

Молекулярно-филогенетические исследования некоторых видов родов *Campanula* и *Mzyztella* (Campanulaceae)

Molecular phylogenetic studies of some species of the genera *Campanula* and *Mzyztella* (Campanulaceae)

Оганджаниян А. А.

Ogandzhanyan A. A.

Северо-Кавказский Федеральный научный аграрный центр, г. Михайловск, Россия. E-mail: ssvc2@mail.ru
North Caucasus Federal Agrarian Research Centre, Mikhailovsk, Russia

Реферат. Проведено молекулярно-филогенетическое исследование некоторых видов семейства Campanulaceae с использованием маркерных последовательностей ITS1–гена 5.8S рДНК–ITS2. Результаты секвенирования по Сэнгеру выявили отдельную кладу некоторых видов с большим уровнем различия между собой. Для *Mzyztella sclerophylla* Kolak. показано наличие уникального риботипа.

Ключевые слова. Секвенирование, Сэнгер, филогения, эндемик, ITS.

Summary. A molecular phylogenetic study of some species of the Campanulaceae family has been carried out using marker sequences of the ITS1 gene 5.8S rDNA–ITS2. The results of Sanger sequencing revealed a separate clade of some species with a large level of differences among themselves. For *Mzyztella sclerophylla* Kolak., the presence of a unique ribotype was shown.

Key words. Endemic, ITS, phylogeny, Sanger sequencing.

Введение. На территории России и сопредельных стран насчитывается около 150 видов колокольчиков, в европейской части России – до 15 видов (Викторов, 2001). В пределах российской части Кавказа, включающей Ставропольский и Краснодарский край, Кабардино-Балкарскую, Карачаево-Черкесскую, Чеченскую республики, а также республики Адыгея, Дагестан, Северная Осетия-Алания, Ингушетия, нами установлено произрастание 61 вида рода *Campanula* L. (Оганджаниян, 2017). Среди петрофильных видов этого рода процент эндемизма составляет 90,9 % (Иванов, Ковалева, 2014). Наиболее редкими видами являются *Campanula autraniana* Albov, *C. ardonensis* Rupr., *C. besenginica* Fomin, *C. dolomitica* E. A. Busch, *C. komarovii* Maleev, *C. ossetica* M. Bieb. (Арутюнова, Оганджаниян, 2016).

Род *Campanula* – один из крупных и сложных родов цветковых растений в семействе Campanulaceae Juss. Таксономический состав семейства Campanulaceae Juss. неоднократно пересматривался (Викторов, 2001), однако до сих пор не выработано единого мнения относительно его объема.

Цель исследований – выяснение таксономического статуса наиболее редких и сложных в систематическом отношении представителей рода *Campanula*. Объектами исследований являются: *Campanula ardonensis* Rupr., *Campanula besenginica* Fomin, *Campanula komarovii* Maleev, *Mzyztella schlerophylla* Kolak.

Campanula ardonensis Rupr. Редкий вид, сокращающийся в численности, эндемик России, произрастает только в Республике Северная Осетия-Алания. Ареал ограничен долиной р. Ардон. Занесен в Красную книгу РФ, Республики Северная Осетия–Алания (Комжа, Амирханов, 2008; Комжа, 2022).

Campanula besenginica Fomin. Редкий, охраняемый вид с очень узким ареалом, эндемик России, встречается только в пределах Центрального Кавказа. Занесен в Красные книги РФ и Кабардино-Балкарской республики (Амирханов, Комжа, 2008; Шхагапсоев, 2018).

Campanula komarovii Maleev. Редкий вид, с узким ареалом, узколокальный эндемик России, встречается только на Черноморском побережье Кавказа в пределах Краснодарского края. Занесен в Красную книгу РФ и Краснодарского края (Литвинская, 2008; Литвинская, Постарнак, 2017).

Mzyztella schlerophylla Kolak. Исчезающий вид, является узколокальным эндемиком, в Краснодарском крае всего два локалитета (ущелье Ахцу у р. Мзымта и р. Псоу). Занесен в Красную книгу Крас-

нодарского края (Литвинская, 2017). Сведений о виде в настоящее время очень мало и недостаточно. А. А. Колаковский (1981) в результате своих исследований выделил этот таксон в монотипную трибу *Mzymtelleae* Kolak. под названием *Mzymtella sclerophylla* Kolak. на основании особого (мешковидно-впяченного) типа строения коробочки и особого типа аксикорна, свойственного только этому виду. А. А. Оганджян в результате повторных карпологических исследований подтвердил данные А. А. Колаковского о том, что *Mzymtella sclerophylla* – самостоятельный вид на родовом уровне в пределах семейства Campanulaceae (Оганджян, 2016).

Материал и методы. Образцы растений были собраны в Краснодарском и Ставропольском крае в период с 2015 по 2021 гг. Часть образцов хранится в гербарии Кавказского сектора БИН РАН (LE). Геномную ДНК выделяли из листьев СТАВ методом (Doyle J. J., Doyle J. L., 1987) с модификациями, а также используя Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA). Для амплификации района ITS1–5.8S рДНК–ITS2 ядерного генома в ходе полимеразной цепной реакции использовались праймеры: Its-1P (Ridgway et al., 2003) и Its-4 (White et al., 1990). Последовательности были выравнены с помощью программы ClustalW, входящей в пакет программ MEGA 7,10, с последующей визуальной проверкой.

Результаты. В работу были включены последовательности ITS *Campanula ardonensis*, *C. besenginica*, *C. komarovii*, *Mzymtella schlerophylla*. В общем количестве нами было получено 11 последовательностей локуса ITS1–5.8S рДНК–ITS2, а также были выгружены три последовательности из базы данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites>).

Нами впервые секвенированы маркерные последовательности ITS1–5.8S рДНК–ITS2 у *Campanula komarovii* Maleev, *Campanula ardonensis*, *Mzymtella schlerophylla* (рис.).

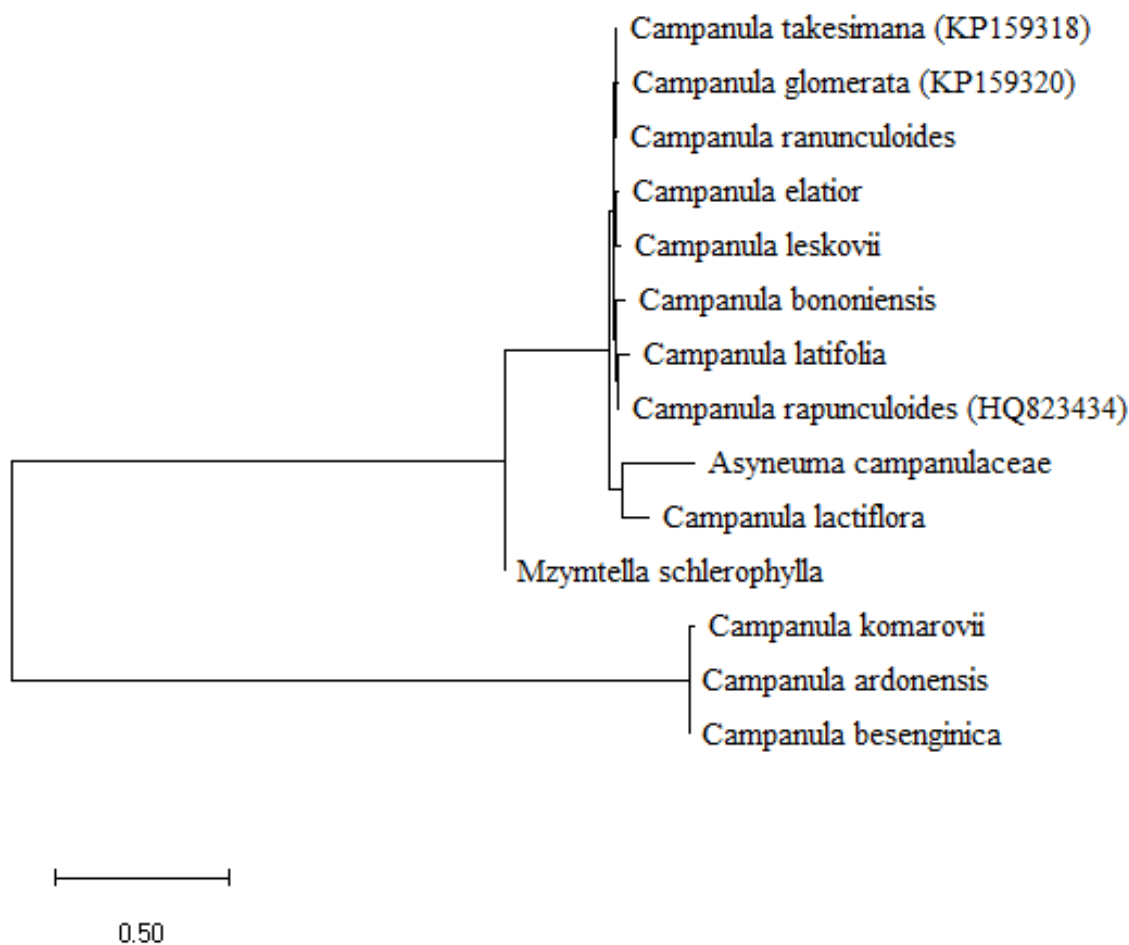


Рис. Филогенетическое древо, построенное по результатам анализа последовательностей ITS1–5.8S рДНК–ITS2 и отражающее родство видов рода *Campanula* L.

Полученные данные позволяют предположить, что мы имеем дело с длительными процессами изоляции и видообразования в семействе Campanulaceae. Именно поэтому были необходимы результаты молекулярно-филогенетических исследований наиболее редких видов.

Изучаемый вид *Mzyztella schlerophylla* Kolak. сформировал отдельную кладу с хорошим уровнем поддержки и достаточным различием между другими видами. *Campanula ardonensis*, *C. besenginica*, *C. komarovii* также сформировали отдельную кладу с хорошим уровнем поддержки, их различия достаточно невелики между собой. При этом следует помнить, что секвенирование по Сэнгеру выявляет лишь наиболее массовый вариант субгенома в полиплоидном геномном наборе. В ходе проведения исследований установили, что характерная особенность ITS-последовательностей таких редких, эндемичных и сложных видов – внутригеномный полиморфизм в различных позициях геномной последовательности.

Заключение. Молекулярное исследование таксономического положения *Campanula ardonensis* Rupr., *C. besenginica* Fomin, *C. komarovii* Maleev показало высокую степень сходства их ITS-последовательностей и генетическую близость. *Mzyztella schlerophylla* – самостоятельный вид монотипного рода. Именно поэтому были необходимы результаты молекулярно-филогенетических исследований наиболее редких, охраняемых колокольчиков. В дальнейшем мы продолжим наши исследования, направленные на выявление филогенетических связей других представителей семейства Campanulaceae, установление их фактического геномного состава и прояснение, в целом, сложной картины эволюции в этом семействе.

Благодарности. Работа выполнена в Ботаническом институте им. В. Л. Комарова РАН (БИН РАН). Автор выражает глубокую признательность коллективу Лаборатории биосистематики и цитологии: А. В. Родионову, [Э. М. Мачсу], Е. Е. Крапивской, сотрудникам Перкальского дендрологического парка (г. Пятигорск) – Д. С. Шильникову и Л. Н. Арутюновой.

ЛИТЕРАТУРА

- Амирханов А. М., Комжа А. Л.** *Campanula besenginica* – колокольчик безенгийский // Красная книга Российской Федерации (Растения и грибы) / Сост. Р. В. Камелин и др. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. – С. 156.
- Арутюнова Л. Н., Оганджания А. А.** Вопросы охраны видов рода *Campanula* L. флоры Северного Кавказа // Университетская наука – региону: Материалы IV науч.-методич. конф. Северо-Кавказского федерального университета. – Ставрополь, 2016. – С. 146–149.
- Викторов В. П.** Род *Campanula* L. в Европейской России // Флористические исследования в Центральной России на рубеже веков. – Рязань-Москва: Ботан. сад МГУ, 2001. – С. 43–45.
- Иванов А. Л., Ковалева О. А.** Систематический анализ флоры петрофитов Российского Кавказа // Вестник Московского государственного областного университета, 2014. – № 1. – С. 37–43.
- Колаковский А. А.** Еще два новых рода колокольчиковых для флоры СССР // Сообщ. АН ГССР, 1981. – № 1. – С. 149–152.
- Комжа А. Л.** *Campanula ardonensis* – колокольчик ардонский // Красная книга Республики Северная Осетия – Алания: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды грибов, растений и животных / отв. ред. А. Л. Комжа. – Владикавказ: Перо и Кисть, 2022. – С. 256.
- Комжа А. Л., Амирханов А. М.** *Campanula ardonensis* – колокольчик ардонский // Красная книга Российской Федерации (Растения и грибы) / Сост. Р. В. Камелин и др. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. – С. 154.
- Оганджания А. А.** К систематике и морфологии *Mzyztella schlerophylla* Kolak. // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В. И. Вернадского, 2016. – № 2 (60). – С. 33–37.
- Оганджания А. А.** Обзор видов рода *Campanula* L. флоры Российского Кавказа // Университетская наука – региону: Материалы V (62-й) ежегодной науч.-практ. конф. Северо-Кавказского федерального университета. – Ставрополь, 2017. – С. 334–337.
- Литвинская С. А.** *Campanula komarovii* – колокольчик Комарова // Красная книга Российской Федерации (Растения и грибы) / Сост. Р. В. Камелин и др. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. – С. 158.
- Литвинская С. А., Постарнак Ю. А.** *Campanula komarovii* – колокольчик Комарова // Красная книга Краснодарского края. Растения и грибы. Издание 3 / Отв. ред. С. А. Литвинская. – Краснодар: Адм. Краснодарского края, 2017. – С. 298.
- Тимухин И. Н., Туниев Б. С.** *Campanula schlerophylla* – колокольчик твердолистный // Красная книга Российской Федерации (Растения и грибы) / Сост. Р. В. Камелин и др. – М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2008. – С. 303.
- Шагапсов С. Х.** *Campanula besenginica* – колокольчик безенгийский // Красная книга Кабардино-Балкарской республики / отв. ред. М. Ч. Залиханов. – Нальчик: ООО «Печатный двор», 2018. – С. 158.

Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochemical Bulletin*, 1987. – Vol. 19. – P. 11–15.

GenBank. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites> (Accessed March 2023).

Ridgway K. P., Duck J. M., Young J. P. W. Identification of roots from grass swards using PCR-RFLP and FFLP of the plastid trnL (UAA) intron // *BMC Ecology*, 2003. – Vol. 3, (8e).

White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // *PCR protocols: a guide to methods and application* / Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. (eds.) – New York: Academic Press, Inc., 1990. – P. 315–322.