МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОЛЕЛИ И МЕТОЛЫ

УЛК 575.852'113:575.858:57.082.13

ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЕ: ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

© 2021 г. Д. М. Шадрин*

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, 167982 Россия

*e-mail: shdima@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 16.05.2020 г.

После доработки 09.07.2020 г.

Принята к публикации 25.08.2020 г.

Метод ДНК-штрихкодирования в руках опытного таксономиста становится надежным инструментом, позволяющим быстро и точно проводить идентификацию и инвентаризацию биоразнообразия. Благодаря простоте исполнения и экономической выгоде данный метод, помимо основного своего предназначения — описания и обнаружения новых видов живых организмов, приобрел популярность и в других сферах человеческой деятельности. Представлены примеры использования и показан потенциал метода ДНК-штрихкодирования живых организмов в таких областях, как экологический мониторинг (выявление инвазивных видов, паразитов и их переносчиков, насекомых-вредителей), пищевая и фармацевтическая промышленности (выявление фальсификатов, определение качества продукции) и криминалистика.

Ключевые слова: ДНК-штрихкодирование, применение, таксономия, экология, фармакогнозия, криминалистика.

DOI: 10.31857/S0016675821040135

За последние полтора десятка лет опубликовано много работ, посвященных методу ДНК-штрихкодирования (ДНК-ШК) и раскрывающих суть и принципы данного подхода [1-7], в связи с чем позволим себе не останавливаться на этом. Упомянем лишь о том, что пару десятилетий назад Хеберт предложил разработать международную программу "Barcode of Life", суть которой сводилась к определению нуклеотидной последовательности одного и того же короткого участка ДНК у представителей всех видов живых существ на Земле. Этот короткий участок впоследствии должен был стать своеобразным ДНК-штрихкодом видового разнообразия планеты [8, 9]. Консорциумом программы "Barcode of Life" (CBOL) был регламентирован перечень маркерных последовательностей, которые могут быть использованы в качестве ДНК-штрихкода для идентификации представителей царства растений, животных и грибов. Для растений — это пластидные гены rbcL, matK и межгенный спейсер trnH-psbA, а также ядерный внутренний транскрибируемый спейсер 2 (ITS2); для животных – митохондриальный ген первой субъединицы цитохромоксидазы (СОІ); для грибов – внутренние транскрибируемые спейсеры 1 и 2 (ITS1 и ITS2) [2, 10, 11]. Первая программа "Barcode 500K" была завершена в 2015 г. В настоящее время реализуется второй крупный международный проект "BIOSCAN" (2019—2026 гг.),

который является логическим продолжением программы "Barcode 500K". Основная задача нового проекта заключается в выявлении изменений в биоразнообразии планеты в ответ на действие антропогенных факторов. Если целью проекта "Barcode 500K" было получить последовательности ДНК-штрихкодов для 500 тыс. видов, то целью проекта "BIOSCAN" является получение последовательностей ДНК-штрихкодов для более двух миллионов видов, обитающих на планете (https://ibol.org/programs/bioscan/). С учетом темпов роста количества работ с применением высокопроизводительного секвенирования для целей ДНК-ШК — это вполне выполнимая задача [12— 15]. Отметим, что вышеупомянутый тезис нельзя отнести к методу ДНК-метабаркодинга, несмотря на то что его методическое исполнение основано на использовании высокопроизводительного секвенирования. ДНК-метабаркодинг — это идентификация таксономического состава того или иного сообщества с использованием генов баркодов [16]. Идентификация набора выявленных таксонов — это идеальный случай результата данного метода, но часто приходится оперировать операционными таксономическими единицами (ОТU) или рекомендованными вместо них точными вариантами сиквенсов (ESV) [16, 17]. ДНК-ШК или ДНК баркодинг — это идентификация конкретного образца в идеале до вида [5]. Таким образом, использование ставшего столь популярным метода ДНК-метабаркодинга с целью идентификации представителей исследуемого биоразнообразия до вида будет иметь смысл только при наличии в библиотеке ДНК-штрихкодов эталонных маркерных последовательностей для всех образцов. Эталонные последовательности, в свою очередь, можно получить только систематическим секвенированием как впервые обнаруженных видов, так и видов уже имеющихся в коллекциях [18, 19]. В противном случае мы будем иметь гигантский набор последовательностей, никак не позволяющих себя идентифицировать.

Метод ДНК-ШК находится в непрерывном процессе разработки и совершенствования. Это связано с тем, что рекомендованные CBOL последовательности для ряда организмов достаточно консервативны на видовом уровне, а для некоторых наоборот обладают выраженным внутривидовым полиморфизмом, все это требует поиска и применения новых маркерных последовательностей и их комбинаций, с последующей верификацией протокола использования [20—23].

Результаты анализа последовательностей ДНК обычно изображаются в виде филогении (филогенетическое дерево с узлами и ветвями). Информация, полученная из филогений, может использоваться для составления гипотез о процессах видообразования, биогеографии, эволюции генов, ко-эволюции, сохранения природы и экологии. Метод ДНК-ШК изначально был предложен как дополнительный инструмент для быстрой идентификации таксономического биоразнообразия. Но развиваясь данный метод помимо своего основного предназначения (изучение биоразнообразия) начал использоваться во многих других сферах деятельности человека. Любая классификация областей применения данного метода будет условной, так как в конечном счете все они сводятся к идентификации образца в лучшем случае до вида. Тем не менее нами были выделены две группы. В первую группу вошли сферы использования метода ДНК-ШК, связанные с получением нового знания о биоразнообразии растительного и животного мира (таксономические, экологические исследования и т.п.), которое так или иначе является основой для остальных более утилитарных сфер использования данного метода. Во вторую группу были отнесены такие сферы использования метода ДНК-ШК как фармакогнозия, пишевая промышленность и криминалистика. Данные сферы применения метода ДНК-ШК опираются на уже проделанную классическими и молекулярными систематиками работу по поиску и присваиванию молекулярных баркодов для идентификации той или иной таксономической единицы. Но это не является абсолютным правилом, есть работы, в которых новые молекулярные маркеры разрабатывались в процессе решения той или иной утилитарной задачи [24, 25].

Опираясь на уже имеющиеся обзоры в данной области [26-30] и дополнив их последними исследованиями, нами приведены примеры использования метода ДНК-ШК (ДНК-штрихкодирование, ДНК-метабаркодинг) в различных областях как самостоятельного метода, так и совместно с методом анализа кривых плавления с высоким разрешением (Barcode High Resolution Melting, Bar-HRM). Bar-HRM – относительно недавно появившийся метод, который позволяет обнаружить небольшие различия (до одного нуклеотида) в нуклеотидных последовательностях (баркодах) без необходимости их дальнейшего секвенирования [31]. Метод основан на изменении флуоресценции, вызванной высвобождением интеркалирующего красителя из молекулы ампликона (в случае Bar-HRM – последовательности баркода), медленно деградирующей при постепенном повышении температуры. Данное изменение флуоресценции (профиль плавления) зависит от содержания GC-пар, длины продукта амплификации и комплементарности последовательностей [32].

ДНК-ШК В ТАКСОНОМИИ

Идентификация и подтверждение видовой принадлежности организмов с использованием ДНК-ШК особенно актуальны в тех случаях, когда невозможно или проблематично проведение таксономической экспертизы традиционными методами. Это может быть связано с трудностями морфологического определения, например в случае видов-двойников как среди растений, так и среди животных. За последние несколько лет опубликовано много работ в данной области [33— 38], поэтому позволим себе на этом подробно не останавливаться, а приведем лишь некоторые из них. Интересным примером является работа по идентификации 810 образцов трех видов длинноухих летучих мышей (Plecotus auritus L., P. macrobullaris Kuzjakin, 1965 и *P. austriacus* Fischer, 1829), обитающих в Западной Европе [39]. Использование авторами работы метода ДНК-ШК способствовало пересмотру ареалов распространения изучаемых ими видов летучих мышей [39]. Также трудности таксономического определения традиционными методами могут быть связаны с невозможностью проведения исследований в определенный период онтогенеза организма, соответствующий наличию диагностических признаков, таких как, например, цвет чашелистиков у растений, морфологических признаков плодов и др.

С применением маркеров, используемых в ДНК-ШК, в некоторых случаях можно разделить не только близкородственные виды, но и сорта [22, 40]. Примером этому является работа по разде-

лению сортов декоративного вечнозеленого растения Tabernaemontana divaricata (L.) R. Br. [22]. В данной работе было протестировано семь маркеров (rpoC, rpoB, matK, atpF-atpH, rbcL, psbK-psbI, trnH-psbA), из которых только пять (rpoB, atpF-atpH, psbK-psbI, rbcL, trnH-psbA) удалось амплифицировать для дальнейшего использования, при этом только два из пяти показали хорошую разрешающую способность для разделения сортов T. divaricata [22]. Данная работа ценна и служит примером поисковой работы. Зачастую в публикациях по ДНК-ШК информация о поиске маркеров остается "за кадром", и мы видим лишь успешно используемые в качестве ДНК-штрихкода последовательности, что в свою очередь ограничивает доступ к ценной информации.

ДНК-ШК В ЭКОЛОГИИ

Необходимая в экологических исследованиях идентификация видового состава сообществ определенных территорий не всегда может быть выполнена традиционными методами. Это может быть связанно как с высокой плотностью сообществ, так и с труднодоступностью мест их нахождения. Благодаря внедрению методов ДНК-ШК появилась возможность быстрой оценки видового состава сообществ, что позволило снять ряд ограничений в их изучении [35]. Проведение экологического мониторинга растительного и животного биоразнообразия с использованием ДНК-ШК позволило к настоящему времени не только помочь идентифицировать известные виды, обитающие в сообществе, но и открыть множество новых. Также использование данного метода в экологическом мониторинге позволило расширить представление о границах распространения сообществ и определить влияние на них факторов окружающей среды, что в свою очередь способствовало в ряде случаев выявлению видов, нуждающихся в охране [26, 41–46].

Довольно интересным аспектом применения ДНК-ШК в экологических исследованиях является анализ диеты вымерших и ныне живущих травоядных животных. Ксионгом с соавт. [47] был исследован рацион двух плотоядных животных из семейства кошачьих – леопардовой кошки (Prionailurus bengalensis Kerr, 1792) и золотой кошки (Catopuma temminckii Horsfield, 1827), находящихся под угрозой исчезновения, обитающих в экосистеме горных лесов умеренного пояса на юго-западе Китая. В данной работе с использованием ДНК-метабаркодинга из 93 образцов фекалий было идентифицировано 40 таксонов, из которых 27 относились к млекопитающим, 11 – к птицам, один – к ящерицам и один – к рыбам. Трудно не согласиться с авторами, что столь полные сведения о рационе этих кошачьих несут ценную информацию для планирования их сохранения. Другим не менее значимым и интересным объектом исследования пищевого рациона с применением метода ДНК-метабаркодинга был находящийся под охраной итальянский заяц (Lepus corsicanus De Winton, 1898), являющийся эндемичным видом для Центральной и Южной Италии, экология которого, по мнению авторов, практически не изучена [48]. Исследование рациона питания зайца по анализу фекалий показало наличие в нем большого разнообразия растений (99 таксонов), позволив авторам получить информацию о его пищевых предпочтениях, что имеет большое значение для выбора стратегии сохранения данного вида [48]. В исследовании пищевого рациона диких свиней (Sus scrofa L.) по анализу фекалий удалось установить, что их рацион питания значительно различался по составу растений и животных между тремя участками, в которых происходил отбор, тем самым указывая на местообитание каждой из групп [49]. Для достижения полученных результатов авторы [49] разработали блокирующие праймеры, способствовавшие получению большего количества считываний последовательностей. Данное исследование подтверждает вышеупомянутый тезис о том, что метод ДНК-ШК находится в непрерывном развитии и становлении. Еще одним примером использования метода ДНК-ШК в экологических исследованиях является работа по оценке рациона питания травоядных животных на предмет вхождения в него местных и экзотических видов растений. Эриксоном с соавт. [50] была выдвинута гипотеза о том, что численность белохвостого оленя (Odocoileus virginianus Zimmermann, 1780) коррелирует с увеличением в его рационе питания инвазивных видов растений. Использование в качестве маркера последовательности гена rbcL позволило идентифицировать 72% из полученных ампликонов до вида, из которых 70% принадлежало местной флоре, что указывает на пищевые предпочтения оленей [50]. Подобные исследования, по мнению авторов, очень актуальны, особенно в контексте изучения инвазивных видов и их влияния на экосистемы [50]. Особого внимания заслуживают исследования, направленные на установление пищевого рациона опылителей, имеющие первостепенное значение для сохранения биоразнообразия. Де Вере с соавт. [51] был исследован выбор медоносными пчелами (Apis mellifera L.) цветковых растений для сбора нектара в Национальном ботаническом саду Уэльса. В работе установлена тесная связь между фенологией цветущих растений и растений, ДНК которых была извлечена из меда, и показано, что для сбора меда все три исследованные колонии пчел используют только 11% из всех цветущих растений [51]. Подобные исследования могут помочь в разработке стратегии поддержки опылителей путем увеличения числа видов растений, которым последние отдают предпочтение.

Отдельным направлением использования методов ДНК-ШК в экологических исследованиях можно обозначить изучение экологических сетей, позволяющих разобраться в архитектуре экологических сообществ, включая такие взаимодействия как конкуренция, симбиоз, хищник—жертва, растение—опылитель и др. [42]. Подобных работ мало, так как динамическое связывание биофизических процессов и взаимодействий между видами, которые разворачиваются в совершенно разных пространственно-временных масштабах, не дает возможности в полной мере воспользоваться ресурсом метода ДНК-ШК [43].

Еще одним аспектом применения метода ДНК-ШК в области экологических исследований, в частности экологической безопасности, является идентификация инвазивных видов растений и животных. Точная и быстрая идентификация инвазивных видов является крайне важной задачей, своевременное решение которой может предупредить их распространение. Прежде всего это относится к видам-вредителям сельского хозяйства, а также к видам-переносчикам патогенных микроорганизмов. Например, многие виды комаров трудно поддаются морфологической дифференциации и при этом являются переносчиками различных заболеваний. В подобных случаях метод ДНК-ШК является принципиальным инструментом, который может помочь в быстрой и точной идентификации. Частный пример этого — успешная идентификация 1413 особей антропофаговых комаров семейства Culicidae (Meigen, 1818), обитающих в Мексике и являющихся потенциальными переносчиками патогенов [52]. Авторам путем сравнения последовательностей СОІ удалось идентифицировать практически всех особей, за исключением нескольких близкородственных видов, для идентификации которых было рекомендовано использовать последовательность ITS2 [52]. Еще один пример — работа Шернандес-Триано с соавт. [53], которым с использованием последовательностей гена *COI* в качестве баркода удалось идентифицировать комаров, обитающих в Великобритании. Авторами было идентифицировано 42 вида комаров, из которых семь оказались инвазивными, и показано, что для успешной таксономической идентификации исследуемых видов необходимо совместное применение морфологического и молекулярно-филогенетического анализа [53]. Идентификация инвазивных видов имеет большое значение для экологии отдельных регионов. Беспалой с соавт. [54] с применением метода ДНК-ШК удалось обнаружить и исследовать две митохондриальные линии мидий (Sinanodonta) в р. Енисей. В результате проведенного исследования не только была показана возможность успешного совместного вторжения различных видов Sinanodonta в одну реку, но и был

сделан вывод о том, что данные виды мидий могут представлять собой упущенную угрозу для пресноводных экосистем России [54]. В исследовании Колесниковой с соавт. [55] с использованием последовательности гена *COI* в качестве баркода был обнаружен инвазивный вид дождевого червя *Dendrodrilus rubidus tenuis* Eisen, 1874 в г. Воркута (Республика Коми, Россия).

Можно отметить, что метод ДНК-ШК стал излюбленным инструментом среди таксономистов и экологов, так как позволяет не только расширить представление об окружающем биоразнообразии и идентифицировать состав сообществ, но и ответить на вопросы: "что входит в состав рациона питания организмов?", "к каким последствиям могут привести его изменения?"

ДНК-ШК В ФАРМАКОГНОЗИИ

Знание компонентного состава лекарственного сырья как растительного, так и животного происхождения имеет большое значение. Прежде всего это необходимо для своевременного выявления и избегания фальсификатов на рынке лекарственных препаратов. ДНК-ШК как инструмент для быстрой и точной идентификации состава лекарственного сырья нашел себе достойное применение в данной области. Подтверждением этому является большое количество работ, обсуждающих внедрение протоколов метода ДНК-ШК в государственные фармакопеи как гаранта надежного и высокопроизводительного скрининга растительного сырья [56—61], в том числе в промышленных масштабах [28, 62].

Интересным примером служит исследование по выявлению на рынке Ирана фальсификатов среди лекарственных растений Ziziphora clinopoidodes Lam. и Z. tenuior L., схожих с Thymus kotschyanus Boiss. & Hohen., Th. vulgaris L., Th. daenensis Celak. и Th. trautvetteri Klokov & Des.-Shost как по морфологическим признакам, так и по запаху [23]. В результате данного исследования, которое было проведено с привлечением ДНК-ШК, установлено, что все образцы, взятые на анализ, содержали примеси других видов растений [23]. Еще одним примером использования ДНК-ШК в фармакогнозии является идентификация ядовитых растений, которые так или иначе могут попасть в лекарственное сырье. Так, анализ 106 видов лекарственных растений, входящих в китайскую фармакопею, и связанных с ними ядовитых растений показал, что последовательности ITS2 обладают достаточным уровнем полиморфизма для идентификации ядовитых растений и других примесей растительного происхождения среди исследуемых видов лекарственных растений [21]. В ряде других работ использование последовательностей ITS2 также позволило эффективно разделить схожие по морфологии, но различающиеся по химическому со-

ставу близкородственные виды лекарственных растений. Например, в работе Янга с соавт. [63] баркод ITS2 позволил различить корневища *Ра*nax notoginseng (Burkill) F.H. Chen и P. vietnamensis var. fuscidicus K. Komatsu, S. Zhu & S.Q. Cai, одно из которых используется для приготовления клинических препаратов. С использованием в качестве баркода последовательностей ITS2 были идентифицированы фенотипически схожие виды лекарственных растений рода *Uncaria* [20], рода Мисипа [64], корней и корневищ лекарственного ревеня (Rheum officinale Baill., Rh. palmatum L. и Rh. tanguticum Maxim. семейство Polygonaceae) [65] и лекарственного растения Spatholobus suberectus Dunn [66]. В целом высокий полиморфизм последовательностей ITS2, по сравнению с другими маркерами, делает данный фрагмент достаточно популярным в изучении таксономического разнообразия растений. Но встречаются работы, в которых последовательность ITS2 не показала достаточного полиморфизма для идентификации видов, и в качестве ДНК-штрихкода были использованы другие маркерные последовательности ДНК. Например, в исследовании Минга с соавт. [67], посвященном идентификации 15 видов лекарственных растений с использованием последовательностей ITS2, psbA-trnH, rbcL, matK, интрона trnL (UAA) и его Р6-петли, было показано, что только интрон trnL (UAA) и его Р6-петля являются удачными кандидатами для таксономического разделения исследуемых видов растений. Так, идентификация лекарственного растения Hypericum perforatum L. (зверобой продырявленный) с использованием последовательностей ITS2 и matK, в совокупности с HRM-анализом, позволила определить, что только последовательность гена matK обладает достаточной разрешающей способностью для распознавания вида H. perforatum среди других видов рода [68].

Иногда в результате описания таксономического биоразнообразия с использованием молекулярных маркеров идентифицируются виды, которых не предполагалось обнаружить. Так, например, в процессе изучения семи популяций мексиканского лекарственного растения *Galphimia glauca* Cav. (Malpighiaceae), широко используемого в лечении расстройств нервной системы, с применением в качестве молекулярных маркеров последовательностей генов *mat* K, *rpo* C1 и *rbc* L авторам удалось идентифицировать еще три вида из этого же рода [69].

Можно отметить, что сегодня мониторинг состава лекарственного сырья не обходится без применения методов ДНК-ШК. Совершенствуются протоколы применения тех или иных ДНК-последовательностей, используемых в качестве маркеров для идентификации компонентов лекарственных препаратов, основанных на сырье растительного и животного происхождения.

ДНК-ШК В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Рынок продуктов питания непрерывно растет, в связи с чем контроль качества продуктов является актуальной задачей, в том числе на предмет обнаружения в них примесей растительного и животного происхождения. Особенно востребован на сегодняшний день эффективный скрининг продуктов питания на наличие опасных для жизни растительных компонентов и их смесей, являющийся важным и необходимым на всех этапах, от получения сырья до конечного продукта [29, 70, 71]. К тому же быстрая диагностика в случае интоксикации ядовитыми растениями (фрукты, овощи, специи и прочие травосмеси, употребляемые в пищу) необходима для обеспечения максимально надежного лечения. В качестве примера можно привести работу, в которой авторам благодаря использованию молекулярных маркеров (rbcL, matK, ITS2 и psbA-trnH) в сочетании с HRM-анализом удалось успешно идентифицировать ядовитые виды растений Melientha suavis Pierre и Sauropus androgynus (L.) Merr., морфологически схожие с употребляемым в пищу видом Urobotrya siamensis Hiepko [72].

Еще одним аспектом применения метода ДНК-ШК в сфере пищевой промышленности является определение частоты вхождения тех или иных растений в состав готовых пищевых продуктов. Тнах с соавт. [73] с использованием последовательностей гена *rbc*L и межгенного спейсера *trnH-psb*A хлороластной ДНК в качестве ДНК-штрихкода провел идентификацию 112 видов тропических растений и, основываясь на полученных данных, создал систему определения частоты встречаемости данных видов растений в составе пищевых продуктов.

Частный случай идентификации продуктов питания методом ДНК-ШК – определение компонентного состава специй и чая на рынке пищевой промышленности. В данной продукции фальсификат можно встретить чаще всего [74-77]. В работе Света с соавт. [74] на основании анализа четырех ДНК-локусов (rbcL, matK, ITS2 и psbA-trnH) была проведена идентификация образцов пряности Myristica fragrans Houtt. на наличие примеси из M. malabarica Lam. в продаваемых специях. Результаты проведенного анализа показали высокий потенциал межгенного спейсера psbA-trnH хлоропластной ДНК по сравнению с остальными маркерами [74]. Данный локус имел 60 полиморфных сайтов и девять инделий, специфичных для M. malabarica Lam. [74]. В следующем исследовании с использованием метода Bar-HRM была показана возможность аутентификации шафрана (Crocus sativus L.), являющегося самой дорогой и самой подделываемой пряностью в мире [75]. Используя данный подход, авторы установили, что

последовательности ITS1 и matK являются специфичными только на vровне рода *Crocus*, и только последовательность ITS2 специфична для видов Crocus sativus L. и C. cartwrightianus Herb. [75]. Еще в одной работе с использованием последовательностей ITS2 и psbA-trnH было проанализировано 16 типов специй (91 коммерческий продукт) [76]. Использование данных последовательностей в качестве баркодов позволило авторам не только доказать эффективность работы метода ДНК-ШК, но и показать "состояние дел" на рынке пряностей. Большинство проанализированных коммерческих продуктов не соответствовало заявленному составу (было обнаружено различное количество дешевых заменителей с похожим цветом и внешним видом) и только два типа натуральных пряностей (фенхель и солодка) не имели примесей [76]. В следующей работе по применению метода ДНК-ШК, посвященной анализу 133 образцов чая, выращиваемого на о. Тайвань, показано, что использование данного метода может удовлетворить потребность в быстрой и недорогой дифференцировке большого количества чая, производимого как в Тайване, так и за его пределами [77].

Еще одним аспектом применения метода ДНК-ШК в пищевой промышленности может быть повышение социальной осведомленности о забытых, недостаточно используемых видах растений, имеющих ценные питательные свойства. Компонаро с соавт. [78] было показано, что на протяжении всей истории человечества выращивалось около 7000 видов и еще большее количество сортов растений, из которых в настоящее время используется менее 0.5%. Авторы предположили, что введение "новых" (забытых) продуктов растительного происхождения может решить проблему дефицита питания на планете, но для их продвижения и выращивания в глобальном масштабе наряду со знаниями о пригодности для питания человека необходимы надежные системы их идентификации (в том числе ДНК-ШК), чтобы гарантировать адекватную аутентичность по всей цепочке их поставок [78].

Таким образом, определение единичных примесей, преимущественно растительного происхождения, а также состава пищевых продуктов стало возможным благодаря использованию методов ДНК-ШК и ДНК-метабаркодинга. В настоящее время повсеместное распространение данных методов в пищевой промышленности затруднено из-за отсутствия эталонных библиотек и аккредитованных лабораторий [79].

ДНК-ШК В КРИМИНАЛИСТИКЕ

Перспектива применения методов ДНК-ШК в криминалистике в качестве инструмента, позволяющего добыть косвенные улики в расследова-

нии происшествий, не вызывает сомнений. Но для реализации этого направления в данной области необходимо создание собственной референсной базы эталонных образцов растений и животных, которая должна отвечать повышенным требованиям к качеству вводимых данных. Попытки создания такой референсной базы данных для использования в области криминалистики предпринимаются [80]. Имеющиеся на сегодня базы генетических данных, в том числе база данных Barcode of Life Data Systems (BOLD Systems), обладающие повышенными требованиями к качеству вносимой информации, не входят в правовое поле, чтобы быть использованными в сфере криминалистики [81]. Прежде всего это связано с тем, что невозможно установить ответственных за недостоверно внесенную информацию об образце, а также за идентификацию, которую должен проводить, в первую очередь, опытный таксономист с привлечением как классических, так и современных методов, гарантирующих высокий уровень достоверности. Но даже последнее не исключает попадание недостоверных сведений в базу данных BOLD Systems, например во время идентификации образцов в ходе выполнения студенческих проектов [81]. Несмотря на вышеперечисленные сложности, методологическая возможность применения методов ДНК-ШК в данной области представляет большой интерес. Примером такой работы является исследование Фанга с соавт. [82], в котором ими была создана модель тонущего животного с целью проверки гипотезы о возможности определения источника воды по идентификации планктона, обитающего в этой воде, с применением метода ДНК-метабаркодинга. Авторы подтвердили выдвинутую ими гипотезу и заключили, что использование данного метода в качестве инструмента установления источника воды может быть надежным помощником в судебно-медицинской экспертизе [82]. Остатки растений, собранные на месте преступления, также могут служить косвенными уликами в судебной практике после их идентификации [83, 84]. Еще один интересный аспект – возможность применения метода ДНКметабаркодинга в судебной палинологии, что со временем, по мнению авторов работы, может снять необходимость привлечения палинологов с высоким уровнем специализации [85]. Полагаем, что создание отдельной базы данных ДНКштрихкодов для использования в криминалистике не является далекой перспективой и со своим появлением разрешит потребность криминалистов в использовании методов молекулярной идентификации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение метода ДНК-ШК для ряда задач имеет существенные ограничения. Одно из таких

ограничений – отсутствие на сегодняшний день полной референсной базы маркерных последовательностей для всех видов. Утверждение Н.И. Абрамсон, сделанное в работе "Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов", о том, что "Неполная база данных позволит пользователю лишь определить насколько данная последовательность отличается от остальных уже представленных в базе", спустя десятилетие не потеряло актуальности [86]. Еще один "подводный камень" - это отсутствие единой точки зрения на то, каким должен быть уровень полиморфизма последовательности ДНК-штрихкода для определенной группы живых организмов, позволяющий хотя бы примерно определить ранг. В настоящее время невозможно дать однозначного ответа на этот вопрос, но некоторые исследователи в данной области полагают, что образцы, для которых уровень изменчивости ДНК-штрихкодов слишком мал, чтобы разделить их на виды, возможно не согласуются с настоящим пониманием границ вида [87]. Для снятия указанных ограничений в применении метода ДНК-ШК необходимо наращивать темпы внесения маркерных последовательностей в базы данных, с повышением требований к качеству и достоверности вносимых данных. Особенно это касается таких сфер применения как фармакогнозия, пищевая промышленность и криминалистика, где цена ошибочной идентификации слишком высокая. Но несмотря на имеющиеся ограничения, метод ДНК-ШК в настоящее время применяется во многих сферах человеческой деятельности, перечень которых намного шире представленного в данной работе. При снятии ключевых ограничений метод ДНК-ШК будет иметь большой потенциал для дальнейшего расширения областей его применения.

Работа была выполнена в рамках государственного задания "Разнообразие растительного мира западного макросклона Приполярного Урала" (АААА-А19-119011790022-1) и "Распространение, систематика и пространственная организация фауны и населения животных таежных и тундровых ландшафтов и экосистем европейского северо-востока России" (АААА-А17-117112850235-2).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

 Шнеер В.С. ДНК ШК – новое направление в сравнительной геномике растений // Генетика. 2009. Т. 45. № 11. С. 1436—1448.

- 2. Hollingsworth P.M. Refining the DNA barcode for land plants // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. P. 19451–19452. https://doi.org/10.1073/pnas.1116812108
- 3. Li X., Yang Y., Robert J. et al. Plant DNA barcoding: from gene to genome // Biol. Rev. 2015. V. 90. P. 157
 - https://doi.org/10.1111/brv.12104

166

- 4. Coissac E., Hollingsworth P.M., Lavergne S., Taberlet P. From barcodes to genomes: extending the concept of DNA barcoding // Mol. Ecol. 2016. V. 25(7). P. 1423–1428.
 - https://doi.org/10.1111/mec.13549
- Шеховцов С.В., Шеховцова И.Н., Пельтек С.Е. ДНК-штрихкодирование: методы и подходы // Успехи соврем. биологии. 2019. Т. 139. № 3. С. 211— 220. https://doi.org/10.1134/S0042132419030074
- 6. Шнеер В.С., Родионов А.В. ДНК-штрихкоды растений // Успехи соврем. биологии. 2018. Т. 138. № 6. С. 531—537. https://doi.org/10.7868/S0042132418060017
- De Salle R., Goldstein P. Review and interpretation of trends in DNA barcoding // Front. Ecol. Evol. 2019. V. 7. 302. https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00302
- 8. Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. R. Soc. B. Biol. Sci. 2003. V. 270. № 1512. P. 313–321.
- 9. Hebert P.D.N., Ratnasingham S., de Waard J.R. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species // Proc. R. Soc. B. Biol. Sci. 2003. V. 270. Suppl. 1. P. 596–599.
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. P. 6241–6246. https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109
- 11. Ratnasingham S., Hebert P.D.N. A DNA-based registry for all animal species: The Barcode Index Number (BIN) system // PLoS One. 2013. V. 8(7). e66213. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066213
- 12. Massana R., Gobet A., Audic S. et al. Marine protest diversity in European coastal waters and sediments as revealed by high—throughput sequencing // Environmental Microbiol. 2015. V. 17(10). P. 4035—4049. https://doi.org/10.1111/1462-2920.12955
- Valentini A., Taberlet P., Miaud C. et al. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding // Mol. Ecol. 2016. V. 25(4). P. 929–942. https://doi.org/10.1111/mec.13428
- 14. *Batovska J., Cogan N.O., Lynch S.E., Blacket M.J.* Using next-generation sequencing for DNA barcoding: Capturing allelic variation in ITS2 // Genes, Genomes, Genetics. 2017. V. 7(1). P. 19–29. https://doi.org/10.1534/g3.116.036145
- Schenk J., Fontaneto D. Biodiversity analyses in freshwater meiofauna through DNA sequence data. Review // Hydrobiologia. 2020. V. 847. P. 2597–2611. https://doi.org/10.1007/s10750-019-04067-2

- Семенов М.В. Метабаркодинг и метагеномика в почвенно-экологических исследованиях: успехи, проблемы и возможности // Журн. общей биологии. 2019. Т. 80(6). С. 403—417.
- Callahan B.J., Mc Murdie P.J., Holme S.P. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis // ISME J. 2017.
 V. 11(12). P. 2639–2943. https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119
- Dormontt E.E., Van Dijk K., Bell K.L. et al. Advancing DNA barcoding and metabarcoding applications for plants requires systematic analysis of herbarium collections — an Australian perspective // Front. Ecol. Evol. 2018. V. 6. 134. https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00134
- 19. Weigand H., Beermann A.J. Čiamporet F. et al. DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work // Sci. Total Environment. 2019. V. 678(15). P. 499–524. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.247
- 20. Zhong-Lian Z., Mei-Fang S., Yan-Hong G. et al. DNA barcoding in medicinal plants: Testing the potential of a proposed barcoding marker for identification of Uncaria species from China // Biochem. System. and Ecol. 2015. V. 60. P. 8–14. https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.02.017
- 21. Liu M., Xi-Wen L.I., Bao-Sheng L. et al. Species identification of poisonous medicinal plant using DNA barcoding // Chinese J. Nat. Medicines. 2019. V. 17(8). P. 585–590. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(19)30060-3
- Jena B., Kumar G.A., Biswal B. et al. Cultivar identification in Tabernaemontana divaricata (L.) R. Br. ex Roem. & Schult. using universal barcode markers // Gene Reports. 2019. V. 17. 100467. https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100467
- 23. Sheidai M., Tabaripour R., Talebi S.M. et al. Adulteration in medicinally important plant species of Ziziphora in Iran market: DNA barcoding approach // Industrial Crops and Products. 2019. V. 130. P. 627–633. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.025
- Loneac S.A., Hassanac Q.P., Gupta S. Development of DNA barcode for rapid identification of Epimedium elatum (Morren & Decne) from Northwestern Himalayas in India // J. Applied Res. on Medicinal and Aromatic Plants. 2019. V. 13. 100205. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2019.100205
- Zahn R.J., Silva A.J., Hellberg R.S. Development of a DNA mini-barcoding protocol targeting COI for the identification of Elasmobranch species in shark cartilage pills // Food Control. 2020. V. 109. 106918. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106918
- 26. *Joly S., Davies T.J., Archambault A. et al.* Ecology in the age of DNA barcoding: The resource, the promise and the challenges ahead // Mol. Ecol. Res. 2014. V. 14. P. 221–232. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12173
- 27. *Kress J.W.* Plant DNA barcodes: Applications today and in the future. Review // J. Systematics and Evol. 2017. V. 55(4). P. 291–307. https://doi.org/10.1111/jse.12254

- 28. Sgamma T., Lockie-Williams C., Kreuzer M. et al. DNA barcoding for industrial quality assurance // Planta Med. 2017. V. 83. P. 1117–1129. https://doi.org/10.1055/s-0043-113448
- 29. *Galimberti A., Casiraghi M., Bruni I.* From DNA barcoding to personalized nutrition: the evolution of food traceability // Current Opinion in Food Sci. 2019. V. 28. P. 41–48. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.008
- 30. *Tilocca B., Costanzo N., Mari V. et al.* Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production // J. Prot. 2020. V. 210. 103534. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103534
- 31. Sun W., Li J.-J., Xiong C. et al. The potential power of Bar-HRM technology in herbal medicine identification // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. 367. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00367
- 32. *Xanthopoulou A.*, *Ganopoulos I.*, *Kalivas A. et al.* Multiplex HRM analysis as a tool for rapid molecular authentication of nine herbal teas // Food Control. 2016. V. 60. P. 113–116. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.021
- Beebe N.W. DNA barcoding mosquitoes: advice for potential prospectors. Review // Parasitology. 2018.
 V. 145(5). P. 622–633. https://doi.org/10.1017/S0031182018000343
- De Oliveira E.A., Penhacek M., Guimaraes K.L. et al. Pristimantis in the Eastern Brazilian Amazon: DNA barcoding reveals underestimated diversity in a megadiverse genus: Review // Mitochondrial DNA. Part A. 2019. V. 30(6). P. 731–738. https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1634696
- 35. Bennett R., Blagoev G., Copley C. Araneae of Canada. Review // Zookeys. 2019. V. 819. P. 41–56. https://doi.org/10.3897/zookeys.819.26391
- 36. Abdessamad A.I. Transitions from single- to multi-locus approach in determining cryptic and describing new species within Beauveria genus (Cordycipitaceae, Hypocreales): a review // Phytotaxa. 2019. V. 413(4). P. 257–273. https://doi.org/10.11646/phytotaxa.413.4.1
- 37. Arroyave J., Martinez C.M., Stiassny M.L.J. DNA barcoding uncovers extensive cryptic diversity in the African long-fin tetra *Bryconalestes longipinnis* (Alestidae: Characiformes) // J. Fish Biol. 2019. V. 95(2). P. 379—392. https://doi.org/10.1111/jfb.13987
- 38. *Cryer J., Wynne F., Price S.J., Puschendorf R.* Cryptic diversity in *Lithobates warszewitschii* (Amphibia, Anura, Ranidae) // ZooKeys. 2019. V. 838. P. 49–69. https://doi.org/10.3897/zookeys.838.29635
- 39. *Andriollo T., Ruedi M.* Novel molecular tools to identify *Plecotus bats* in sympatry and a review of their distribution in Switzerland. Review // Revue Suisse De Zoologie. 2018. V. 125. P. 61–72. https://doi.org/10.5281/zenodo.1196013
- 40. Пунина Е.О., Мачс Э.М., Крапивская Е.Е. и др. Полиморфные сайты в транскрибируемых спейсерах генов 35S рРНК пионов как индикатор происхождения сортов // Генетика. 2017. Т. 53. № 2. С. 181—191.

486 ШАДРИН

- 41. Ruppert K.M., Kline R.J., Rahman M.S. Past, present and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA // Global Ecol. and Conservation. 2019. V. 17. e00547. https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547
- 42. *Toju H*. High-throughput DNA barcoding for ecological network studies // Popul. Ecol. Review. 2015. V. 57(1). P. 37–51. https://doi.org/10.1007/s10144-014-0472-z
- 43. Kress W.J., Garcia-Robledo C., Uriarte M., Erickson D.L. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. Review // Trends in Ecol. & Evol. 2015. V. 30(1). P. 25–35. https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.008
- 44. Fahner N.A., Shokralla S., Baird D.J. et al. Large-scale monitoring of plants through environmental DNA metabarcoding of soil: recovery, resolution and annotation of four DNA markers // PLoS One. 2016. V. 11(6). e0157505. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157505
- 45. Hering D., Borja A., Jones J.I. et al. Implementation options for DNA-based identification into ecological status assessment under the European water framework directive // Water Res. 2018. V. 138. P. 192–205. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.003
- 46. *Bagley M., Pilgrim E., Knapp M. et al.* High-throughput environmental DNA analysis informs a biological assessment of an urban stream // Ecol. Indicators. 2019. V. 104. P. 378–389. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.04.088
- 47. Xiong M.Y., Wang D.J., Bu H.L. Molecular dietary analysis of two sympatric felids in the Mountains of Southwest China biodiversity hotspot and conservation implications // Sci. Rep. 2017. V. 7. 41909. https://doi.org/10.1038/srep41909
- 48. *Buglione M., Maselli V., Rippa D. et al.* A pilot study on the application of DNA metabarcoding for non-invasive diet analysis in the Italian hare // Mamm. Biol. 2018. V. 88. P. 31–42. https://doi.org/10.1016/j.mambio.2017.10.010
- 49. *Robeson M.S., Khanipov K., Golovko G. et al.* Assessing the utility of metabarcoding for diet analyses of the omnivorous wild pig (*Sus scrofa*) // Ecol. Evol. 2018. V. 8. P. 185–196. https://doi.org/10.1002/ece3.3638
- 50. Erickson D.L., Reed E., Ramachandran P. et al. Reconstructing a herbivore's diet using a novel rbcL DNA mini-barcode for plants // AoB Plants. 2017. V. 9(3). https://doi.org/10.1093/aobpla/plx015
- 51. De Vere N., Jones L.E., Gilmore T. et al. Using DNA metabarcoding to investigate honey bee foraging reveals limited flower use despite high floral availability // Sci. Reports. 2017. 42838. https://doi.org/10.1038/srep42838
- 52. Chan-Chable R.J., Martínez-Arce A., Mis-Avila P.C., Ortega-Morales A.I. DNA barcodes and evidence of cryptic diversity of anthropophagous mosquitoes in Quintana Roo, Mexico // Ecol Evol. 2019. V. 9. P. 4692–4705. https://doi.org/10.1002/ece3.5073

- 53. Hernández-Triana L.M., Brugman V.A., Nikolova N.I. et al. DNA barcoding of British mosquitoes (Diptera, Culicidae) to support species identification, discovery of cryptic genetic diversity and monitoring invasive species // ZooKeys. 2019. V. 832. P. 57–76. https://doi.org/10.3897/zookeys.832.32257
- 54. Bespalaya Y.V., Bolotov I.N., Aksenova O.V. et al. DNA barcoding reveals invasion of two cryptic Sinanodonta mussel species (Bivalvia: Unionidae) into the largest Siberian river // Limnologica. 2017. V. 69. P. 94–102. https://doi.org/10.1016/j.limno.2017.11.009
- 55. *Kolesnikova A.A., Baturina M.A., Shadrin D.M. et al.* New records of Lumbricidae and Collembola in anthropogenic soils of East European tundra // ZooKeys. 2019. V. 885. P. 15–25. https://doi.org/10.3897/zookeys.885.37279
- 56. Shilin C., Xiaohui P., Jingyuan S. et al. A renaissance in herbal medicine identification: From morphology to DNA. Review // Biotechnol. Adv. 2014. V. 32. P. 1237—1244. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.004
- 57. *Mishra P., Kumar A., Nagireddy A. et al.* DNA barcoding: an efficient tool to overcome authentication challenges in the herbal market // Plant Biotechnol. 2015. V. 14(1). P. 8–21. https://doi.org/10.1111/pbi.12419
- Osathanunkul M., Suwannapoom C., Osathanunkul K. et al. Evaluation of DNA barcoding coupled high resolution melting for discrimination of closely related species in phytopharmaceuticals // Phytomedicine. 2016. V. 23(2). P. 156–165. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.018
- 59. *Mezzasalma V., Ganopoulos I., Galimberti A. et al.* Poisonous or non-poisonous plants? DNA-based tools and applications for accurate identification. Review // Int. J. Legal. Med. 2017. V. 131. P. 1–19. https://doi.org/10.1007/s00414-016-1460-y
- Pei Y.F., Zhang Q.Z., Wang Y.Z. Application of authentication evaluation techniques of ethnobotanical medicinal plant genus Paris: a review // Critical Rev. in Analytical Chem. 2019. V. 50(5). P. 405–423. https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1642734
- 61. Жохова Е.В., Родионов А.В., Повыдыш М.Н. и др. Современное состояние и перспективы использования ДНК ШК и ДНК-фингерпринтинга для анализа качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов // Успехи соврем. биологии. 2019. № 1. С. 25—40. https://doi.org/10.1134/s0042132419010095
- 62. *Techen N., Parveen I., Pan Z., Khan I.A.* DNA barcoding of medicinal plant material for identification // Curr. Opinion in Biotechnol. 2014. V. 25. P. 103–110. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.010
- 63. Yang J., Dong L., Wei G. et al. Identification and quality analysis of Panax notoginseng and Panax vietnamensis var. fuscidicus through integrated DNA barcoding and HPLC // Chinese Herbal Med. 2018. V. 10(2). P. 177–183.
 - https://doi.org/10.1016/j.chmed.2018.03.008
- 64. *Rashmi K.V., Sathyanarayana N., Vidya S.M.* Validation of DNA barcoding markers in common Mucuna spe-

- cies of India for taxonomy and pharmacognosy applications // Plant Gene. 2017. V. 12. P. 98–104. https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.09.001
- 65. *Zhou Y., Du X., Zheng X. et al.* ITS2 barcode for identifying the officinal rhubarb source plants from its adulterants // Biochem. Systematics and Ecol. 2017. V. 70. P. 177–185. https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.12.004
- 66. Zhou H., Ma Sh., Song J. et al. QR code labeling system for Xueteng-related herbs based on DNA barcode // Chinese Herbal Med. 2019. V. 11(1). P. 52–59. https://doi.org/10.1016/j.chmed.2018.09.006
- 67. *Ming S., Gang-Qiang D., Ya-Qin Z. et al.* Identification of processed Chinese medicinal materials using DNA mini-barcoding // Chinese J. Nat. Med. 2017. V. 15(7). P. 481–486. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30073-0
- 68. Costa J., Campos B., Amaral J.S. et al. HRM analysis targeting ITS1 and matK loci as potential DNA minibarcodes for the authentication of Hypericum perforatum and Hypericum androsaemum in herbal infusions // Food Control. 2016. V. 61. P. 105–114. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.035
- 69. *Sharma A., Folch J.L., Cardoso-Taketa A. et al.* DNA barcoding of the Mexican sedative and anxiolytic plant *Galphimia glauca* // J. Ethnopharmacol. 2012. V. 144(2). P. 371–378. https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.09.022
- 70. Frigerio J., Pellesi R., Mezzasalma V. et al. Development of a DNA barcoding-like approach to detect mustard allergens in wheat flours // Genes. 2019. V. 10(3). 234. https://doi.org/10.3390/genes10030234
- 71. *Gao Z.T., Liu Y., Wang X.Y. et al.* DNA mini-barcoding: a derived barcoding method for herbal molecular identification // Front. Plant Sci. 2019. V. 10. 987. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00987
- 72. Thongkhao K., Tungphatthong Ch., Phadungcharoen T., Sukrong S. The use of plant DNA barcoding coupled with HRM analysis to differentiate edible vegetables from poisonous plants for food safety // Food Control. 2020. V. 109. 106896. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106896
- 73. *Tnah L.H., Lee S.L., Tan A.L. et al.* Nurul Farhanah. DNA barcode database of common herbal plants in the tropics: a resource for herbal product authentication // Food Control. 2019. V. 95. P. 318–326. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.022
- 74. Swetha V.P., Parvathy V.A., Sheeja T.E., Sasikuma B. Authentication of Myristica fragrans Houtt. using DNA barcoding // Food Control. 2017. V. 73. P. 1010–1015. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.004
- 75. *Villa C., Costa J., Meira L. et al.* Exploiting DNA minibarcodes as molecular markers to authenticate saffron (*Crocus sativus* L.) // Food Control. V. 2016. V. 65. P. 21–31. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.008
- Zhang M., Shi Y., Sun W. et al. An efficient DNA barcoding based method for the authentication and adulteration detection of the powdered natural spices // Food Control. 2019. V. 106. 106745. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106745

- 77. Lee Sh., Wang Ch., Yen Ch., Chang Ch. DNA barcode and identification of the varieties and provenances of Taiwan's domestic and imported made teas using ribosomal internal transcribed spacer 2 sequences // J. Food and Drug Anal. 2017. V. 25(2). P. 260–274. https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.06.008
- 78. Campanaro A., Tommasi N., Guzzetti L. et al. DNA barcoding to promote social awareness and identity of neglected, underutilized plant species having valuable nutritional properties // Food Res. Intern. 2018. V. 115. P. 1–9. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.031
- 79. *Haynes E., Jimenez E., Pardo M.A., Helyar S.J.* The future of NGS (Next Generation Sequencing) analysis in testing food authenticity // Food Control. 2019. V. 101. P. 134–143. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.02.010
- 80. *Chimeno C., Morinière J., Podhorna J. et al.* DNA barcoding in forensic entomology-establishing a DNA reference library of potentially forensic relevant arthropod species // J. Forensic Sci. 2019. V. 64(2). P. 593–601. https://doi.org/10.1111/1556-4029.13869
- 81. *Kotrba M.* Commentary on: Chimeno C., Morinière J., Podhorna J., Hardulak L., Hausmann A., Reckel F. et al. DNA barcoding in forensic entomology-establishing a DNA reference library of potentially forensic relevant arthropod species // J. Forensic Sci. 2019. V. 64(4). P. 593–601. https://doi.org/10.1111/1556-4029.14094
- 82. *Fang T., Liao S., Chen X. et al.* Forensic drowning site inference employing mixed pyrosequencing profile of DNA barcode gene (*rbcL*) // Int. J. Legal. Med. 2019. V. 133. P. 1351–1360. https://doi.org/10.1007/s00414-019-02075-4
- 83. Ferri G., Corradini B., Ferrari F. et al. Forensic botany II, DNA barcode for land plants: Which markers after the international agreement? // Forensic Sci. Intern.: Genetics. 2015. V. 15. P. 131–136. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.10.005
- 84. *Park E., Kim J., Lee H.* Plant DNA barcoding system for forensic application // Forensic Sci. Intern.: Genetics. Suppl. Series. 2017. V. 6. P. e282—e283. https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.141
- 85. *Karen L., Bella K.S., Burgessb K.C. et al.* Review and future prospects for DNA barcoding methods in forensic palynology // Forensic Sci. Intern.: Genetics. 2016. V. 21. P. 110–116. https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.12.010
- 86. *Абрамсон Н.И*. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов // Тр. Зоол. ин-та РАН. 2009. № 1. С. 185—198.
- 87. Saarela J.M., Sokoloff P.C., Gillespie L.J. et al. DNA barcoding the Canadian Arctic flora: Core plastid barcodes (rbcL + matK) for 490 vascular plant species // PLoS One. 2013. V. 8(10) P. e77982. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077982

488 ШАДРИН

DNA Barcoding: Applications

D. M. Shadrin*

Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, 167982 Russia *e-mail: shdima@ib.komisc.ru

The method of DNA barcoding has become a reliable tool that allows the fast and accurate identification and verifies of biodiversity in the hands of an experienced taxonomist. This method is very popular in various fields of human activity because of its ease of use and economic benefit. Examples of use are presented and the potential of the DNA barcoding method of living organisms in areas such as environmental monitoring (identification of invasive species, parasites and their carriers, pests), food and pharmaceutical industries (detection of counterfeit products, determination of product quality) and forensics are shown.

Keywords: DNA barcode, application, taxonomy, ecology, pharmacognosy, forensics.