

DNA BARCODING AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF CEYLON OAK WITH OTHER FRUIT PLANTS IN SAPINDACEAE FAMILY

N. JAITAN^{1,2}, P. LITHANATUDOM²,
S.K. LITHANATUDOM^{3*}

¹ Ph.D.'s Degree Program in Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

² Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

³ Program in Genetics, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, 50290, Thailand

E-mail: suparat.lit@gmail.com

Ceylon oak (Schleichera oleosa (Lour.) Oken), belonging to Sapindaceae family, is a widely used plant for its medicinal properties. Currently, few studies have been conducted on Ceylon oak's genetic background and its relationship with other closely related plants in Thailand. Therefore, this study focused on the analysis of nucleotide sequences to understand the genetic diversity and relationship of Ceylon oak with longan and lychee. The nucleotide sequencing of six loci, namely ITS2, matK, rbcL, trnH-psbA, trnL-i and trnL- trnF were analyzed in 5 Ceylon oak samples collected from various locations in Thailand and then were additionally aligned with nucleotide sequences of 36 longan samples and 2 lychee samples (7 species) (GenBank accession numbers KY174077-KY174314). The sequencing results were then used to construct a phylogenetic tree using the maximum likelihood criteria. Multiple sequence alignment revealed the highest InDel polymorphism of trnH-psbA fragment which can be developed as a DNA molecular marker in the identification of Ceylon oak. Interestingly, the K2P pairwise distance analysis revealed a high degree of genetic variation between Ceylon oak, longan and lychee samples and the combination of either matK and trnH-psbA or matK and ITS2 provided the most potential candidate DNA barcoding region for discrimination of Ceylon oak from longan and lychee. The phylogenetic tree showed that Ceylon oak is completely different from longan and lychee. This is the first report of phylogenetic information among Ceylon oak, longan and lychee in Thailand which might be used to assist Ceylon oak conservation and breeding program in the future.

Key word: Ceylon oak (*Schleichera oleosa (Lour.) Oken*), Sapindaceae, DNA barcoding, Phylogenetic analysis.

ШТРИХ-КОДУВАННЯ ДНК
І ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ
ЦЕЙЛОНСЬКОГО ДУБА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ
ЙОГО СПОРІДНЕНОСТІ З ІНШИМИ

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2023

ФРУКТОВИМИ РОСЛИНАМИ СІМЕЙСТВА SAPINDACEAE

Цейлонський дуб (*Schleichera oleosa (Lour.) Oken*), який належить до сімейства Sapindaceae, – це рослина, що має широке застосування через свої лікарські властивості. Наразі було проведено декілька досліджень щодо генетичного походження цейлонського дуба і його відносин із іншими спорідненими рослинами в Таїланді. У фокусі цього дослідження був аналіз нуклеотидних послідовностей із метою визначення генетичної різноманітності і відносин між цейлонським дубом і лонганом та лічі. Нуклеотидне секвенування шести локусів, а саме ITS2, matK, rbcL, trnH-psbA, trnL-i та trnL- trnF, було проаналізовано в п'яти зразках цейлонського дуба, відібраних із різних регіонів Таїланду, і потім додатково вирівняно з нуклеотидними послідовностями 36 зразків лонгану і 2 зразків лічі (7 зразків) (інвентарні номери GenBank KY174077-KY174314). Згодом результати секвенування були використані для побудови філогенетичного дерева за допомогою критеріїв максимальної вірогідності. Множинне вирівнювання послідовностей показало найвищий поліморфізм InDel фрагменту trnH-psbA, який можна розробити в якості молекулярного маркеру ДНК для ідентифікації цейлонського дуба. Цікаво, що попарний дистантний аналіз K2P виявив високий ступінь генетичної варіативності між зразками цейлонського дуба, лонгана і лічі, а поєднання matK і trnH-psbA або matK і ITS2 забезпечило найбільш потенційного кандидата, учасник штрих-кодування ДНК для розпізнання цейлонського дуба на відміну від лонгана та лічі. Філогенетичне дерево показало, що цейлонський дуб повністю відрізняється від лонгана та лічі. Це перший звіт філогенетичної інформації про цейлонський дуб, лонган та лічі в Таїланді, який можна використовувати в обговоренні програми збереження та розведення цейлонського дуба в майбутньому.

Ключові слова: цейлонський дуб (*Schleichera oleosa (Lour.) Oken*), Sapindaceae, штрих-кодування ДНК, філогенетичний аналіз.

REFERENCES

- Amundsen K, Warnke S (2012) Agrostis Species Relationships Based on trnL-trnF and atpI-atpH Intergenic Spacer Regions. HortScience 47:18–24.
- Balamurugan S, Vijayakumar S, Prabhu S et al (2017) Traditional plants used for the treatment of gynaecological disorders in Vedaranyam taluk, South India – An ethnomedicinal survey. J Tradition Complement Med 8:308–323.
- Bhatia H, Kaur J, Nandi S, Gurnani et al (2013) A review on *Schleichera oleosa*: Pharmacological and environmental aspects. J Pharmacy Res 6:224–229.

- CBOL Plant Working Group (2009) A DNA barcode for land plants. *Proc Nat Acad Sci USA* 106:12794–12797.
- Chen S, Yao H, Han J et al (2010) Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS ONE* 5:e8613.
- DeSalle R, Goldstein P (2019) Review and Interpretation of Trends in DNA Barcoding. *Front Ecol Evol* 7.
- Fu YM, Jiang WM, Fu CX (2011) Identification of species within *Tetrastigma* (Miq.) Planch. (Vitaceae) based on DNA barcoding techniques. *J Systemat Evolut* 49:237–245.
- Ghorbani A, Saeedi Y, de Boer HJ (2017). Unidentifiable by morphology: DNA barcoding of plant material in local markets in Iran. *PLoS ONE* 12:e0175722.
- Ghosh P, Chakraborty P, Mandal A et al (2011) Triterpenoids from *Schleichera oleosa* of Darjeeling Foot-hills and their Antimicrobial Activity. *Indian J Pharmaceut Sci* 73:231–233.
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V et al (2010) New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59:307–321.
- Hall TA (1999) A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acid Symposium Series* 41:95–98.
- Han S, Sebastin R, Wang X et al (2021) Identification of Vicia Species Native to South Korea Using Molecular and Morphological Characteristics. *Front Plant Sci* 12:608559.
- Hsu WK, Lee SC, Lu PL (2019) A Useful Technical Application of the Identification of Nucleotide Sequence Polymorphisms and Gene Resources for *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. (Lauraceae). *Forests* 10:306.
- Kimura M (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evolut* 16:111–120.
- Kool A, de Boer HJ, Krüger A et al (2012) Molecular identification of commercialized medicinal plants in southern Morocco. *PLoS ONE* 7:e39459.
- Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA et al (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc Nat Acad Sci USA* 102:8369–8374.
- Kress WJ, Erickson DL (2007) A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE* 2:e508.
- Kress WJ (2017) Plant DNA barcodes: Applications today and in the future: Plant DNA barcode applications. *J Systematics Evolution* 55.
- Kumar S, Stecher G, Li M et al (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evolut* 35:1547–1549.
- Lithanatudom SK, Chaowasku T, Nantarant N et al (2017) A First Phylogeny of the Genus *Dimocarpus* and Suggestions for Revision of Some Taxa Based on Molecular and Morphological Evidence. *Sci Rep* 7(1):6716. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07045-7>.
- Loera-Sánchez M, Studer B, Kölliker R (2020) DNA barcode *trnH-psbA* is a promising candidate for efficient identification of forage legumes and grasses. *BMC Research Notes* 13.
- Mateikovich AP, Punina EO, Kopylov-Guskov YO et al (2020). ITS1–5.8S rDNA–ITS2 and *trnL-trnF* Sequences as Markers for the Study of Species Diversity of Altai Feather Grasses. *Rus J Genet* 56:417–428.
- Newmaster SG, Grguric M, Shanmughanandhan D et al (2013) DNA barcoding detects contamination and substitution in North American herbal products. *BMC Medicine* 11:222.
- Palanuvej C, Vipunungeun N (2008) Fatty acid constituents of *Schleichera oleosa* (Lour) Oken seed oil. *J Health Research* 22.
- Parveen I, Gafner S, Techen N et al (2016) DNA Barcoding for the Identification of Botanicals in Herbal Medicine and Dietary Supplements: Strengths and Limitations. *Planta Medica* 82:1225–1235.
- Pettit GR, Numata A, Cragg GM et al (2000) Isolation and structures of schleicherastatins 1–7 and schleicheols 1 and 2 from the teak forest medicinal tree *Schleichera oleosa*. *J Nat Prod* 63:72–78.
- Purushothaman N, Newmaster SG, Ragupathy S et al (2014) A tiered barcode authentication tool to differentiate medicinal Cassia species in India. *Genet Mol Res: GMR* 13:2959–2968.
- Sgamma T, Lockie-Williams C, Kreuzer M et al (2017) DNA Barcoding for Industrial Quality Assurance. *Planta Medica* 83:1117–1129.
- Silprasit K, Thummajitsakul S (2020) Short ITS DNA barcode effectively distinguishes the medicinal plants *Cyclea barbata*. *Songklanakarin J Sci Technol* 42:1197–1206.
- Stecher G, Tamura K, Kumar S (2020) Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) for MacOS. *Mol Biol Evolut* 37:1237–1239.
- Sun W, Li JJ, Xiong C et al (2016) The Potential Power of Bar-HRM Technology in Herbal Medicine Identification. *Front Plant Sci* 7:367.
- Taberlet P, Gielly L, Pautou G (1991). Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol Biol* 17:1105–1109.
- Thind TS, Rampal G, Agrawal SK et al (2010) Diminution of free radical induced DNA damage by extracts/fractions from bark of *Schleichera oleosa* (Lour.) Oken. *Drug Chem Toxicol* 33:329–336.
- Vashishtha A, Jehan T, Sharma K (2013) Molecular Characterization and Genetic Diversity of *Schleichera oleosa* (Lour.) Oken: Major Host Tree for Lac Cultivation. *Nat Acad Sci Letters* 36.
- Yu J, Wu X, Liu C (2021) Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants. *Ecotoxicol Environ Safety* 208.

Received January 06, 2022

Received June 21, 2022

Accepted July 18, 2023