

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ РЕДКИХ ВИДОВ РОДА *SALVIA* (LAMIACEAE) ФЛОРЫ УЗБЕКИСТАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ

Е.В. Никитина ¹, К.Ш. Тожибаев ¹,
Н.В. Савина ², С.В. Кубрак ², А.В. Кильчевский ²

¹Институт ботаники Академии наук Республики Узбекистан,
Ташкент, Узбекистан, elenanikita2013@rambler.ru

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Минск, Беларусь, n.savina@igc.by

Среди большого видового разнообразия растений флоры Узбекистана, насчитывающей более 4400 видов сосудистых растений, имеются группы редких, реликтовых видов (10–12% флоры Узбекистана), 378 таксонов считаются национальными эндемиками, изучение которых позволяет оценить процессы видообразования в данном регионе. Целью данной работы является молекулярно-генетическая инвентаризация редких видов растений флоры Узбекистана с помощью комбинации ядерного и хлоропластных ДНК-штрихкодов. Впервые было проведено генотипирование маркерных последовательностей *ITS1-ITS2*, *rbcL*, *psbA-trnH*, *matK* для редких дикорастущих растений флоры Узбекистана. Продемонстрирована возможность успешного использования ДНК-штрихкодирования для проведения экологического мониторинга.

Ключевые слова: экологический мониторинг; редкие виды флоры Узбекистана; ДНК-маркеры; *ITS1-ITS2*; *matK*; *psbA-trnH*; *rbcL*.

ECOLOGICAL MONITORING OF ENDANGERED *SALVIA* SPECIES (LAMIACEAE) IN UZBEKISTAN USING DNA-BARCODING

E.V. Nikitina ¹, K.Sh. Tojibaev ¹,
N.V. Savina ², S.V. Kubrak ², A.V. Kilchevsky ²

¹Institute of Botany, Academy of Sciences of Uzbekistan,
Tashkent, Uzbekistan, elenanikita2013@rambler.ru

²Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus,
Minsk, Belarus, n.savina@igc.by

Flora of Uzbekistan is rich in plant species diversity. It accounts over 4400 species of vascular plants, and includes a rare, relict species groups (10–12% of the flora of Uzbekistan), 378 taxa are considered as a national endemics, the study of which makes possible to assess the processes of speciation in this region. The aim of this work is an inventory of rare and endangered plant species in the flora of Uzbekistan based on molecular genetic techniques, using combinations of nuclear and chloroplast DNA-barcodes. The genotyping of marker sequences *ITS1-ITS2*, *rbcL*, *psbA-trnH*, *matK* was carried out for rare wild plant species for the first time. The possibility of successful use of DNA-barcoding for ecological monitoring has been demonstrated.

Key words: ecological monitoring; rare plant species of the flora of Uzbekistan; DNA-markers; *ITS1-ITS2*; *matK*; *psbA-trnH*; *rbcL*; *trnL*.

По современным оценкам на Земле существует около 400 000 известных видов растений (Brummitt N., 2020), из них сосудистых приблизительно 308 312 видов (Christenhusz M., 2016). Более 20 000 (40%) видов находятся под угрозой исчезновения в природе: 4337 видам присвоена категория Critically Endangered (CR, находящиеся на грани исчезновения), 7925 видов – Endangered (EN,

исчезающие) и 8098 видов – Vulnerable (VU, уязвимые). К основным факторам угрозы можно отнести преобразование мест обитания, чрезмерную эксплуатацию природных ресурсов, распространение инвазивных чужеродных видов, загрязнение окружающей среды и изменение климата (IUCN, 2020). Исчезновение жизненно важных компонентов биоразнообразия является одной из самых больших угроз для человечества.

Цель нашего исследования заключается в инвентаризации ботанических ресурсов Узбекистана методом ДНК-баркодинга и создании референсной библиотеки ДНК-штрихкодов редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений. Для идентификации эндемичных и редких видов растений, произрастающих в горных и предгорных районах Узбекистана с высоким уровнем биологического разнообразия, нами были использованы три пластидных маркера (*rbcL*, *psbA-trnH*, *matK*) и один ядерный (*ITS2*). Данное исследование является началом изучения флоры Узбекистана методом ДНК-штрихкодирования, основанной на секвенировании филогенетически значимых последовательностей.

В качестве исходного материала в этом исследовании служили свежие и гербарные образцы представителей рода *Salvia* (*Lamiaceae*), включающего около 1000 видов, распространенных по всему миру (Yousefiazarkhanian, 2016). В настоящее время в республике Узбекистан отмечено 25 видов рода *Salvia*, объединенных в 4 подрода (*Salvia*, *Sclarea*, *Macrosphace* и *Perovskia*), из них 3 вида эндемичны для Узбекистана, 6 видов краснокнижные. Виды рода *Salvia*, изученные в данной работе (9 таксонов), являются представителями трех подродов: подрод *Salvia* (*S. bucharica*, *S. korolkovii*, *S. submutica*, *S. lilacinocoerulea*, *S. tianschanica*), подрод *Sclarea* (*S. ariana*, *S. spinosa*, *S. sclarea*) и подрод *Macrosphace* (*S. margaritae*) (О. А. Турдибоев, 2021).

С целью максимальной эффективности идентификации и высокой достоверности результатов, для всех видов выполнено 3-4-х локусное генотипирование. В результате исследований, для девяти представителей рода *Salvia* получено 30 консенсусных последовательностей по филогенетически значимым маркерам (ДНК-штрихкодам). Все последовательности депонированы в международную базу данных Генбанк (GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) с присвоением ID номеров (Таблица).

Таблица – Маркерные последовательности изученных видов *Salvia*, депонированные в GenBank

Table – Marker sequences of the studied *Salvia* species, submitted to GenBank

Номера последовательностей в NCBI (ID)				Распространение вида в Узбекистане, статус редкости, координаты, авторы сбора
<i>ITS</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	
Шалфей туповатый / <i>Salvia submutica</i> Botsch. & Vved (2019 г.)				Памиро-Алай: горы Нуратау, Сбор-Койташ, Нуратинский хребет, 1490 м., 40°31'09''N 66°4'08''E Статус 2. Редкий узкий реликтовый эндемик Нуратау Бешко Н.Ю.
MW588814.1 676 п.н.	MW633173.1 845 п.н.	MW633181.1 540 п.н.	MW633189.1 368 п.н.	

Номера последовательностей в NCBI (ID)				Распространение вида в Узбекистане, статус редкости, координаты, авторы сбора
<i>ITS</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	
Шалфей бухарский / <i>Salvia bucharica</i> Popov (2019 г.)				Памиро-Алай: Заравшанский, Гиссарский, Кугитанг, Бабатаг хребты, 1380 м. 38°17'05''N 66°45'27''E Бешко Н.Ю.
MW588813.1 663 п.н.	MW633171.1 860 п.н.	MW633179.1 907 п.н.	MW633188.1 408 п.н.	
Шалфей Королькова / <i>Salvia korolkovii</i> Regel&Schmalh.(2019 г.)				Тянь-Шань: Каражантау, Угамский, Пскемский, Коксуйский хребты, Сбор- Чаткал, 1500 м. 41°30'33''N 69°58'54''E Статус 3. Редкий эндемик Западного Тянь-Шаня Бешко Н.Ю.
MW588812.1 762 п.н.	MW633170.1 815 п.н.	MW633178.1 536 п.н.	MW633187.1 402 п.н.	
Шалфей арийский / <i>Salvia ariana</i> Hedge (2013 г.)				Памиро-Алай: Кугитанг, Туюнтау, Актау, Дарвазский хребты. Сбор- Байсунтау, река Мачайдарья, 1230 м. 38°22'20''N 67°02'39''E Тургинов О.
MW588815.1 627 п.н.	MW633176.1 854 п.н.	MW633184.1 901 п.н.	—	
Шалфей мускатный / <i>Salvia sclarea</i> L. (2019 г.)				Памиро- Алай: Алайский, Туркестанский, Мальгузарский, Нуратау, Зарафшанский, Гиссарский, Актай, Бабатаг, Байсунтау, Кугитанг хребты. Сбор- Чаткал, Бельдерсай, 3409 м. 41°67'43''N 69°06'13''E Турдибоев О.
MW588817.1 614 п.н.	MW633172.1 817 п.н.	MW633180.1 516 п.н.	—	
Шалфей колючий/ <i>Salvia spinosa</i> L. (2013 г.)				Памиро-Алай: Нуратау, Туркестанский, Зарафшанский, Гиссарские хребты, Бадхыз, Копетдаг 40°36'87''N 65°47'95''E Тожибаев К., Бешко Н.
MW588816.1 742 п.н.	—	MW633186.1 528 п.н.	MW633190.1 376 п.н.	

Номера последовательностей в NCBI (ID)				Распространение вида в Узбекистане, статус редкости, координаты, авторы сбора
<i>ITS</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	
Шалфей Маргариты / <i>Salvia margaritae</i> Botsch.(1979 г.)				Памиро-Алай: Самаркандские горы, отроги Гиссарского хребта, бассейн реки Кашкадарья. Сбор- село Шахмардан, 1544 м. 39°97'67''N 71°81'30''E Статус 2. Редкий узкий эндемик Алайского хребта Махмедов А.
MW588818.1 618 п.н.	MW633177.1 843 п.н.	MW633185.1 544 п.н.	MW633192.1 356 п.н.	
Шалфей лиловогоголубой / <i>Salvia lilacinocoerulea</i> Nevski (2016 г.)				Памиро- Алай: юго-западные отроги Гиссарского хребта, хребты Байсунтаун, Кугитанг. 1927 м, 38°19'45''N 66°75'73''E Статус 1. Редкий эндемик Западного Памиро-Алая Шомуродов Х.Ф., Бешко Н.Ю.
—	MW633174.1 738 п.н.	MW633182.1 548 п.н.	—	
Шалфей тяньшанский / <i>Salvia tianschanica</i> Makhm.(2001 г.)				Тянь-Шань: Ташкентский Алатау, Чаткальский, Курамиский хребты. Сбор-Башкизилсай, 1355 м, 41°07'98'' N 69°87'29'' E Статус 2. Редкий эндемик Западного Тянь-Шаня Тожибоев К.
—	MW633175.1 861 п.н.	MW633183.1 857 п.н.	MW633191.1 370 п.н.	

Для всех маркеров продемонстрирована хорошая воспроизводимость результатов амплификации. Сходство с аналогичными последовательностями в базе данных *BLAST* составило не менее 98%. Маркерные последовательности для видов *S.submutica*, *S.lilacinocoerulea*, *S.tianschanica* в базу данных представлены впервые.

Таким образом, полученные в ходе работы результаты дают возможность составления национальной референсной библиотеки ДНК-штрихкодов для редких и исчезающих видов растений, произрастающих на территории Республики Узбекистан. Данная работа демонстрирует эффективность использования ДНК-штрихкодирования как инструмента экологического мониторинга и оценки видового разнообразия редких видов растений.

Работа выполнена в рамках проекта: MRB-AN-2019-30 «Генетическая инвентаризация редких и исчезающих видов растений Беларуси и Узбекистана с применением технологии ДНК-штрихкодирования».

Библиографические ссылки

1. Brummitt, N, Araújo, AC, Harris, T. Areas of plant diversity – What do we know? // Plants, People, Planet. 2020; 3: 33– 44. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10110>
2. Christenhusz M., Byng J. The number of known plants species in the world and its annual increase // Phytotaxa, 2016, V.261, №3, P.201–217.
3. IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-3. <https://www.iucnredlist.org>. <https://doi.org/10.15468/0qnb58>
4. Genetic diversity of *Salvia* species assessed by ISSR and RAPD markers / Yousefiazarkhanian M. et al. // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 2016. T. 44. №. 2. P. 431–436.
5. Турдибоев О. А. Таксономический состав рода *Salvia* L. во флоре Узбекистана // Узбекский биологический журнал. 2021, №1, С.34–38.