

АНАЛІЗ ТАКСОНОМІЧНОГО СТАТУСУ *LIMONIUM CASPIUM* (WILLD.) P. FOURN. З ВИКОРИСТАННЯМ ДІЛЯНКИ ITS1-5.8S-ITS2

Ю.О. ТИНКЕВИЧ¹, К.В. НОРД¹, Я.І. ІВАНОВИЧ¹, І.І. МОЙСІЄНКО^{1,2},
І.І. ПАНЧУК¹

¹Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, Україна, 58012,
e-mail: y.tynkevich@chnu.edu.ua

²Херсонський державний університет,
вул. Університетська, 27, м. Херсон, Україна, 73000

В Україні зустрічаються 15 представників роду *Limonium* Mill. Таксономічний статус частини з них потребує уточнення. Зокрема, *L. caspium* (Willd.) P. Fourn. частина таксономістів вважає окремим видом, тоді як інші схильні розглядати цю назву у якості синоніму до *L. bellidifolium* Dumort. До цього часу з використанням молекулярно-генетичних підходів був проаналізований лише один зразок *L. caspium* з території Східного Ірану, для якого була сиквенована ділянка ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК. Для обох видів, *L. caspium* та *L. bellidifolium*, зразки з території України ще не досліджувались з використанням методів молекулярної таксономії. В цій роботі ми ампліфікували та сиквенували послідовності ITS1-5.8S-ITS2 для двох разків *L. caspium* та двох зразків *L. bellidifolium* з Півдня України. Всі чотири зразки виявились ідентичними за цією ділянкою. Також, вони не відрізняються від сиквенованих раніше зразків *L. bellidifolium* з Франції, Туреччини та Греції. Натомість, порівняно із згаданими зразками, у послідовності *L. caspium* з Ірану наявні п'ять нуклеотидних замін та чотири інделі. Філогенетичний аналіз показав, що представники так званого «комплексу *L. bellidifolium*», до яких крім двох згаданих видів відносяться також проаналізовані в цій роботі *L. iconium* та *L. tamaricoides*, групуються разом із представниками секції *Nephrophyllum*. Аналогічний результат був отриманий і у дослідженнях інших авторів з використанням послідовності ITS1-5.8S-ITS2 та ділянок хлоропластної ДНК. Проте, за послідовністю IGS 5S рДНК представники «комплексу *L. bellidifolium*» у нашій попередній роботі групувались разом з видами секції *Limonium*, до якої їх відносили раніше за морфологічними ознаками. Така невідповідність філогенії з використанням різних ділянок геному свідчить про ретикулярний характер еволюції геномів представників цієї групи та вказує на ймовірні події гібридизації у їх минулому. В межах отриманої в нашому аналізі клади «комплексу *L. bellidifolium*» зразок *L. caspium* з Ірану утворює сестринську гілку до всіх інших його представників. Таким чином, порівняння ділянки ITS1-5.8S-ITS2 показує, що українські зразки, визначені як *L. caspium*, не відрізняються від *L. bellidifolium*. Проте, для остаточного вирішення таксономічного статусу *L. caspium* необхідно проаналізувати більше зразків різного географічного походження.

Ключові слова: біорізноманіття, генетичний поліморфізм, ДНК-баркодинг, молекулярні маркери, таксономія, філогенія, *Limonium*, *Plumbaginaceae*

Вступ. Представники роду кермек (*Limonium* Mill., родина *Plumbaginaceae*) є популярними декоративними рослинами, які використовують у зрізаному вигляді для букетів, а також, для прикрашання садів та громадських просторів. Генетичне різноманіття дикорослих представників роду може бути використане для отримання нових сортів та форм цих квітів (Morgan and Funnell, 2018).

В Україні зустрічаються 15 видів роду *Limonium* (Onyshchenko et al., 2022). Таксономічний статус частини українських кермеків залишається невизначеним. Зокрема, Кермек прикаспійський - *L. caspium* (Willd.) P. Fourn. іноді розглядається у якості окремого виду (Onyshchenko et al., 2022), або як синонім до *L. bellidifolium* Dumort. (Ekoflora

Ukrayiny 2010; Ovsienko, 2017) з яким він морфологічно подібний. В міжнародних базах даних *L. caspium* розглядається як окремий вид (POWO, 2023) або як таксон із неперевіраним статусом (WFO, 2023). Оскільки ця рослина є перспективним джерелом біологічно-активних компонентів фенольної природи (Gadetskaya et al., 2015), визначення її таксономічної приналежності та поширеності в Україні є важливим завданням, яке можна вирішити із застосуванням молекулярно-генетичних підходів.

До цього часу з використанням молекулярних методів був проаналізований лише один зразок *L. caspium* з території Східного Ірану. Для цього зразку була просиквенована послідовність ділян-

ки ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК та використана у двох філогенетичних аналізах, один з яких був присвячений філогенетичному положенню Ірано-Туранських кермеків (Akhani et al., 2013), а інший - філогенії роду *Limonium* в цілому (Malekmohammadi et al., 2017). В обох роботах цей зразок виявився близькоспорідненим до зразків *L. bellidifolium*, які походили у першому випадку з території Франції, а в другому - з Греції.

Ділянка ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК наразі вважається найбільш інформативною маркерною послідовністю для філогенії і таксономії рослин (Grimm et al., 2005; Fehrer et al., 2021). Також, вона найбільш активно використовувалась у дослідженні роду *Limonium* (Akhani et al., 2013; Malekmohammadi et al., 2017; Koutroumpa et al.,

2018). Отже, в цій роботі ми сиквенували ділянку ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК для двох зразків попередньо визначених як *L. caspium* та двох зразків *L. bellidifolium* з території півдня України. Отримані сиквенси українських зразків порівняли з доступними в базі даних GenBank послідовностями цієї ділянки для згаданих вище видів та інших близькоспоріднених представників роду *Limonium*.

Матеріали та методи. Зразки *L. caspium* та *L. bellidifolium* були зібрані протягом польових сезонів 2004, 2014 та 2017 років (табл. 1). ДНК виділяли з гербаризованих листків та квітів модифікованим цетавлоновим методом (Porebski et al., 2007; Panchuk et al., 2007).

Таблиця 1.

Список зразків використаних в цій роботі

Table 1.

List of accessions used in this study

Назва виду Species name	Назва зразку Acc. name	Походження зразку Acc. origin	Період збору рослинного матеріалу Plant material collection time
<i>Limonium bellidifolium</i> Dumort.	LiBel2	Херсонська обл., Голопристанський р-н. Kherson Oblast, Hola Prystan District	Травень, 2014 May, 2014
	LiBel3	Херсонська обл., Генічеський р-н. Kherson Oblast, Henichesk District	Вересень, 2017 September, 2017
<i>Limonium caspium</i> (Willd.) P.Fourn.	LiCas1	Миколаївська обл., Березанський р-н. Mykolaiv Oblast, Berezanka District	Липень, 2000 June, 2000
	LiCas2	Запорізька обл., Бердянський р-н. Zaporizhzhia Oblast, Berdiansk District	Вересень, 2004 September, 2004

Ділянку ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК ампліфікували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням пари праймерів, комплементарних до фланкуючих внутрішні транскрибовані спейсери 1 та 2 (internal transcribed spacers: ITS1 та ITS2) ділянок генів 18S та 26S рРНК. ПЛР-продукти очищали екстракцією хлороформом та сиквенували із застосуванням праймерів, використаних для ампліфікації. Сиквенування зразків проводили на фірмі LGC Genomics (Німеччина).

Аналіз якості сиквенсів та їх анотацію проводили за допомогою програми Chromas та пакету програм DNASTAR Lasergene 14. Пошук гомологічних послідовностей у базі даних GenBank здійснювали з використанням алгоритму BLAST (Boratyn et al., 2013). Нуклеотидні послідовності вирівнювали методом G-INS-I на сервері MAFFT (Katoh et al., 2019). Для отримання філогенетичного сигналу від інделів (інсерцій/делецій) використали простий метод їх кодування як дискретних ознак (Simmons and Ochoterena, 2000). Кодування здійснювали інструментом FastGap 1.2 (Borchsenius, 2009) Філогенетичний аналіз прово-

дили методом Maximum likelihood за допомогою плагіна PhyML для Geneious Prime 2023.2.1 (Guindon and Gascuel, 2003). Статистична підтримка гілок була розрахована за методом aLRT Chi2 (Anisimova and Gascuel, 2006). Розраховане дерево експортували у форматі Newick та візуалізували з використанням онлайн інструменту iTOL v6 - Interactive tree of life (Letunic and Bork, 2021).

Результати та їх обговорення. Порівняння отриманих нами сиквенсів для двох зразків *L. caspium* та двох *L. bellidifolium* показало, що всі чотири зразки є ідентичними за послідовністю ділянки ITS1-5.8S-ITS2. Для порівняння з іншими представниками роду *Limonium* ми провели пошук методом BLAST в базі даних GenBank. Пошуковий запит повернувся з результатом 395 послідовностей ITS1-5.8S-ITS2 для представників роду *Limonium*, три з яких належать *L. bellidifolium* та один - *L. caspium*. Ще шість сиквенсів з результатів пошуку, як і чотири перераховані вище, мали подібність не менше 98% при 100% покритті. Вони належать видам *L. iconium* (Boiss. & Heldr.) Kuntze (4 зразки), *L. tamaricoides* Bokkari (1 зразок) та ще одному

невизначеному зразку роду *Limonium* з території Туреччини - *L.sp* 1 (Koutroumpa et al., 2018).

Таким чином, для структурного порівняння ділянки ITS1-5.8S-ITS2 українських зразків *Limonium* із наявними у базі даних GenBank нами було відібрано десять послідовностей. Отримане вирівнювання має довжину 642 нп (рис. 1). В межах фрагменту, який відповідає кодувальній ділянці 5.8S рДНК різниця між відібраними послідовностями відсутня. В ділянці ITS1 також немає нуклеотидних замін, натомість присутні два одонуклеотидних індела. Суттєво більше мутацій спостерігається в ITS2: на загал тут виявлені чотири одонуклеотидні та один двонуклеотидний індел, а також три транзиції та три трансверсії.

Послідовності ITS1-5.8S-ITS2 виявились ідентичними не лише для українських зразків

L. caspium та *L. bellidifolium*, але й для трьох зразків *L. bellidifolium* з бази даних GenBank, які походять з Туреччини (Koutroumpa et al., 2018), Греції (Malekmohammadi et al., 2017) та Франції (Akhanian et al., 2013). В той же час, послідовність ITS1-5.8S-ITS2 зразку *L. caspium* з Східного Ірану (Akhanian et al., 2013) відрізняється від згаданих вище зразків п'ятьма нуклеотидними замінами та чотирма інделами (рис. 1). Загалом, послідовність *L. caspium* з Східного Ірану є найбільш дивергованою з 14 проаналізованих, хоча й дещо більш подібною до зразків *L. iconium*, *L. tamaricoides* та невизначеного зразку *L.sp* 1. Останній виявився ідентичним до *L. tamaricoides* і, ймовірно, представляє цей вид.

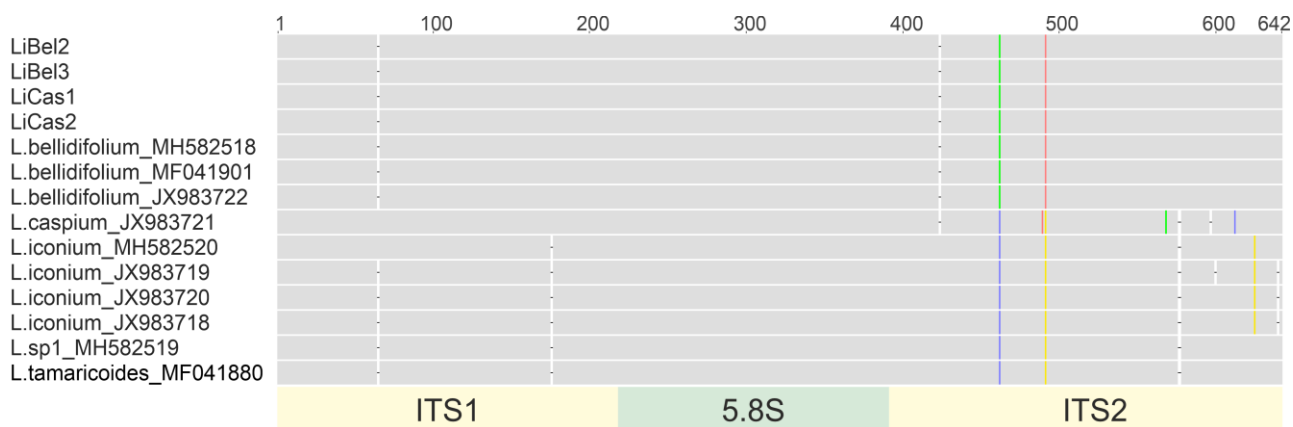


Рис. 1. Схематичне представлення вирівнювання послідовностей ITS1-5.8S-ITS2 представників роду *Limonium*.

Fig. 1. Schematic representation of alignment of the ITS1-5.8S-ITS2 sequences of the genus *Limonium* members.

Для філогенетичного аналізу, крім описаних вище, ми залучили ще 44 послідовності з ділянки ITS1-5.8S-ITS2 з GenBank, відібраних за критерієм подібності не нижче 90%. У якості зовнішньої групи використали послідовність виду *L. dendroides* Svent., який представляє монотипову секцію *Limoniodendron*, сестринську для всіх інших груп підроду *Limonium*. Вирівнювання для всіх відібраних послідовностей мало довжину 669 нп та середній рівень попарної подібності – 93,4% (табл. 2). Найбільш поліморфною виявилась ділянка ITS2, яка містила 92 варіабельні позиції, 53 з яких були парсимоній-інформативними. Вищий рівень поліморфізму ділянки ITS2, порівняно з ITS1, був раніше показаний для представників родини Cucurbitaceae (Jobst et al., 1998) і роду *Mentha* (Apostolova et al., 2017). На противагу цьому, для представників роду *Aconitum* було показано вищий рівень поліморфізму у ділянці ITS1 (Tynkevich et al., 2023).

На обрахованому філогенетичному дереві (рис. 2) наявні дві основні клади, які об'єднують представників секцій *Plathymenium* та *Nephrophyllum*. Як і в попередніх дослідженнях з використанням ITS1-5.8S-ITS2 та ділянок хлоропластного геному (Akhanian et al., 2013; Malekmohammadi et al., 2017; Koutroumpa et al., 2018) види комплексу «*L. bellidifolium*» групуються разом з представниками секції *Nephrophyllum*, завдяки чому в останній ревізії роду вони були перенесені сюди із секції *Limonium* (Koutroumpa et al., 2018). Проте, результати аналізу з використанням IGS 5S рДНК об'єднували «*L. bellidifolium*» з видами секції *Limonium* (Tynkevich et al., 2023b). Це свідчить про ретикулярний характер еволюції геномів представників комплексу «*L. bellidifolium*», які можливо мають гібридну природу. Тож, таксономічний статус цієї групи потребує подальшого уточнення.

Таблиця 2.
Параметри вирівнювання нуклеотидних послідовностей ділянки ITS1-5.8S-ITS2

Table 2.

Parameters of alignment of the ITS1-5.8S-ITS2 region

Параметр / ділянка	ITS1	5,8S	ITS2	ITS1-5,8S-ITS2
Довжина вирівнювання, нп Alignment length, bp	238	164	267	669
Середня попарна подібність послідовностей, % Average pairwise similarity of sequences, %	91,9	98,2	91,5	93,4
Кількість варіабельних сайтів, нп Number of variable nucleotides, bp	65	15	92	172
Кількість парсимоній-інформативних сайтів, нп Number of parsimony informative sites, bp	38	10	53	101

В межах секції *Nephrophyllum* представники комплексу «*L. bellidifolium*» утворюють окрему кладу з високою статистичною підтримкою (рис. 2). Найбільш зовнішньо, утворюючи сестринську гілку до всіх інших представників комплексу, розташовується *L. caspium* з Східного Ірану. Така позиція цього зразку узгоджується із великою кількістю мутацій в ділянці ITS1-5.8S-ITS2 з його геному, проте, суперечить його положенню в попередніх філогеніях. В роботах Akhani et al. (2013) та Malekmohammadi et al. (2017) цей зразок займав

сестринську позицію на дереві по відношенню до зразків *L. bellidifolium* з Франції та Греції. Обидві ці послідовності *L. bellidifolium*, як і послідовність з роботи Koutroumpa et al. (2018) були використані нами в даному аналізі і виявились ідентичними до послідовностей з українських зразків цього виду та *L. caspium* і утворюють з ними спільну групу (рис. 2). Отже, положення *L. caspium* з Східного Ірану в попередніх філогенетичних роботах викликає запитання.

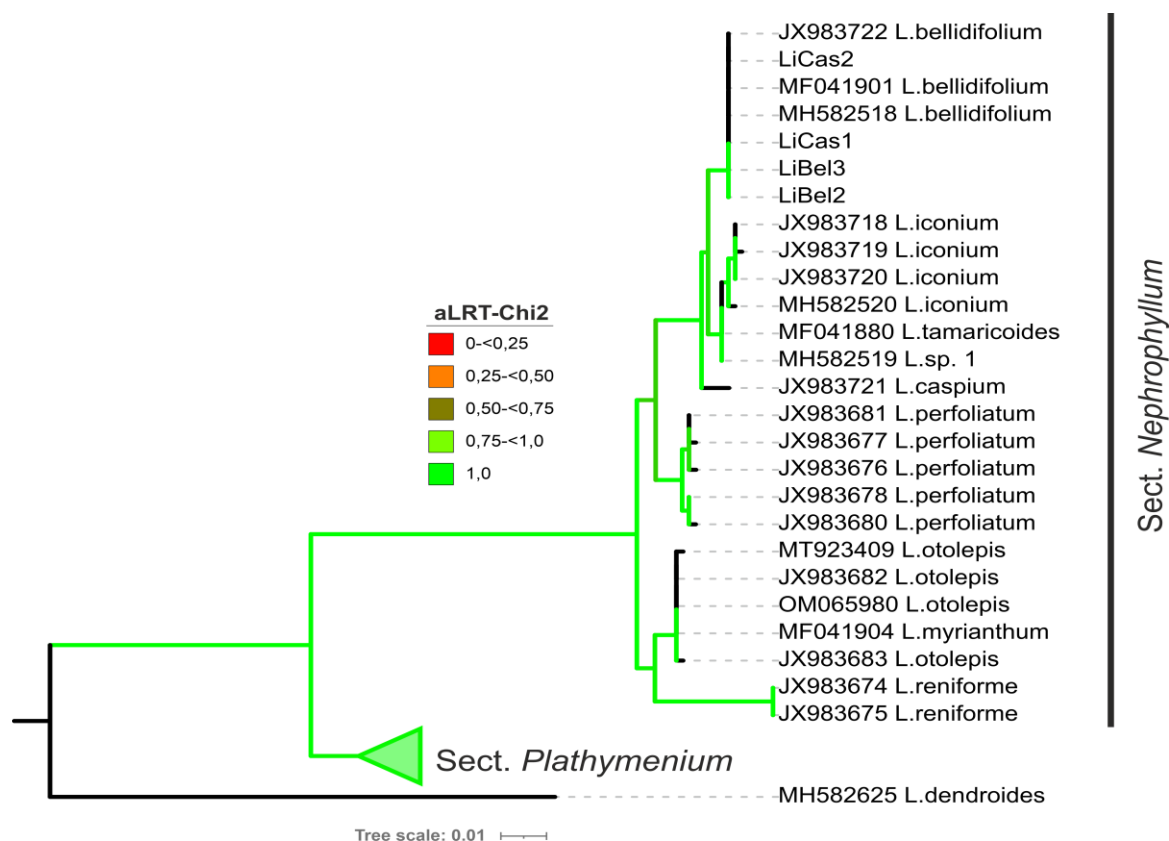


Рис. 2. Maximum Likelihood філогенетичне дерево представників роду *Limonium* на основі послідовностей ITS1-5.8S-ITS2.

Fig. 2. Maximum Likelihood phylogenetic tree of genus *Limonium* based on the ITS1-5.8S-ITS2 sequences.

Результати аналізу українських зразків *L. caspium* та *L. bellidifolium* показують їх високу спорідненість між собою та із зразками *L. bellidifolium* іншого географічного походження. Отже ми вважаємо, що їх варто розглядати в межах одного виду - *L. bellidifolium* Dumort. Щодо зразків, які визначають як *L. caspium* з інших регіонів, їх спорідненість до *L. bellidifolium* та таксономічний статус потребують подальшого уточнення.

Висновки. Філогенетичний аналіз на основі ділянки ITS1-5.8S-ITS2 35S рДНК, з використанням українських зразків роду *Limonium*, підтверджує спорідненість «комплексу *L. bellidifolium*» з секцією *Nephrophyllum*. Також, українські зразки, визначені як *L. caspium*, не відрізняються від *L. bellidifolium* та мають розглядатися в межах цього виду. Проте, для остаточного вирішення таксономічного статусу *L. caspium* необхідно проаналізувати зразки цієї рослини по всьому її ареалу.

Подяки. Автори висловлюють щирю подяку професору Р.А. Волкову (Чернівецький національний університет) за участь в обговоренні отриманих результатів.

Фінансування. Дослідження проводились за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0122U001335).

Список літератури / References:

1. Akhani H, Malekmohammadi M, Mahdavi P, Gharibyan A, & Chase M.W. Phylogenetics of the Irano-Turanian taxa of *Limonium* (Plumbaginaceae) based on ITS nrDNA sequences and leaf anatomy provides evidence for species delimitation and relationships of lineages. *Bot. J. Linn. Soc.* 2013; 171(3): 519-550. <https://doi.org/10.1111/boj.12015>
2. Anisimova M, & Gascuel O. Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. *Syst. Biol.* 2006; 55: 539-552. <https://doi.org/10.1080/10635150600755453>
3. Apostolova E, Todorov K, Dimitrova-Dyulgerova I, Stoyanov P, Mladenov R, Yahubyan G, & Naimov S. Analysis of the sequence of ITS1 and ITS2 regions of three *Mentha* species. *Plant Genet. Resour.* 2017; 15(6): 563-565. doi: 10.1017/S1479262116000289
4. Boratyn GM, Camacho C, Cooper PS, Coulouris G, Fong A, Ma N, et al. BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucl Acid Res.* 2013; 41(W1): W29-33. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt282>
5. Borchsenius, F. FastGap 1.2, *Department of Biosciences, Aarhus University. Denmark.* 2009; Published online at http://www.aubot.dk/FastGap_home.htm.
6. Ekoflora Ukrayiny 2010. Kiev. 6: 6-43. [Екофлора України. (2010). *Київ*. 6: 6-43]
7. Fehrer J, Slavíková R, Paštová L, Josefiová J, Mráz P, Chrtek J, & Bertrand, YJ. Molecular evolution and organization of ribosomal DNA in the hawkweed tribe Hieraciinae (Cichorieae, Asteraceae). *Front. Plant Sci.* 2021; 12: 647375. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.647375>
8. Gadetskaya AV, Tarawneh AH, Zhusupova GE, Gemejiyeva NG, Cantrell CL, Cutler SJ, & Ross SA. Sulfated phenolic compounds from *Limonium caspium*: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation. *Fitoterapia.* 2015; 104: 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.05.017>
9. Guindon S, Gascuel OA. Simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology.* 2003; 52(5): 696-704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>.
10. Grimm GW, Schlee M, Komarova NY, Volkov RA, & Hemleben, V. Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants. From plant taxonomy to evolutionary biology. *Nova Acta Leopoldina NF*, 2005; 92(342): 129-145.
11. Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief. Bioinf.* 2017; 20(4): 1160-6. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>
12. Koutroumpa K, Theodoridis S, Warren BH et al. An expanded molecular phylogeny of Plumbaginaceae, with emphasis on *Limonium* (sea lavenders): Taxonomic implications and biogeographic considerations. *Ecol. Evol.* 2018; 8(24): 12397-12424. <https://doi.org/10.1002/ece3.4553>
13. Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucl. Acid. Res.* 2021; 49(W1): W293-6. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>.
14. Malekmohammadi M, Akhani H, & Borsch T. Phylogenetic relationships of *Limonium* (Plumbaginaceae) inferred from multiple chloroplast and nuclear loci. *Taxon.* 2017; 66(5): 1128-1146. <https://doi.org/10.12705/665.8>
15. Morgan E, & Funnell K. *Limonium*. *Ornamental Crops.* 2018; 513-527. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90698-0_21
16. Onyshchenko VA, Mosyakin SL, Korotchenko IA, Danylyk IM. et al. IUCN Red List categories of vascular plant species of Ukrainian flora / ed. by VA. Onyshchenko. Kyiv: *FOP Huliaeva VM.* 2022; 198 p.
17. Ovsienko VM. The taxonomic history of family Plumbaginaceae Juss. of the Ukrainian flora. *Chornomors'k. bot. z.* 2017; 13(2): 175-183. doi: 10.14255/2308-9628/17.132/4. <https://doi.org/10.14255/2308-9628/17.132/4>
18. Panchuk II, Volkov RA. *Practical course in molecular genetics.* Chernivtsi: Ruta. 2007; 120 p.
19. Porebski S, Bailey LG, Baum BR. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1997; 15(1): 8-15. <https://doi.org/10.1007/bf02772108>
20. POWO Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. 2023; Published on the

- Internet. <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Retrieved 3 December 2023.
21. Simmons MP, & Ochoterena H. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Syst. Biol.*, 2000; 49(2): 369-381. <https://doi.org/10.1093/sysbio/49.2.369>
 22. Tynkevich YO, Biliai DV, Cherevatov OV, Kagalo OO, Volkov RA. Molecular genetic characterization of Ukrainian representatives of the complex species *Aconitum anthora* based on the ITS1-5.8S-ITS2 region of the nuclear genome. *Odesa National University Herald. Biology*. 2023a; 28(2 (53)): in press.
 23. Tynkevich YO, Valin MO, Moysiienko II, Panchuk II, & Volkov RA. 5S Ribosomal DNA in the Family Plumbaginaceae. *Cytol. Genet.* 2023b; 57(6): 524-537. <https://doi.org/10.3103/S0095452723060099>
 24. WFO *World Flora Online*. 2023. Available from: <http://www.worldfloraonline.org/> (accessed 3 December 2023)
 25. Jobst J, King K, & Hemleben V. Molecular evolution of the internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and phylogenetic relationships among species of the family Cucurbitaceae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 1998; 9(2): 204-219. <https://doi.org/10.1006/mpev.1997.0465>

ANALYSIS OF THE TAXONOMIC STATUS OF *LIMONIUM CASPIUM* (WILLD.) P. FOURN. USING THE ITS1-5.8S-ITS2 REGION

Y.O. Tynkevich¹, K.V. Nord¹, Ya.I. Ivanovych¹, I.I. Moysiienko^{1,2}, I.I. Panchuk¹

¹Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University
Kotsyubynsky str. 2, 58012 Chernivtsi, Ukraine

E-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

²Kherson State University,
University str. 27, 73000 Kherson, Ukraine

There are 15 representatives of the genus Limonium Mill in Ukraine. The taxonomic status of some of them requires clarification. In particular, some taxonomists consider L. caspium (Willd.) P. Fourn. to be a separate species, while others tend to consider this name as a synonym for L. bellidifolium Dumort. Until now, only one sample of L. caspium from eastern Iran has been analyzed using molecular genetic approaches: for this accession, the ITS1-5.8S-ITS2 of 35S rDNA region was sequenced. For both species, L. caspium and L. bellidifolium, samples from the territory of Ukraine have not yet been examined using molecular taxonomy methods. In this work, we amplified and sequenced ITS1-5.8S-ITS2 region for two L. caspium and two L. bellidifolium samples from southern Ukraine. All four samples appeared to be identical in this region. They also do not differ from previously sequenced samples of L. bellidifolium from France, Turkey and Greece. On the other hand, the sequence of L. caspium from Iran has five nucleotide substitutions and four indels compared to the mentioned samples. The phylogenetic analysis revealed that representatives of the so-called "L. bellidifolium complex", which, in addition to the two species mentioned, also includes L. iconium and L. tamaricoides analyzed in this work, are grouped together with representatives of the Nephrophyllum section. A similar result was obtained in the studies of other authors using the ITS1-5.8S-ITS2 sequence and regions of chloroplast DNA. However, according to the IGS 5S rDNA sequence, representatives of the "L. bellidifolium complex" in our previous work were grouped together with the species of the Limonium section, to which they were previously assigned based on morphological characters. Such a discrepancy between phylogenies using different genomic regions indicates the reticular nature of the evolution of the genomes of representatives of this group and indicates probable hybridization events in their past. Within the clade of the "L. bellidifolium complex" that we obtained in our analysis, the sample of L. caspium from Iran forms a sister branch to all its other representatives. Thus, the comparison of the ITS1-5.8S-ITS2 region shows that the Ukrainian samples identified as L. caspium do not differ from L. bellidifolium. However, to finally clarify the taxonomic status of L. caspium, it is necessary to analyze more samples from different geographic origins.

Keywords: biodiversity, genetic polymorphism, DNA barcoding, molecular markers, taxonomy, phylogeny, *Limonium*, Plumbaginaceae

Отримано редколегією 02.11.2023 р.