

ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ІНВАЗІЙНИХ РОСЛИН РОДУ *REYNOUTRIA* НА ОСНОВІ ISSR-МАРКЕРІВ

Д.В. ЯКОБИШЕН, 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

Представники роду *Reynoutria* Houtt. — одні з найагресивніших інвазійних рослин у світі. У Європі поширені два види, *R. japonica* Houtt. та *R. sachalinensis* (F.Schmidt) Nakai, а також їхній гібрид *R. × bohemica* Chrtek & Chrtková. Незважаючи на поширення на Європейському континенті єдиної клональної лінії *R. japonica* з чоловічою стерильністю, гібридизація із *R. sachalinensis* та поява форм з різною плоідністю сприяють зростанню генетичного різноманіття, що сприяє подальшій інвазії. Дослідження генетичної структури цих видів для популяцій з території України досі не проводились. Отже, метою цієї роботи було дослідження генетичного поліморфізму та гібридизації для українських зразків роду *Reynoutria*. Для порівняння із українськими зразками у дослідження було залучено зразки з території Румунії та Німеччини. ISSR-маркери були обрані для дослідження зважаючи на їх універсальність та можливість оцінювати поліморфізм по геному в цілому. На основі аналізу ISSR-маркерів, з використанням філогенетичного аналізу та методу основних координат, було показано вищі значення генетичних дистанцій між зразками *R. sachalinensis*, порівняно із дистанціями між зразками *R. japonica*. Для зразків, морфологічно визначених як гібридний вид *R. × bohemica*, за допомогою ISSR-аналізу не була виявлена присутність генетичного матеріалу одного з батьківських видів - *R. sachalinensis*. Проте, ці зразки показали близьку спорідненість між собою, так само, як і за морфологічними ознаками. У більше, як половини зразків, морфологічно визначених як *R. japonica*, знайдено домішки в геномах генетичного матеріалу *R. sachalinensis*, вміст яких коливався від 8,3 % до 57,6 %, що вказує на значну поширеність інтрогресивної гібридизації між цими видами інвазійних рослин.

Ключові слова: біологічне різноманіття, інвазійні види, міжвидова гібридизація, молекулярні маркери

Вступ. Представники роду *Reynoutria* Houtt. вважаються одними з найбільш успішних та небезпечних інвазійних рослин у світі (WFO, 2025). Два види зі Східної Азії, *R. japonica* Houtt. та *R. sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, природний ареал яких перекривається на території Японії та Сахаліну, протягом останніх десятиріч широко розселилися по території Євразії, Північної та Південної Америки, Південної Африки та Океанії (Henderson and Wilson, 2017; Miroshnyk et al., 202; GBIF, 2025; POWO, 2025). На основі історико-ботанічних (Del Tredici, 2017) та молекулярно-генетичних (Desjardinet al., 2023; Zhang et al., 2024) даних припускають декілька подій інтродукції *R. japonica* у Північну Америку та Нову Зеландію. В той же час, всі європейські популяції *R. japonica* вважаються нащадками єдиної форми, інтродукованої з Японії у середині XIX сторіччя (Hollingsworth and Bailey 2000; Del Tredici, 2017). Припускають, що інвазія на території Європи здійснюється нащадками єдиної завезеної клональної лінії з чоловічою стерильністю. Отже, вважається, що інвазійні популяції *R. japonica* розмножуються виключно вегетативним шляхом (Bailey et al., 2009).

Для іншого інвазійного виду, *R. sachalinensis*, задокументована інтродукція як лінії з чоловічою стерильністю, так і гермафродитної лінії, що забезпечує статеве розмноження цього виду в межах вторинного ареалу (Bailey et al., 2009).

На європейському континенті *R. japonica* представлена високоінвазійною октаплоїдною ($2n=8x=88$) формою *R. japonica* var. *japonica* та дещо менш успішною тетраплоїдною ($2n=4x=44$) формою *R. japonica* var. *compacta* (Bailey and Stace, 1992; Mandák et al., 2003). Для *R. sachalinensis* показана деяка варіабельність у рівні плоідності, проте найбільш поширеною є тетраплоїдна ($2n=4x=44$) форма (Mandák et al., 2003).

Гібридизація між октаплоїдною *R. japonica* var. *japonica* та тетраплоїдною *R. sachalinensis* в межах природного та інвазійного ареалів призводить до появи гексаплоїдних ($2n=6x=66$) гібридів, яких об'єднують під спільною таксономічною назвою *R. × bohemica* Chrtek & Chrtková (Mandák et al., 2003; Bailey & Wisskirchen, 2004). Ще один нещодавно описаний тетраплоїдний ($2n=4x=44$) вид *R. × moravica* (Hodálová & Mered'a) Olshanskyi & Antonenko походить від гібридизації

R. sachalinensis з тетраплоїдною *R. japonica* var. *compacta* (Hodálová et al., 2022; Olshanskyi and Antonenko, 2023). За допомогою молекулярно-генетичних методів виявлено також інтрогресійні форми, які містять в геномах генетичний матеріал батьківських видів у нетипових для первинних гібридів співвідношеннях (Jugieau et al., 2024; Tynkevich et al., 2024). Існування гібридних форм підвищує рівень генетичного різноманіття представників роду *Reynoutria* в межах вторинного ареалу, що може призводити до подальшої інтенсифікації інвазії.

В Україні поширені як обидві батьківські форми: *R. japonica* var. *japonica* та *R. sachalinensis*, так і гібридний вид *R. × bohemica* (Shevera, 2017; Olshanskyi & Antonenko, 2023). Проте, рівень поширеності та різноманітності гібридних форм на території України досі не досліджувались. Найбільш ефективними підходами для виявлення гібридних форм та аналізу генетичного різноманіття рослин є використання мультикопійних нуклеотидних послідовностей ядерної локалізації (Andreev et al., 2010; Rusak et al., 2016; Ishenko et al., 2020; Tynkevich et al., 2020) або методів генетичного профілювання (Ivanovych and Volkov, 2018; Lucardi et al., 2020; Roshka et al., 2024).

У цій роботі ми проаналізували генетичний поліморфізм українських зразків інвазійних рослин роду *Reynoutria* за ISSR-маркерами. Для порівняння були використані зразки з Румунії та Німеччини.

Матеріали та методи. Індивідуальні зразки рослин роду *Reynoutria* були зібрані у п'яти областях заходу та центру України, а також у Румунії та Німеччині (табл. 1, рис. 1).

Геному ДНК виділяли з гербарних та свіжих листків рослин (Porebski et al., 1997; Panchuk and Volkov, 2007). Якість отриманих препаратів ДНК перевіряли за допомогою гелелектрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі.

Для ампліфікації ISSR-маркерів були застосовані шість стандартних праймерів з набору UBC (University of British Columbia). Для гібридизації праймерів були використані температури з статті Ivanovych et al. (2017). Характеристики використаних праймерів наведено у таблиці 2.

Реакційна суміш загальним об'ємом 15 мкл готувалась як описано раніше (Roshka et al., 2024). Отримані ПЛР-продукти аналізували в 2%-му агарозному гелі. Після електрофорезу ДНК зафарбовували розчином етидію броміду. Для визначення розмірів ПЛР-продуктів був використаний 100 bp маркер довжин (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 груп К - генетичних пулів, які об'єднують найбільш споріднені зразки.

Таблиця 1.

Географічне походження зразків роду Reynoutria

Table 1.

Geographical origin of Reynoutria plant accessions

Вид Species	Зразок Accession	Походження зразку / Acc. origin
<i>R. × bohemica</i>	Rey-151	м. Київ, Україна / Kyiv, Ukraine
	Rey-152	с. Немішаєве, Київська обл., Україна / Nemishaieve, Kyiv Oblast, Ukraine
	Rey-158	м. Боярка, Київська обл., Україна / Boiarka, Kyiv Oblast, Ukraine
<i>R. japonica</i>	Rey-1	м. Чернівці, Чернівецька обл., Україна / Chernivtsi, Chernivtsi Oblast, Ukraine
	Rey-2	м. Тімішоара, Тіміш, Румунія / Timișoara, Timiș, Romania
	Rey-31	м. Кременець, Тернопільська обл., Україна / Kremenets, Ternopil Oblast, Ukraine
	Rey-33	м. Ромни, Сумська обл., Україна / Romny, Sumy Oblast, Ukraine
	Rey-35	м. Київ, Україна / Kyiv, Ukraine
	Rey-44	с. Драгово, Закарпатська обл., Україна / Drahovo, Zakarpattia Oblast, Ukraine
	Rey-50	м. Кельн, Північний Рейн-Вестфалія, Німеччина / Cologne, North Rhine-Westphalia, Germany
	Rey-111	м. Чернівці, Чернівецька обл., Україна / Chernivtsi, Chernivtsi Oblast, Ukraine
	Rey-112	м. Сучава, Сучавський повіт, Румунія / Suceava, Suceava County, Romania
	<i>R. sachalinensis</i>	Rey-104
Rey-105		с. Путила, Чернівецька обл., Україна / Putyla, Chernivtsi Oblast, Ukraine
Rey-114		с. Берегомет, Чернівецька обл., Україна / Berehomet, Chernivtsi Oblast, Ukraine



Рис. 1. Географічна локалізація досліджених рослин роду *Reynoutria*. Червоні, сині та фіолетові позначки відповідають зразкам *R. japonica*, *R. sachalinensis* та *R. × bohemica*, відповідно.

Fig. 1. Geographical localization of the studied *Reynoutria* accessions. Red, blue, and purple markers correspond to the accessions of *R. japonica*, *R. sachalinensis*, and *R. × bohemica*, respectively.

Для розрахунку найкращого значення K було використано метод Evanno, реалізований у програмному забезпеченні STRUCTURE HARVESTER (Earl & von Holdt, 2012) (рис. 2). Матриця первинних бінарних даних

перетворювалась в матрицю генетичних відстаней за допомогою коефіцієнта Дайса (Nei & Li, 1979) за допомогою програми DARwin 6.0.21 (Perrier et al., 2003).

Таблиця 2.
Характеристики праймерів, використаних для ампліфікації ISSR-маркерів.

Table 2.

Characteristics of primers used for the amplification of ISSR markers

Назва праймера Primer name	Послідовність праймера Primer sequence	Температура гібридизації, °C Annealing temperature, °C
UBC-807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	50
UBC-810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50
UBC-811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52
UBC-827	ACACACACACACACACG	52
UBC-836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	54
UBC-857	ACACACACACACACACYG	56

Аналіз методом основних координат (PCoA) проводився для п'яти осей із застосуванням програми DARwin (Perrier & Jacquemoud-Collet, 2006). Генетичну спорідненість між досліджуваними зразками оцінювали за допомогою методу приєднання сусідів - neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987).

Результати та їх обговорення. ISSR-маркери ампліфікували з використанням шести праймерів (табл. 2). В результаті аналізу отриманих електрофореграм вдалось виявити 86 чітких смуг ПЛР-ампліфікатів, довжина яких була в межах від 200 до 1200 нп. Кількість поліморфних алелів коливалась від

двох (для праймеру UBC 810) до 11 (для праймеру UBC 857). Загалом для шести використаних праймерів ідентифіковано 39 поліморфних алелів.

Генетична структура зразків роду *Reynoutria* була проаналізована методом байєсівської кластеризації із використанням програми STRUCTURE. Обрахунок параметру delta K (ΔK) для визначення оптимальної кількості кластерів (K) показав найвище значення ΔK для $K=2$ (рис. 2А). Отже, 15 генотипів було розділено між двома кластерами, умовно названими "Japonica" та "Sachalinensis" (рис. 2В).

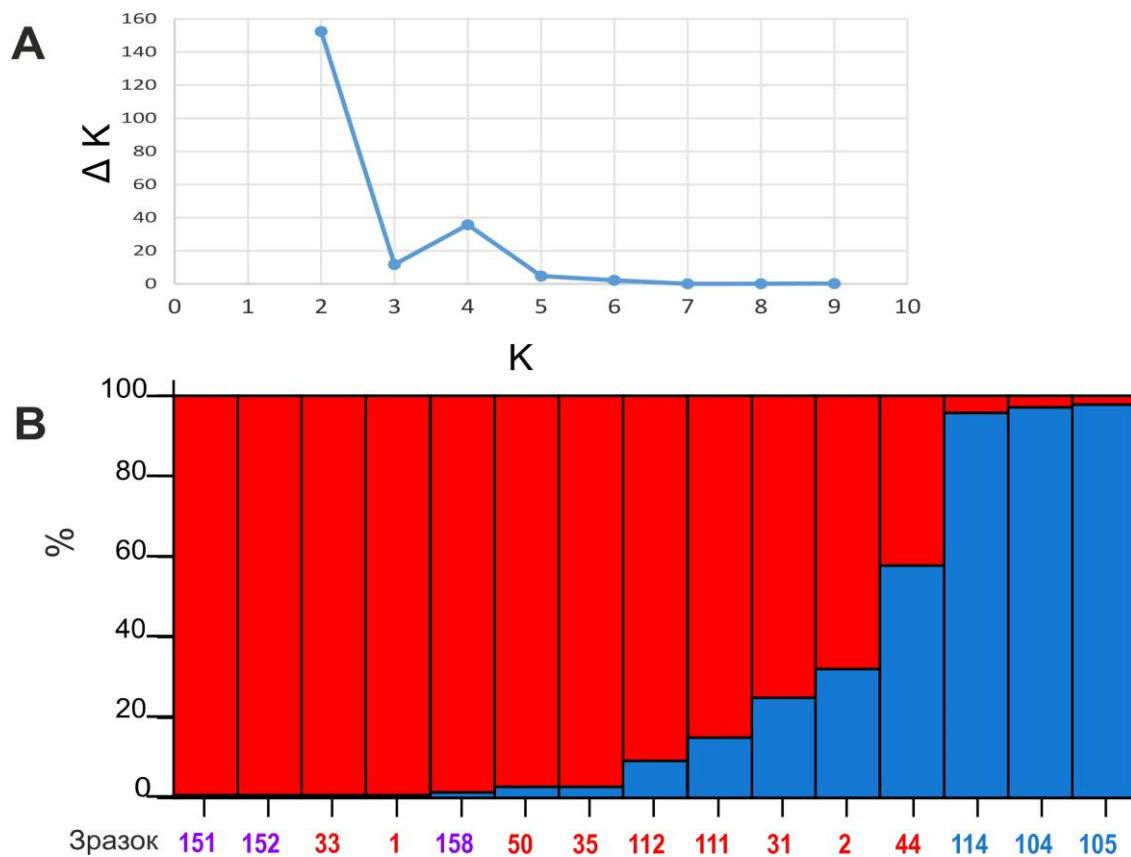


Рис. 2. Аналіз генетичних кластерів за розподілом ISSR-маркерів з використанням програми STRUCTURE. (A) - Залежність між ΔK та кількістю кластерів (K). (B) - генетична конституція зразків *Reynoutria*, представлених як вертикальні стовпчики. Червоним та синім показаний вміст генетичного матеріалу *R. japonica* та *R. sachalinensis*, відповідно. Номери зразків рослин, морфологічно ідентифікованих як *R. japonica*, *R. sachalinensis* та *R. × bohemica*, наведено червоним, синім та фіолетовим кольорами, відповідно.

Для чотирьох зразків *R. japonica* та трьох – *R. sachalinensis* домішки генетичного матеріалу іншого виду були або відсутні, або не перевищували 3%, що співставно із можливою похибкою експерименту. Проте, для інших чотирьох зразків (Rey-2, -31, -111, -112), визначених на основі морфологічних критеріїв як *R. japonica*, вміст генетичного матеріалу *R. sachalinensis* коливався від 8,3% у Rey-112 до 31,2% у Rey-2. Для цих чотирьох зразків раніше нами був ідентифікований хлоропластний гаплотип (Тункевич et al., 2025), який співпадав із гаплотипом інших зразків *R. japonica* var. *japonica*. Ще один зразок, Rey-44, також визначений попередньо як *R. japonica* за морфологією, містив в геномі ще більшу частину - 57,6%, генетичного матеріалу *R. sachalinensis*. Хлоропластний гаплотип для Rey-44 раніше не ідентифікували.

Fig. 2. Analysis of genetic clusters based on the distribution of ISSR markers using the STRUCTURE program. (A) - The dependence between ΔK and the number of clusters (K). (B) - The genetic constitution of *Reynoutria* accessions is presented as vertical columns. Red and blue colors show the genetic material content of *R. japonica* and *R. sachalinensis*, respectively. Names of plant accessions morphologically identified as *R. japonica*, *R. sachalinensis*, and *R. × bohemica* are shown in red, blue, and purple, respectively.

Несподіваними виявились результати STRUCTURE-аналізу для трьох зразків (Rey-151, -152, -158), морфологічно-визначених як *R. × bohemica*. Для них не спостерігалась ампліфікація ISSR-маркерів генетичного пулу *R. sachalinensis*, хоча цей вид є одним із батьківських для гібридної *R. × bohemica*. Можливим поясненням цього є ненадійність морфологічних критеріїв у таксономічній дискримінації видів *R. × bohemica* та *R. japonica* (Mered'a et al., 2019).

Тим не менш, як було сказано вище, для частини зразків показані домішки обох генетичних пулів у геномі, отже, ці зразки можуть мати гібридне походження. Виходячи з того, що *R. japonica* та *R. sachalinensis* є октаплоїдним ($2n=8x$) та гексаплоїдним ($2n=4x$) видами, відповідно, очікуване співвідношення їх генетичного матеріалу у геномі гібридного гексаплоїдного ($2n=6x$) виду

R. × bohemica має становити 2:1 (Kadlecová et al., 2024). Проте, для виявлених нами гібридних форм таке співвідношення спостерігалось лише в одному випадку, для зразку Rey-2, який можливо, і являє собою *R. × bohemica*. Для інших виявлених гібридних форм ми припускаємо, що вони походять внаслідок зворотних схрещувань між

гексаплоїдними гібридами та їх батьківськими формами.

Для визначення генетичних дистанцій між досліджуваними зразками був проведений PCoA аналіз (рис. 3). За п'ятьма осями, які пояснюють 53,7%, 15,0%, 10,6%, 7,0% і 4,7% варіації, відповідно.

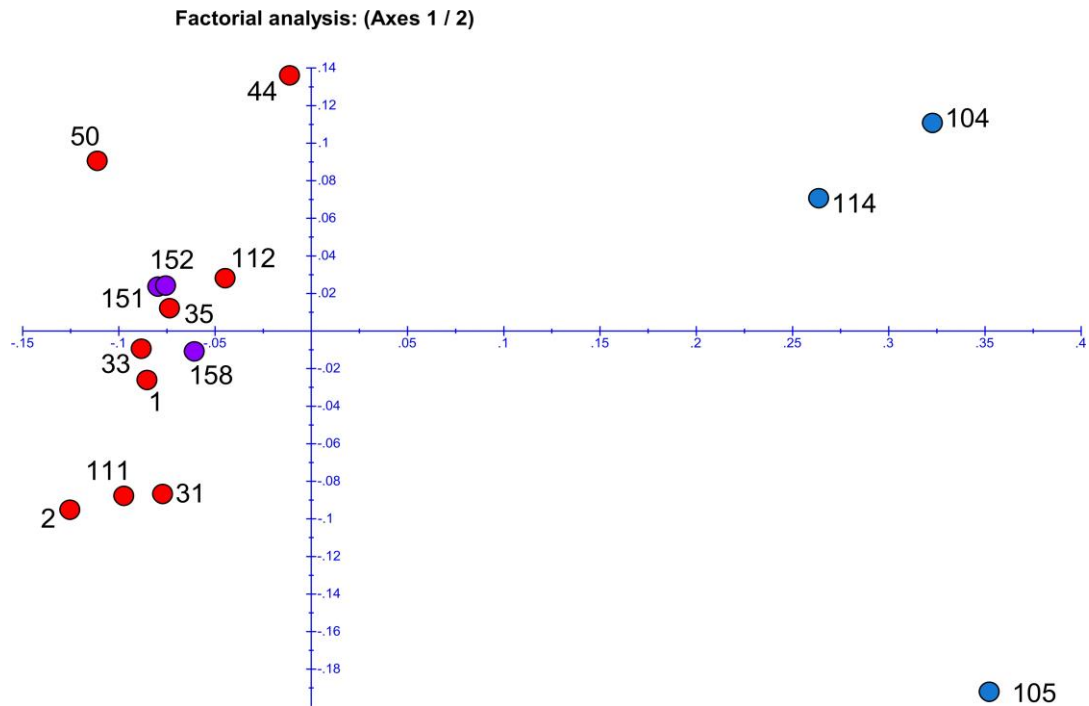


Рис. 3. Генетична подібність зразків роду *Reynoutria* за PCoA. Червоні, сині та фіолетові позначки відповідають зразкам *R. japonica*, *R. sachalinensis* та *R. × bohemica*.

Fig. 3. Genetic similarity of *Reynoutria* accessions by the PCoA. Red, blue, and purple markers correspond to the accessions of *R. japonica*, *R. sachalinensis*, and *R. × bohemica*.

Групи зразків “*Japonica*” та “*Sachalinensis*” виявились розділеними значною дистанцією на графіку за осями 1/2 (рис. 3). Дистанції між зразками *R. sachalinensis* виявились вищими, порівняно до зразків *R. japonica*. Серед зразків, морфологічно визначених як *R. japonica*, три, із високим вмістом домішки генетичного матеріалу *R. sachalinensis* (Rey-2, -31, -111) групуються разом. Зразки, морфологічно визначені як *R. × bohemica* групуються у спільному кластері із найбільш “типovими” зразками *R. japonica*. Ізольоване положення займають зразки: Rey-44, в геномі якого, за результатами STRUCTURE-аналізу, виявлено більше генетичного матеріалу *R. sachalinensis*, ніж *R. japonica* та найбільш географічно віддалений від інших зразків - Rey-50, з території Німеччини (рис. 1).

дендрограмі чотири клади мають середній та високий рівень статистичної підтримки. Найвищий рівень підтримки має клада, яка об'єднує всі три зразки *R. sachalinensis*. Вона відгалужується від спільної кладі із зразком Rey-44, в геномі якого зафіксований найбільший вміст генетичного матеріалу *R. sachalinensis* серед зразків, ідентифікованих морфологічно як *R. japonica* (рис. 2).

Подібне групування зразків спостерігалось і за результатами філогенетичного аналізу (рис. 4). На побудованій Neighbor-joining

Ще одну відокремлену кладу, з середнім рівнем підтримки, утворюють три зразки із високим вмістом генетичного матеріалу *R. sachalinensis* (Rey-2, -31, -111). Крім того, в кладу із середньою підтримкою групуються три зразки, морфологічно визначені як *R. × bohemica* (Rey-151, -152, -158). Не дивлячись на те, що за результатами STRUCTURE та PCoA аналізів ці три зразки поводити себе як типова *R. japonica*, для них спостерігається близька філогенетична спорідненість та морфологічна подібність, яка

виокремлює їх з поміж зразків *R. japonica*. Загалом, отримані результати вказують на

поширення інтрогресивної гібридизації між інвазійними представниками роду *Reynoutria*.

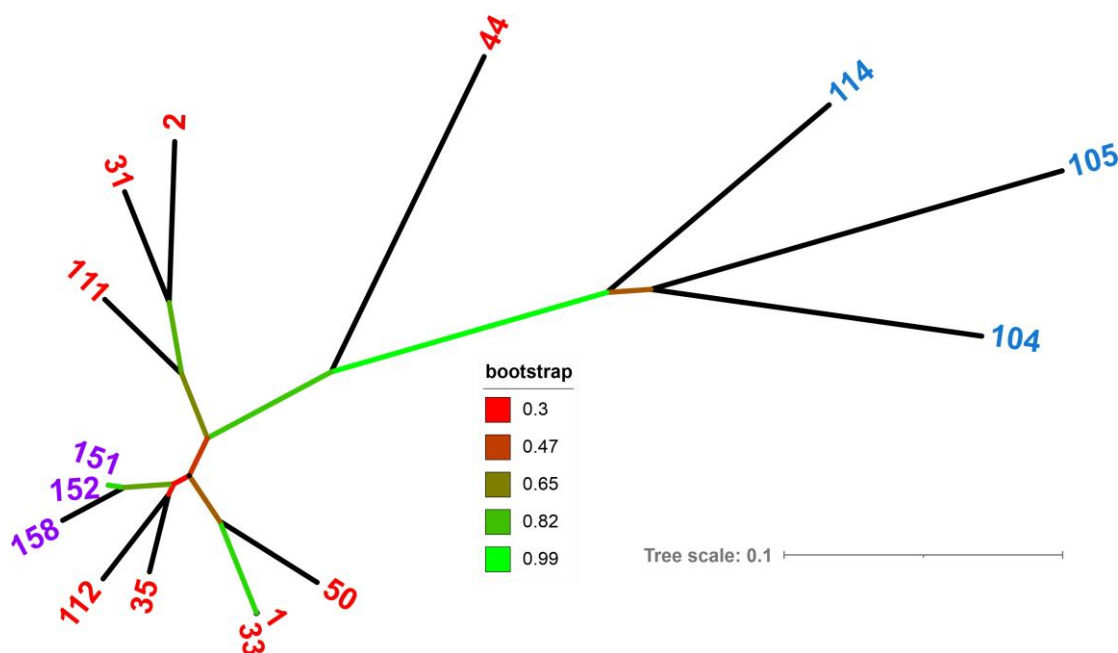


Рис. 4. Neighbor-joining дендрограма генетичної подібності зразків роду *Reynoutria* на основі поліморфізму ISSR-маркерів. Колір гілок відповідає значенням статистичної bootstrap підтримки відповідних груп (див. легенду). Назви зразків рослин, які за морфологічними ознаками були ідентифіковані як *R. japonica*, *R. sachalinensis* та *R. × bohemica*, наведено червоним, синім та фіолетовим кольорами, відповідно.

Fig. 4. Neighbor-joining dendrogram of *Reynoutria* accessions' genetic similarity, based on ISSR markers polymorphism. The branch colors correspond to bootstrap support values for the respective groups (see legend). Plant accession names that were morphologically identified as *R. japonica*, *R. sachalinensis*, and *R. × bohemica* are shown in red, blue, and purple, respectively.

Висновки. На основі аналізу ISSR-маркерів виявлені значні генетичні дистанції між зразками *R. sachalinensis* на противагу високій подібності між зразками *R. japonica*.

Для трьох зразків, морфологічно визначених як гібридний вид *R. × bohemica*, ISSR-аналіз показав їх високу подібність із батьківським видом *R. japonica*, тоді як генетичного матеріалу іншого батьківського виду, *R. sachalinensis*, не виявлено. Ці зразки показали близьку спорідненість між собою, як за морфологічними ознаками, так і за набором ISSR-маркерів.

У більшості зразків, морфологічно визначених як *R. japonica*, знайдено домішки в геномах генетичного матеріалу *R. sachalinensis*,

що вказує на поширеність інтрогресивної гібридизації між цими інвазійними видами.

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 Волюці, Олені Козак, Ігорю Ольшанському, Ліані Онук, Івану Роману, Маргариті Середенко, Анні Черказьановій та Іллі Чорнею за наданий рослинний матеріал.

Список використаної літератури / References:

1. Bailey, J. P., & Stace, C. A. (1992). Chromosome number, morphology, pairing, and DNA values of species and hybrids in the genus *Fallopia* (Polygonaceae). *Plant Syst. Evol.*, 180(1), 29-52. <https://doi.org/10.1007/BF00940396>

2. Bailey, J. P., Bímová, K., & Mandák, B. (2009). Asexual spread versus sexual reproduction and evolution in Japanese Knotweed *sl* sets the stage for the "Battle of the Clones". *Biol. Invasions*, 11, 1189-1203. <https://doi.org/10.1007/s10530-008-9381-4>

3. Bailey, J., & Wisskirchen, R. (2004). The distribution and origins of *Fallopia × bohemica* (Polygonaceae) in Europe. *Nord. J. Bot.*, 24(2),

- 173-199. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2004.tb00832>
4. Desjardins, S. D., Pashley, C. H., Bailey, J. P. (2023). A taxonomic, cytological and genetic survey of Japanese knotweed s.l. in New Zealand indicates multiple secondary introductions from Europe and a direct introduction from Japan. *NZ. J. Bot.* 61, 49–66. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2023.2162166>
 5. 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>
 6. Henderson, L., & Wilson, J. R. (2017). Changes in the composition and distribution of alien plants in South Africa: An update from the Southern African Plant Invaders Atlas. *Bothalia-African Biodiversity & Conservation*, 47(2), 1-26. <https://doi.org/10.4102/abc.v47i2.2172>
 7. Hodalová, I., Mártonfiiová, L., Skokanová, K., Španiel, S., & Meredá Jr, P. (2022). *Fallopia* × *moravica* (Polygonaceae), a new hybrid between *Fallopia compacta* and *F. sachalinensis*. *Phytotaxa*, 572(2), 123-143. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.572.2.1>
 8. Hollingsworth, M. L., & Bailey, J. P. (2000). Evidence for massive clonal growth in the invasive weed *Fallopia japonica* (Japanese Knotweed). *Bot. J. Linn. Soc.*, 133(4), 463-472. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2000.tb01589.x>
 9. Ishchenko, O. O., Mel'nyk, V. M., Parnikoza, I. Y., Budzhak, V. V., Panchuk, I. I., Kunakh, V. A., & Volkov, R. A. (2020). 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>
 10. Ivanovych, Y. I., Udovychenko, K. M., Bublyk, M. O., & Volkov, R. A. (2017). ISSR-PCR fingerprinting of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Cytol. Genet.*, 51, 40-47. <https://doi.org/10.3103/s0095452717010066>
 11. Ivanovych, Y., & Volkov, R. (2018). Genetic relatedness of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars from Ukraine determined by microsatellite markers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 93(1), 64-72. <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1342568>
 12. Jugieau, E., Talmot, V., Staentzel, C., Noir, S., & Hardion, L. (2024). A knot of hybrids: Differentiating Asian knotweeds in North-Eastern France using genetic, cytological, and morphological data. *J. Syst. Evol.*, 62(6), 1218-1226. <https://doi.org/10.1111/jse.13075>
 13. Kadlecová, M., Vojík, M., Vacula, J., & Berchová Bímová, K. (2024). Grab to fill the gap: key factors influencing *Reynoutria japonica* germination and seedling establishment in the secondary distribution range. *Plant Ecology*, 225(8), 863-873. <https://doi.org/10.1007/s11258-024-01438-1>
 14. Lucardi, R. D., Wallace, L. E., & Ervin, G. N. (2020). Patterns of genetic diversity in highly invasive species: Cogongrass (*Imperata cylindrica*) expansion in the invaded range of the southern United States (US). *Plants*, 9(4), 423. <https://doi.org/10.3390/plants9040423>
 15. Meredá Jr, P., Koláriková, Z., & Hodálová, I. (2019). Cytological and morphological variation of *Fallopia* sect. *Reynoutria* taxa (Polygonaceae) in the Krivánska Malá Fatra Mountains (Slovakia). *Biologia*, 74(3), 215-236. <https://doi.org/10.2478/s11756-018-00168-w>
 16. Miroshnyk, N., Grabovska, T., & Roubík, H. (2025). The spread of the invasive species *Reynoutria japonica* Houtt. will both expand and contract with climate change: results of climate modelling for 14 European countries. *Pest Manag. Sci.* <https://doi.org/10.1002/ps.8732>
 17. 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>
 18. Olshanskyi, I. G., & Antonenko, S. I. (2023). A new nomenclatural combination in *Reynoutria* (Polygonaceae). *Ukr. Bot. J.*, 80(2), 133-135. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj80.02.133>
 19. Panchuk, I. I., & Volkov, R. A. (2007). *A practical course in molecular genetics*. [Praktykum z molekuliarnoi henetyky] Chernivtsi: Ruta. 120 p. [In Ukrainian]
 20. Perrier, X., Flori, A., Bonnot, F. (2003) Data analysis methods in genetic diversity of cultivated tropical plants (pp. 43-76). *Enfield: Science Publishers*.
 21. Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J. P. (2006). DARwin software <https://darwin.cirad.fr/>.
 22. 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>
 23. POWO *Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. 2025; Published on the Internet.* <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Retrieved 3 May 2025.
 24. 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>
 25. *Reynoutria* Houtt. in GBIF Secretariat. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. accessed via GBIF org on 2025-05-03. <https://doi.org/10.15468/39omei>
 26. Roshka, N, Tynkevich, Y. O., & Volkov, R. (2024). Use of ISSR markers in assessment of genetic diversity of Ukrainian representatives of the genus *Heracleum*. *Scientific Herald of Chernivtsi University. Biology (Biological Systems)*, 16(3), 266-273. [In Ukrainian]. <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.03.266>
 27. 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. [In Ukrainian]. <https://doi.org/10.7124/visnyk.utgis.14.2.691>
28. Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
29. Shevera, M. V. (2017). *Reynoutria* × *bohemica* (Polygonaceae), a potentially invasive species of the Ukrainian flora. *Ukr. Bot. J.*, 74(6), 548-555.
30. Tynkevich, Y. O., Bushyla, K. D., & Volkov, R. A. (2020). Organization of the 5S rDNA intergenic spacer of *Quercus rubra* L. and its relationship to the Ukrainian *Quercus* species. *Factors Experimental Evol. Organisms*, 26, 125-131. [In Ukrainian] <https://doi.org/10.7124/FEEO.v26.1254>
31. Tynkevich, Y. O., Yakobyshen, D. V., Cherkazianova, A. S., Shelyfist, A. Y., & Volkov, R. A. (2024). Intragenomic polymorphism of the ITS1-5.8S-ITS2 region in invasive species of the genus *Reynoutria*. *Cytol. Genet.*, 58(6), 536-546. <https://doi.org/10.3103/S0095452724060112>
32. Tynkevich, Y. O., Cherkazianova, A. S., Chorney, I. I., Panchuk I. I., & Volkov, R. A. (2025). Genetic polymorphism of invasive species of knotweed (*Reynoutria*) assessed by the *matK* and *rpl32-trnL* (UAG) regions of chloroplastic DNA. *Cytol. Genet.*, 59(3), 259-269. <https://doi.org/10.3103/S0095452725030089>
33. 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), 11-23. <https://doi.org/10.3103/S0095452725010141>
34. WFO *World Flora Online*. 2023. Available from: <http://www.worldfloraonline.org/> (accessed 5 May 2025).
35. Zhang, L., van Riemsdijk, I., Liu, M., Liao, Z., Cavé-Radet, A., Bi, J. et al. (2024). Biogeography of a Global Plant Invader: From the Evolutionary History to Future Distributions. *Glob. Change Biol.*, 30(12), e17622. <https://doi.org/10.1111/gcb.17622>

GENETIC DIVERSITY OF INVASIVE PLANTS OF *REYNOUTRIA* GENUS BASED ON ISSR MARKERS

D.V. Yakobyshen, Y.O. Tynkevich, R.A. Volkov

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

Members of the genus Reynoutria Houtt. are recognized as some of the most invasive plant species worldwide. In Europe, two species, R. japonica Houtt. and R. sachalinensis (F.Schmidt) Nakai, as well as their hybrid R. × bohemica Chrtek & Chrtková, are widespread. Despite the spread of a single clonal lineage of R. japonica with male sterility across the European continent, hybridization with R. sachalinensis and the emergence of forms with different ploidy levels contribute to increased genetic diversity, promoting further invasion. To date, studies of the genetic structure of these species in populations from the territory of Ukraine have not been conducted. Therefore, this study aimed to investigate the genetic polymorphism and hybridization of Ukrainian accessions of the genus Reynoutria. For comparison with Ukrainian samples, specimens from Romania and Germany were also included in the study. ISSR markers were chosen for the study due to their universality and ability to assess polymorphism across the genome.

Based on the ISSR markers, using phylogenetic analysis and the principal coordinates method, higher genetic distance values were observed between R. sachalinensis samples compared to the distances between R. japonica samples. For samples morphologically identified as the hybrid species R. × bohemica, ISSR analysis did not reveal the presence of genetic material from one of the parental species, R. sachalinensis. However, these samples showed close relatedness to each other, both genetically and morphologically. In more than half of the samples morphologically identified as R. japonica, traces of genetic material from R. sachalinensis were found in their genomes, ranging from 8.3% to 57.6%, indicating a significant prevalence of introgressive hybridization between these invasive plant species.

Key words: biodiversity, invasive species, interspecific hybridization, molecular markers.

Отримано редколегією 25.04.2025 р.

ORCID ID

Данієль Якобишен: <https://orcid.org/0009-0002-1799-7460>

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

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