



УДК 582.734.4:581.95(574)

## *Sanguisorba azotsevii* – новый вид для флоры Казахстана

А. М. Колтунова<sup>1\*</sup>, Г. А. Болботов<sup>1,2</sup>, М. Г. Куцев<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Алтайский государственный университет, пр. Ленина, д. 61, г. Барнаул, 656049, Россия.  
E-mail: koltunova.anas@yandex.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3753-7958>

<sup>2</sup> Катон-Карагайский государственный национальный природный парк, ул. О. Бокеева, д. 115, с. Катон-Карагай, 070908, Казахстан. E-mail: g.bolbotov@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0009-0009-1455-1161>

<sup>3</sup> Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, д. 79, г. Красноярск, 660041, Россия.  
E-mail: m\_kucev@mail.ru; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2284-6851>

\* Автор для переписки

**Ключевые слова:** Казахстан, кровохлебка, флора, флористические находки.

**Аннотация.** В Катон-Карагайском национальном парке (Восточно-Казахстанская область) найден новый вид для флоры Казахстана – *Sanguisorba azotsevii*. Прилагаются изображения гербарного материала. Достоверность определения вида доказана молекулярно-генетическими данными по двум фрагментам. Полученные последовательности загружены в базу данных NCBI. Подтверждено гибридное происхождение вида, а также показаны варианты наследования хлоропластного и ядерного материала от родительских особей.

## *Sanguisorba azotsevii*, a new species for the flora of Kazakhstan

A. M. Koltunova<sup>1</sup>, G. A. Bolbotov<sup>1,2</sup>, M. G. Kutsev<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Altai State University, Lenina Pr., 61, Barnaul, 656049, Russian Federation

<sup>2</sup> Katon-Karagai State National Natural Park, O. Bokeeva St., 115, vil. Katon-Karagay, 070908, Kazakhstan

<sup>3</sup> Siberian Federal University, Svobodny Pr., 79, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation

**Keywords:** burnet, flora, floristic finds, Kazakhstan.

**Summary.** Authors present a new species for the flora of Kazakhstan. The determination of the material was carried out using the morphological method of botany. The species identity is proven by molecular genetic data using 2 fragments. The resulting sequences were uploaded to the NCBI database. The images of herbarium material are attached. The ways of inheritance of chloroplast and nuclear material from parental individuals are shown.

### Введение

Одним из самых объемных семейств по флоре Казахстана является семейство Rosaceae Juss. (Кечайкин, 2020), в которое входит род

*Sanguisorba* L. На данный момент род на территории Казахстана представлен тремя видами: *Sanguisorba officinalis* L., *S. alpina* Bung и *S. riparia* Juz. (Pavlov, 1961; Nabiev, 1976).

Во время экспедиционных работ в 2023 г. на территории Восточного Казахстана был найден *Sanguisorba azovtsevii* Krasnob. et Pschen. – новый вид для флоры Казахстана.

### Материалы и методы

Правильность определения *Sanguisorba azovtsevii* подтверждена морфологическими и

молекулярно-генетическими методами. Видовую принадлежность установили по «Определителю растений Республики Алтай» (Krasnoborog, 2012).

При применении молекулярно-генетических методов были исследованы гербарные образцы трех видов *Sanguisorba* из двух мест: Семинский перевал (Россия) и Катон-Карагайский национальный парк (Казахстан) (табл. 1).

Таблица 1

Исследованные молекулярно-генетические маркеры образцов *Sanguisorba*

№	Вид	Местонахождение	ITS	<i>trnL</i> intron
1	<i>Sanguisorba azovtsevii</i>	Россия, Республика Алтай, Семинский перевал, высокотравный луг. 51°02'43" с. ш. 85°36'15" в. д. 03 VIII 2023. А. М. Колтунова (ALTB)	PQ586991	PQ613712
2	<i>Sanguisorba azovtsevii</i>	Казахстан, Восточно-Казахстанская область, Катон-Карагайский национальный парк, 49°12'56.37" с. ш. 86°54'42.05" в. д. 28 VII 2023. Г. А. Болботов (ALTB)	PQ586992	PQ613713
3	<i>Sanguisorba officinalis</i>	Россия, Республика Алтай, Семинский перевал, высокотравный луг. 51°02'43" с. ш. 85°36'15" в. д. 03 VIII 2023. А. М. Колтунова (ALTB)	PQ586993	PQ613714
4	<i>Sanguisorba alpina</i>	Россия, Республика Алтай, Семинский перевал, высокотравный луг. 51°02'43" с. ш. 85°36'15" в. д. 03 VIII 2023. А. М. Колтунова (ALTB)	PQ586994	PQ613715

Были секвенированы две маркерные последовательности: регион ITS1-5.8S-ITS2 ядерной ДНК и интрон *trnL* хлоропластной ДНК. Номер доступа к последовательностям в GenBank и данные о местонахождения представлены в табл. 1.

Выделение тотальной ДНК производили из сухих листьев с использованием наборов DimondDNA Plant kit (ООО «Алтайбиотех», Россия) по протоколу производителя. ITS-регион амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров ITS-rew 5-GGAATCCTTGTAAGTTTCTTT-3 и ITS-for 5-CGTAACAAGGTTTCCGTAG-3 (Kutsev et al., 2014).

ПЦР проводили с использованием коммерческого набора для амплификации БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Color (2×) (Биолабмикс, Россия). Амплификация проводилась на амплификаторе MyCycler (Bio-Rad, USA) по следующей программе: 94 °C – 5 мин, 30 циклов: 94 °C – 45 с, 56 °C – 60 с, 72 °C – 70 с; завершающая стадия: 72 °C – 10 мин, охлаждение при 4 °C.

Интрон *trnL* амплифицировали с использованием олигонуклеотидов TabC 5-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3 и TabD 5-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3 (Taberlet et

al., 1991) по следующей программе 94 °C – 5 мин, 40 циклов: 94 °C – 30 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 60 с; завершающая стадия: 72 °C – 5 мин, охлаждение при 4 °C.

Очистку ПЦР-продукта перед секвенированием проводили с помощью магнитных частиц MAXLIFE MagnetDNA (МВМ-Диагностик, Россия) по протоколу фирмы-изготовителя. Секвенирование проведено на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130xl (APPLIED BIOSYSTEMS, США). Выравнивание полученных последовательностей произведено с помощью программы MEGA 11 (Tamura et al., 2021).

### Результаты и их обсуждение

*Sanguisorba azovtsevii* Krasnob. et Pschen.: «Республика Казахстан, Восточно-Казахстанская область, Катон-Карагайский район, Катон-Карагайский национальный парк. Река Бухтарма, пойменный луг, 1660,3 м над ур. м., 49°12'56.37" с. ш. 86°54'42.05" в. д. 28 VII 2023. Г. А. Болботов» (ALTB1100074250) (рис. 1). – Вид *S. azovtsevii* описан с территории Семинского перевала (Россия, Республика Алтай), где отмечено место пересечения ареалов двух других видов: *S. officinalis* и *S. alpina*. Авторы вида сообщают о его гибрид-

ном происхождении и указывают на эндемичный тип ареала (Pshenichnaya, Krasnoborov, 1986). В «Определителе растений Республики Алтай» указано, что данный вид отличается от одной из родительских особей, а именно от *S. officinalis*, размерами соцветий и длиной тычиночных нитей, которые длиннее околоцветника в 1,5 раза (Krasnoborov, 2012). Кроме *losus classicus*, в дальнейшем вид был найден в верховье

реки Каракол Онгудайского района (Pyak, Ebel, 2001). Все известные на данный момент местонахождения вида представлены на карте-схеме (рис. 2) с учётом данных литературных источников (Pshenichnaya, Krasnoborov, 1986; Pyak, Ebel, 2001) и электронного ресурса – базы данных «Global Biodiversity Information Facility» (*Sanguisorba azovtsevii*, 2024).



Рис. 1. Внешний вид *Sanguisorba azovtsevii*: А – гербарный образец; Б – в природе на берегу р. Бухтармы (фото Г. А. Болботова).

Для подтверждения видовой принадлежности найденного растения нами получены последовательности ядерной и хлоропластной ДНК образцов *S. azovtsevii*, *S. officinalis* и *S. alpina* (с территории Семинского перевала, Россия) и *S. azovtsevii* (с территории Восточного Казахстана). Последовательности региона ITS1-5.8S-ITS2 длиной 620 пар оснований (п. о.) размещены в базе данных NCBI (табл. 1). Последовательности ITS1 имели длину 213 п. о., а последовательности ITS2 составляли 215 п. о. Длина гена 5,8S рРНК составляла 155 п. о. и частично включало 28S – 41 п. о. На хроматограмме *S. azovtsevii* как с тер-

ритории России, так и Казахстана, были обнаружены двойные нуклеотиды в позиции 617 п. о., что говорит о наличии двух аллельных вариантов ITS в геноме и гибридогенной природе происхождения данного вида (табл. 2).

Хлоропластная ДНК всех трёх видов по последовательности интрона *trnL* различается незначительно (имеются только две полиморфные позиции). При этом наблюдается сходство последовательностей хлоропластной ДНК, наследуемых по материнской линии у *S. azovtsevii* и *S. officinalis*, а также отличие участка *trnL* *S. alpina* (табл. 2). Ранее приводились данные

на основе полиморфизма некодирующих полиморфных участков хлДНК рода *Sanguisorba*, указывающие на наследование ДНК *S. azovtsevii* по материнской линии от *S. alpina* (Koltunova et al., 2023). Таким образом, по-видимому, возможны

оба варианта гибридизации, когда в качестве доноров пластидных и ядерных геномов могут выступать как *Sanguisorba alpina*, так и *Sanguisorba officinalis*.

Таблица 2

Вариации в последовательностях ядерной и хлоропластной ДНК образцов *Sanguisorba*

ДНК-маркер	Название вида	Позиция полиморфного нуклеотида	
		617 (ITS)	158 (trnL)
ITS1 (1...213); 5.8S (214...368); ITS2 (369...583); 28S (584...624)	<i>S. azovtsevii</i> (Берег р. Бухтармы)	M-C(T)	
	<i>S. azovtsevii</i> (Семинский перевал)	M-C(T)	
	<i>S. alpina</i> (Семинский перевал)	T	
	<i>S. officinalis</i> (Семинский перевал)	C	
<i>trnL</i> интрон (1...567)	<i>S. azovtsevii</i> (Берег р. Бухтармы)	A	G
	<i>S. azovtsevii</i> (Семинский перевал)	A	G
	<i>S. alpina</i> (Семинский перевал)	–	T
	<i>S. officinalis</i> (Семинский перевал)	A	G



Рис. 2. Карта-схема местонахождений *Sanguisorba azovtsevii*: красные точки – известные местонахождения вида; синяя точка – новое местонахождение вида.

По результатам RAF-анализа были выявлены молекулярно-генетические различия в популяциях трёх видов: *S. officinalis*, *S. alpina* и *S. azovtsevii* (Kutsev et al., 2013). У вида *S. azovtsevii* было

выявлено наибольшее генетическое разнообразие ( $GST = 0,2830$ ), которое показывает высокий внутрипопуляционный полиморфизм. Выявленное генетическое разнообразие для всех

трёх популяций ( $GST = 0,4053$ ) указывает на отсутствие свободного обмена генов между популяциями исследуемых видов и их стабильности (Kutsev et al., 2013). Более позднее исследование на основе анализа генетической идентичности и генетической дистанции выявило наследование ДНК *S. azovtsevii* от *S. alpina* и *S. officinalis* (Koltunova et al., 2023).

Изучение морфологических признаков трёх видов показало, что один из основных отличительных признаков *Sanguisorba alpina* от *Sanguisorba officinalis* – это более длинные тычиночные нити, выступающие за край околоцветника на 4,6 мм. При этом тычиночные нити *Sanguisorba azovtsevii* выступают за край околоцветника на 2,5 мм, т. е. более, чем у *Sanguisorba officinalis*, но менее, чем у *Sanguisorba alpina*, что также свидетельствует о его гибридогенной природе происхождения (рис. 3).

Обнаружение *Sanguisorba azovtsevii* в других районах пересечения ареалов видов *Sanguisorba alpina* и *Sanguisorba officinalis* позволяет сделать вывод о неоднократных случаях гибридизации этих видов и других возможных точках произрастания *Sanguisorba azovtsevii*.

#### Благодарности

Авторы выражают благодарность к. б. н. А. А. Кечайкину за ценные рекомендации при подготовке данной статьи.

Исследование выполнено в рамках реализации Программы развития университета на 2021–2030 годы при выполнении программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030 – проект «Изучение рода *Sanguisorba* методами молекулярной биологии и ГИС методами».



Рис. 3. Внешний вид околоцветника представителей р. *Sanguisorba*: А – *S. alpina*; Б – *S. azovtsevii*; В – *S. officinalis* (фото А. М. Колтуновой).

#### REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

*Fisyun V. V.* 1961. Rosaceae Juss. In: *N. V. Pavlov* (ed.). *Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan]*. Almaty: Publish of the Kazakh SSR. Vol.4. Pp. 385–521. [In Russian] (**Фисюн В. В.** Rosaceae Juss. // Флора Казахстана. Гл. ред. Павлов Н. В. Т.4. Алма-Ата: Изд-во АН Казахской ССР, 1961. С. 385–521).

**Kechaykin A. A., Batkin A. A., Sitpaeva G. T., Veselova P. V., Osmonali B. B., Shmakov A. I.** 2020. New data on the genus *Potentilla* L. (Rosaceae Juss.) in the flora of Kazakhstan. *Turczaninowia* 23, 1: 32–40. [In Russian] (**Кечайкин А. А., Баткин А. А., Ситпаева Г. Т., Веселова П. В., Осмонали Б. Б., Шмаков А. И.** Новые данные о роде *Potentilla* L. (Rosaceae Juss.) во флоре Казахстана // *Turczaninowia*, 2020. Т. 23, № 1. С. 32–40).

**Koltunova A. M., Kutsev M. G., Murtazaliev R. A.** 2023. Universal PCR primers for identification of species of the genus *Sanguisorba* and other representatives of the family Rosaceae. *Turczaninowia* 26, 3: 126–136. [In Russian] (**Колтунова А. М., Куцев М. Г., Муртазалиев Р. А.** Универсальные ПЦР-праймеры для идентификации видов рода *Sanguisorba* и других представителей семейства Rosaceae // *Turczaninowia*, 2023. Т. 26, № 3. С. 126–136). DOI: 10.14258/turczaninowia.26.3.10

**Krasnoborov I. M.** 2012. *Sanguisorba* L. In *Opredelitel rasteniy Respubliki Altay [Key to plants of the Altai Republic]*. Novosibirsk: SB RAS. P. 260. [In Russian] (**Красноборов И. М.** *Sanguisorba* L. – Кровохлебка // Определитель растений Республики Алтай. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. С. 260.).

**Kutsev M., Sinitsyna T., Kondo K.** 2013. Genetic diversity between three species of *Sanguisorba* L. from West Siberia based on Randomly Amplified DNA Fingerprints. *Turczaninowia* 16, 2: 134–136.

**Kutsev M. G., Uvarova O. V., Sinitsyna T. A.** 2014. *Nabor sinteticheskikh oligonukleotidov dlya amplifikatsii i sekvenirovaniya ITS1-5.8S-ITS2 sosudistykh rasteniy. Patent RF No. 2528063 ot 30.06.2014 [Set of synthetic oligonucleotides for the amplification and sequencing of ITS1-5.8S-ITS2 vascular plants. Patent of the Russian Federation No. 2528063 of 30.06.2014]*. [In Russian] (**Куцев М. Г., Уварова О. В., Синицына Т. А.** Набор синтетических олигонуклеотидов для амплификации и секвенирования ITS1-5.8S-ITS2 сосудистых растений // Патент РФ № 2528063 от 30.06.2014).

**Nabiev M. M.** 1976. *Sanguisorba* L. In: *Opredelitel rasteniy Sredney Azii [Key to plants of Central Asia]*. Tashkent: «Fan» UzSSR. Pp. 203–204. [In Russian] (**Набиев М. М.** *Sanguisorba* L. – Кровохлебка // Определитель растений Средней Азии. Ташкент: «Фан» УзССР, 1976. С. 203–204).

**Pshenichnaya I. N., Krasnoborov I. M.** 1986. A new species of the genus *Sanguisorba* (Rosaceae) from Seminskiy pass (Altai). *Izv. Sibirsk. Otd. Akad. Nauk S.S.S.R., Ser. Biol. Nauk* 18, 3: 3–5. [In Russian] (**Пшеничная И. Н., Красноборов И. М.** Новый вид рода *Sanguisorba* (Rosaceae) с Семинского перевала (Алтай) // Изв. Сиб. отдел. Акад. наук СССР. Сер. Биол. наук, 1986. № 18, вып. 3. С. 3–5).

**Pyak A., Ebel. A.** 2001. Materials to flora of Altai Mountains. *Turczaninowia* 4, 1–2: 86–94. [In Russian] (**Пяк А. И., Эбель А. Л.** Материалы к флоре Алтая. // *Turczaninowia*, 2001. Т. 4, № 1–2. С. 86–94).

**Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J.** 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105–1109.

**Tamura K., Stecher G., Kumar S.** 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis. Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 38(7): 3022–3027.

*Sanguisorba azovtsevii*. [2024]. In: *GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy*. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2024-12-09. URL: <https://www.gbif.org/species/3029579>