

ВИКОРИСТАННЯ ISSR-МАРКЕРІВ В ОЦІНЦІ ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ УКРАЇНСЬКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ HERACLEUM

Н.М. РОШКА, Ю.О. ТИНКЕВИЧ, Р.А. ВОЛКОВ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

Рід *Heracleum* (борщівник) належить до родини *Ariaceae* (Зонтичні або Окружкові). Види цього роду було інтродуковано на території багатьох регіонів світу в якості декоративних або кормових рослин. Вторинні ареали інвазійних борщівників часто перекриваються із ареалами аборигенних видів роду. Сьогодні в Європі виокремлюють три основні інвазійні види роду *Heracleum*: *H. mantegazzianum* Sommier & Levier, *H. persicum* Desf. ex Fisch. та *H. sosnowskyi* Manden. Особливістю цих видів є те, що вони демонструють подібність як на морфо-анатомічному, так і на молекулярно-генетичному рівнях. Ідентифікацію та розмежування видів в межах роду додатково ускладнює явище міжвидової гібридизації, яке суттєво розмиває межі між ними. Ці таксономічні проблеми можуть бути успішно вирішені із застосуванням молекулярних маркерів.

У цій роботі ми вперше наводимо результати використання ISSR-маркерів для представників роду *Heracleum* з різних регіонів для аналізу генетичного поліморфізму та оцінки гібридизації між інвазійними й аборигенними видами в Україні. Зразки рослин були зібрані у різних областях України, а також у Румунії. На загал було виявлено чотири генетичні кластери: два для інвазійних видів (*H. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*) та два для аборигенних (*H. sphondylium*, *H. carpathicum*). Генетичний аналіз показав, що морфологічні критерії часто не дозволяють однозначно ідентифікувати ці види.

Дані ISSR-аналізу підтверджують можливість міжвидової гібридизації у роді *Heracleum*. Генетична структура зразків продемонструвала значну подібність між двома інвазійними видами, що утворюють так званий "комплекс гігантських борщівників" – *H. mantegazzianum* та *H. sosnowskyi*. Водночас аборигенні види *H. carpathicum* Porcius і *H. sphondylium* L. виявилися генетично відмінними, незважаючи на їх морфологічну подібність. Отримані результати підтверджують важливість використання молекулярних маркерів для визначення генетичної структури, оцінки видового статусу та дослідження гібридизації у складних таксономічних групах.

Ключові слова: біологічне різноманіття, генетичний поліморфізм, молекулярні маркери, міжвидова гібридизація, *Heracleum*, *Ariaceae*

Вступ. Рід *Heracleum* (борщівник) належить до родини *Ariaceae*. Види цього роду розповсюджені у багатьох регіонах світу (Pergl & Perglová, 2006), зокрема центрами видового різноманіття є Китай (29 видів) та Кавказ (26 видів), звідки свого часу деякі борщівники були інтродуковані в Європу в якості декоративних або кормових рослин (Jahodová et al., 2007b; Anibaba et al., 2022).

Вважається, що на території сучасної Європи зустрічається щонайменше три інвазійні таксони з досі нез'ясованими таксономічними взаємовідносинами: *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier, *H. sosnowskyi* Manden та *H. persicum* Desf. ex Fischer (Jahodová et al., 2007a; Grul'ova et al., 2024). Наразі, всі три перераховані таксони

вважаються окремими видами, проте, їхні морфологічні та еколого-фізіологічні властивості, онтогенез і популяційна структура демонструють надзвичайно високу подібність, що дозволяє вважати їх екологічними видами-близнюками. Ситуацію ускладнює ймовірна міжвидова гібридизація в межах вторинного ареалу, яка може спричиняти додаткове розмиття видових границь та збільшувати діапазон морфологічної мінливості (Jahodová et al., 2007a).

Міжвидова гібридизація інвазійних видів роду *Heracleum* з аборигенними представниками роду європейської флори не вважається типовою, проте, утворення гібридних форм між *H. mantegazzianum* та *H. sphondylium* реєстрували на територіях, де

ареали цих видів перекривались (Weimarck et al., 1979; Stewart & Grace, 1984). Морфологічно такі гібриди являють собою проміжні форми порівняно із батьківськими видами, однак їх фертильність є низькою через відмінності у каріотипах (Weimarck et al., 1979; Stewart & Grace, 1984; Bhowmik & Chandran, 2015). Отже, не можна виключити можливість міжвидової гібридизації між інвазійними та аборигенними представниками роду *Heracleum* на території України.

Використання молекулярних маркерів на сьогодні вважається єдиним надійним інструментарієм, який дозволяє вирішувати складні таксономічні питання (Rusak et al., 2016; de Souza et al., 2020; Hasan et al., 2021; Ishchenko et al., 2021; Li et al., 2023; Song et al., 2023; Roshka et al., 2024; Tynkevich et al., 2025). Зокрема, в якості молекулярних маркерів широко застосовуються нуклеотидні послідовності мінливих ділянок ядерної та хлоропластної ДНК, порівняння яких дозволяє отримати достовірну інформацію щодо таксономічного статусу на різних рівнях (Rodríguez-González et al., 2023; Xiong et al., 2023; Gabriell et al., 2024). Однак, не всі молекулярні маркери дають можливість виявити випадки гібридизації між різними видами. Одним із ефективних підходів, який дає змогу оцінити присутність та ступінь

гібридизованості, є аналіз на основі ISSR (inter simple sequence repeats) -маркерів (Savadi et al., 2021; Abd-Dada et al., 2023; Kamali et al., 2023; Amruthakumar et al., 2024). Зручність даного методу полягає у можливості швидко оцінити генетичний поліморфізм на рівні геному шляхом порівняння наборів продуктів ПЛР-ампліфікації.

У цій статті ми наводимо результати аналізу за ISSR-маркерами для різних видів роду *Heracleum*, серед яких наявні як інвазійні (*H. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*), так і автохтонні для території України (*H. sphondylium*, *H. carpathicum*) (POWO, 2024). Метою роботи було оцінити генетичне різноманіття українських борщівників та наявність/відсутність гібридизації між інвазійними та автохтонними для України видами.

Матеріали та методи. Матеріалом для даного дослідження були свіжозібрані та гербаризовані зразки різних видів роду *Heracleum*, отримані з різних областей України. Один зразок для порівняння був взятий з території Румунії. Точна локалізація зібраного матеріалу, який був використаний у цій статті, позначена на географічній карті (рис. 1). Скорочені назви аналізованих зразків та їх повні видові назви наведені у таблиці 1.

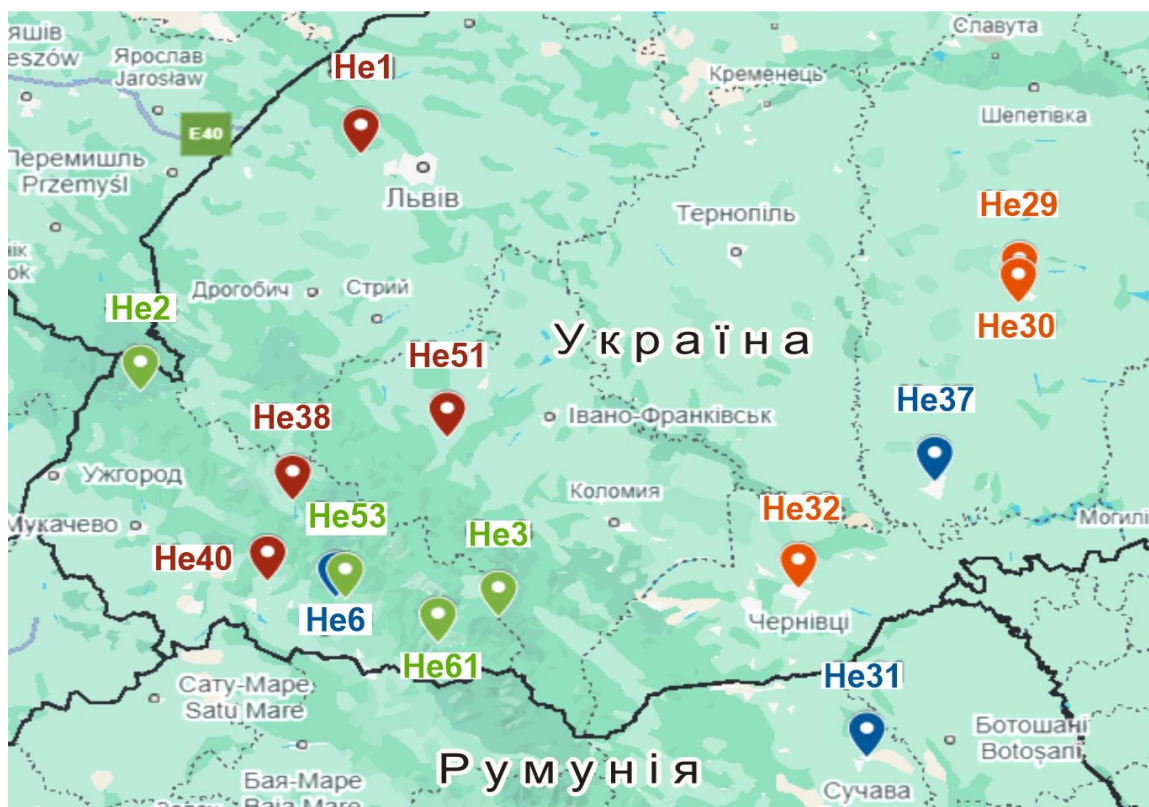


Рис. 1. Географічна локалізація досліджуваних представників роду *Heracleum*

Fig. 1. Geographical localization of the studied representatives of the genus *Heracleum*

Таблиця 1.

Характеристика досліджуваних зразків роду *Heracleum*

Table 1.

Characteristics of the analyzed specimens of the genus *Heracleum*

Видова назва	Назва зразку	Місце збору / Рік
<i>Heracleum carpaticum</i>	He61	Україна, Закарпатська обл., сектор Рахова, г. Піп Іван / 1946
	He3	Україна, Івано-Франківська обл., гірський масив Чорногора / 1989
<i>Heracleum mantegazzianum</i>	He51	Україна, Івано-Франківська обл., Рожнятівський р-н, заплава р. Лімниця / 2013
<i>Heracleum sosnowskyi</i>	He1	Україна, Львівська обл., Яворівський р-н, околиця с. Великопілля / 1991
	He32	Україна, Чернівецька обл., м. Чернівці / 2024
<i>Heracleum sphondylium</i>	He2	Україна, Закарпатська обл., Великоберезнянський р-н, Стужицьке ліс-во / 1994
	He53	Україна, Закарпатська обл., Тячівський р-н, с. Широкий Луг / 1974
	He6	Україна, Чернівецька обл., Путильський р-н, г. Великий Камінь / 1994
<i>Heracleum sp.</i>	He29	Україна, Хмельницька обл., м. Хмельницький / 2024
	He30	Україна, Хмельницька обл., м. Хмельницький / 2024
	He31	Румунія, м. Сучава / 2024
	He37	Україна, Хмельницька обл., м. Кам'янець-Подільський / 2024
	He38	Україна, Закарпатська обл. с. Сойми / 2024
	He40	Україна, Закарпатська обл. с. Липча / 2024

Загальну ДНК рослин виділяли згідно стандартного протоколу; в якості детергенту використовували цетавлон (Porebski et al., 1997; Panchuk and Volkov, 2007). На стадії лізису зразки ДНК додатково обробляли протеїназою K (Sigma-Aldrich, США) (Tynkevich et al., 2022). Якість отриманих препаратів ДНК перевіряли методом гель-електрофорезу в 1,5%-му агарозному гелі.

Для ампліфікації ISSR маркерів використовували сім стандартних ISSR-праймерів з набору UBC (University of British Columbia). Для різних праймерів використовували різні температури гібридизації (Ivanovych et al. 2017). Характеристики використаних праймерів наведено у таблиці 2.

Таблиця 2.

Характеристики праймерів, використаних для ампліфікації ISSR-маркерів.

Table 2.

Characteristics of primers used for the amplification of ISSR markers

Праймер	Послідовність праймера	Температура гібридизації, °C
UBC 807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	50
UBC 809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	52
UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	50
UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	52
UBC 827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	52
UBC 835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	56
UBC 836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	54
UBC 857	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	56

Реакційна суміш для ПЛР загальним об'ємом 15 мкл містила наступні компоненти: 10 нг ДНК, 3 мкл 5× полімеразної суміші MyTaq™ HS Red Mix (Meridian Bioscience) та 0,8 мкМ праймера. ПЛР проводилася з використанням ампліфікатора BioRad T100 (BioRad, США) за такою програмою: (1) початкова активація ДНК-полімерази та денатурація ДНК – 95°C, 3 хв.; (2) денатурація ДНК – 95°C, 20 с; (3) гібридизація праймерів – 50-56°C, 20 с; (4) синтез ДНК – 72°C, 45 с.; (5) завершення ампліфікації – 72°C, 3 хв.; припинення реакції – 4°C; загальна кількість циклів ампліфікації – 35.

Отримані ПЛР-продукти аналізували в 2%-му агарозному гелі протягом 4-4,5 год за напруженості електричного поля 5 В/см. Після

електрофорезу ДНК зафарбовували розчином етидію броміду. Для визначення довжин ПЛР-продуктів використовували 100 bp маркер (Biotium).

Для аналізу генетичної структури досліджуваних зразків та виявлення можливих гібридів використовували програмне забезпечення STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000), яке базується на байєсівській кластеризації. Цей метод використовувався для розрахунку відсотка подібності певного зразка до кожної з K груп (генетичних пулів), які об'єднують найбільш споріднені зразки. Для розрахунку найкращого значення K було використано метод Evanno, реалізований у програмному забезпеченні STRUCTURE HARVESTER (Earl & von Holdt, 2012) (рис. 2).

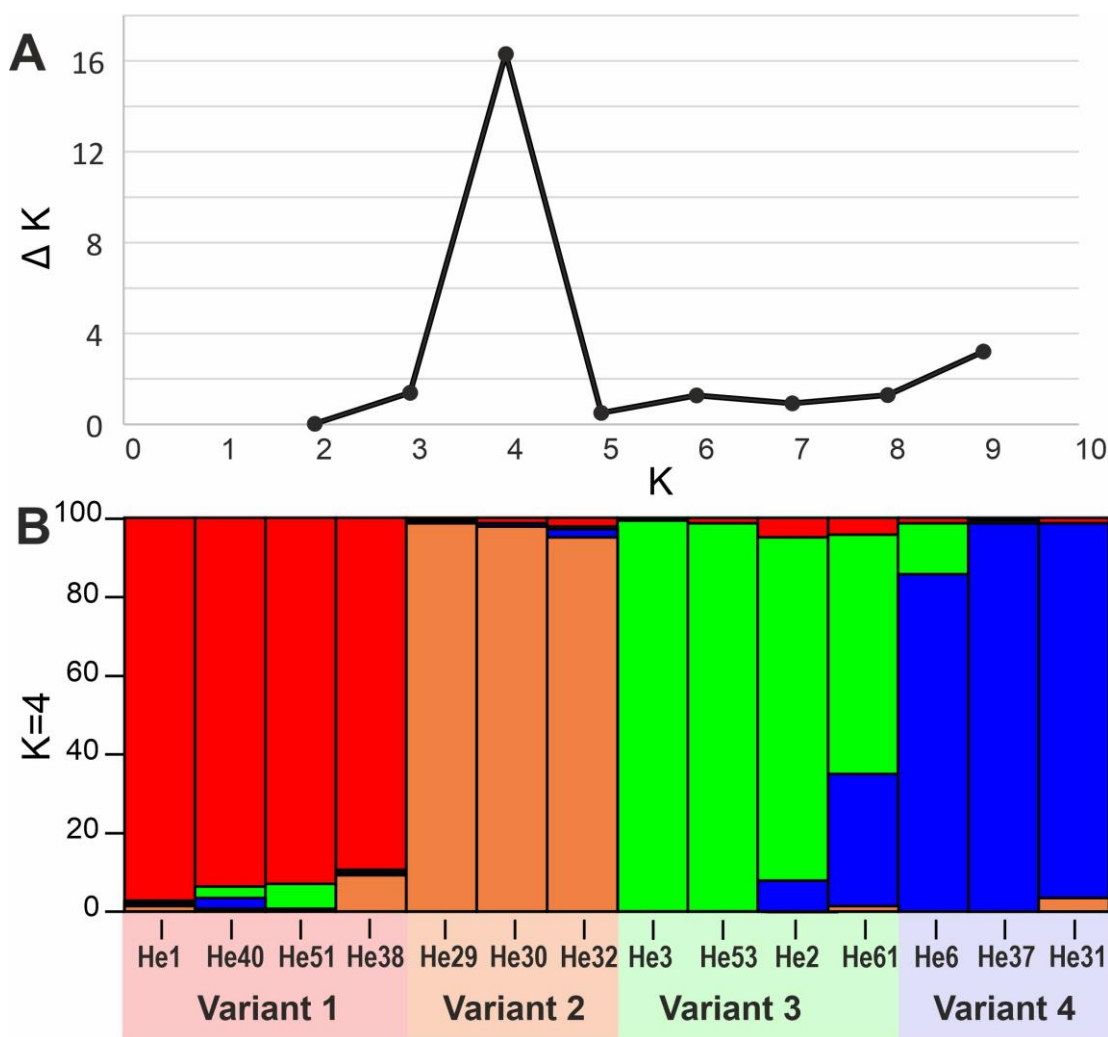


Рис. 2. Аналіз ISSR-поліморфізму зразків роду *Heraclium* за допомогою програми STRUCTURE. А – залежність параметру ΔK від кількості кластерів (K). В – генетична конституція зразків, які представлені як вертикальні стовпчики. Різними кольорами показаний вміст генетичного матеріалу різних варіантів

Fig. 2. Analysis of ISSR polymorphism of samples of the genus *Heraclium* using the STRUCTURE program. A – dependence of the parameter ΔK on the number of clusters (K). B - genetic constitution of samples, which are presented as vertical columns. Different colors show the content of genetic material of different variants

Матриця первинних бінарних даних перетворювалась в матрицю генетичних відстаней за допомогою коефіцієнта Дайса (Nei & Li, 1979) з використанням програмного забезпечення DARwin 6.0.21 (Perrier et al., 2003). Генетичну подібність між досліджуваними зразками оцінювали за допомогою методу незваженого приєднання сусідів (UWN-J).

Результати та їх обговорення. Для ампліфікації ISSR-маркерів було використано вісім праймерів (табл. 2). В результаті аналізу отриманих електрофореграм вдалось виявити 113 чітких смуг ПЛР-ампліфікатів, довжини яких була в межах від 150 до 1200 нп. Кількість поліморфних алелів коливалась від семи (для праймеру UBC 835) до 22 (для праймеру UBC 857).

На наступному етапі в програмі STRUCTURE була проаналізована генетична структура українських зразків роду *Heracleum*. Використаний для визначення оптимальної кількості кластерів (K) параметр delta K (ΔK) показав найвище значення для K=4 (рис. 2A). Розділення генетичного матеріалу зразків на відповідну кількість кластерів (варіантів) представлено на рисунку 2B.

Кластери 1 і 2 включають зразки попередньо визначені як *H. sosnowskyi* (He1, He32) та *H. mantegazzianum* (He51). Причому, зразки *H. sosnowskyi* присутні в обох цих кластерах. Кластери 3 і 4 включають зразки двох аборигенних для України видів: *H. sphondylium* (He2, He53, He6) та *H. carpaticum* (He3). Зразки *H. sphondylium* також присутні одразу в двох цих кластерах.

Присутність зразків різних видів, визначених попередньо на основі морфологічних ознак, в межах одного і того ж генетичного кластеру може пояснюватись як недостатністю морфологічних критеріїв для таксономічної ідентифікації, так і нечіткими видовими границями. Водночас, зразки інвазійних і аборигенних видів не змішуються між собою в межах визначених кластерів.

Як показує STRUCTURE аналіз, геноми всіх досліджених зразків вміщують генетичний матеріал більше, ніж одного варіанту, що вказує на їх гібридне походження. Вміст основного варіанту становить від 61% (He61) до 99% (He3). Зразок, попередньо визначений як *H. carpaticum* (He61), виглядає найбільш гібридним та крім 61% генетичного варіанту 3 містить в геномі 33% варіанту 4. Найменша

кількість домішок присутня у геномах зразків кластеру 2.

У зразках кластеру 1 (He51 та He40) виявлено наявність домішок генетичного матеріалу варіантів 3 та 4, характерних для аборигенних видів. Аналогічно, невеликі домішки варіантів 1 та 2 у деяких зразках кластерів 3 і 4. Цей факт вказує на можливість гібридизації між інвазійними видами *H. sosnowskyi* і *H. mantegazzianum* та аборигенними *H. sphondylium* і *H. carpaticum*. Проте, оскільки частка таких домішок часто знаходиться в межах 1-5%, що наближається до межі чутливості обраного методу, ми вважаємо, що гібридний статус цих зразків потребує додаткового підтвердження з використанням аналізу нуклеотидної послідовності ділянок ядерної ДНК.

Для аналізу генетичної спорідненості досліджуваних зразків між собою була побудована некорінена UWN-J дендрограма, на якій види були згруповані в чотири основні клади (рис. 3), які відповідають генетичним кластерам, розрахованим програмою STRUCTURE (рис.2).

В межах клади варіанту 3 спостерігаються найбільші дистанції між зразками, тоді як найбільш спорідненими виявились зразки, які належать до клади варіантів 1 та 2. Така картина добре узгоджується із тим, що всі зразки клад 1 та 2 належать до так званого комплексу гігантських інвазійних борщівників. Ми припускаємо, що ці дві клади можуть відповідати двом видам, *H. sosnowskyi* і *H. mantegazzianum*. При цьому змішаний розподіл попередньо визначених зразків цих двох видів по відповідним кластерам (кладам) може бути наслідком помилкової морфологічної ідентифікації.

Філогенетична дистанція між кладами варіантів 3 та 4 виявилась більшою, що є достатньо несподіваним, оскільки *H. sphondylium* та *H. carpaticum*, зразки яких представлені в цих кладах, вважаються близько спорідненими видами. Зокрема, їх раніше не вдавалось дискримінувати за результатами порівняння ділянок ядерної та хлоропластної ДНК (Yu et al., 2011).

На загал, отримані результати ISSR-аналізу додатково підкреслюють відсутність чітких видових границь в межах роду *Heracleum* та підтверджують можливість гібридизації інвазійних та аборигенних видів.

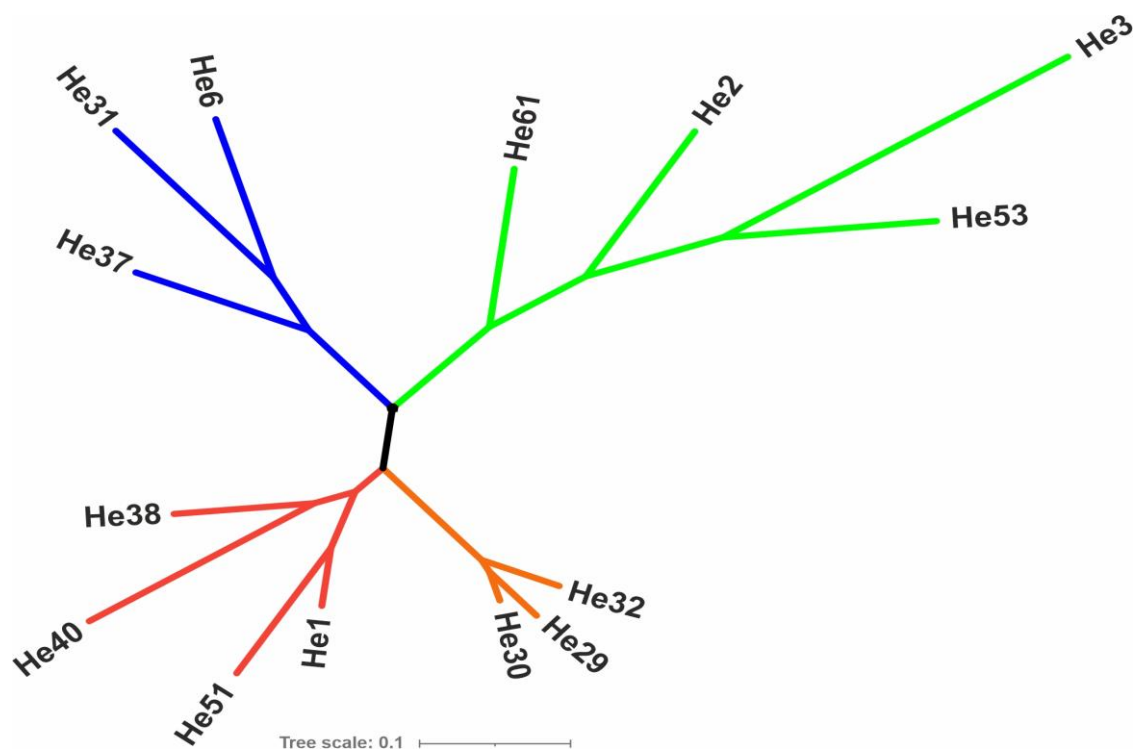


Рис. 3. Дендрограма генетичної подібності зразків роду *Heracleum*, побудована методом UWN-J на основі поліморфізму ISSR-маркерів. Колір гілок дерева відповідає різним генетичним варіантам

Fig. 3. Dendrogram of genetic similarity of specimens of the genus *Heracleum*, constructed by the UWN-J method based on ISSR marker polymorphism. The color of the tree branches corresponds to different genetic variants

Висновки. ISSR-аналіз українських зразків роду *Heracleum* показав існування чотирьох генетичних кластерів, двох для інвазійних гігантських борщівників та двох для аборигенних європейських видів. Генетична конституція досліджених зразків часто не співпадає із морфологічною видовою ідентифікацією, що свідчить про недостатність морфологічних критеріїв для достовірного визначення видової приналежності. Гібридні генотипи виявлені в усіх чотирьох генетичних кластерах.

Конфлікт інтересів: Автори заявляють, що дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.

Фінансування: дослідження проводились за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0124U000591).

Подяки: автори виражають подяку Олені Валуці, Галині Микитинець, Андрію Новікову, Анні Черказьяновій та Іллі Чорнею за наданий рослинний матеріал.

Список використаної літератури / References:

1. Abd-Dada, H., Bouda, S., Khachtib, Y., Bella, Y. A., & Haddioui, A. (2023). Use of ISSR markers to

assess the genetic diversity of an endemic plant of Morocco (*Euphorbia resinifera* O. Berg). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 91. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00543-4>

- Amruthakumar, S., Manivel, B., Sivamani, K., Sethuraman, T., Rao, N. S. P., & Ganesh, D. (2024). Molecular identity for commercially important inter-specific hybrids of *Coffea* using ISSR-DNA marker: implication on genetic improvement. *Plant Biotechnology Reports*, 18(3), 425-436. <https://doi.org/10.1007/s11816-023-00878-x>
- Anibaba, Q. A., Dyderski, M. K., & Jagodziński, A. M. (2022). Predicted range shifts of invasive giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) in Europe. *Science of the Total Environment*, 825, 154053.
- Bhowmik, P. C., & Chandran, R. S. (2015). Biology, ecology, distribution and current status of *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier. *J. Crop and Weed*, 11, 1-17.
- de Souza, T. B., Gaeta, M. L., Martins, C., & Vanzela, A. L. L. (2020). IGS sequences in *Cestrum* present AT-and GC-rich conserved domains, with strong regulatory potential for 5S rDNA. *Molecular Biology Reports*, 47, 55-66. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05104-y>
- Earl, D. A., & VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4, 359-361.. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>

7. Gabriell, T. S., Amalia, A., Rifka, R., & Suwastika, I. N. (2024). Phylogenetic analysis based on intergenic spacer of rpl32-ccsA segment in chloroplasts genome of cacao (*Theobroma cacao* L.). In AIP Conference Proceedings (Vol. 3132, No. 1). AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/5.0211434>
8. Gruľová, D., Baranová, B., Eliašová, A., Brun, C., Fejér, J., Kron, I., & Sedlák, V. (2024). Does the invasive *Heracleum mantegazzianum* influence other species by allelopathy? *Plants*, *13*(10), 1333. <https://doi.org/10.3390/plants13101333>
9. Hasan, N., Choudhary, S., Naaz, N., Sharma, N., & Laskar, R. A. (2021). Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *19*(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00231-1>
10. Ishchenko, O. O., Mel'nyk, V. M., Parnikoza, I. Y., Budzhak, V. V., Panchuk, I. I., Kunakh, V. A., & Volkov, R. A. (2021). Molecular organization of 5S ribosomal DNA and taxonomic status of *Avenella flexuosa* (L.) Drejer (Poaceae). *Cytology and Genetics*, *54*, 505-513. <https://doi.org/10.3103/S0095452720060055>
11. Ivanovych, Y. I., Udovychenko, K. M., Bublyk, M. O., & Volkov, R. A. (2017). ISSR-PCR fingerprinting of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Cytology and Genetics*, *51*, 40-47. <https://doi.org/10.3103/s0095452717010066>
12. Jahodová, Š., Fröberg, L., Pyšek, P., Geltman, D., Trybush, S., & Karp, A. (2007a). Taxonomy, identification, genetic relationships and distribution of large *Heracleum* species in Europe. In Ecology and management of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) (pp. 1-19). Wallingford UK: CABI.
13. Jahodová, Š., Trybush, S., Pyšek, P., Wade, M., & Karp, A. (2007b). Invasive species of *Heracleum* in Europe: an insight into genetic relationships and invasion history. *Diversity and Distributions*, *13*(1), 99-114.
14. Kamali, M., Samsampour, D., Bagheri, A., Mehrafarin, A., & Homaei, A. (2023). Association analysis and evaluation of genetic diversity of *Teucrium stocksianum* Boiss. populations using ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *70*(3), 691-709. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01529-w>
15. Li, J. W., Li, H., Liu, Z. W., Wang, Y. X., Chen, Y., Yang, N., ... & Zhuang, J. (2023). Molecular markers in tea plant (*Camellia sinensis*): Applications to evolution, genetic identification, and molecular breeding. *Plant Physiology and Biochemistry*, *198*, 107704. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107704>
16. Nei M, Li W (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA* *76*(10): 5269-5273. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.10.5269>
17. Panchuk, I. I., & Volkov, R. A. (2007). *A practical course in molecular genetics*. [Praktykum z molekuliarnoi henetyky] Chernivtsi: Ruta. 120 p. [In Ukrainian]
18. Pergl, J., & Perglová, I. (2006). *Heracleum mantegazzianum*. Delivering alien invasive species inventories for Europe. DAISIE.
19. Perrier, X, Flori, A, Bonnot, F (2003) Data analysis methods in genetic diversity of cultivated tropical plants (pp. 43-76). *Enfield: Science Publishers*.
20. Porebski, S., Bailey, L. G., & Baum, B. R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant molecular biology reporter*, *15*, 8-15. <https://doi.org/10.1007/BF02772108>
21. POWO *Plants of the World* онлайн. За сприяння Королівського ботанічного саду Кью. 2024; Опубліковано в Інтернеті. <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Процитовано 3 жовтня 2024 р.
22. Pritchard, J. K, Stephens, M, Donnelly, P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* *155*(2): 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
23. Rodríguez-González, R., Gutiérrez, M. L., Fuentes, I., Gálvez-Prada, F., Sochorová, J., Kovařík, A., & Garcia, S. (2023). Release 4.0 of the plant rDNA database: A database on plant ribosomal DNA loci number, their position, and organization: An information source for comparative cytogenetics. In *Plant Genomic and Cytogenetic Databases* (pp. 237-245). New York, NY: Springer US.
24. Roshka, N, Derevenko, T. & Chorney, I. (2024). Use of the rpl32-trnl region of the chloroplast genome in the molecular taxonomy of *Heracleum* species. [Vykorystannya dilyanky rpl32-trnl khloroplastnoho henomu u molekulyarniy taksonomiyi vydiv rodu *Heracleum*] *Scientific Herald of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems)*, *16*(1), 58-64. [In Ukrainian] <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.01.058>
25. Rusak, O. O., Petrashchuk, V. I., Panchuk, I. I., & Volkov, R. A. (2016). Molecular organization of 5S rDNA in two Ukrainian populations of Sycamore (*Acer pseudoplatanus*). *Bull. Vavilov Soc. Genet. Breed. Ukr*, *14*(2), 216-220.
26. Savadi, S., Sowmya, K., Megha, V. S., Muralidhara, B. M., & Mohana, G. S. (2021). Genetic diversity and identification of interspecific hybrids of *Anacardium* species using microsatellites. *Brazilian Journal of Botany*, *44*, 139-148. <https://doi.org/10.1007/s40415-020-00678-5>
27. Song, L., Wang, R., Yang, X., Zhang, A., & Liu, D. (2023). Molecular markers and their applications in marker-assisted selection (MAS) in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture*, *13*(3), 642. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030642>
28. Stewart, F., & Grace, J. (1984). An experimental study of hybridization between *Heracleum mantegazzianum* Somm. & Levier and *H. sphondylium* L. subsp. *sphondylium* (Umbelliferae). *Watsonia*, *15*, 73-83.

29. Tynkevich, Y. O., Shelyfist, A. Y., Kozub, L. V., Hemleben, V., Panchuk, I. I., & Volkov, R. A. (2022). 5S ribosomal DNA of genus *Solanum*: molecular organization, evolution, and taxonomy. *Frontiers in Plant Science*, 13, 852406. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.852406>
30. Tynkevich, Y. O., Ivanovych, Y. I., Roshka, N. M., Tokaryuk, A. I., Blyzniuk, K. G., Shelyfist, A. Y., & Volkov, R. A. (2025). Genetic diversity of Ukrainian populations of invasive species of the genus *Galinsoga* assessed by ISSR-markers. *Cytol Genet*, 59(1). In press.
31. Weimarck, G., Stewart, F., & Grace, J. (1979). Morphometric and chromatographic variation and male meiosis in the hybrid *Heracleum mantegazzianum* x *H. sphondylium* (Apiaceae) and its parents. *Hereditas*, 91(1), 117-127. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1979.tb01651.x>
32. Xiong, C., Huang, Y., Li, Z., Wu, L., Liu, Z., Zhu, W., ... & Hong, X. (2023). Comparative chloroplast genomics reveals the phylogeny and the adaptive evolution of *Begonia* in China. *BMC genomics*, 24(1), 648. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09563-3>
33. Yu, Y., Downie, S. R., He, X., Deng, X., & Yan, L. (2011). Phylogeny and biogeography of Chinese *Heracleum* (Apiaceae tribe Tordylieae) with comments on their fruit morphology. *Plant Systematics and Evolution*, 296, 179-203. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0486-3>

USE OF ISSR MARKERS IN ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY OF UKRAINIAN REPRESENTATIVES OF THE GENUS *HERACLEUM*

N.M. Roshka, Y.O. Tynkevich, R.A. Volkov

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University
2 Kotsiubynskoho St., Chernivtsi 58012, Ukraine
e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

The genus *Heracleum* (hogweed) belongs to the family Apiaceae (Umbelliferae). Species of this genus have been introduced into many regions of the world as ornamental or fodder plants. The secondary distribution areas of invasive hogweed species often overlap with the distribution areas of aboriginal species of the genus. Today, three main invasive species of the genus *Heracleum* are distinguished in Europe: *H. mantegazzianum* Sommier & Levier, *H. persicum* Desf. ex Fisch. and *H. sosnowskyi* Manden., which demonstrate similarities at both the morphoanatomical and molecular levels. The identification and delimitation of species within the genus is further complicated by the phenomenon of interspecific hybridization, which significantly blurs the boundaries between them. These taxonomic problems can be successfully solved using molecular markers.

In this article, we present for the first time the results of using ISSR markers for representatives of the genus *Heracleum* from different regions to analyze genetic polymorphism and assess hybridization between invasive and aboriginal species in Ukraine. Plant samples were collected in different regions of Ukraine, as well as in Romania. In total, four genetic clusters were identified: two for invasive (*H. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*) and two for aboriginal (*H. sphondylium*, *H. carpaticum*) species. Genetic analysis showed that morphological criteria often do not allow unambiguous identification of these taxa.

The analysis of ISSR data confirm the possibility of interspecific hybridization in the genus *Heracleum*. The genetic structure of the samples showed significant similarity between two invasive species, *H. mantegazzianum* and *H. sosnowskyi*, that form the so-called "giant hogweed complex". At the same time, the aboriginal species *H. carpaticum* Porcius and *H. sphondylium* L., despite their morphological similarity, turned out to be genetically different. The results obtained confirm the importance of using molecular markers to determine genetic structure, assess species status and study hybridization in complex taxonomic groups.

Key words: biological diversity, genetic polymorphism, molecular markers, interspecific hybridization, *Heracleum*, Apiaceae.

Отримано редколегією 26.10.2024 р.

ORCID ID

Надія Рошка: <https://orcid.org/0000-0003-2602-920X>

Юрій Тинкевич: <https://orcid.org/0000-0002-0222-8098>

Роман Волков: <https://orcid.org/0000-0003-0673-2598>