

## Молекулярно-генетический анализ видов семейства Lamiaceae в Узбекистане с использованием ДНК маркеров

### Molecular genetic analysis of Lamiaceae species in Uzbekistan based on DNA markers

Никитина Е. В.<sup>1</sup>, Юсупов З. О.<sup>1</sup>, Савина Н. В.<sup>2</sup>, Кубрак С. В.<sup>2</sup>, Кильчевский А. В.<sup>2</sup>

Nikitina E. V.<sup>1</sup>, Yusupov Z. O.<sup>1</sup>, Savina N. V.<sup>2</sup>, Kubrak S. V.<sup>2</sup>, Kilchevskii A. V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт ботаники Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан. E-mail: elenanikita2013@rambler.ru  
<sup>1</sup> Institute of Botany, Academy of Sciences of Uzbekistan

<sup>2</sup> Институт генетики и цитологии НАН Республики Беларусь, г. Минск, Республика Беларусь, E-mail: n.savina@igc.by  
<sup>2</sup> The Institute of Genetics and Cytology of the NAS of Belarus

**Реферат.** Редкие и исчезающие виды растений особенно чувствительно реагируют на климатические изменения и деструктивные антропогенные воздействия. В последнее издание Красной книги Узбекистана включены 314 видов растений, что составляет около 7 % флоры Узбекистана, из них 30 видов относятся к семейству Lamiaceae. Данная работа посвящена исследованию видового разнообразия редких видов семейства Lamiaceae флоры Узбекистана с использованием комбинаций ДНК-маркеров. Проанализированы пластидные и ядерные маркерные последовательности *ITS*, *rbcl*, *trnL-trnF*, *matK* у некоторых редких видов семейства Lamiaceae. Филогенетически информативным оказалось совместное использование двух молекулярных маркеров *ITS+trnL-trnF*, с помощью которых было подтверждено деление семейства Lamiaceae на два кластера *Lamioideae* + *Scutellarioideae* и *Nepetoideae*. Распределение видов в пределах кластеров согласовалось с эколого-морфологической классификацией семейства. Полиморфизм хлоропластного региона *trnL-trnF* у семи представителей рода *Lagochilus* позволил дифференцировать близкородственные виды этого рода. Использование 4-х локусной ДНК панели дало возможность провести маркирование редкого вида *Lagochilus olgae*.

**Ключевые слова.** ДНК-маркеры, идентификация видов, Lamiaceae, *ITS*, *matK*, *rbcl*, *trnL-trnF*.

**Summary.** Rare and endangered plant species are particularly sensitive to climate change and destructive anthropogenic impacts. The latest edition of the Red Book of Uzbekistan includes 314 plant species, which is about 7 % of the flora of Uzbekistan. 30 species of the Lamiaceae family are included in the Red Book. Rare and endangered plant species respond especially sensitively to destructive anthropogenic impacts and climate change. This work is devoted to the study of the species diversity of rare species of the Lamiaceae family in the flora of Uzbekistan using combinations of DNA markers. Plastid and nuclear regions (*ITS*, *rbcl*, *trnL-trnF*, *matK*) were analyzed as DNA markers in some species of Lamiaceae. Species identification using DNA markers is also shown. The level of polymorphism *trnL-trnF* region within *Lagochilus* is assessed. A phylogenetic analysis was carried out based on the marker sequences encoding the *ITS+trnL-trnF* multilocus for representatives of the family Lamiaceae. The division of the Lamiaceae family into two clusters, *Lamioideae* + *Scutellarioideae* and *Nepetoideae*, was confirmed. The distribution of species within the clusters was consistent with the ecological and morphological classification of the family. Polymorphism of the chloroplast region *trnL-trnF* on seven representatives of the *Lagochilus* genus allowed us to differentiate closely related species of this genus. The identification of the rare species *Lagochilus olgae* was confirmed based on the four DNA loci.

**Key words.** DNA markers, *ITS*, Lamiaceae, *matK*, *rbcl*, species identification, *trnL-trnF*.

**Введение.** Выделяют три уровня биоразнообразия: генетический (гены и их варианты – аллели), видовой (видовое разнообразие в экосистемах) и экологический (разнообразие экосистем на более высоком уровне организации) (Convention on Biological Diversity. <https://www.cbd.int/convention>). Видовой уровень разнообразия обычно рассматривают как базовый, а вид является единицей инвентаризации биоразнообразия (Brummit et al., 2021). Исследование видового состава и современного видового состояния растений только на основе ботанических подходов представляет собой чрезвычайно сложную задачу в силу их огромного видового разнообразия. Применение традиционных методов иден-

тификации, основанных на морфологических критериях, не всегда осуществимо и осложняется из-за субъективных предубеждений, особенно в случае лекарственных растений. Несмотря на обширную работу по таксономическому изучению, проводимую в Узбекистане (Sennikov et al., 2016), существуют определенные трудности с точной и однозначной идентификацией некоторых таксонов. Технология ДНК-штрихкодирования дает возможность определить принадлежность организма к конкретному таксону с помощью стандартных ДНК-маркеров (ДНК-штрихкодов). Метод позволяет проводить эффективный скрининг видового разнообразия флоры без изъятия растения из естественной среды обитания. Сочетание ДНК-анализа с классическими методами ботанических исследований исключает неверное определение вида.

В данной статье рассмотрена возможность применения ДНК-маркеров как инструмента точной видоидентификации редких лекарственных растений на примере представителей семейства *Lamiaceae*, произрастающих в Республике Узбекистан, территория которой отличается уникальностью растительных сообществ и биогеографическим районированием, сочетая равнинную местность с горным рельефом (Тожибаев и др., 2016).

Семейство *Lamiaceae* – одно из крупнейших семейств, насчитывающее около 236 родов и от 6900 до 7200 видов. Виды, принадлежащие к этому семейству, являются космополитами с двумя основными центрами биоразнообразия, соответствующими бассейну Средиземноморья и Центральной Азии (Zhao et al., 2021). Семейство известно многими широко используемыми родами, включая *Lagochilus* Bunge ex Benth., *Salvia* L., *Thymus* L., *Ziziphora* L., *Mentha* L., *Leonurus* Mill., *Melissa* L., *Hyssopus* L., *Scutellaria* L., *Stachys* L., *Vitex* L., *Nepeta* L. Представители яснотковых в основном однолетние и многолетние травы или полукустарники и кустарники различных размеров; представители семейства являются важными декоративными, пряно-ароматическими и лекарственными растениями, которые на протяжении тысячелетий эффективно использовались в народной медицине Узбекистана (Khojimatov, 2019). Лекарственный потенциал яснотковых обусловлен высоким содержанием биологически активных веществ: фенольных соединений (флавоноидов, фенольных кислот, танинов, стильбенов и пр.), алкалоидов, терпенов и терпеноидов, фитонцидов, эфирных масел и др. (Mamadaliyeva et al., 2017).

Представители семейства используются не только в народной медицине, но также включены в Государственную фармакопею Республики Узбекистан. Также растения используются в качестве специй, ингредиентов в косметике, средствах гигиены и парфюмерии.

Использование ДНК-маркеров позволят быстро и точно идентифицировать и, если необходимо, отличить фенотипически схожие виды растений, обеспечивая чистоту образца, что важно для установления подлинности лекарственного растительного сырья. Кроме того, ДНК-баркодинг представляет ценный подход для идентификации редких, находящихся под угрозой исчезновения растений с целью исследования видового разнообразия. В настоящее время в мировом Генбанке (GenBank) зарегистрировано более 1 409 016 последовательностей штрихкодов ДНК для более чем 68 000 видов растений, эти данные связаны с 85 275 литературными источниками (National Center for Biotechnology Information. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, по состоянию на февраль 2024 г.), (на период 2011 г. число последовательностей составляло всего лишь 180 000).

**Материалы и методы.** В качестве исходного материала в этом исследовании использованы виды семейства *Lamiaceae* Martinov, произрастающие на территории Узбекистана. Семейство составляет значительную часть флоры страны и представлено 240 видами, образующими 40 родов. Яснотковые формируют уникальные растительные сообщества, морфологически разнообразные по родам и включающие множество эндемичных видов; 30 видов занесены в Красную книгу Узбекистана (2019), *Otostegia bucharica* B.Fedtsch. в Красную книгу Международного союза охраны природы (IUCN Red List of Threatened Species. URL: <https://www.iucnredlist.org/>). *Lamiaceae* представляют интерес с точки зрения таксономии, статуса редкости, эндемизма, а также являются перспективными эфиромасличными, лекарственными, декоративными и хозяйственно важными растениями. Для анализа использовали как свежие листовые пластинки, высушенные в силикагеле, так и гербарные образцы, хранящиеся в коллекции Национального гербария Узбекистана (TASH). В данном исследовании проанализированы 16 важных и редких видов родов *Lagochilus* Bunge ex Benth., *Ziziphora* L., *Phlomis* L., *Nepeta* L., *Salvia* L., *Scutellaria* L., *Dracocephalum* L. Материалы для данного исследования были собраны в разных географических регионах Узбекистана, таксономическое название видов приведено согласно (Global Biodiversity Information Facility. [www.gbif.org](http://www.gbif.org)) (табл. 1.).

## Виды Lamiaceae, включенные в анализ

№	Виды	Место сбора, координаты, высота, статус редкости
1.	<i>Ziziphora suffruticosa</i> Pazij et Vved.	Западный Памиро-Алай. Китабский заповедник устье сая Ходжа-курбан. N39.197867°, E67.284047°, h = 1262 м над ур. м.
2.	<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam.	Памиро-Алай. Нуратинский хр., Нуратинский заповедник, ур. Хаятсай. N40.493778°, E66.820861°, h = 1220 м над ур. м.
3.	<i>Ziziphora tenuior</i> L.	Туркестанский хр., ущелье Кульсай, щербистый склон. N41.264050°, E70.436417°, h = 2638 м над ур. м.
4.	<i>Ziziphora pedicellata</i> Pazij et Vved.	Тянь-Шань. Кураминский хр. Папский р-н, Кандагансай. N41.078514°, E70.719417°, h = 1760 м над ур. м.
5.	<i>Lagochilus vvedenskyi</i> Kamelin et Tzukerv.	Кызылкум, гора Кульджуктау. N40.810836° E63.679264°, h = 590 м над ур. м. <b>Статус 3.</b> Узколокальный эндемик останцев Кызылкума
6.	<i>Lagochilus olgae</i> Kamelin	Нуратинский хр., Нуратинский заповедник, ур. Хаятсай. N40.517481° E66.815050°, h = 1139 м над ур. м. <b>Статус 2.</b> Редкий эндемик Нуратау
7.	<i>Lagochilus proskorjakovii</i> Ikramov	Западный Памиро-Алай. Нуратинский хр. N40.512778°, E66.721944°, h = 1810 м над ур. м. <b>Статус 1.</b> Чрезвычайно редкий, узкий эндемик Нуратау
8.	<i>Eremostachys eriolarynx</i> Pazij et Vved. гербарный образец	Сурхандарьинская область, Бухарский район
9.	<i>Phlomis linearifolia</i> Zakirov	Западный Памиро-Алай. Зарафшанский хр. N40.365000°, E67.360000°, h = 754 м над ур. м.
10.	<i>Phlomis thapsoides</i> Bunge	Джизакская обл., Фаришский район, хр. Нуратау. N40.300278°, E67.600278°, h = 334 м над ур. м.
11.	<i>Phlomooides kaufmanniana</i> (Regel) Adylov, Kamelin et Makhm.	Нуратинский хр., Османсай. N40.521667°, E66.745833°, h = 1187 м над ур. м.
12.	<i>Nepeta olgae</i> Regel	Юго-Западный Памиро-Алай. Хр. Кугитанг. N37.964897°, E66.796578°, h = 1491 м над ур. м.
13.	<i>Dracocephalum adylovii</i> I. I. Malzev гербарный образец	Западный Тянь-Шань. Долина реки Пскем. N42.142102°, E70.812386°, h = 2107 м над ур. м.
14.	<i>Salvia tianschanica</i> Makhm. гербарный образец	Тянь-Шань, Кураминский хребет. <b>Статус 2.</b> Редкий эндемик Западного Тянь-Шаня
15.	<i>Salvia sclarea</i> L.	Памиро-Алай. Байсунтау. N41.489777°, E69.878711°, h = 1033 м над ур. м.
16.	<i>Scutellaria fedschenkoi</i> Bornm.	Гиссарский хребет, Байсунтау, долина реки Мачай. N 38.227523°, E67.027680°, h = 1103 м над ур. м. <b>Статус 3.</b> Редкий узкий эндемик Юго-Западного Памиро-Алая.

Тотальную ДНК выделяли в трех биологических повторностях, по общепринятому методу СТАВ с оптимизацией отдельных этапов, в частности с добавлением поливинилпирролидона (PVP). Концентрацию и чистоту полученных образцов ДНК измеряли спектрофотометрически с помощью NanoPhotometer N60 (Implen, Германия), при поглощении раствора в областях с длинами волн 230, 260 и 280 нм. Для последующей работы пробы ДНК были выровнены путем разведения матрицы до концентрации 50 нг/мкл. Для всех видов, включенных в анализ, было проведено генотипирование по трем-четырем локусам (*ITS1–ITS2*, *matK*, *rbcl*, *trnL–F*) с целью максимальной эффективности видовой идентификации. Амплификация специфических маркеров выполнена на термоциклере BioRad C1000 Touch с использованием BlasTaq 2X PCR MasterMix (Applied Biological Materials Inc., Канада). Праймеры для амплификации внутренних транскрибируемых спейсеров рибосомного оперона ядерного ДНК *ITS1–ITS2* и хлоропластных участков *matK*, *rbcl*, *trnL–F* приведены в таблице 2.

Таблица 2

Последовательности использованных в работе праймеров

Регион	Название праймера	Последовательность праймеров	Длина
<i>trnL-F</i>	trnL-F c trnL-F f	5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3' 5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'	~800 п.н.
<i>rbcL</i>	rbcLa_F rbcLa R	5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3' 5'-GTAATAATCAAGTCCACCGCG-3'	~700 п.н.
<i>ITS</i>	ITS1_18S ITS4_26S	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	~600 п.н.
<i>matK</i>	390F 1326R	5'-CGATCTATTTCATTCAATATTTTC-3' 5'-TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT-3'	~800 п.н.

Рекомендации по условиям проведения амплификации приведены в таблице 3.

Таблица 3

Условия амплификации

Циклы	Локус штрихкода, 25 мкл			
	<i>ITS2</i>	<i>matK</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-trnF</i>
Начальная денатурация	94 °C – 5 мин	95 °C – 4 мин	94 °C – 3 мин	94 °C – 5 мин
Денатурация	94 °C – 30 с	94 °C – 30 с	94 °C – 30 с	94 °C – 30 с
Отжиг	52 °C – 30 с	50 °C – 1 мин	54 °C – 45 с	57 °C – 30 с
Элонгация	72 °C – 45 с 35 циклов	72 °C – 1 мин 35 циклов	72 °C – 1 мин 35 циклов	72 °C – 1 мин 35 циклов
Окончательная элонгация	72 °C – 5 мин	72 °C – 8 мин	72 °C – 8 мин	72 °C – 8 мин
	4 °C – ∞	4 °C – ∞	4 °C – ∞	4 °C – ∞

Продукты ПЦР очищали с помощью ферментов *Exonuclease I* и *Shrimp Alkaline Phosphatase* (Thermo Fisher Scientific, США). Терминирующую реакцию проводили с использованием коммерческого набора *Brilliant Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Nimagen, Нидерланды). Определение нуклеотидной последовательности проводили в прямом и обратном направлениях. Хроматограммы последовательностей просматривали и оценивали в Sequencher v.4.5116. Выравнивание пар последовательностей проводили в редакторе BioEdit Sequence Alignment Editor v.7.0.01. Полученные консенсусные последовательности ДНК сохраняли в формате FASTA. Для каждого вида анализировали по три индивидуальных растения, для каждого ДНК-штрихкода получено по 2 хроматограммы – одна с прямым и одна с обратным праймером.

Для филогенетического анализа выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма ClustalW в программе MegaX. Подбор модели проводили с помощью программы jModelTest2.1.10 (Darriba et al., 2012). По результатам анализа *trnL-trnF* последовательностей было реконструировано филогенетическое дерево в программе Mr. Bayes v3.1.2 методом Байеса (Huelsenbeck, Ronquist, 2001). Расчёт апостериорной вероятности реализован при числе репликаций равном 1 000 000, с использованием модели GTR+I+G, до получения стандартного отклонения (standard deviation) в пределах 0.01. Визуализация результирующего графического изображения производилась в программе FigTree v1.4.0 (Rambaut, 2012).

**Результаты и обсуждение.** С целью максимальной эффективности видоидентификации и высокой достоверности результатов для всех изучаемых видов выполнено 3–4-х локусное генотипирование. Для всех маркеров продемонстрирована высокая воспроизводимость результатов амплификации.

Идентификация вида *Lagochilus olgae* проведена в BLAST по четырем маркерным последовательностям. Из результатов анализа следует, что последовательности ДНК образца идентичны аналогичным последовательностям в международной базе GenBank на уровне рода (табл. 4) с достоверностью 92–99 %. Депонирование данных по *Lagochilus olgae* в GenBank произведено впервые авторами в представленной работе.

Некоторые полученные консенсусные последовательности по ДНК-штрихкодам депонированы в международную базу данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) с информацией о номере ваучера, GIS данных, дате и авторе сбора, авторе идентификации гербарного образца, авторе нуклеотидной последовательности (ID номера PP779938–PP779944).

Таблица 4

Результаты идентификации вида *Lagochilus olgae* Kamelin по четырем маркерным последовательностям

ДНК регион	Нуклеотидная последовательность	Результат идентификации в BLAST
	(п.н.)	
ITS	CGCGGAATGCGCCAAGGAAAACACAACGGAGCGTCCCCCTCCCCCGC GCGCCCCGTTTCGCGGGGCGACGGGGAGCAAGGGACGCCATCGAATG TCTAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAG AACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCCTGAAC CATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGG CACGTCTGCCTGGGCGTACGCATCGCGTCGCCCCCTCCCCGCGGG GTGGGGGCGGAGATTGGCCCCCGTGC GCGCCACGAGCGGCGCGGCC GGCCCAATGCGAATCCGCCGTCGACGCGCGTCGCGACCAGTGGTGG TTGAACTATCAACTCGCGTGTGTGCGTCCCGCGGCGTCCCGGTCC GGAGACGACAACGAAAC (697 п.н.)	<i>Lagochilus alutaceus</i> internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene Sequence ID: PP333648.1 Identities: 92.53 %
matK	TCTTATATAATTTCTCATGTATGTGAATATGAATCCATTTTCGTCTTTCTA CGTAACCAATCTTTTCATTTACGATCAACATCTTCTGGAGTTTTTCTTG AACGAATCTATTTCTATAGAAAATAGAACGTCTTGTGAACGTCTTTGT TAAGATTAAGGATTTTGGGGCAAACCTGCGGTTGGTCAAGGAACCTTT CATGCATTATATTAGGTATCAAAAAAGATCCATTCTGGCTTCAAAAGGG ACATTTCTTTTCATGAAGAAATGGAATTTTACCTTGTCACTTTTGGC AATGGCATTTTTCGGTGTGGTTTCATCCAAGAAGCATTCTATAAACCA ATTATCCAAGCATTCCTTGAGTTTTTGGGCTATCTTTCAAGCGTGCAA ATCAACCCTTCCATAGTACGCAGTCAAATTTCTAGAAAATT (766 п.н.)	<i>Lagochilus ilicifolius</i> chloroplast, complete genome Sequence ID: NC_067785.1 Identities: 98.63 %
rbcL	CCTGTTCTTGGAGAAAAGATCAATATATCTGTTATGTAGCTTACCCTT TAGACCTTTTTGAAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATGT AGGAAATGATTTGGATTCAAAGCCCTACGTGCTCTACGTCTGGAAGA TCTGCGAATCCCTCCTGCTTATATTA AAACTTTCCAAGGCCACCTCAT GGGATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTTGAACAAGTATGGTCGTCCTCTG TTGGGATGTACTATTA AACCGAAATTTGGGGTTATCCGCTAAAACTATG GTAGAGCAGTTTATGAATGTCTTCGCGGTGGACTTGATTTTACCAAAG ATGATGAAAACGTGAACTCCCAGCCATTTATGCGTTGGAGAGATCGCT TCTTATTTTGTGCCGAAGCAATTTATAAATCACAGGCTGAAACAGGTG AAATCAAAGGGCATTTATTTGAATGCTACTGCGGGGACATGCGAAGAAA TGATCAAAGGGCTGTATTCGCTAGAGAATTGGGAGTTCCTATCGTAA (942 п.н.)	<i>Lagochilus ilicifolius</i> chloroplast, complete genome Sequence ID: NC_067785.1 Identities: 99.1 %
trnL-trnF	TATCGAATACTATATCAAATGATTAATGATGGCCCCGAATCCGTATTTTT AATATGAAAATAGAAGAATTGGTGGGAATGATTCTATATTGAAGAAA AAAGAGAATATTCATTCATCAAATCATCACTCCACAGTCCGATAGATC TTTTAAAGAAAAGAACTGATTAATCGGACGAGAATAAAGATAGAGTCC CATTCTACATGTCAATACTGGCAACAATGAAATTTATAGTAAGAGGAAA ATCCGTCGACTTGAAAATCGTGAGGGTTCAAGTCCCTCTATCCCCAA AAAAGTCTATTTGACTCSTAAAATAGTTATCCCGTCCCCCTTTTCGTT AGCGGTTCCAAATTCSTTTATCTTTCTGATTC (868 п.н.)	<i>Lagochilus inebrians</i> trnL-trnF intergenic spacer region, partial sequence; chloroplast Sequence ID: MF157243.1 Identities: 98 %

Всего в ходе исследования для 12 видов Lamiaceae получены нуклеотидные последовательности ДНК; информация для видов *Salvia*, *Nepeta*, *Dracocephalum* взята из предыдущих работ авторов (Nikitina, Rakhmatov 2021; Никитина и др. 2021).

На основании данных, полученных по изменчивости мультилокуса *ITS+trnL-trnF* у представителей семейства Lamiaceae, выполнен филогенетический анализ. По его результатам для изучаемых видов представлено генетическое разделение семейства Lamiaceae на 2 кластера по девяти родам растений с высоким значением Bootstrap (рис. 1).

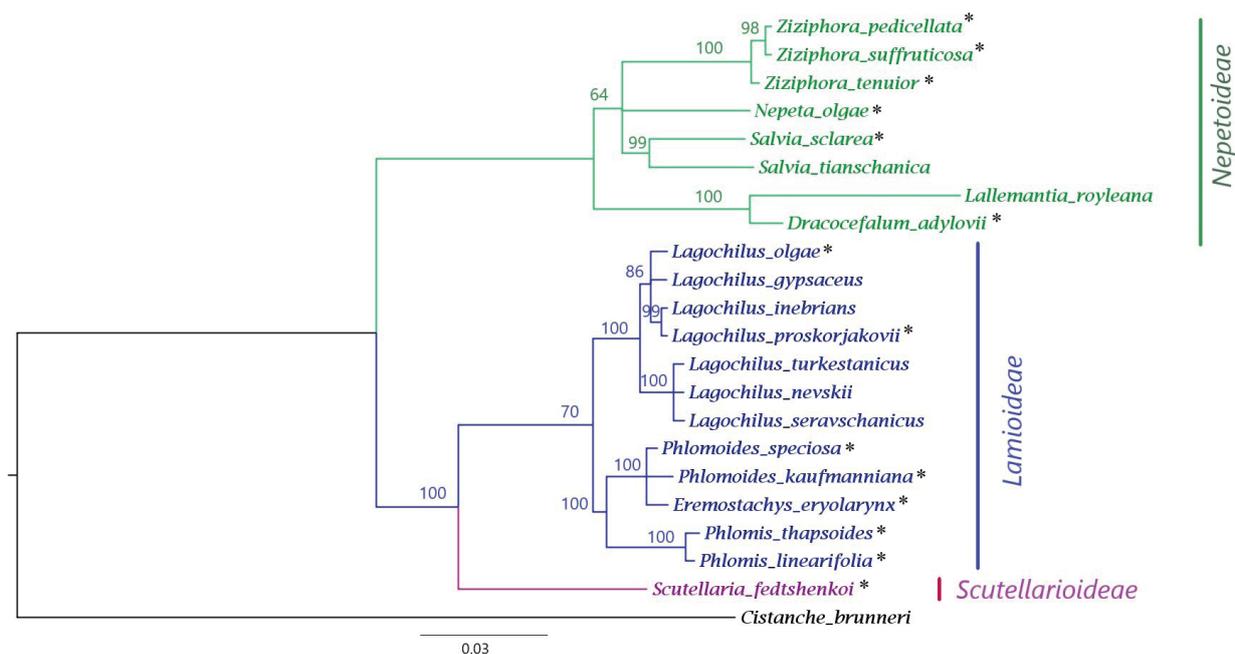


Рис. 1. Филогенетическое древо представителей девяти родов семейства Lamiaceae с использованием *ITS+trnL-trnF* мультилокуса, построенное методом MrBayes. Показана апостериорная вероятность байесовского вывода (BIPP). \* – образцы, проанализированные в данной работе.

Первый кластер включает представителей подсемейства *Nepetoideae*: *Nepeta* L., *Lallemantia* Fisch. et C. A. Mey., *Dracocephalum* L., *Salvia* L., *Ziziphora* L. При этом *Lallemantia* и *Dracocephalum* образовали обособленную ветвь в кластере. Согласно А. Л. Буданцеву (1987), *Lallemantia* является подродом *Dracocephalum*. При этом группа отличается от остальных представителей подсемейства числом хромосом *Lallemantia* ( $x = 7$ ), *Dracocephalum* ( $x = 5, 6, 7$ ), *Nepetinae* ( $x = 8, 9$ ). По мнению авторов (Drew, Sytsma 2012), *Lallemantia* может быть включена в род *Dracocephalum*.

Второй кластер состоит из видов родов: *Lagochilus*, *Phlomoides* Moench., *Eremostachys* L., *Phlomis*. Четкое разделение видов *Lagochilus* с высоким Bootstrap значением (100) на две ветви, позволяет говорить о генетической разности группы видов с широким ареалом (*L. turkestanicus*, *L. nevskii*, *L. seravschanicus*) и узким ареалом эндемичных видов (*L. olgae*, *L. gypsaceus*, *L. inebrians*, *L. proskorjakovii*). Так же в одну ветвь сгруппировались виды *Phlomoides* и *Eremostachys*, что согласуется с авторами (Sennikov, Lazkov, 2013), определившими *Eremostachys* как одну из секций рода *Phlomoides*. Вид *Scutellaria fedschenkoii* является представителем подсемейства *Scutellarioideae*, в нашем анализе выделен в отдельную ветвь, входит в общий кластер с подсемейством *Lamioideae*, образовав сестринскую группу.

Сравнительный анализ участков хлоропластного генома *trnL-trnF* для семи видов *Lagochilus* выявил 13 переменных позиций (V), из которых парсимонически информативными оказались 8/820 (Pi). В последовательностях имеются однонуклеотидные замены по сайтам G/T (70-я позиция), A/G (107), G/T (410), G/T (502), T/C (572), T/G (667), A/G (818), обнаружив существенные межвидовые различия, что позволило дифференцировать близкородственные виды, сгруппировав *L. olgae*, *L. gypsaceus*, *L. inebrians*, *L. proskorjakovii* (рис. 2).

```
#MEGA
!Title Phylogenetic Analysis;
!Format
  DataType=Nucleotide
  NSeqs=7 NSites=13
  Identical=. Missing=? Indel=-;

!Domain=Data;
#Lagochilus_olgae          GGCATGTCTT CGA
#Lagochilus_gypsaceus     T.T.G.... G..
#Lagochilus_inebrians     T...G.G... ..
#Lagochilus_proskorjakovii T...G.G... ..
#Lagochilus_turkestanicus TT.G.T..CG ..G
#Lagochilus_nevskii       TT.GGT..CG .AG
#Lagochilus_seravschanicus TT.GGT.ACG ..G
```

Рис. 2. Полиморфные сайты на основе множественного выравнивания в алгоритме ClustalW последовательностей *trnL-trnF* хлоропластного генома видов *Lagochilus*.

**Заключение.** Таким образом, использование 4-х локусной ДНК панели позволило провести видовую идентификацию *Lagochilus olgae*. Комбинирование молекулярных маркеров *ITS+trnL-trnF* оказалось филогенетически информативным и подтвердило деление семейства Lamiaceae на два кластера *Lamioideae* + *Scutellarioideae* и *Nepetoideae*, произрастающих на территории Узбекистана. Маркер *trnL-trnF* региона может быть успешно использован для идентификации видов рода *Lagochilus* и рекомендован для установления видовой принадлежности.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках проекта «Молекулярно-генетическая идентификация видов лекарственных растений флоры Узбекистана и Беларуси с использованием ДНК-маркеров».

#### ЛИТЕРАТУРА

- Буданцев А. Л.** Систематика рода *Dracoscephalum* L. (Lamiaceae) // Бот. журн., 1987. – Т. 72, № 2. – С. 260–267. Красная книга Узбекистана. Растения. – Ташкент: Чинор ENK, 2019. – 360 с.
- Никитина Е. В., Тожибаев К. Ш., Савина Н. В., Кубрак С. В., Кильчевский А. В.** Экологический мониторинг редких видов рода *Salvia* (Lamiaceae) Узбекистана с использованием ДНК-штрихкодирования // Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты. – Минск, 2021. – С. 146–150.
- Тожибаев К. Ш., Бешико Н. Ю., Понов В. А.** Ботанико-географическое районирование Узбекистана // Бот. журн., 2016. – Т. 101, № 10. – С. 1105–1132.
- Brummitt N., Araújo A. C., Harris T.** Areas of plant diversity – What do we know? // Plants People Planet, 2021. – Vol. 3, No 1. – P. 33–44. DOI:10.1002/ppp3.10110
- Convention on biological diversity*, 1992. – UN. – 28 p. URL: <https://www.cbd.int/convention> (Accessed on 01.02.2024).
- Darriba D., Taboada G., Doallo R., Posada D.** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // Nat. Methods, 2012. – Vol. 9. – 772 pp.
- Drew B. T., Sytsma K. J.** Phylogenetics, biogeography, and staminal evolution in the tribe *Menthae* (Lamiaceae) // Am. J. Bot., 2012. – Vol. 99. – P. 933–953.
- Global Biodiversity Information Facility*. URL: [www.gbif.org](http://www.gbif.org) (Accessed on 01.02.2024).
- Huelsenbeck J. P., Ronquist F.** MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics, 2001. – Vol. 17, No 8. – P. 754–755. DOI: 10.1093/bioinformatics/17.8.754
- IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2021–3. URL: <https://www.iucnredlist.org> (Accessed on 20.02.2024).
- Khojimatov O.** Medical plants of Uzbekistan: their past, present and future // Foods & Food Ingredients J. Jpn., 2019. – Vol. 224, No 2. – P. 201–207.
- Mamadaliyeva N. Z., Akramov D. K., Ovidi E., Tiezzi A. et al.** Aromatic Medicinal Plants of the Lamiaceae Family from Uzbekistan: Ethnopharmacology, Essential Oils Composition, and Biological Activities // Medicines, 2017. – Vol. 4, No 1. – 8 p. DOI: 10.3390/medicines4010008
- National Center for Biotechnology Information*. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (Accessed on 01.02.2024).
- Nikitina E., Rakhmatov A.** Identification of *Nepeta olgae* Regel and phylogenetic status of some genera in subtribe *Nepetinae* (Lamiaceae) using DNA markers // BIO Web of Conferences, 2021. – Vol. 38. DOI: 10.1051/bioconf/20213800087
- Rambaut A.** FigTree v1. 4.0. – Oxford, UK: University of Oxford, 2012. URL: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Sennikov A. N., Lazkov G. A.** Taxonomic corrections and new records in vascular plants of Kyrgyzstan // Memoranda Soc. Fauna Flora Fennica, 2013. – Vol. 891. – P. 125–138.
- Sennikov A. N., Tojibaev K. Sh., Khassanov F. O., Beshko N. Yu.** The Flora of Uzbekistan Project // Phytotaxa, 2016. – Vol. 282, № 2. – P. 107–118.
- Zhao F., Chen Y. P., Salmaki Y., Drew B. T. et al.** An updated tribal classification of Lamiaceae based on plastome phylogenomics // B. M. C. Biol., 2021. – Vol. 19, No 2. DOI: 10.1186/s12915-020-00931-z