одинаковы.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE MOST WIDESPREAD POPULATIONS OF CRIMEAN JUNIPER SPECIES *J. DELTOIDES* AND *J. EXCELSA*

Meger Y. V. , Syrovets A. A. , Lantushenko A. O. , Shevchuk O. M.

Sevastopol State University
meger_yakov@mail.ru

Juniperus L. is one of the most diverse coniferous genera. The genus consists of approximately 75 species in 3 monophyletic sections: *Caryocedrus*, *Juniperus* and *Sabina*. There are 5 species of junipers growing on the territory of Crimea: *J. sommipis* L., *J. deltoides* R.P. Adams, *J. excelsa* M.-Bieb., *J. foetidissima* Willd., *J. sabina* L., which play an important role in the formation of the vegetation cover of the Mountainous Crimea. They can be attributed to the environment-forming plants that fill the healing air of the Crimean Peninsula with phytoncides and have a healing effect on the human body. The most numerous in Crimea are 2 species of junipers: *J. deltoides* and *J. excelsa*. *J. excelsa* is the main forest-forming species among the junipers of Crimea. Unlike *J. excelsa*, individuals of the *J. deltoides* species do not act as a forest-forming breed, but are most often found as an understory in the communities of *J. excelsa*, *Q. pubescens*, *P. mutica*, *Pinus brutia* var. *pityusa* (Steven) Silba [1]. Sixteen *J. deltoides* and seventeen *J. excelsa* samples from different localities of the Crimean Peninsula were selected for genetic analysis. The homogenization of needles was carried out using a mortar and pestle in liquid nitrogen, subsequent DNA isolation was carried out using the DNeasy Plant Mini Kit (Quagen, Germany). The amplification of marker genes was carried out using the previously described universal primers and protocols, using a set of ScreenMix reagents (Eurogen, Russia). Sequencing of the obtained fragments was carried out using a set of GenSek reagents (Syntol, Russia), visualization of sequencing products was carried out using a genetic analyzer NANOPHOR-05 (Syntol, Russia) in the CCP "Molecular Structure of matter". The obtained sequences were compared with those available in the database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI). Five nucleotide sequences were analyzed for the *J. deltoides* population: nuclear *ITS* and four chloroplast *petN-psbM*, *trnD-trnT*, *trnL-trnF*, *trnS-trnG* genetic fragments. Of these sites, *ITS* turned out to be the most variable in the number of mutations, and the least variability is characteristic of the *trnS-trnG* fragment. Five nucleotide sequences were also sequenced for *J. excelsa* samples, but for some samples the electrophoregrams of *ITS* sites turned out to be unsuitable for analysis and only 4 chloroplast sequences were included in the further study. Sequences from the work were taken for comparison with the Crimean samples [2]. The phylogenetic tree was constructed using the Bayesian method implemented in MrBayes version 3.2.6, as well as the BEAST v1.10 software shell. The tree was built on the basis of combined sequences containing 4 marker sections. Chronograms reflecting periods of divergence of various types are constructed. The analysis of the genetic diversity of *J. excelsa* and *J. deltoides* species was carried out. The number of variable sites, the average number of nucleotide differences per population, and the total number of nucleotide substitutions for the *J. excelsa* population are significantly higher than for *J. deltoides*. The analysis of the chronogram suggests that the divergence of the Crimean individuals of *J. deltoides* occurred somewhat earlier than the junipers of this species growing in Turkey. For *J. excelsa*, the divergence times of the Crimean and Turkish populations are approximately the same.