

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ДНК БАРКОДИРОВАНИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ТАКСОНОМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СЕМЕЙСТВА ЯСНОТКОВЫЕ (*LAMIACEAE*)Жұмабай Н.Б.<sup>1</sup> , Гұбайдуллин Н.Н.<sup>1</sup> , Ишмуратова М. Ю.<sup>2</sup> , Манабаева Ш.А.<sup>1\*</sup> <sup>1</sup>ТОО «Национальный центр биотехнологии», Кургальжинское шоссе 13/5, Астана, 010000, Казахстан<sup>2</sup>НАО «Карагандинский университет имени академика Е.А. Букетова», Казахстан, Караганда, ул. Университетская, 28

\* Correspondence: manabayeva@biocenter.kz

## АБСТРАКТ

Семейство Яснотковые или Губоцветные (*Lamiaceae - Labiatae*) является одним из крупнейших и наиболее значимых среди ароматических растений, включающее множество видов, содержащих ценные биологически активные вещества с выраженными фармакологическими свойствами. Растения этого семейства, такие как мята (*Mentha*), розмарин (*Rosmarinus*), Melissa (*Melissa*), шалфей (*Salvia*) и тимьян (*Thymus*), широко используются в традиционной и современной медицине благодаря их терапевтическим и биохимическим характеристикам. Важность правильной идентификации видов подчеркивается необходимостью сохранения биоразнообразия и устойчивого использования ресурсов данного семейства. В данной работе исследованы растения семейства *Lamiaceae*, произрастающие на территории Карагандинской области, методом ДНК-баркодирования. Исследования проводились на основе нуклеотидных последовательностей хлоропластных ДНК-баркодов *rbcl* и *trnH-psbA* с использованием методов попарных генетических расстояний, BLASTn и филогенетического дерева, основанного на анализе максимальной парсимонии. Продемонстрирована эффективность локуса *rbcl* для идентификации более высоких таксономических групп, таких как подсемейства и трибы, в отличие от родов, тогда как межгенный спейсер *trnH-psbA* оказался эффективным на уровне видов и родов.

**Ключевые слова:** семейство Яснотковые - *Lamiaceae*, ДНК-баркодирование, *rbcl*, *trnH-psbA*, филогенетический анализ, ДНК.

## ВВЕДЕНИЕ

Семейство Яснотковые, или Губоцветные (*Lamiaceae - Labiatae*) признано одним из важнейших среди растений благодаря своему фармакологическому и экономическому значению. Это одно из самых обширных семейств ароматических растений, включающее около 268 родов и 8133 видов, распространенных в регионах Средиземноморья и Центральной Азии. Более 1000 видов семейства широко используются в традиционной и современной медицине благодаря своим терапевтическим свойствам [1-3]. В это семейство входят многие известные лекарственные растения, такие как мята перечная (*Mentha piperita*), розмарин (*Rosmarinus officinalis*), тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris*), шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*) и базилик (*Ocimum basilicum*) [4]. Эфирные масла и вторичные метаболиты, вырабатываемые этими растениями, продемонстрировали многообещающую эффективность в борьбе с различными заболеваниями, включая рак, воспаления, микробные инфекции и окислительный стресс. Семейство Яснотковые также привлекает внимание своими пищевыми, ароматическими и декоративными качествами, что подчеркивает значимость их правильной идентификации, особенно для дикорастущих таксонов [5-8]. Эфирные масла и другие биологически активные соединения, получаемые из растений семейства Яснотковые, имеют экономическую значимость и широкое применение в пищевой и парфюмерно-косметической промышленности. Традиционная медицина веками использовала лекарственные растения, и в результате эти растения стали незаменимыми ресурсами для многих сообществ по всему миру [9]. Однако чрезмерный сбор и нерациональное использование этих растений привели к их истощению, что вызвало необходимость их сохранения и рационального

использования. [10-12]. Поэтому корректная идентификация видов семейства Яснотковые важна для предотвращения ошибок при их использовании, сохранения биоразнообразия, устойчивого использования ресурсов и развития научных исследований в этой области.

Метод ДНК-баркодирования стал мощным и надежным инструментом для идентификации видов, особенно растений с похожими морфологическими характеристиками. Этот метод использует короткую и стандартизованную последовательность ДНК, известную как баркод, которая служит молекулярным отпечатком для определения и различия видов растений [13, 14]. ДНК-баркодирование возникло как альтернативный метод классической таксономической идентификации растений, основанной на морфологических признаках. Несмотря на широкое использование классических маркеров, основанных на фенотипических признаках, на протяжении нескольких столетий, они часто не могут обеспечить детальную информацию о генотипических различиях между видами внутри семейства [14-17]. В отличие от них, молекулярные методы, такие как баркодирование ДНК, могут обеспечить более точную, надежную и высокочувствительную идентификацию растений на основе последовательности ДНК. Этот метод позволяет получить более подробную информацию о эволюционных связях между видами, что может помочь в управлении и сохранении биологического разнообразия растений, включая семейство Яснотковые, известное своим широким географическим распространением и морфологическим разнообразием [18-22].

Использование ДНК-баркодирования для семейства Яснотковые дает возможность точно определить и аутентифицировать образцы лекарственных растений, что зна-

чительно снижает риск ошибочной идентификации или фальсификации растительного сырья [19]. Технология ДНК-баркодирования также способствует сохранению и управлению растительным разнообразием, представляя быстрый, экономически эффективный и воспроизводимый метод идентификации видов и оценки биоразнообразия [23].

Многие семейства растений были баркодированы с использованием различных маркеров в ряде исследований. Например, в статье [24] рассматривается использование нескольких маркеров, таких как *ITS2*, *rbcL*, *matK* и *trnH-psbA*, в качестве потенциальных баркодов для растений. Другие исследования, такие как [25] или [5], использовали *rbcL* и *matK* как основные маркеры для баркодирования цветковых растений. В статье [26] семейство *Araceae* было баркодировано с использованием маркеров *rpoB*, *rpoCl*, *rbcL*, *matK* и *trnH-psbA*. В статье [27], семейство *Lemnaceae* было баркодировано с использованием маркеров *matK*, *rbcL*, и *rpoCl*, а в статье [28] была оценена эффективность различных маркеров для баркодирования рода *Lavandula* из семейства *Lamiaceae*.

Обобщая данные, можно отметить, что, хотя существует несколько стандартизированных универсальных ДНК-баркодов, таких как *rbcL* и *matK*, которые широко используются для баркодирования растительных видов, Таблица 1. Список видов семейства *Lamiaceae*

подход, основанный на использовании множества маркеров, набирает популярность. Разные маркеры могут быть более эффективными для различных таксономических групп растений, и баркодирование может быть более точным при использовании комбинации нескольких маркеров. Таким образом, для баркодирования семейства Яснотковые может быть полезным применение более одного маркера ДНК, поскольку это может повысить точность идентификации и классификации видов данного семейства.

В этом исследовании мы провели баркодирование ДНК растений из семейства Яснотковые с использованием двух маркеров: *rbcL* и *trnH-psbA*. Эти маркеры были выбраны за их широкую распространенность, надежность и эффективность в идентификации растений разных семейств [29, 30].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Материалы исследования.* В данной работе были использованы гербарные образцы 21 вида растений семейства Яснотковые, собранные в Карагандинской области ботаниками КарУ им. академика Е.А. Букетова (Таблица 1). Праймеры, использованные в данной работе, представлены в Таблице 2.

| Номер ваучера | Вид   | Координаты места сбора | Дата сбора | Инвентарные номера в GenBank |                  |
|---------------|---|------------------------|------------|------------------------------|------------------|
|               |   |                        |            | <i>rbcL</i>                  | <i>psbA-trnH</i> |
| KG23-0113     | <i>Dracocephalum nutans</i> L.                                      | N 49.4284, E 75.49287  | 19.05.2023 | PP869841                     | PP783213         |
| KG23-0114     | <i>Dracocephalum ruyschiana</i> L.                                  | N 49.30288, E 75.4934  | 06.07.2023 | PP713029                     | PP783217         |
| KG23-0190     | <i>Dracocephalum ambiguus</i> (Trautv.) Iljin ex Prochorov. & Lebel | N 49.48573, E 75.41885 | 06.07.2023 | OR626661                     | OR626664         |
| KG23-0191     | <i>Dracocephalum macranthum</i> Boriss                              | N 47.43832, E 74.81248 | 02.06.2023 | N/A                          | OR568529         |
| KG23-0191     | <i>Dracocephalum macranthum</i> Boriss.                             | N 47.36201, E 74.74058 | 02.06.2023 | OR660055                     | OR685113         |
| KG23-0210     | <i>Leonurus cardiaca</i> L.   | N 49.75600, E 73.11774 | 21.06.2023 | PP713028                     | PP836051         |
| KG23-0211     | <i>Leonurus glaucescens</i> Bunge                                   | N 49.42895, E 75.48023 | 07.06.2023 | N/A                          | N/A              |
| KG23-0227     | <i>Lycopus europaeus</i> L.   | N 47.43058, E 74.79666 | 16.07.2023 | PP869842                     | PP836053         |
| KG23-0228     | <i>Lycopus exaltatus</i> L.f.                                       | N 50.20885, E 74.24195 | 24.07.2023 | PP713025                     | PP836050         |
| KG23-0241     | <i>Mentha arvensis</i> L.   | N 49.37582, E 75.48251 | 05.07.2023 | N/A                          | N/A              |
| KG23-0242     | <i>Mentha micrantha</i> (Fisch.ex Benth.) Heinr.Braun               | N 47.40783, E 74.76684 | 16.07.2023 | PP713032                     | PP783219         |

|           |   |                        |            |          |          |
|-----------|---|------------------------|------------|----------|----------|
| KG23-0246 | <i>Nepeta heliotropifolia</i> Lam.      | N 49.51924, E 73.22125 | 24.05.2023 | PP713034 | PP783220 |
| KG23-0247 | <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>Nuda</i>   | N 49.43791, E 75.49051 | 04.07.2023 | PP713031 | PP836052 |
| KG23-0269 | <i>Phlomis tuberosa</i> (L.) Moench     | N 49.48573, E 75.41885 | 07.06.2023 | OR515814 | OR602860 |
| KG23-0325 | <i>Salvia dumetorum</i> Andr. ex Besser | N 49.49993, E 73.26461 | 24.05.2023 | PP713027 | PP783216 |
| KG23-0333 | <i>Scutellaria galericulata</i> L.      | N 46.77982, E 74.70626 | 04.07.2023 | PP713024 | PP836049 |
| KG23-0334 | <i>Scutellaria turgaica</i> Juz.        | N 47.43832, E 74.81248 | 02.06.2023 | OR626663 | N/A      |
| KG23-0368 | <i>Thymus kirgisorum</i> Dubj.          | N 47.43832, E 74.81248 | 02.06.2023 | PP713026 | PP783215 |
| KG23-0369 | <i>Thymus pannonicus</i> All.           | N 49.39265, E 75.49936 | 06.06.2023 | OR626662 | OR626665 |
| KG23-0370 | <i>Thymus rasitatus</i> Klokov          | N 47.40751, E 74.78195 | 16.07.2023 | PP713023 | PP783214 |
| KG23-0371 | <i>Thymus serpyllum</i> L.              | N 50.20885, E 74.24195 | 24.07.2023 | PP713033 | PP836054 |
| KG23-0401 | <i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam.    | N 49.43791, E 75.49051 | 04.07.2023 | PP713030 | PP783218 |

Таблица 2. Нуклеотидные последовательности праймеров, использованные для ДНК-баркодирования

| Название праймера    | Нуклеотидные последовательности праймеров | Локус баркодирования | T отжига (°C) | Источник |
|----------------------|---|----------------------|---------------|----------|
| rbcl <sub>a</sub> _F | 5' – ATGTCACCAACAAACAGAGACTAAAGC – 3'     | <i>rbcl</i>          | 58            | [31]     |
| rbcl <sub>a</sub> _R | 5' – GTAAATCAAGTCCACCRG – 3'              | <i>rbcl</i>          | 58            | [31]     |
| psbA3f               | 5' - GTTATGCATGGTGGATTACAAATCC - 3'       | <i>trnH-psbA</i>     | 53            | [32]     |
| trnHf_05             | 5' - CGCGCATGGTGGATTACAAATCC - 3'         | <i>trnH-psbA</i>     | 53            | [32]     |

**Амплификация и анализ данных.** Геномную ДНК выделяли из гербарного материала стандартным методом СТАВ [33]. Для ПЦР-амплификации были подготовлены реакционные смеси объемом 20 мкл, содержащие 2 мкл буфера, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,8 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатов (dNTP), 20 pmol каждого праймера, 0,5 единиц DreamTaq полимеразы (Thermo Fisher Scientific, США, EP0705) и 50-100 нг ДНК.

Секвенирование по Сэнгеру проводили с использованием BigDyeT Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США, 4337455) в соответствии с инструкциями производителя.

Полученные последовательности ДНК были проанализированы, выравнены, и построено филогенетическое дерево программ BLASTn и MEGA 11 [34].

Анализ генетической дивергенции по маркерам *rbcl* и *trnH-psbA* проведен с использованием двухпараметрической модели Кимуры (K2P). Было также рассчитано генетическое расстояние между образцами. Методы были

адаптированы на основе предыдущих исследований по баркодированию растений семейства *Lamiaceae* [15-17].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделенная ДНК растений семейства *Lamiaceae* характеризовалась высоким качеством с концентрацией  $\geq 200$  нг/мкл и отношением показателей преломления  $A_{260}/A_{280}$  около 1,8. Получены 19 нуклеотидных последовательностей молекулярного маркера *rbcl*, а так же 19 нуклеотидных последовательностей маркерного участка межгенного спейсера *trnH-psbA* (Таблица 1). Ключевым критерием при выборе участка ДНК-баркодирования является его универсальность, то есть высокая степень амплификации и секвенирования [35]. Все амплифицированные участки были успешно отсекуены. Ряд исследователей сообщают, что маркерный участок межгенного спейсера *trnH-psbA* показывает более высокие результаты по сравнению с другими маркерами ДНК-баркодирования [13, 16]. Наши исследования не выявили значительных различий, однако можно утверждать, что дан-

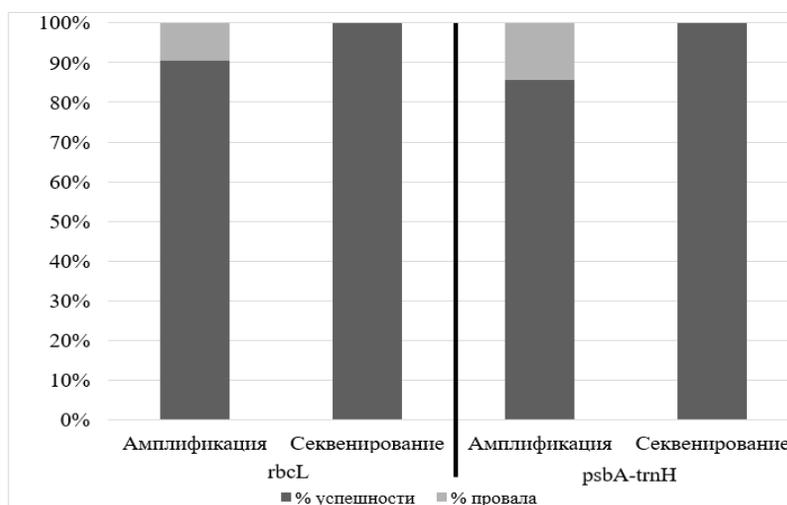


Рисунок 1. Степень успешной ПЦР-амплификации и секвенирования маркеров ДНК-баркодирования

ные маркеры имеют высокую эффективность для данного семейства (>85%) (Рисунок 1).

Размер полученных частичных нуклеотидных последовательностей *rbcL* варьировал от 498 до 600 п.н., что согласуется с результатами предыдущих исследований [14, 17, 18]. Что касается последовательностей межгенного спейсера *trnH-psbA*, использование вышеуказанных праймеров обеспечило успешную амплификацию не только межгенного спейсера, но и частично охватило гены *trnH*, *psbA*. Длина полученных последовательностей варьировала от 259 п.н. до 483 п.н., со средней длиной 404 п.н. Нуклеотидные последовательности непосредственно межгенных спейсеров имеют длину от 226 п.н. для вида *Phlomis tuberosa* и до 372 п.н. для вида *Nepeta heliotropifolia*, что в среднем составляет 309 п.н. и 88,57% от всего амплифицированного участка. Относительно большой диапазон длины *trnH-psbA*, по сравнению с *rbcL* указывает на большую степень дивергенции и вариативности данного молекулярного маркера (Рисунок 2). Так же имеются значительные различия в соотношении G:C. Средние содержания G:C составили 43,4% для *rbcL*, 30,1% для *trnH-psbA* (Рисунок 3).

#### Идентификация с помощью BLASTn

В результате идентификации по загруженным последовательностям *rbcL* 19 видов растений семейства *Lamiaceae*, лишь два вида (*Dracocephalum ruyschiana*,

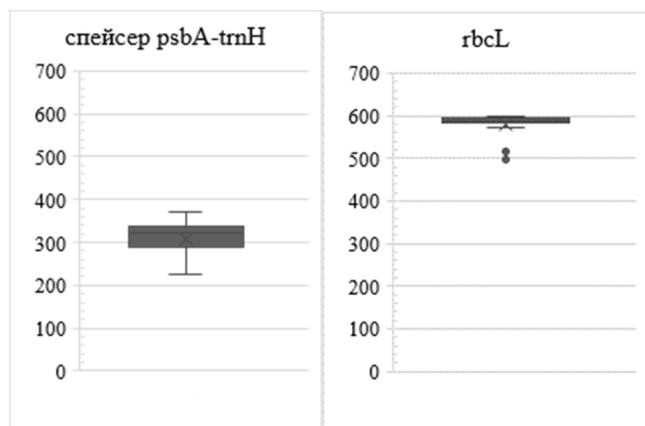


Рисунок 2. Диаграмма размаха длины полученных нуклеотидных последовательностей регионов межгенного спейсера *trnH-psbA* и *rbcL*

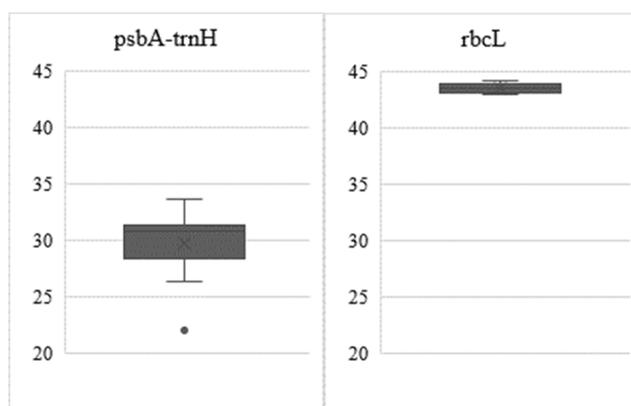


Рисунок 3. Диаграмма размаха содержания G+C полученных нуклеотидных последовательностей маркеров баркодирования

*Leonurus cardiaca*) удалось определить на видовом уровне. Поиск с помощью BLASTn показал, что нуклеотидная последовательность вида *Hyssopus ambiguous*, соответствует видам из другого семейства, что было сочтено за ошибочную идентификацию. При анализе вида *Dracocephalum macranthum*, среди лучших совпадений были как виды из рода *Hyssopus*, так и *Dracocephalum*. Данный результат объясняется тем, что часть видов рода *Dracocephalum* по современной номенклатуре включает в себя таксоны из трех близкородственных родов *Dracocephalum*, *Hyssopus* и *Lallemantia* [36]. Семь видов не имели нуклеотидные последовательности данного региона в базе данных, что позволило идентифицировать их только на уровне рода.

При идентификации региона межгенного спейсера *trnH-psbA* методом BLASTn удалось определить два вида на видовом уровне (*Leonurus cardiaca*, *Thymus serpyllum*). Пятнадцать растений удалось идентифицировать на уровне рода. Одиннадцать растений ранее не имели ДНК последовательности данного региона в базе данных NCBI (Рисунок 4).

В предыдущих исследованиях [13, 16, 17] сообщалось о более высокой эффективности маркерного участка *trnH-psbA* при идентификации на видовом уровне по сравнению с *rbcL*. Однако в нашем исследовании явного отличия не было обнаружено из-за недостатка базы данных для маркера *trnH-psbA*. Так же недостаток базы данных для маркера *rbcL* не позволил оценить его идентификаци-

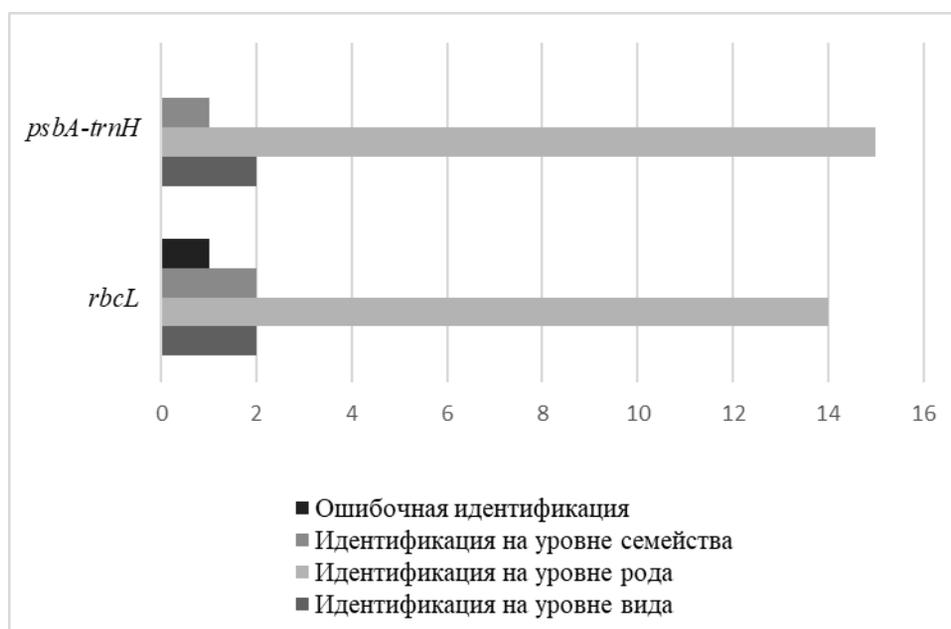


Рисунок 4. Идентификация исследуемых видов в BLASTn

Таблица 3. Общие данные маркерных последовательностей

| Молекулярный маркер                      | <i>rbcL</i> | <i>trnH-psbA</i> |
|--|-------------|------------------|
| Количество последовательностей           | 56          | 64               |
| Средняя длина последовательностей (п.н.) | 580         | 309              |
| Длина выравнивания                       | 498         | 497              |
| G:C (%)                                  | 43,5%       | 24,7%            |
| Консервативные участки (%)               | 80,5%       | 46,9%            |
| Вариабельные участки (%)                 | 19,5%       | 58,6%            |
| Pi участки                               | 79          | 190              |
| Singleton                                | 18          | 70               |

онные способности в полном объеме.

Длина выравнивания для *rbcL* и *trnH-psbA* составила 498 и 497 соответственно. Доля консервативных участков в регионе *rbcL* значительно выше относительно региона *trnH-psbA*. Более половины участков молекулярного маркера *trnH-psbA* оказались вариабельными (58,6%), что привело к увеличению числа Pi участков и Singleton по сравнению с *rbcL* (Таблица 3).

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей региона межгенного спейсера *trnH-psbA* позволил обнаружить полиморфные участки, характерные для

определенных родов. Были выявлены следующие полиморфные сайты рода *Dracocephalum*: мотив T(C)TTAAAT в промежутке между 175 и 181 нуклеотидными позициями, где у остальных видов наблюдаются пробелы(гэпы). Кроме того, у некоторых видов этого рода присутствует мотив AAAGTGAAT между 292 и 300 нуклеотидными позициями (Таблица 4). Род *Nepeta* так же обладает полиморфными сайтами в участке между 34 и 40 нуклеотидными позициями с мотивом АТААААТ, а также некоторые виды *Nepeta* имеют мотив СААG между 87 и 90 нуклеотидными позициями (Таблица 5).

Таблица 4. Полиморфные участки рода *Dracocephalum*

| Nucleotide position               | 175 | 176 | 177 | 178 | 179 | 180 | 181 | 292 | 293 | 294 | 295 | 296 | 297 | 298 | 299 | 300 |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Hyssopus ambiguus</i> OR626664 | T   | T   | T   | A   | A   | A   | T   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | T   |
| <i>Dracocephalum ruyschiana</i>   | C   | T   | T   | A   | A   | A   | T   | A   | A   | A   | G   | T   | G   | A   | A   | T   |

|                                      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dracocephalum nutans                 | C | T | T | A | A | A | T | A | A | A | G | T | G | A | A | T |
| Dracocephalum macranthum OR568529    | T | T | T | A | A | A | T | - | - | - | - | - | - | - | - | T |
| Dracocephalum moldavica MF371112     | C | T | T | A | A | A | T | A | A | A | G | T | G | A | A | T |
| Dracocephalum stamineum MF371111     | C | T | T | A | A | A | T | A | A | A | G | T | G | A | A | T |
| Dracocephalum integrifolium MF371110 | C | T | T | A | A | A | T | A | A | A | G | T | G | A | A | T |
| Dracocephalum officinale MG947172    | T | T | T | A | A | A | T | - | - | - | - | - | - | - | - | T |
| Dracocephalum rupestre FJ513110      | C | T | T | A | A | A | T | A | A | A | G | T | G | A | A | T |
| Dracocephalum forrestii MF785763     | C | T | T | A | A | A | T | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Dracocephalum tanguticum KY041774    | C | T | T | A | A | A | T | A | A | A | G | T | G | A | A | T |
| Другие виды                          | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

### Расчеты генетической дивергенции

лена между родами *Dracocephalum* и *Scutellaria* - 0,291.

Таблица 5. Полиморфные участки рода *Nepeta*

| Nucleotide position                   | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 87 | 88 | 89 | 90 |
|---------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| <i>Nepeta nuda</i>                    | A  | T  | A  | A  | A  | A  | T  | C  | A  | A  | G  |
| <i>Nepeta heliotropifolia</i>         | A  | T  | A  | A  | A  | A  | T  | C  | A  | A  | G  |
| <i>Nepeta cataria</i> MH753573        | A  | T  | A  | A  | A  | A  | T  | C  | A  | A  | G  |
| <i>Nepeta italica</i> HQ902833        | A  | T  | A  | A  | A  | A  | T  | C  | A  | A  | G  |
| <i>Nepeta x faassenii</i> MF348834    | A  | T  | A  | A  | A  | T  | T  | -  | -  | -  | -  |
| <i>Nepeta</i> sp. US:3540311 MF785768 | A  | T  | A  | A  | A  | -  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Другие виды                           | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  |

В расчете генетической дистанции по двухпараметрической модели Кимуры были использованы 63 нуклеотидные последовательности межгенного спейсера *trnH-psbA*, 55 частичных нуклеотидных последовательностей *rbcL*. Все неоднозначные позиции были удалены для каждой пары последовательностей (опция попарного удаления). В конечном наборе данных было 497 позиций для *trnH-psbA* и 498 позиций для *rbcL*. Среднее значение эволюционного расстояния составило 0,17 для *trnH-psbA*. Минимальная дистанция обнаружена между родами *Thymus* и *Mentha* и составила 0,071, а максимальная дистанция была установ-

Для *rbcL* минимальная дистанция была выявлена между родами *Mentha* и *Salvia* - 0,006, а максимальная дистанция между родами *Dracocephalum* и *Scutellaria* составила 0,038 (Таблица 6).

Результаты анализа межвидового расхождения среди родов семейства *Lamiaceae* по маркерам *rbcL* и *trnH-psbA* предоставляют данные о генетическом разнообразии и эволюционных взаимоотношениях внутри этого семейства. Диапазон значений межвидового расхождения, наблюдаемый для маркера *rbcL* и маркера *trnH-psbA*, указывает на различные скорости эволюции между этими двумя

Таблица 6. Попарные генетические дистанции K2P для каждого региона

| Регион                             | Показатель             | Значение | Роды                                      |
|------------------------------------|------------------------|----------|---|
| <i>rbcL</i>                        | Общее среднее значение | 0,02     |   |
|                                    | Минимальная дистанция  | 0,006    | <i>Mentha</i> и <i>Salvia</i>             |
|                                    | Максимальная дистанция | 0,038    | <i>Dracocephalum</i> и <i>Scutellaria</i> |
| Межгенный спейсер <i>trnH-psbA</i> | Общее среднее значение | 0,17     |   |
|                                    | Минимальная дистанция  | 0,071    | <i>Thymus</i> и <i>Mentha</i>             |
|                                    | Максимальная дистанция | 0,291    | <i>Dracocephalum</i> и <i>Scutellaria</i> |

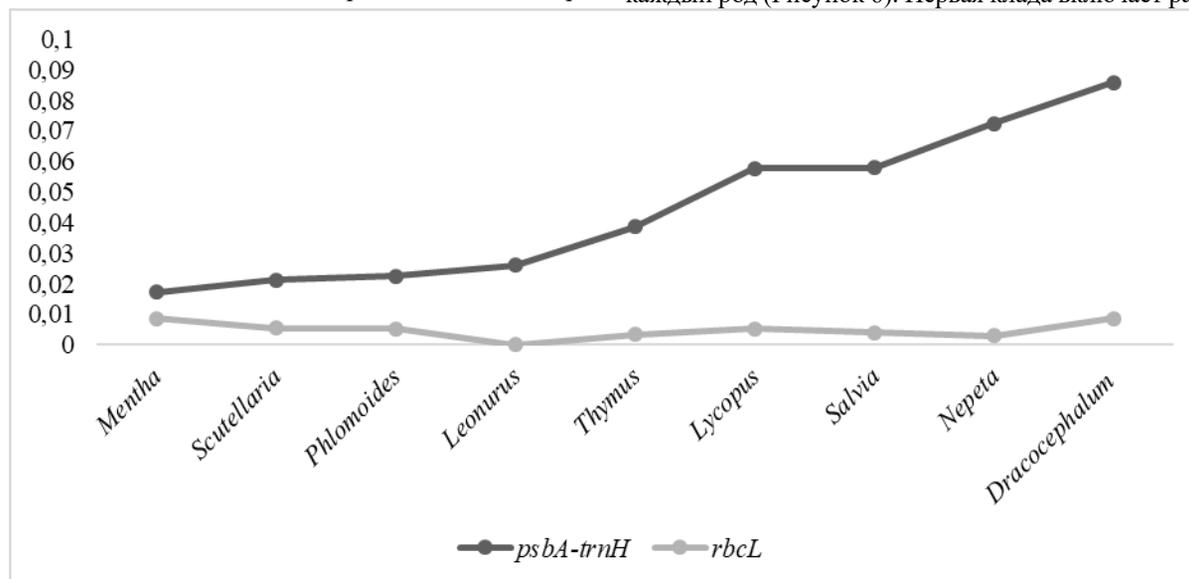
геномными регионами. Ранее сообщалось, ген *rbcL*, будучи частью хлоропластного генома [37], относительно консервативен, что объясняет его более низкие значения расхождения. В то время как межгенный спейсер *trnH-psbA* [38], также происходящий из хлоропласта, но некодирующий, эволюционирует быстрее и, следовательно, демонстрирует большую вариабельность. Это расхождение соответствует общим ожиданиям молекулярной эволюции, где кодирующие области, как правило, более консервативны, чем некодирующие [39].

Род *Dracocephalum* выделяется высокими значениями расхождения для обоих маркеров (0.0858 для *trnH-psbA* и 0.00869 для *rbcL*). Эта высокая степень расхождения может свидетельствовать о значительных эволюционных изменениях или адаптивной радиации внутри этого рода. Повышенное расхождение по обоим маркерам указывает на то, что род *Dracocephalum* претерпел значительную генетическую дифференциацию, возможно, обусловленную экологическими факторами или географической изоляцией, способствующей видообразованию [40]. Напротив, род *Mentha* показывает наименьшее расхождение для мар-

кера *trnH-psbA* (0.0172), но наибольшее для маркера *rbcL* (0.00872). Этот контрастный паттерн может указывать на различные эволюционные динамики, действующие на два маркера. Низкое расхождение по маркеру *trnH-psbA* может свидетельствовать о недавних событиях видообразования или геномном потоке, поддерживающем генетическую однородность. С другой стороны, высокое расхождение по маркеру *rbcL* может указывать на древние расхождения внутри рода, отражающие долгую эволюционную историю с консервативными, но различимыми линиями (Рисунок 5).

#### Филогенетическое дерево

Филогенетическое дерево маркерного участка *trnH-psbA* было построено с использованием 18 полученных последовательностей межгенного спейсера *trnH-psbA*, а так же 48 последовательностей из GenBank, включая 2 вида внешней группы. Филогенетическое дерево, построенное методом максимальной парсимонии (МП), классифицировало все образцы в две большие клады, которые далее разделились на девять кластеров, представляющих каждый род (Рисунок 6). Первая клада включает растения

Рисунок 5. Межвидовая дивергенция (K2P) среди родов семейства *Lamiaceae*

из подсемейства *Nepetoideae*. Все растения данного подсемейства принадлежат к трибе *Menthaeae*. Это клада далее разделилась на шесть кластеров, каждый из которых соответствует роду *Dracocephalum*, *Nepeta*, *Lycopus*, *Salvia*, *Mentha*, *Thymus*. Филогенетическое дерево так же указывает на сходство между родами *Dracocephalum* и *Nepeta*, а так же между *Mentha* и *Thymus*, что подтверждает их нахождение в одной подтрибе *Nepetinae* и *Menthinae* соответственно. Вид *Thymus camphoratus* (OL312328) был отнесен к подтрибе *Menthinae*, но не имел сходства ни с

одним видом из этой подтрибы.

Вторая клада включает растения из двух подсемейств *Scutellarioideae* и *Lamioideae*. Клада разделилась на три кластера, один из которых состоит из видов, относящихся к подсемейству *Scutellarioideae*, а остальные два кластера включают роды *Leonurus* и *Phlomis* из подсемейства *Lamioideae*.

Филогенетическое дерево маркерного участка *rbcL* было построено методом максимальной парсимонии с

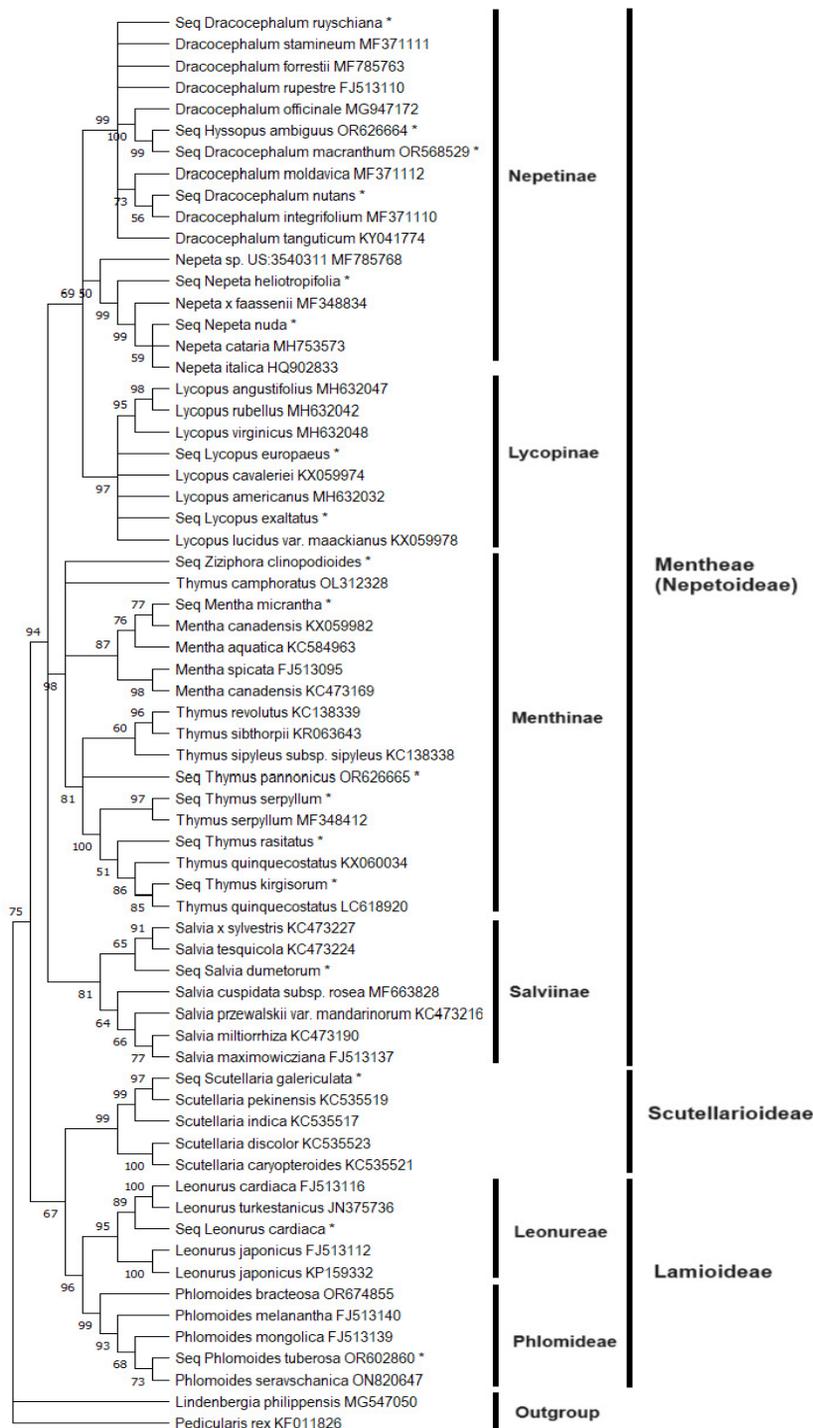


Рисунок 6. Филогенетическое дерево МР (Bootstrap = 500) межгенного спейсера *trnH-psbA*

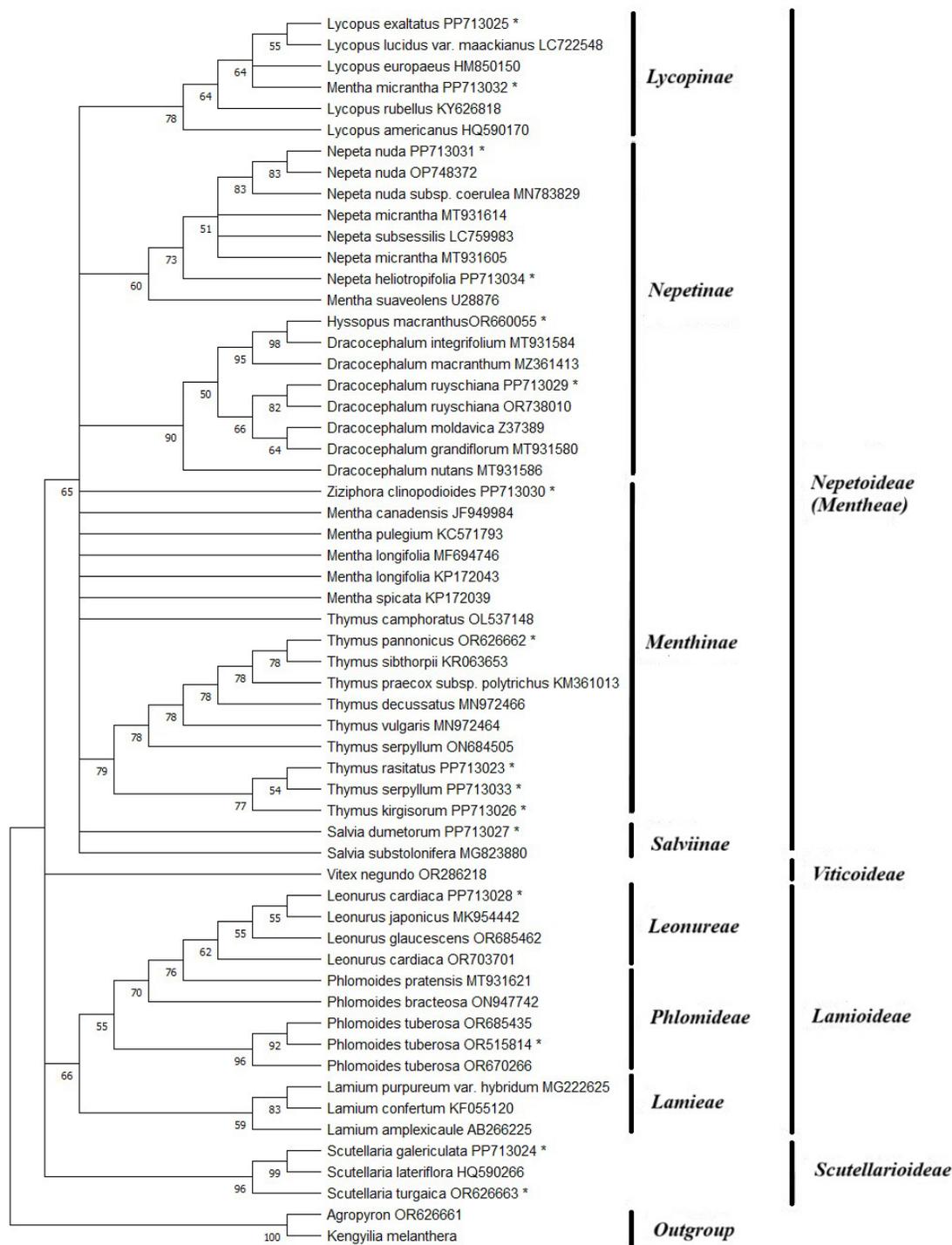


Рисунок 7. Филогенетическое дерево MP (Bootstrap = 1000) маркерного участка *rbcL*

использованием 16 полученных нуклеотидных последовательностей *rbcL* и 40 нуклеотидных последовательностей из базы данных GenBank. Филогенетическое дерево МП классифицировало все образцы в 5 клад подсемейств: *Nepetoideae*, *Viticoideae*, *Lamioideae*, *Leonureae*, *Scutellarioideae*, с дальнейшим разделением на 7 кластеров (Рисунок 7).

Филогенетическое дерево разделило все виды на 4 отдельные клады, соответствующие их подсемействам, с максимальной поддержкой. Первую кладу составили виды из подсемейства *Scutellarioideae*, состоящего из одного рода *Scutellaria*. Далее расположилось подсемейство *Lamioideae*, которое разделилось на 2 кластера: один кла-

стер включал виды рода *Lamium*, а второй кластер виды родов *Phlomoideae* и *Leonurus*, причем род *Leonurus* оказался внутри кластера с *Phlomoideae*.

Самая большая кладка, принадлежащая подсемейству *Nepetoideae*, состояла из видов одной трибы *Mentheae*. Внутри этой клады было сформировано еще 2 подтрибы: *Nepetinae* и *Menthinae*. Виды *Mentha* не образовали отдельный кластер, некоторые представители (*Mentha micrantha* (PP713032), *Mentha suaveolens* (U28876)) оказались в родах *Lycopus* и *Nepeta* соседней подтрибы *Nepetinae*.

В филогенетическом анализе, представленном в нашей статье, при сравнении деревьев, основанных на маркер-

ных участках *rbcL* и *trnH-psbA*, можно отметить, что маркер *rbcL* имеет достаточную эффективность для определения таксономических рангов выше родов. В то время как *trnH-psbA* оказался более эффективным при определении таксономии на уровне родов и видов. Маркер *rbcL* показал низкую эффективность при разделении родов *Mentha*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало, что молекулярные маркеры *rbcL* и *trnH-psbA* обладают высокой эффективностью для идентификации видов в семействе *Lamiaceae*. Маркер *rbcL*, несмотря на свою низкую вариабельность, продемонстрировал достаточную точность в определении таксономических рангов, что делает его полезным для классификации более крупных таксономических групп. В то же время, маркер *trnH-psbA*, обладающий высокой степенью вариабельности и полиморфизма, показал большую эффективность в идентификации на видовом уровне и в разграничении между родами, особенно в случаях значительной генетической дифференциации, как это наблюдалось у рода *Dracocephalum*. Оба маркера дополняют друг друга и обеспечивают всесторонний подход к молекулярной идентификации и филогенетическому анализу растений. Для повышения точности и полноты идентификации рекомендуется использование комбинации нескольких маркеров, что позволяет учесть как консервативные, так и вариабельные геномные участки.

## ЛИТЕРАТУРА

- Nieto G. Biological activities of three essential oils of the *Lamiaceae* family // *Medicines*. – 2017. – Vol. 4, № 3. – P. 63. <https://doi.org/10.3390/medicines4030063>
- R. Ramasubramania Raja. Medicinally Potential Plants of *Labiatae* (*Lamiaceae*) Family: An Overview // *Research Journal of Medicinal Plants* –2012. DOI:10.3923/rjmp.2012.203.213.
- Panda SK V. P. L., Mukazayire MJ and Gazim ZC. Editorial: Ethnopharmacology of the *Lamiaceae*: Opportunities and challenges for developing new medicines. – 2022. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.961486>.
- Karpiński T.M. Essential Oils of *Lamiaceae* Family Plants as Antifungals // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 103. <https://doi.org/10.3390/biom10010103>
- Thakur V. V., Tripathi N., Tiwari S. DNA barcoding of some medicinally important plant species of *Lamiaceae* family in India // *Molecular Biology Reports*. – 2021. – Vol. 48, № 4. – P. 3097-3106. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06356-3>
- Ciocarlan N. Medicinal *Lamiaceae* species of the wild flora of the Republic of Moldova and their curative importance // *Buletin Ştiinţific. Revista de Etnografie, Ştiinţele Naturii şi Muzeologie (Serie Nouă)* – 2013. – Vol. 18(31). – P. 8-12.
- Uritu C. M., Mihai C. T., Stanciu G.-D., Dodi G., Alexa-Stratulat T., Luca A., Leon-Constantin M.-M., Stefanescu R., Bild V., Melnic S., Tamba B. I. Medicinal Plants of the Family *Lamiaceae* in Pain Therapy: A Review // *Pain Research and Management*. – 2018. – Vol. 2018. – P. 7801543. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
- Shuaib M. K., Ikramullah & Sharifullah, & Khan, Rahamdad & Hashmatullah, & Mubarik, Sabina & Naz, Reshman. Ethnobotanical studies of spring flora of district dir (lower), Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan // *Pak. J. Weed Sci. Res.* – 2014. – Vol. 20. – P. 37-49. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
- Han J., Shi L. C., Yao H., Song J. Y., Xu H. X., Sun C., Xie C. X., Chen S. L. Testing Potential DNA Barcoding Regions in the *Labiatae* Medicinal Plants // *Planta Med.* – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 26. DOI: 10.1055/s-2009-1216417
- Gardner Z., Jun Pill Baek J. P., Donia A. E. R., Craker L. E. Effects of Nitrogen on the Yield and Quality of Selected Chinese Medicinal Plants of the *Lamiaceae* Family // *Planta Med.* – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 1. DOI: 10.1055/s-2009-1216439
- Quave C. L., Smeltzer M. Anti-Biofilm Activity of *Marrubium vulgare* L. (*Lamiaceae*) Extract on MRSA // *Planta Med.* – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 96. DOI: 10.1055/s-2009-1216534
- Ferreira D., Zjawiony J. K., Moawad A., Hifnawy M., Hetta M. Chemical Investigation of Two Species of the Family *Cycadaceae* // *Planta Med.* – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 53. DOI: 10.1055/s-2009-1216491
- Theodoridis S., Stefanaki A., Tezcan M., Aki C., Kokkini S., Vlachonassios K. E. DNA barcoding in native plants of the *Labiatae* (*Lamiaceae*) family from Chios Island (Greece) and the adjacent Çeşme-Karaburun Peninsula (Turkey) // *Molecular Ecology Resources*. – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 620-633. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2012.03129.x>
- De Mattia F., Bruni I., Galimberti A., Cattaneo F., Casiraghi M., Labra M. A comparative study of different DNA barcoding markers for the identification of some members of *Lamiaceae* // *Food Research International*. – 2011. – Vol. 44, № 3. – P. 693-702. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.032>
- Nazar N., Howard C., Slater A., Sgamma T. Challenges in medicinal and aromatic plants DNA barcoding—lessons from the *Lamiaceae* // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, № 1. – P. 137. <https://doi.org/10.3390/plants11010137>
- Han J.P., Shi L.C., Chen X.C., Lin Y.L. Comparison of four DNA barcodes in identifying certain medicinal plants of *Lamiaceae* // *Journal of Systematics and Evolution*. – 2012. – Vol. 50, № 3. – P. 227-234. <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2012.00184.x>
- Zahra N., Shinwari Z., Qaiser M. DNA Barcoding: A Tool for Standardization of Herbal Medicinal Products (Hmps) Of *Lamiaceae* From Pakistan // *Pakistan Journal of Botany*. – 2016. – Vol. 48. – P. 2167-2174.
- Federici S., Galimberti A., Bartolucci F., Bruni I., De Mattia F., Cortis P., Labra M. DNA barcoding to analyse taxonomically complex groups in plants: the case of *Thymus* (*Lamiaceae*) // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2013. – Vol. 171, № 4. – P. 687-699. <https://doi.org/10.1111/bj.12034>
- Elsherbeny A. DNA barcoding of some medicinal plants, family *Labiatae* // *Egypt. J. Exp. Biol.* – 2016. – Vol. 12. – P. 175-180. DOI:10.5455/egyjebb.20160810065917
- Oyebanji O., Chukwuma E., Bolarinwa K., Adejobi

- O., Adeyemi S., Ayoola A. Re-evaluation of the phylogenetic relationships and species delimitation of two closely related families (*Lamiaceae* and *Verbenaceae*) using two DNA barcode markers // *Journal of biosciences*. – 2020. – Vol. 45. – P. 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12038-020-00061-2>
21. Nikitina E., Beshko N. Y., Omarov S. Assessment of plant species diversity (*Lamiaceae* Lindle.) in Uzbekistan based on DNA barcoding // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – Vol. 1068 – IOP Publishing, 2022. – P. 12042. DOI 10.1088/1755-1315/1068/1/012042
22. Parveen I., Techen N., Khan I. A. Identification of Species in the Aromatic Spice Family *Apiaceae* Using DNA Mini-barcodes // *Planta Med*. – 2019. – Vol. 85, № 02. – P. 139-144. DOI: 10.1055/a-0664-0947
23. Sheidai M., Tabaripour R., Talebi S. M., Noormohammadi Z., Koohdar F. Adulteration in medicinally important plant species of *Ziziphora* in Iran market: DNA barcoding approach // *Industrial crops and products*. – 2019. – Vol. 130. – P. 627-633. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.025>
24. Saddhe A. A., Kumar K. DNA barcoding of plants: selection of core markers for taxonomic groups // *Plant Science Today*. – 2018. – Vol. 5, № 1. – P. 9-13. <https://doi.org/10.14719/pst.2018.5.1.356>
25. Vijayan K., Tsou C. DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective // *Current science*. – 2010. – P. 1530-1541.
26. Luo K., Chen S., Chen K., Song J., Yao H. Application of DNA barcoding to the medicinal plants of the *Araceae* family // *Planta Medica*. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 10. DOI: 10.1055/s-2009-1216448
27. Wang W., Wu Y., Yan Y., Ermakova M., Kerstetter R., Messing J. DNA barcoding of the *Lemnaceae*, a family of aquatic monocots // *BMC Plant Biology*. – 2010. – Vol. 10. – P. 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-205>
28. Han J., Shi L., Yao H., Song J., Xu H., Sun C., Xie C., Chen S. Testing potential DNA barcoding regions in the *Labiatae* medicinal plants // *Planta Medica*. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P.26. DOI: 10.1055/s-2009-1216417
29. Vasconcelos S., Nunes G. L., Dias M. C., Lorena J., Oliveira R. R., Lima T. G., Pires E. S., Valadares R. B., Alves R., Watanabe M. T. Unraveling the plant diversity of the Amazonian canga through DNA barcoding // *Ecology and Evolution*. – 2021. – Vol. 11, № 19. – P. 13348-13362. <https://doi.org/10.1002/ece3.8057>
30. Mathew D. DNA Barcoding and its Applications in Horticultural crops // Deepu Mathew, DNA Barcoding and its applications in Horticultural crops. In: Peter, KV (Ed.), *Biotechnology in Horticulture: Methods and Applications*, New India Publishing Agency, New Delhi. – 2013. – P. 25-50. doi: 10.5281/zenodo.836319
31. Kuzmina M. L., Johnson K. L., Barron H. R., Hebert P. D. Identification of the vascular plants of Churchill, Manitoba, using a DNA barcode library // *BMC Ecol*. – 2012. – Vol. 12. – P. 25. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-12-25>
32. Parmentier I., Duminil J. m., Kuzmina M., Philippe M., Thomas D. W., Kenfack D., Chuyong G. B., Cruaud C., Hardy O. J. How effective are DNA barcodes in the identification of African rainforest trees // *PLoS one*. – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. 54921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054921>
33. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochemical bulletin*. – 1987.
34. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 // *Molecular biology and evolution*. – 2021. – Vol. 38, № 7. – P. 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
35. Group C. P. W. A DNA barcode for land plants // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2009. – P. 12794-12797.
36. Chen Y. P., Turdimatovich T. O., Nuraliev M. S., Lazarević P., Drew B. T., Xiang C. L. Phylogeny and biogeography of the northern temperate genus *Dracocephalum* (*Lamiaceae*) // *Cladistics*. – 2022. – Vol. 38, № 4. – P. 429-451. <https://doi.org/10.1111/cla.12502>
37. Pham M. P., Tran V. H., Vu D. D., Nguyen Q. K., Shah S. N. M. Phylogenetics of native conifer species in Vietnam based on two chloroplast gene regions *rbcL* and *matK* // *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. – 2021. – Vol. 57, № 2. – P. 58-66. <https://doi.org/10.17221/88/2020-CJGPB>
38. Lv Y. N., Yang C. Y., Shi L. C., Zhang Z. L., Xu A. S., Zhang L. X., Li X. L., Li H. T. Identification of medicinal plants within the *Apocynaceae* family using *ITS2* and *psbA-trnH* barcodes // *Chin J Nat Med*. – 2020. – Vol. 18, № 8. – P. 594-605. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(20\)30071-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(20)30071-6)
39. Mainali P., Pathak S. Comparisons of Coding and Non-coding Sequences to infer the Origin of Codon usage Bias // *bioRxiv*. – 2017. – P. 174359. <https://doi.org/10.1101/174359>
40. Kyrkjeeide M. O., Westergaard K. B., Kleven O., Evju M., Endrestøl A., Brandrud M. K., Stabbetorp O. Conserving on the edge: genetic variation and structure in northern populations of the endangered plant *Dracocephalum ruyschiana* L. (*Lamiaceae*) // *Conservation Genetics*. – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 707-718. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01281-7>

## REFERENCES

- Nieto G. Biological activities of three essential oils of the *Lamiaceae* family // *Medicines*. – 2017. – Vol. 4, № 3. – P. 63. <https://doi.org/10.3390/medicines4030063>
- R. Ramasubramania Raja. Medicinally Potential Plants of *Labiatae* (*Lamiaceae*) Family: An Overview // *Research Journal of Medicinal Plants* – 2012. DOI:10.3923/rjmp.2012.203.213.
- Panda SK V. P. L., Mukazayire MJ and Gazim ZC. Editorial: Ethnopharmacology of the *Lamiaceae*: Opportunities and challenges for developing new medicines. – 2022. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.961486>.
- Karpiński T.M. Essential Oils of *Lamiaceae* Family Plants as Antifungals // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 103. <https://doi.org/10.3390/biom10010103>
- Thakur V. V., Tripathi N., Tiwari S. DNA barcoding of some medicinally important plant species of *Lamiaceae* family in India // *Molecular Biology Reports*. – 2021. – Vol. 48, № 4. – P. 3097-3106. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06356-3>

6. Ciocarlan N. Medicinal *Lamiaceae* species of the wild flora of the Republic of Moldova and their curative importance // Buletin Științific. Revista de Etnografie, Științele Naturii și Muzeologie (Serie Nouă) –2013. – Vol. 18(31). – P. 8-12.
7. Uritu C. M., Mihai C. T., Stanciu G.-D., Dodi G., Alexa-Stratulat T., Luca A., Leon-Constantin M.-M., Stefanescu R., Bild V., Melnic S., Tamba B. I. Medicinal Plants of the Family *Lamiaceae* in Pain Therapy: A Review // Pain Research and Management. – 2018. – Vol. 2018. – P. 7801543. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
8. Shuaib M. K., Ikramullah & Sharifullah, & Khan, Rahamdad & Hashmatullah, & Mubarik, Sabina & Naz, Reshman. Ethnobotanical studies of spring flora of district dir (lower), Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan // Pak. J. Weed Sci. Res. – 2014. – Vol. 20. – P. 37-49. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
9. Han J., Shi L. C., Yao H., Song J. Y., Xu H. X., Sun C., Xie C. X., Chen S. L. Testing Potential DNA Barcoding Regions in the *Labiatae* Medicinal Plants // Planta Med. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 26. DOI: 10.1055/s-2009-1216417
10. Gardner Z., Jun Pill Baek J. P., Donia A. E. R., Craker L. E. Effects of Nitrogen on the Yield and Quality of Selected Chinese Medicinal Plants of the *Lamiaceae* Family // Planta Med. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 1. DOI: 10.1055/s-2009-1216439
11. Quave C. L., Smeltzer M. Anti-Biofilm Activity of *Marrubium vulgare* L. (*Lamiaceae*) Extract on MRSA // Planta Med. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 96. DOI: 10.1055/s-2009-1216534
12. Ferreira D., Zjawiony J. K., Moawad A., Hifnawy M., Hetta M. Chemical Investigation of Two Species of the Family *Cycadaceae* // Planta Med. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 53. DOI: 10.1055/s-2009-1216491
13. Theodoridis S., Stefanaki A., Tezcan M., Aki C., Kokkini S., Vlachonassios K. E. DNA barcoding in native plants of the *Labiatae* (*Lamiaceae*) family from Chios Island (Greece) and the adjacent Çeşme-Karaburun Peninsula (Turkey) // Molecular Ecology Resources. – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 620-633. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2012.03129.x>
14. De Mattia F., Bruni I., Galimberti A., Cattaneo F., Casiraghi M., Labra M. A comparative study of different DNA barcoding markers for the identification of some members of *Lamiaceae* // Food Research International. – 2011. – Vol. 44, № 3. – P. 693-702. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.032>
15. Nazar N., Howard C., Slater A., Sgamma T. Challenges in medicinal and aromatic plants DNA barcoding—lessons from the *Lamiaceae* // Plants. – 2022. – Vol. 11, № 1. – P. 137. <https://doi.org/10.3390/plants11010137>
16. Han J.P., Shi L.C., Chen X.C., Lin Y.L. Comparison of four DNA barcodes in identifying certain medicinal plants of *Lamiaceae* // Journal of Systematics and Evolution. – 2012. – Vol. 50, № 3. – P. 227-234. <https://doi.org/10.1111/j.1759-6831.2012.00184.x>
17. Zahra N., Shinwari Z., Qaiser M. DNA Barcoding: A Tool for Standardization of Herbal Medicinal Products (Hmps) Of *Lamiaceae* From Pakistan // Pakistan Journal of Botany. – 2016. – Vol. 48. – P. 2167-2174.
18. Federici S., Galimberti A., Bartolucci F., Bruni I., De Mattia F., Cortis P., Labra M. DNA barcoding to analyse taxonomically complex groups in plants: the case of *Thymus* (*Lamiaceae*) // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2013. – Vol. 171, № 4. – P. 687-699. <https://doi.org/10.1111/boj.12034>
19. Elsherbeny A. DNA barcoding of some medicinal plants, family *Labiatae* // Egypt. J. Exp. Biol. – 2016. – Vol. 12. – P. 175-180. DOI:10.5455/egyjebb.20160810065917
20. Oyeibanji O., Chukwuma E., Bolarinwa K., Adejobi O., Adeyemi S., Ayoola A. Re-evaluation of the phylogenetic relationships and species delimitation of two closely related families (*Lamiaceae* and *Verbenaceae*) using two DNA barcode markers // Journal of biosciences. – 2020. – Vol. 45. – P. 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12038-020-00061-2>
21. Nikitina E., Beshko N. Y., Omarov S. Assessment of plant species diversity (*Lamiaceae* Lindl.) in Uzbekistan based on DNA barcoding // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – Vol. 1068 – IOP Publishing, 2022. – P. 12042. DOI 10.1088/1755-1315/1068/1/012042
22. Parveen I., Techen N., Khan I. A. Identification of Species in the Aromatic Spice Family *Apiaceae* Using DNA Mini-barcodes // Planta Med. – 2019. – Vol. 85, № 02. – P. 139-144. DOI: 10.1055/a-0664-0947
23. Sheidai M., Tabaripour R., Talebi S. M., Noormohammadi Z., Koohdar F. Adulteration in medicinally important plant species of *Ziziphora* in Iran market: DNA barcoding approach // Industrial crops and products. – 2019. – Vol. 130. – P. 627-633. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.025>
24. Saddhe A. A., Kumar K. DNA barcoding of plants: selection of core markers for taxonomic groups // Plant Science Today. – 2018. – Vol. 5, № 1. – P. 9-13. <https://doi.org/10.14719/pst.2018.5.1.356>
25. Vijayan K., Tsou C. DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective // Current science. – 2010. – P. 1530-1541.
26. Luo K., Chen S., Chen K., Song J., Yao H. Application of DNA barcoding to the medicinal plants of the *Araceae* family // Planta Medica. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P. 10. DOI: 10.1055/s-2009-1216448
27. Wang W., Wu Y., Yan Y., Ermakova M., Kerstetter R., Messing J. DNA barcoding of the *Lemnaceae*, a family of aquatic monocots // BMC Plant Biology. – 2010. – Vol. 10. – P. 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-205>
28. Han J., Shi L., Yao H., Song J., Xu H., Sun C., Xie C., Chen S. Testing potential DNA barcoding regions in the *Labiatae* medicinal plants // Planta Medica. – 2009. – Vol. 75, № 04. – P.26. DOI: 10.1055/s-2009-1216417
29. Vasconcelos S., Nunes G. L., Dias M. C., Lorena J., Oliveira R. R., Lima T. G., Pires E. S., Valadares R. B., Alves R., Watanabe M. T. Unraveling the plant diversity of the Amazonian canga through DNA barcoding // Ecology and Evolution. – 2021. – Vol. 11, № 19. – P. 13348-13362. <https://doi.org/10.1002/ece3.8057>
30. Mathew D. DNA Barcoding and its Applications in Horticultural crops // Deepu Mathew, DNA Barcoding and its applications in Horticultural crops. In: Peter, KV (Ed.), Bio-

technology in Horticulture: Methods and Applications, New India Publishing Agency, New Delhi. – 2013. – P. 25-50. doi: 10.5281/zenodo.836319

31. Kuzmina M. L., Johnson K. L., Barron H. R., Hebert P. D. Identification of the vascular plants of Churchill, Manitoba, using a DNA barcode library // BMC Ecol. – 2012. – Vol. 12. – P. 25. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-12-25>

32. Parmentier I., Duminil J. m., Kuzmina M., Philippe M., Thomas D. W., Kenfack D., Chuyong G. B., Cruaud C., Hardy O. J. How effective are DNA barcodes in the identification of African rainforest trees // PLoS one. – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. 54921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054921>

33. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochemical bulletin. – 1987.

34. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 // Molecular biology and evolution. – 2021. – Vol. 38, № 7. – P. 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

35. Group C. P. W. A DNA barcode for land plants // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2009. – P. 12794-12797.

36. Chen Y. P., Turdimatovich T. O., Nuraliev M. S., Lazarević P., Drew B. T., Xiang C. L. Phylogeny and biogeography of the northern temperate genus *Dracocephalum* (Lamiaceae) // Cladistics. – 2022. – Vol. 38, № 4. – P. 429-451. <https://doi.org/10.1111/cla.12502>

37. Pham M. P., Tran V. H., Vu D. D., Nguyen Q. K., Shah S. N. M. Phylogenetics of native conifer species in Vietnam based on two chloroplast gene regions *rbcL* and *matK* // Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. – 2021. – Vol. 57, № 2. – P. 58-66. <https://doi.org/10.17221/88/2020-CJGPB>

38. Lv Y. N., Yang C. Y., Shi L. C., Zhang Z. L., Xu A. S., Zhang L. X., Li X. L., Li H. T. Identification of medicinal plants within the *Apocynaceae* family using *ITS2* and *psbA-trnH* barcodes // Chin J Nat Med. – 2020. – Vol. 18, № 8. – P. 594-605. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(20\)30071-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(20)30071-6)

39. Mainali P., Pathak S. Comparisons of Coding and Non-coding Sequences to infer the Origin of Codon usage Bias // bioRxiv. – 2017. – P. 174359. <https://doi.org/10.1101/174359>

40. Kyrkjeeide M. O., Westergaard K. B., Kleven O., Evju M., Endrestøl A., Brandrud M. K., Stabbetorp O. Conserving on the edge: genetic variation and structure in northern populations of the endangered plant *Dracocephalum ruyschiana* L. (Lamiaceae) // Conservation Genetics. – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 707-718. <https://doi.org/10.1007/s10592-020-01281-7>

UDC: 582.94

## APPLICATION OF THE DNA BARCODING METHOD FOR IDENTIFICATION AND TAXONOMIC ANALYSIS OF THE LAMIACEAE FAMILY

Zhumbabay N.B.<sup>1</sup>, Gubaidullin N.N.<sup>1</sup>, Ishmuratova M. Yu.<sup>2</sup>, Manabayeva S.A.<sup>1\*</sup><sup>1</sup>LLP «National center for biotechnology», Qorgalzhyn highway 13/5, Astana, 010000, Kazakhstan<sup>2</sup>Non-Commercial JSC «E.A. Buketov Karaganda University», Kazakhstan, Karaganda, University street, 28

\* Correspondence: manabayeva@biocenter.kz

## ABSTRACT

The *Lamiaceae* family is one of the largest and most important among the aromatic plants, including many species with pronounced pharmacological properties. Plants of this family, such as mint, rosemary and thyme, are widely used in traditional and modern medicine due to their therapeutic and biochemical properties. The importance of correct species identification is emphasized by the need to preserve the biodiversity and sustainable use of the resources of this family. In this work, plants of *Lamiaceae* family growing in the territory of the Karaganda region were studied by DNA barcoding. The studies were conducted on the basis of nucleotide sequences of *rbcL* and *trnH-psbA* chloroplast DNA barcodes using the methods of paired genetic distances, BLASTn and phylogenetic tree based on the analysis of maximum parsimony. The high efficiency of the *rbcL* locus was demonstrated for the identification of higher taxonomic groups, such as subfamilies and tribes, while the intergenic spacer *trnH-psbA* has proved to be effective at the level of species and genus level.

**Keywords:** *Labiatae - Lamiaceae* family, DNA barcoding, *rbcL*, *trnH-psbA*, phylogenetic analysis, DNA.

ӘОЖ: 582.94

## ЕРІНГҮЛДІЛЕР (LAMIACEAE) ТҰҚЫМДАСЫН ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ ЖӘНЕ ТАКСОНОМИЯЛЫҚ ТАЛДАУ ҮШІН ДНҚ-БАРКОДИНГ ӘДІСІН ҚОЛДАНУ

Жұмбабай Н.Б.<sup>1</sup>, Ғұбайдуллин Н.Н.<sup>1</sup>, Ишмуратова М. Ю.<sup>2</sup>, Манабаева Ш.А.<sup>1\*</sup><sup>1</sup>ЖШС «Ұлттық биотехнология орталығы», Қорғалжын тас жолы 13/5, Астана, 010000, Қазақстан<sup>2</sup>КеАҚ «Академик Е. А. Бөкетов атындағы Қарағанды университеті», Қазақстан, Қарағанды, Университетская көшесі, 28

\* Correspondence: manabayeva@biocenter.kz

## ТҮЙІН

Ерінгүлділер тұқымдасы (*Lamiaceae*) хош иісті өсімдіктердің ішіндегі ең үлкені және ең маңыздыларының бірі болып табылады, оның ішінде фармакологиялық қасиеттері айқын көптеген түрлер бар. Ерінгүлділер тұқымдасының жалбыз, розмарин және тимьян сияқты өсімдіктері емдік және биохимиялық сипаттамаларына байланысты дәстүрлі және заманауи медицинада кеңінен қолданылады. Түрлерді дұрыс идентификациялаудың маңыздылығы биоалуантүрлілікті сақтау және осы тұқымдас ресурстарын тұрақты пайдалану қажеттілігімен ерекшеленеді. Бұл жұмыста Қарағанды облысында өсетін *Lamiaceae* тұқымдасының өсімдіктері ДНҚ-баркодинг әдісімен зерттелді. Зерттеулер *rbcL* және *trnH-psbA* хлоропласттық ДНҚ-баркодтарының нуклеотидтік тізбектерінің негізінде, жұптасқан генетикалық қашықтық, BLASTn және максималды парсимониялық талдауға негізделген филогенетикалық ағаш құрастыру әдістерін қолдана отырып жүргізілді. *rbcL* локусының жоғары тиімділігі субфамилия мен триба сияқты жоғары таксономиялық топтарды анықтауда байқалды, ал *trnH-psbA* интергендік аралығы түрлер мен туыс деңгейінде тиімді болды.

**Түйін сөздер:** Ерінгүлділер - *Lamiaceae* тұқымдасы, ДНҚ-баркодинг, *rbcL*, *trnH-psbA*, филогенетикалық талдау, ДНҚ.