

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ *HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN. И *HERACLEUM* *MANTEGAZZIANUM* SOMMIER & LEVIER (APIACEAE) ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

©2024 Шадрин Д.М.^{а,*}, Далькэ И.В.^а, Захожий И.Г.^а, Шильников Д.С.^{б,с},
Кожин М.Н.^д, Чадин И.Ф.^а

^а Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук,
г. Сыктывкар, 167982, Россия

^б Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия

^с Перкальский дендрологический парк Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук,
г. Пятигорск, 357509, Россия;

^д Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина Кольского научного центра
Российской академии наук, г. Кировск, 184256, Россия
e-mail: *shdimas@ya.ru

Поступила в редакцию 23.01.2024. После доработки 25.05.2024. Принята к публикации 29.05.2024

С использованием девяти молекулярных маркеров проведён поиск генетических отличий между образцами *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier, собранными в нативной части ареала этого вида на Западном Кавказе (Карачаево-Черкесская Республика), образцами гигантских инвазионных борщевиков из окрестностей г. Кировск (Мурманская область) и г. Сыктывкар (Республика Коми) и образцами *Heracleum sosnowskyi* Manden., собранными в окрестностях г. Нальчик (Кабардино-Балкарская Республика). Новые данные о последовательностях маркеров *rbcL*, *matK*, *trnL*, *trnH-psbA*, *rps16*, *trnQ-rps16*, *rps16-trnK*, *rpl32-trnL*, ITS, ETS сравнивали с данными, доступными в базе данных GenBank для исследованных и других видов рода *Heracleum*. Последовательности ITS и ETS ядерной ДНК продемонстрировали достаточный уровень полиморфизма, который оказался хорошо согласован с границами большинства взятых в анализ видов рода *Heracleum* за исключением образцов, отнесённых по морфологическим признакам к *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi*. Анализ молекулярных данных показал, что все образцы гигантских инвазионных борщевиков, собранные нами на севере европейской части России и на территории Западного Кавказа, вероятнее всего, можно отнести к одному виду – *H. mantegazzianum*. Полученные нами результаты свидетельствуют об отсутствии на территории Мурманской области и Республике Коми растений *H. sosnowskyi*. Одним из возможных объяснений, полученных данных может быть гибридизация *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi*, спонтанно произошедшая на первом этапе интродукции в Полярно-альпийском ботаническом саду (г. Кировск, Мурманская область).

Ключевые слова: *Heracleum sosnowskyi*, *Heracleum mantegazzianum*, биологические инвазии, вторичный ареал, ДНК-штрихкодирование, ITS, ETS, Европейская часть России, Западный Кавказ.

DOI:10.35885/1996-1499-17-2-153-171

Введение

Виды *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier [Sommier and Levier 1895] и *Heracleum sosnowskyi* Manden. [Манденова, 1944] часто упоминают в литературе, посвящённой экологии инвазий, как часть «комплекса гигантских борщевиков» [Jahodová et al., 2007a; Nielsen et al., 2008]. Отличительным признаком этих видов растений является их высота (до 4–5 м). Оба вида были включены Идой Пановной Ман-

деновой в секцию *Pubescentia* Manden. рода борщевик (*Heracleum* L.) [Манденова, 1950], из 11 видов которой в комплекс инвазионных гигантских борщевиков входит ещё один вид – *H. persicum* Desf. Естественный ареал *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi* ограничен Кавказом. Вторичный ареал видов охватывает значительные площади на территории Европы. При этом инвазионные ареалы *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi* имеют чёткую границу (рис. 1), которая

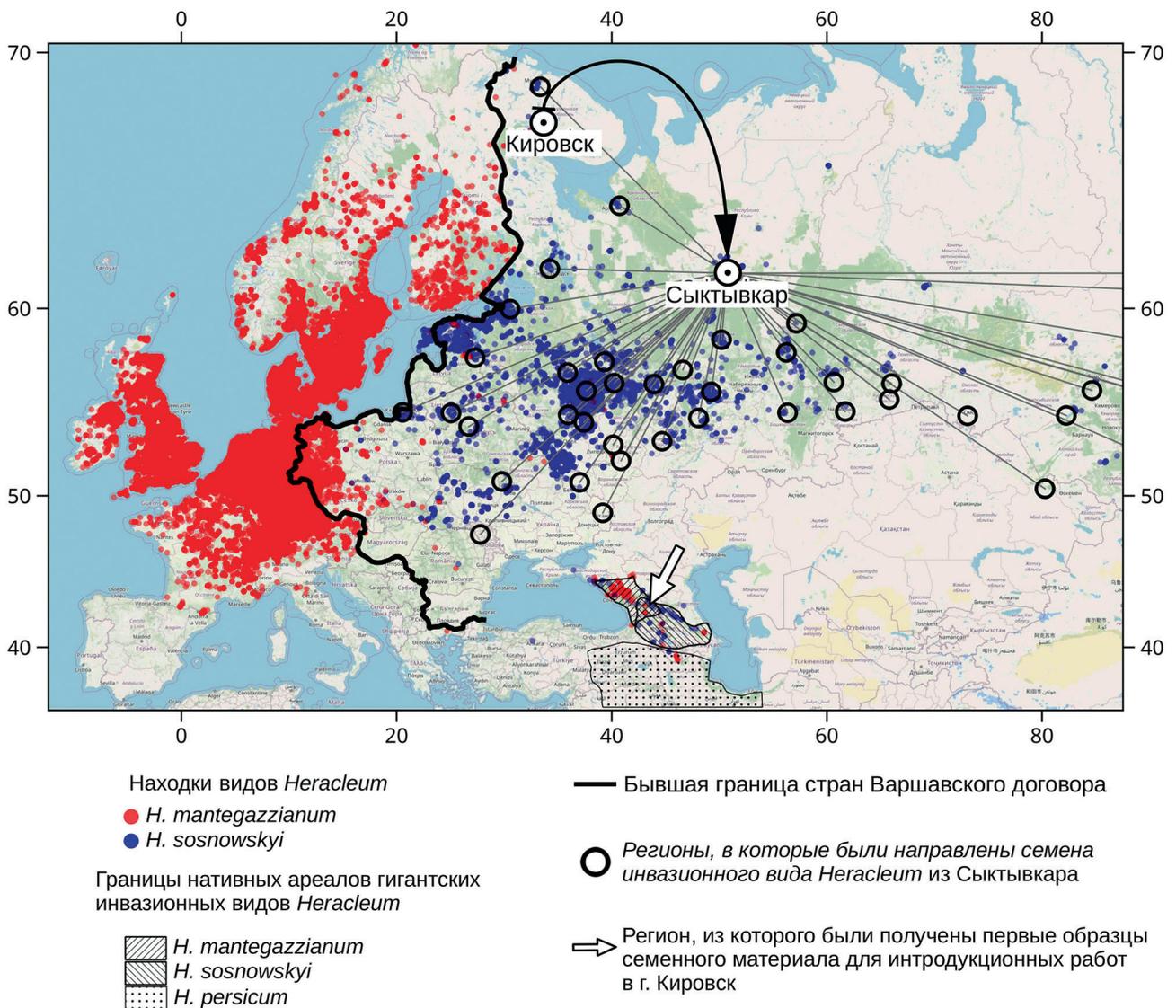


Рис. 1. Современное распространение *Heracleum mantegazzianum* и *H. sosnowskyi* в Европе (GBIF.org User 2023) и регионы, в которые семена растения под названием «борщевик Сосновского» были разосланы из Сыктывкара для выращивания в опытных хозяйствах, по состоянию на 1967 г. [Moiseev, 1967].

во многом совпадает с западной границей стран – участниц Варшавского договора (1955–1991 гг.).

Наиболее частым объяснением такой контрастной картины распространения являются исторические аспекты интродукции этих двух видов. *H. mantegazzianum* культивировали в Западной Европе в XIX в. как декоративное растение, в то время как *H. sosnowskyi* был интродуцирован во второй половине XX в. как сельскохозяйственная культура сначала в Советском Союзе, а затем в странах Восточной Европы [Rušek et al., 2007]. Другой гипотезой, выдвинутой для объяснения совпадения границы между инвазивными ареалами *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi* с полити-

ческим границами в Европе, являются традиции использования разных названий для обозначения одного и того же вида гигантских борщевиков. Общеизвестно, что определение границ видов секции *Pubescentia* является сложной задачей [Манденова, 1950; Jahodová et al., 2007a; Пименов, Остроумова, 2012; Эбель и др., 2018; Vladimirov et al., 2019]. Сложная эволюционная история рода *Heracleum*, которая могла включать возникновение новых видов в результате гибридизации, выразилась в значительной изменчивости морфологических признаков в пределах одного вида. В то же время виды *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi*, описанные по материалам, собранным в их вторичном

ареале, обладают целым рядом идентичных признаков и могут рассматриваться как виды-двойники [Rušek et al., 2007; Dalke et al., 2015].

Эти факты объясняют причины, по которым достоверная оценка видовой принадлежности гигантских борщевиков по морфологическим признакам крайне затруднительна. Кроме того, при интродукции растений этого рода далеко не всегда были проведены процедура верификации видовой принадлежности и подкрепление данных гербарными сборами [Кудинов и др., 1980; Скупченко, 1989; Rušek et al., 2007]. По мнению некоторых авторов [Rušek et al., 2007], сбор семенного материала только одного вида (*H. sosnowskyi*) был бы невозможен, так как в тех районах Кавказа, откуда были привезены семена растений под названием *H. sosnowskyi*, этот вид произрастает совместно с *H. mantegazzianum* (рис. 1). Отечественные авторы [Эбель и др., 2018] также отмечают, что «...использование названия *Heracleum sosnowskyi* для дикорастущих гигантских видов *Heracleum* весьма условно». Некоторые исследователи и вовсе оспаривали видовую самостоятельность *H. sosnowskyi*, считая его синонимом *Heracleum wilhelmsii* Fisch. & Avé-Lall. [Тамамшян, 1967]. Название *H. wilhelmsii* с позиции М.Г. Пименова и Т.А. Остроумовой [2012] является приоритетным по отношению к *H. mantegazzianum*, которое данные авторы считают синонимом *H. wilhelmsii*. Интересно отметить, что при интродукции гигантских борщевиков на территории Московской обл. в 1960-х гг. *H. mantegazzianum* был отнесён к растениям с поликарпическим циклом развития [Шумова, 1970]. Данное заключение входит в явное противоречие с современными представлениями о монокарпичности *H. mantegazzianum* [Perglova et al., 2007] и ставит под сомнение надёжность идентификации отдельных представителей секции *Pubescentia* при их введении в культуру.

Первые образцы растений под названием *Heracleum sosnowskyi* были привезены из окрестностей г. Нальчик (Кабардино-Балкария, предгорья Большого Кавказа) в Полярно-альпийский ботанический сад, расположенный в окрестностях г. Киров-

ска (Мурманская обл., южная часть горного массива Хибин) в 1947 г. Целью интродукционных работ было введение этого вида в культуру в качестве нового силосного растения [Марченко, 1953; Озерова, Кривошеина, 2018]. В 1952 г. семена (мерикарпии) были переданы в ботанический сад Института биологии Коми филиала Академии наук СССР (г. Сыктывкар, Республика Коми, северо-восток Восточно-Европейской равнины). Здесь начались интенсивные работы по оптимизации технологии возделывания *H. sosnowskyi* и выведению новых сортов этого вида. Институт биологии Коми филиала Академии наук СССР являлся на тот момент одним из крупнейших центров интродукции и селекции традиционных и перспективных видов кормовых культур. В период с 1962 по 1966 г.г. 5500 кг семян новых видов силосных растений были разосланы из Сыктывкара почти в 1500 опытных хозяйств по всей территории бывшего Советского Союза [Moiseev, 1967]. Интродукционные популяции гигантских борщевиков (названных *H. sosnowskyi*) в городах Кировск и Сыктывкар стали основным источником семенного материала для массового внедрения растений в культуру на значительной территории бывшего СССР. Таким образом, сведения о видовой принадлежности гигантских борщевиков из данных регионов могут быть применены в целях определения систематического положения этих растений на значительной части их вторичного ареала в пределах Восточно-Европейской равнины и прилегающих территорий.

Ключи для определения, по которым можно идентифицировать и отличить *H. mantegazzianum* от *H. sosnowskyi*, чаще всего содержат признаки, относящиеся к морфологии листа [Манденова, 1950; Цвелёв, 2000; Пименов, Остроумова, 2012; Vladimirov et al., 2019]. Для прикорневых листьев *H. mantegazzianum* характерны перисто-раздельные листовые доли первого порядка. Для *H. sosnowskyi* листовые доли первого порядка перисто-лопастные. Примечательно, что И.П. Манденова, автор названия *H. sosnowskyi*, предостерегала от использования формы листьев в качестве надёжного идентификационного признака для

видов рода *Heracleum* из-за значительной внутривидовой изменчивости этого признака. Согласно описанию *H. sosnowskyi*, составленному И.П. Манденовой [1950], наиболее явным признаком, отличающим *H. sosnowskyi* от *H. mantegazzianum* является высота растений: до 150 см у *H. sosnowskyi* и до 300 см у *H. mantegazzianum*. При этом большинство растений гигантских борщевиков, описанных в пределах их инвазионного ареала, имеют высоту 250–350 (500) см [Půšek et al., 2007; Dalke et al., 2015]. Разработка идентификационных ключей, которые могут эффективно отличать *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi*, значительно осложняется недостатком и часто низким качеством гербарного материала, что объясняется сложностью сбора, высушивания и монтировки столь больших и опасных для человека растений.

В настоящее время хорошим тоном при идентификации сложных в систематическом отношении растений дополнительно с традиционными методами систематики является использование метода ДНК-штрихкодирования растений, благодаря которому можно идентифицировать организм по короткому фрагменту последовательности ДНК [Hebert et al., 2003; Hebert, Gregory, 2005]. Стандартно, консорциумом iBOL для баркодирования представителей царства растений рекомендовано использовать ген *rbcL*, ген *matK* и межгенный спейсер *trnH-psbA* хлоропластной ДНК, а также последовательность ITS рибосомального кластера ядерной ДНК [Shekhovtsov et al., 2019; Shneyer, Rodionov, 2019; Shadrin, 2021].

К настоящему времени наиболее полное описание молекулярно-филогенетических взаимоотношений внутри семейства *Ariaceae* проведено с использованием участков ITS ядерной ДНК [Downie et al., 2001, 2010; Banasiak et al., 2013]. Для идентификации некоторых таксонов семейства *Ariaceae* также используют последовательность межгенного спейсера *trnH-psbA* хлоропластной ДНК [Degtjareva et al., 2012] или комбинацию ITS + *trnH-psbA* [Liu et al., 2014; Валуйских, Шадрин, 2021]. В то же время авторы статьи [Logacheva et al., 2008] пришли к выводу, что межгенный спейсер *psbA-trnH* высококонсер-

вативен для представителей рода *Heracleum* и родственных таксонов и не подходит для ДНК-штрихкодирования данной группы растений. Для представителей трибы *Tordylieae*, в которую входит род *Heracleum*, информативным маркером оказалась последовательность ETS (external transcribed spacer) рибосомального кластера ядерной ДНК, особенно в сочетании с последовательностью ITS [Logacheva et al., 2010]. Помимо перечисленных выше маркеров, рядом авторов для молекулярно-филогенетического анализа представителей рода *Heracleum* флоры Китая были использованы такие последовательности хлоропластной ДНК как: *rps16* intron, *trnQ-rps16*, *rps16-trnK* и *rpl32-trnL* [Yu et al., 2011].

На первый взгляд, вопросы определения и верификации видовой принадлежности представителей секции *Pubescentia* имеют исключительно теоретическое значение для специалистов в области систематики семейства *Ariaceae*. Несомненно, что использование нескольких названий для одного вида является источником таксономической неопределённости и существенно затрудняет сопоставление данных научных исследований. В то же время, валидное название вида, который к настоящему времени стал оказывать значительное влияние не только на экосистемы, но и на социальное благополучие населения России и Восточной Европы, принципиально важно для организации мероприятий по борьбе с этим инвайдером. Название *H. sosnowskyi* широко упоминается в официальных и неофициальных руководствах по ликвидации гигантских инвазионных борщевиков, а также в нормативных и правовых актах на региональном и муниципальном уровнях в России, Беларуси, Латвии, Литве и Эстонии. Кроме того, в случае подтверждения гипотезы о филогенетическом единстве инвазионных борщевиков, которые известны на территории Западной Европы под названием *H. mantegazzianum*, а на территории России и стран Восточной Европы под названием *H. sosnowskyi*, можно объединить в единый пул весь массив результатов исследований и разработок по управлению инвазией гигантских борщевиков.

Цель настоящей работы – молекуляр-

но-филогенетический анализ растений из естественного ареала на Западном Кавказе, относимых по морфологическим признакам к *H. mantegazzianum*, и инвазионных гигантских борщевиков, традиционно называемых *H. sosnowskyi*, расселившихся на территории европейского Севера России.

Полученные данные позволят провести проверку гипотезы о возможности отнесения гигантских борщевиков, произрастающих в главных центрах их первичной интродукции на территории Республики Коми и Мурманской обл., к виду *H. mantegazzianum*.

Материалы и методы

Отбор и гербаризация растений

Образцы растений для оценки морфоло-

гических признаков и молекулярно-генетических исследований были собраны (рис. 2, рис. 3): в пределах естественного ареала *H. mantegazzianum* на Западном Кавказе (30 образцов) и *H. sosnowskyi*, собранные в окрестностях г. Нальчик (четыре образца), а также в районах, где растения под названием *H. sosnowskyi* были впервые интродуцированы в качестве сельскохозяйственной культуры: Мурманская обл. и Республика Коми (16 образцов). Четыре образца *Heracleum sibiricum* L. (синоним *Heracleum sphondylium* subsp. *sibiricum* (L.) Simonk.) были отобраны в Республике Коми для использования в качестве сестринской группы. Описание 50 образцов растений рода *Heracleum*, использованных в настоящей работе, включая

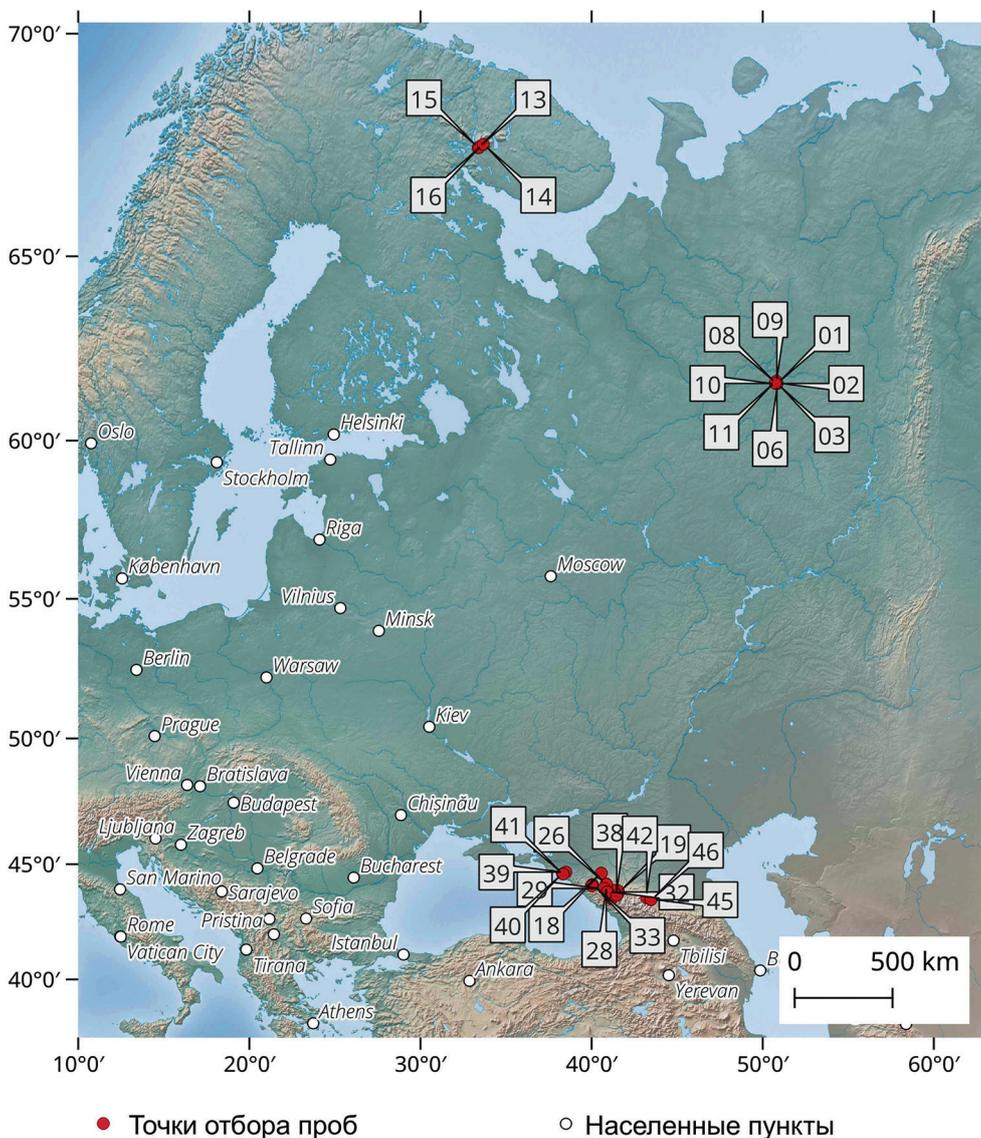


Рис. 2. Точки отбора образцов гигантских инвазионных видов *Heracleum* на территории Западного Кавказа и европейского Севера России.

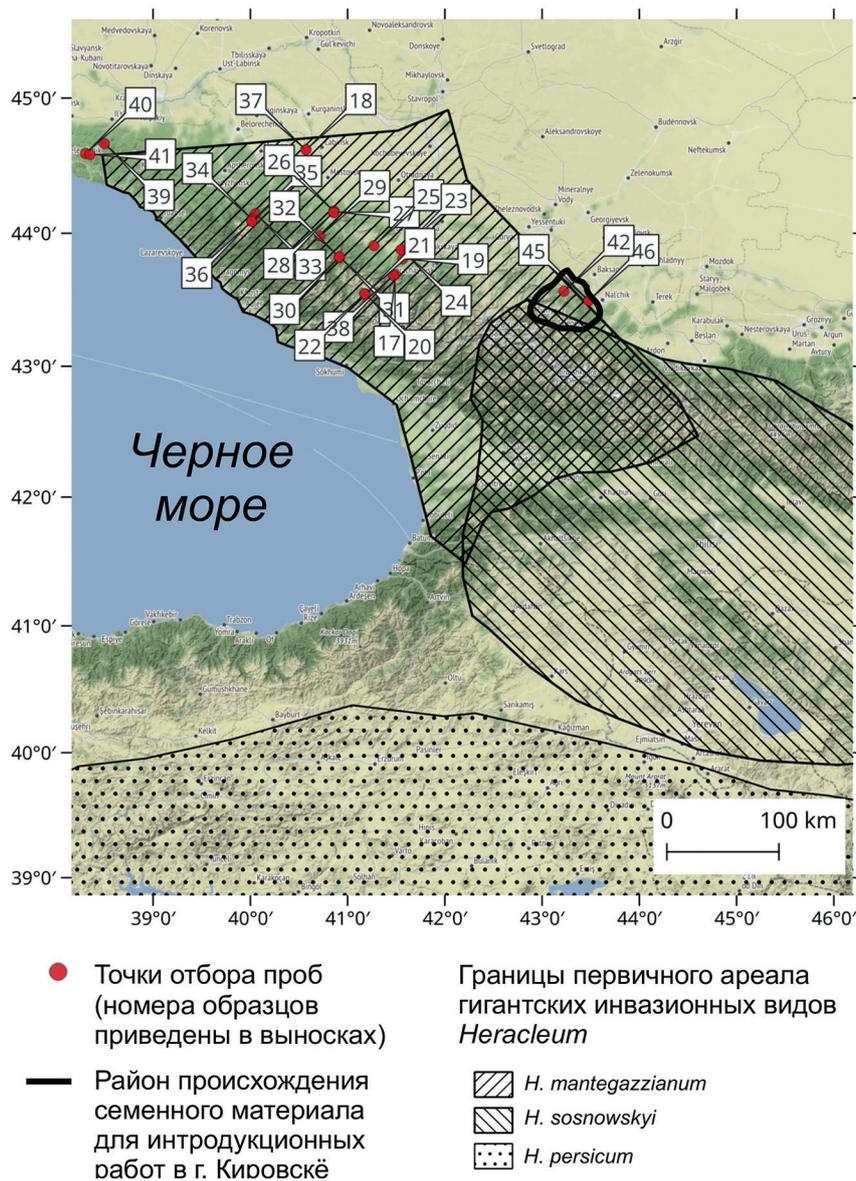


Рис. 3. Границы первичных ареалов *Heracleum mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*, *H. persicum* и точки отбора проб. Границы ареалов приведены в соответствии с работой Jahodová et al. [2007a].

информацию о месте сбора (в том числе географических координатах), местах хранения гербарных образцов (включая ссылки на изображения гербарных листов) и номерах последовательностей, опубликованных в GenBank, опубликованы в открытом доступе в репозитории Zenodo [Shadrin et al., 2024].

Отбор образцов проведѣн в период цветения – начала плодоношения растений. Для гербаризации отбирали небольшой сегмент соцветия и средний лист генеративного побега, который разрезали для размещения на нескольких гербарных листах. Помимо этого, для каждой особи были измерены длина репродуктивного побега и его диаметр у основания, проведена фотосъёмка растений в

их местообитаниях. Образцы листьев, предназначенные для молекулярно-генетического анализа, помещали в индивидуальные бумажные пакеты, после чего высушивали при комнатной температуре и хранили до проведения анализов в условиях, исключающих их контаминацию.

Отдельно следует отметить образцы под номерами с 43 по 46, собранные в окрестностях села Кенже (городской округ г. Нальчик Кабардино-Балкарской Республики, рис. 3). Здесь вид широко распространѣн вдоль русла р. Кенже и р. Нальчик и на прилегающих территориях, где произрастает на нарушенных местообитаниях и по опушкам широколиственного леса. Согласно тексту диссертации

ции Александра Александровича Марченко, «Борщевик Сосновского произрастает в Кабардинской АССР. Для выяснения условий местопроизрастания вида мы знакомимся с растительностью кормовых угодий в предгорьях Нальчикского района, окрестностей селения Кенже, в поймах рек Нальчика и Белой, горы Лысой (высота 600–1100 м над уровнем моря), а также с субальпийскими и альпийскими лугами при подъёме по ущелью Адер-су до альпинистского лагеря «Химик», расположенного на высоте 2700 м над уровнем моря и выше его» [Марченко, 1953, с. 36]. Для первоначальной интродукции семенной материал брали из трёх мест произрастания: окрестности с. Кенже (пригород г. Нальчик), окрестности с. Белая Речка (окрестности г. Нальчик) и из района Скалистого хребта в окрестностях урочища Голубые озёра.

Предварительная идентификация растений

Образцы *H. sibiricum* L. были идентифицированы с использованием ключа, опубликованного в монографии «Флора северо-востока европейской части СССР» [Толмачёв, 1977]. Образцы гигантских инвазионных борщевиков определяли с помощью ключей, опубликованных в четырёх работах [Манденова, 1950; Цвелёв, 2000; Пименов, Остроумова, 2012; Vladimirov et al., 2019]. При использовании каждого из имеющихся ключей мы сталкивались с невозможностью однозначной идентификации образцов гигантских борщевиков, опираясь на указанные морфологические признаки. Далее в работе приведены результаты идентификации, полученные с использованием ключа, опубликованного в монографии М.Г. Пименова и Т.А. Остроумовой [2012]. Эти авторы признают существование видов *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum*, но рассматривают *H. mantegazzianum* Sommier & Levier и *H. persicum* Desf. в качестве синонимов *H. wilhelmsii* Fisch. & Avé-Lall. В то же время, эти авторы признают, что «Название *H. mantegazzianum* несравненно чаще встречается в литературе, чем название *H. wilhelmsii*, поскольку из-за красивой листвы вид широко культивируется (под названием *H. mantegazzianum*) в ботанических

садах Европы и Америки и во многих районах стал инвазионным. В связи с этим можно было бы подумать о консервации названия *H. mantegazzianum* вместо использования *H. wilhelmsii* и *H. persicum*» [2012, с. 334].

Определение видовой принадлежности растений проводили преимущественно по степени рассечения листа, форме долей сегментов листа и конечного сегмента листа. Использование таких признаков как форма диска (подстолбия) цветков, относительная длина столбиков, цвет пыльников, характер опушения нижней части листа было осложнено из-за частого несовпадения ни одной из этих характеристик с наблюдаемыми у конкретного образца. В некоторых случаях было обнаружено, что не только количественные, но и качественные признаки у отдельных образцов занимают промежуточное положение между приводимыми в используемом ключе для *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum*.

Растения из района работ А.А. Марченко (образцы № 43–46) по морфологическим признакам изначально при сборе семенного материала идентифицировались как *Heracleum sosnowskyi* Manden. Гербарные сборы хранятся в Секторе Кавказа Отдела Гербарий Высших растений Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE). Гербарные сборы, собранные нами 3 августа 2022 г., идентифицированы как *Heracleum sosnowskyi* и хранятся в гербарном фонде Перкальского дендрологического парка БИН РАН (PALE) и Отдела Гербарий Высших растений Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE). Фотоматериал с этих точек сбора представлен на сайтах inaturalist.org [Inaturalist..., 2024] и gbif.org [GBIF..., 2024].

Каждый экземпляр гигантских борщевиков на основе совпадения большего количества признаков, соответствующих описанию того или иного вида, был отнесён либо к *H. mantegazzianum*, (*H. cf. mantegazzianum*), либо к *H. sosnowskyi* (*H. cf. sosnowskyi*). Образцы с равным количеством совпадений признаков, характерных для каждого из видов, или с преобладанием промежуточного состояния признаков были помечены как *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf. mantegazzianum* [Shadrin et al., 2024]. Можно сказать, что исследованные нами образцы

продемонстрировали непрерывный ряд изменчивости морфологических признаков от *H. mantegazzianum* до *H. sosnowskyi*.

Выделение, амплификация, секвенирование ДНК

Тотальную ДНК выделяли из сухих листьев с использованием набора «ДНК-Экстрат-3» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) фрагментов проводили в 50 мкл смеси, содержащей 10 мкл реакционной смеси ScreenMix (Евроген, Россия), 10 мкл каждого праймера (0.3 мкМ) (Евроген, Россия), 18 мкл ddH₂O (ПанЭко, Россия) и 2 мкл ДНК-матрицы (1÷100 нг). Праймеры для амплификации маркерных участков ДНК, используемых в анализе, и условия проведения ПЦР представлены в таблице 1.

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 1.5% агарозном геле в ТАЕ-буфере и очищали с использованием системы очистки ДНК ColGen (Синтол, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Секвенирование проводили с использованием набора реагентов ABI Prism BigDye Terminator v. 3.1 на приборе «Нанофор 05» (Синтол, Россия). Выделение ДНК, ПЦР и секвенирование проводили с использованием оборудования ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар.

Биоинформационный анализ

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с применением алгоритма ClustalW в программе MegaX [Thompson et al., 1994; Kumar et

Таблица 1. Праймеры и условия проведения полимеразной цепной реакции

Маркер	Название праймера	Последовательность прямого/обратного праймеров (5'-3')	Автор	Условия ПЦР
Ген <i>rbcL</i>	SI_For/ SI_Rev	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC/ GTAATAATCAAGTCCACCRCG	Kress et al., 2009	95 °C – 1 мин; 95 °C – 30 с, 50 °C – 30 с, 72 °C – 45 с, 35 циклов; 72 °C – 5 мин
Ген <i>matK</i>	KIM 3F/ KIM 3R	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG/ ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC	Kress et al., 2009	95 °C – 1 мин; 95 °C – 30 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 45 с, 35 циклов; 72 °C – 5 мин
Инtron гена <i>trnL</i>	trnL5/ trnL7	CATTACAAATGCGATGCTCT TCTACCGATTTCGCCATATC	Taberlet et al., 1991	95 °C – 1 мин; 95 °C – 30 с, 55 °C – 30 с, 72 °C – 45 с, 35 циклов; 72 °C – 5 мин
<i>trnH</i> - <i>psbA</i>	trnH2/ psbAF	CGCGCATGGTGGATTACACAATCC/ GTTATGCATGAACGTAATGCTC	Tate, Simpson, 2003	95 °C – 1 мин; 95 °C – 30 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 45 с, 40 циклов; 72 °C – 5 мин
ITS	ITS-4/ ITS-5	TCCTCCGCTTATTGATATGC/ GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	Baldwin et al., 1995	95 °C – 1 мин; 95 °C – 30 с, 55 °C – 30 с, 72 °C – 45 с, 35 циклов; 72 °C – 5 мин
ETS	18S-ETS/ Umb-ETS	ACTTACACATGCATGGCTTAATCT/ GCGCATGAGTGGTGAWTKGTA	Logacheva et al., 2010	95 °C – 1 мин; 95 °C – 30 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 45 с, 35 циклов; 72 °C – 5 мин
<i>rps16</i> intron	<i>rps16</i> -F/ <i>rps16</i> -R	ATAGACGGCTCATTG GGA/ CGT GCG ACT TGAAGG	Wang et al., 2008	95 °C – 3 мин; 94 °C – 1 мин, 52 °C – 1 мин, 72 °C – 1.5 мин, 30 циклов; 72 °C – 10 мин
<i>trnQ</i> - <i>rps16</i>	trnQ/ <i>rps16</i> -1R	CCCGCTATTCGGAGGTTTCGA/ ATCGTGTCTTCAAGTCGCA	Calviño, Downie, 2007	
<i>rps16</i> - <i>trnK</i>	3exon-1/ trnK	TTCTTGAAAAGGGCGCTCA/ TACTCTACCGTTGAGTTA	Calviño, Downie, 2007	
<i>rpl32</i> - <i>trnL</i>	rpl32-F/ trnL	CAGTTCCAAAAAACGTAAGTTC/ CTGCTTCCSTAAGAGCAGCGT	Timme et al., 2007	

al., 2008]. Филогенетические деревья строили с использованием метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) в программе MegaX. При построении деревьев использованы нуклеотидные последовательности, полученные нами [Shadrin et al., 2024], а также данные, доступные в базах данных Genbank [2024] и BOLD Systems [2024]. В качестве внешней группы при реконструкции филогенетических деревьев использовали *Azilia eryngioides* (Pau) Hedge & Lamond. В результате анализа были охарактеризованы как индивидуальные последовательности, так и комбинированные данные.

Результаты

В молекулярно-филогенетический анализ было включено 50 образцов растений рода *Heracleum* [Shadrin et al., 2024]. Первоначальный анализ по каждому маркеру был проведён на выборочной группе образцов, включающих только растения, предварительно идентифицированные нами как *H. cf. sosnowskyi*, *H. mantegazzianum* и *H. cf. mantegazzianum*.

По данным, опубликованным ранее в GenBank и BOLD Systems, маркеры хлоропластной ДНК (гены *rbcL*, *matK* и межгенный спейсер *psbA-trnH*) у представителей рода *Heracleum* являются высококонсервативными и не подходят для различия (идентификации) видов внутри этого рода. Тем не менее, мы провели анализ этих маркеров у образ-

цов, которые были идентифицированы нами как *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum*, так как информация о данных видах была представлена лишь единичными последовательностями *rbcL* и *matK* для *H. mantegazzianum* и *psbA-trnH* для *H. sosnowskyi*. Результаты секвенирования хлоропластных генов *rbcL* и *matK*, выделенных из 27 образцов, собранных нами, в сочетании с ранее опубликованными данными, подтвердили наши ожидания. Большинство анализируемых видов, даже из разных секций, показало полное сходство данных последовательностей. Степень попарных различий сравниваемых последовательностей составила – от 0 до 1.1% и от 0 до 1.5%, соответственно для *rbcL* и *matK*. Между образцами растений, идентифицированных нами как *H. mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*, *H. cf. sosnowskyi* и *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf. mantegazzianum*, степень попарных генетических различий составила 0 и 0–0.1%, соответственно для *rbcL* и *matK* (табл. 2). Попарное генетическое расстояние 0.1% для последовательности *matK* выявлено за счёт замены у ряда образцов в позиции 174 (C/G). Данная замена никак не коррелировала с видовой принадлежностью растений.

Межгенный спейсер *psbA-trnH* проявляет гораздо более высокую степень полиморфизма. В полученных нами 41 последовательностях этого маркера мы обнаружили две

Таблица 2. Характеристики последовательностей ДНК-маркеров образцов *Heracleum mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*, *H. cf. sosnowskyi* и *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf. mantegazzianum*

ДНК Маркер	Длина прочтения (п.н.)	Длина после выравнивания (п.н.)	Количество постоянных позиций	Количество переменных позиций	Количество информативных позиций	Доля переменных позиций, %
<i>rbcL</i>	544	544	544	0	0	0.0
<i>matK</i>	719	719	718	1	1	0.1
<i>psbA-trnH</i>	188–189	189	177	11	2	5.8
<i>rps16 intron</i>	755–757	757	752	3	2	0.4
<i>trnQ-rps16</i>	1217–1219	1221	1210	8	1	0.1
<i>rps16-trnK</i>	668–671	673	667	1	0	0.8
<i>rpl32-trnL</i>	955–968	978	970	7	5	0.7
ITS	602	602	601	1	0	0.2
ETS	369	369	367	3	2	0.5
Combined (ITS+ETS)	971	971	968	4	2	0.8

из описанных ранее [Logacheva et al., 2008, 2010] вариаций последовательности *psbA-trnH* для рода *Heracleum* в позициях с 60 по 76 п. о.: TTGTTСТАТСА и TGАТАГААСАА (рис. 4). Однако встречаемость этих вариаций никак не связана с отнесением образцов к тому или иному виду. Отсутствие указанной взаимосвязи справедливо и для последовательностей *psbA-trnH*, которые были доступны в GenBank и BOLD. Ещё один полиморф-

ный сайт в позиции 30 (G/T) в исследованной нами выборке также не показал корреляции с видовой принадлежностью растений, оценённой на основании изучения морфологических признаков.

Далее нами была исследована изменчивость интрона гена *rps16* и трёх межгенных спейсеров: *trnQ-rps16*, *rps16-trnK* и *rpl32-trnL*. Эти маркеры ранее были использованы для установления филогении рода *Heracleum*

		366667777	
		0023581346	
Heracleum cf. sosnowskyi	Q0274556	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	Q0274557	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	Q0274558	TTC TTTTCTT	
Heracleum cf. sosnowskyi	Q0274559	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762530	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762531	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762532	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762533	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762534	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762535	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762536	GTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762537	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762538	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762539	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762540	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762541	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762542	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762543	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762544	GAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762545	GTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762546	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762547	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762548	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762549	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762550	TAAGAAAAGA	
Heracleum mantegazzianum	OL762551	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762552	TTC TTTTCTT	
Heracleum mantegazzianum	OL762553	GTC TTTTCTT	
Heracleum cf. sosnowskyi	Q0274554	GTC TTTTCTT	
Heracleum cf. sosnowskyi	Q0274555	TTC TTTTCTT	
Heracleum cf. mantegazzianum	OL762500	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. mantegazzianum	OL762501	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762502	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762503	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762498	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762499	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. mantegazzianum	OL762493	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762494	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762495	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. sosnowskyi	OL762496	GAAGAAAAGA	
Heracleum cf. mantegazzianum	OL762497	GAAGAAAAGA	
Heracleum sosnowskyi	DQ996584	TAAGAAAAGA	
Heracleum transcaucasicum	DQ869374	GAAGAAAAGA	
Heracleum sphondylium subsp. sibiricum	EU594934	GTC TTTTCTT	
Heracleum sphondylium subsp. sibiricum	OL762504	TTC TTTTCTT	
Heracleum sphondylium subsp. sibiricum	OL762505	TTC TTTTCTT	
Heracleum sphondylium subsp. sibiricum	OL762506	TTC TTTTCTT	
Heracleum sphondylium subsp. sibiricum	OL762507	TTC TTTTCTT	
Heracleum persicum	EU594939	GTC TTTTCTT	

Рис. 4. Полиморфные сайты в последовательностях *trnH-psbA* хлоропластной ДНК изученных образцов рода *Heracleum*. Регистрационные номера образцов в GenBank приведены после названий видов.

[Yu et al., 2011], а также были рекомендованы для идентификации *H. sosnowskyi* [Barcoding Facility for Organisms and Tissues of Policy Concern 2019]. Данные последовательности были получены для 10 образцов, предварительно идентифицированных нами как *H. mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum* и *H. cf. sosnowskyi*. Для каждого из маркеров была рассчитана попарная генетическая дистанция, которая составила от 0.1% до 0.8% (табл. 2). Однако, как видно на представленных дендрограммах, выявленная изменчивость не была связана с видовой принадлежностью образцов (рис. 5). Объединение последовательностей интрона гена *rps16* и трёх межгенных спейсеров *trnQ-rps16*, *rps16-trnK* и *rpl32-trnL* в одно выравнивание, показало схожую картину и тоже не позволило связать выявленную изменчивость последовательностей хлоропластной ДНК с видовой принадлежностью.

Изменчивость последовательности ITS ядерной ДНК согласована с делением рода

Heracleum на виды (рис. 6). Попарная генетическая дистанция между различными видами рода *Heracleum* варьировала от 0 до 4.7%. В то же время группа образцов растений, идентифицированных нами как *H. mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi* и *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf. mantegazzianum*, продемонстрировала очень низкий уровень варибельности последовательности ITS. Попарная генетическая дистанция для этой группы находилась в диапазоне от 0% до 0.2% (табл. 2). Значение 0.2% связано с единственной заменой у образца *Heracleum cf. sosnowskyi* (NCBI: OL744467) в регионе 5.8S рРНК, также в этом регионе у трёх образцов (NCBI: OQ222183, OQ222184, OQ222185), отобранных нами на Северном Кавказе и идентифицированных как *H. cf. sosnowskyi*, имеется гибридный пик (R).

Образцы, идентифицированные нами как *H. mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*, *H. cf. sosnowskyi* и *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf. mantegazzianum* образовали на моле-

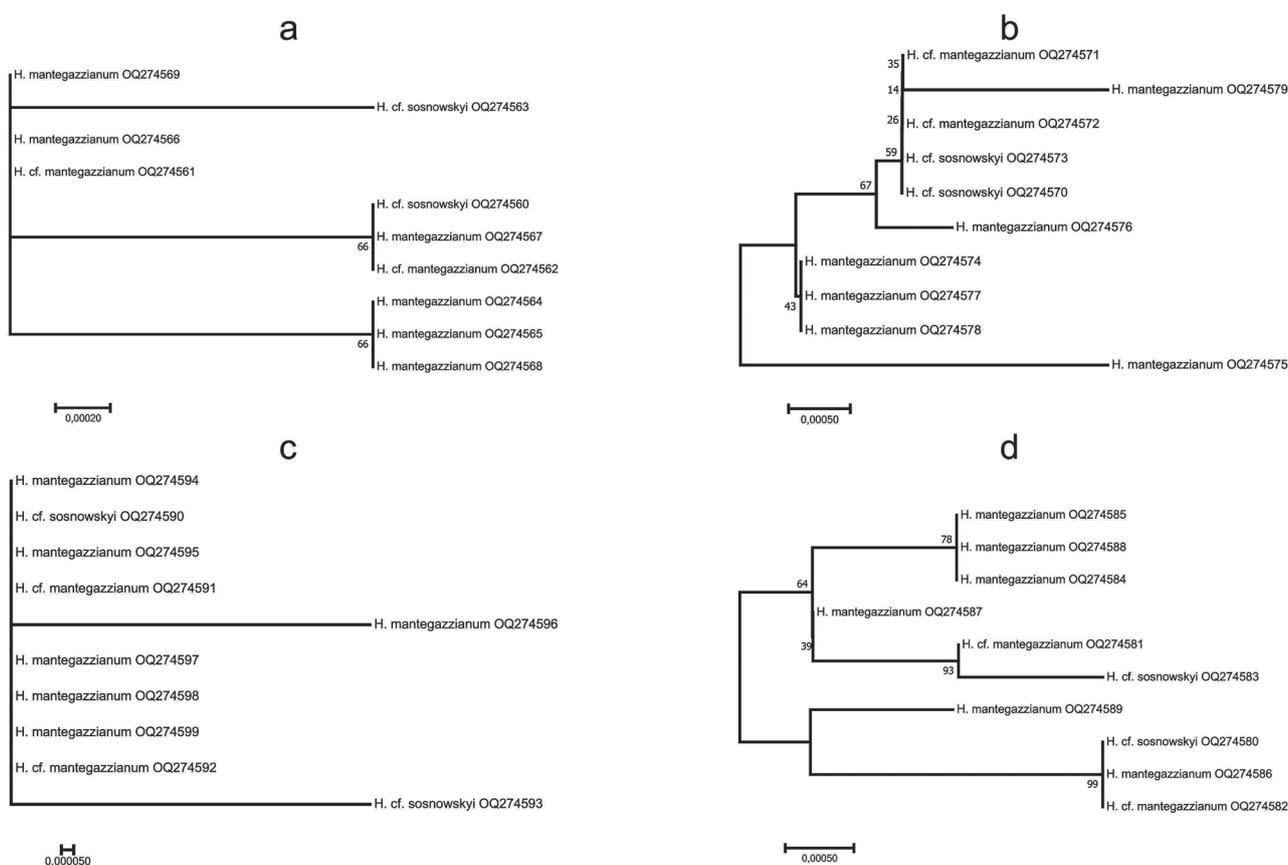


Рис. 5. Молекулярно-филогенетические деревья, построенные на основе сравнения четырёх маркеров хлоропластной ДНК (метод максимального правдоподобия): а – интрон гена *rps16*, б – *trnQ-rps16*, в – *rps16-trnK*, д – *rpl32-trnL*. Регистрационные номера образцов в GenBank приведены после названий видов.

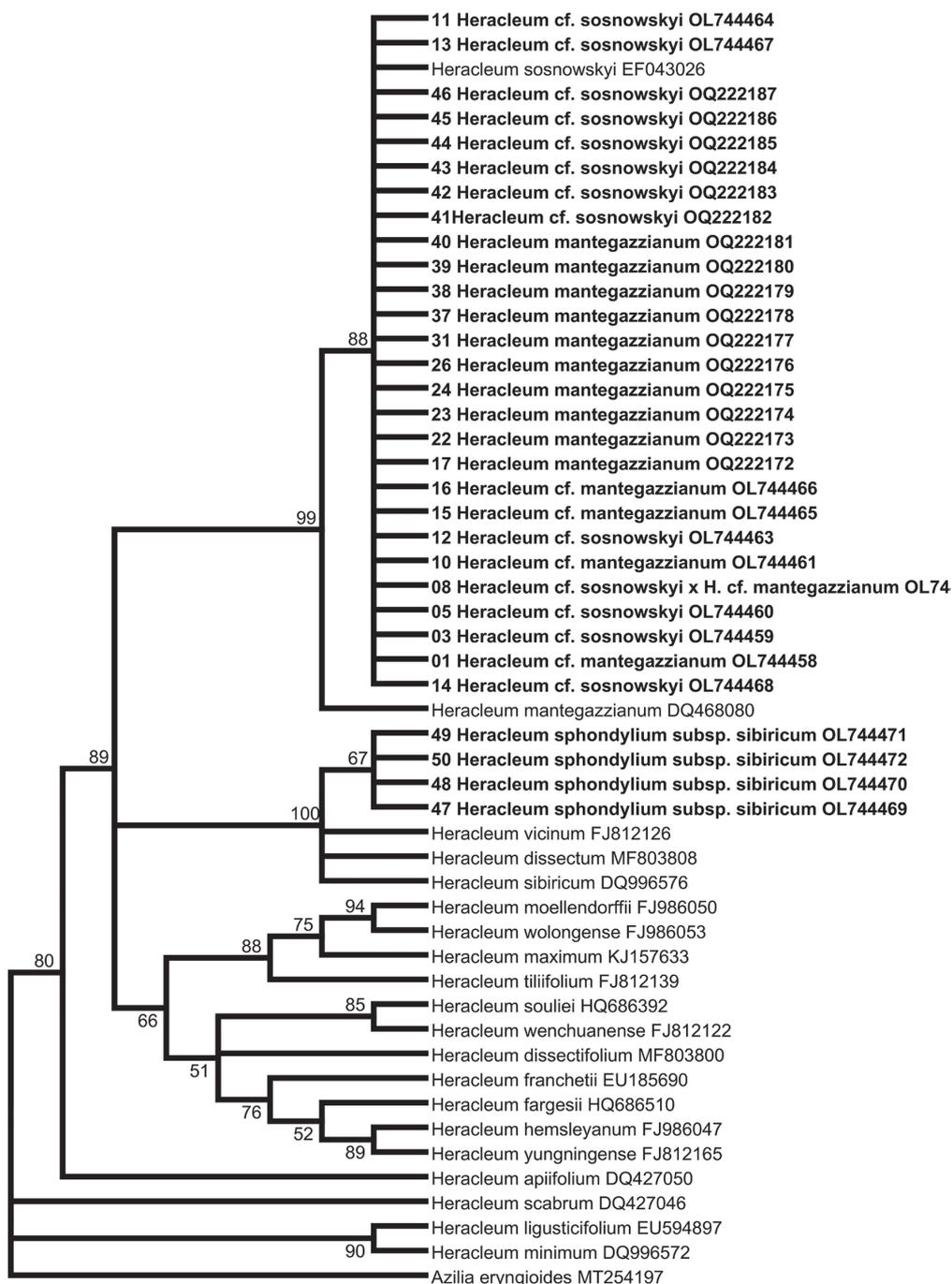


Рис. 6. Филогенетическое древо изученных видов рода *Heracleum*, созданное на основе последовательностей маркера ITS с использованием алгоритма максимального правдоподобия. Регистрационные номера образцов в GenBank приведены после названий видов. Образцы, полученные авторами, выделены жирным шрифтом.

кулярно-филогенетическом древе отдельную кладу, отделяющую их от других видов рода *Heracleum* с высоким уровнем бутстреп-поддержки (99), в том числе и от единственного образца *Heracleum mantegazzianum* (NCBI: DQ468080), доступного на момент данного исследования в базе данных GenBank. Данный образец отличается от исследуемой нами группы образцов двумя заменами в позиции 125 (A/G) и в позиции 201 (G/T).

Последовательности ITS, полученные для образцов *Heracleum sphondylium* subsp. *sibiricum*, вошли в одну субкладу с *Heracleum sibiricum*, доступным в GenBank (рис. 6).

Похожие результаты были получены при анализе последовательности региона ETS ядерной ДНК (рис. 7). Для образцов, идентифицированных нами как *H. mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*, *H. cf. sosnowskyi* и *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf.*

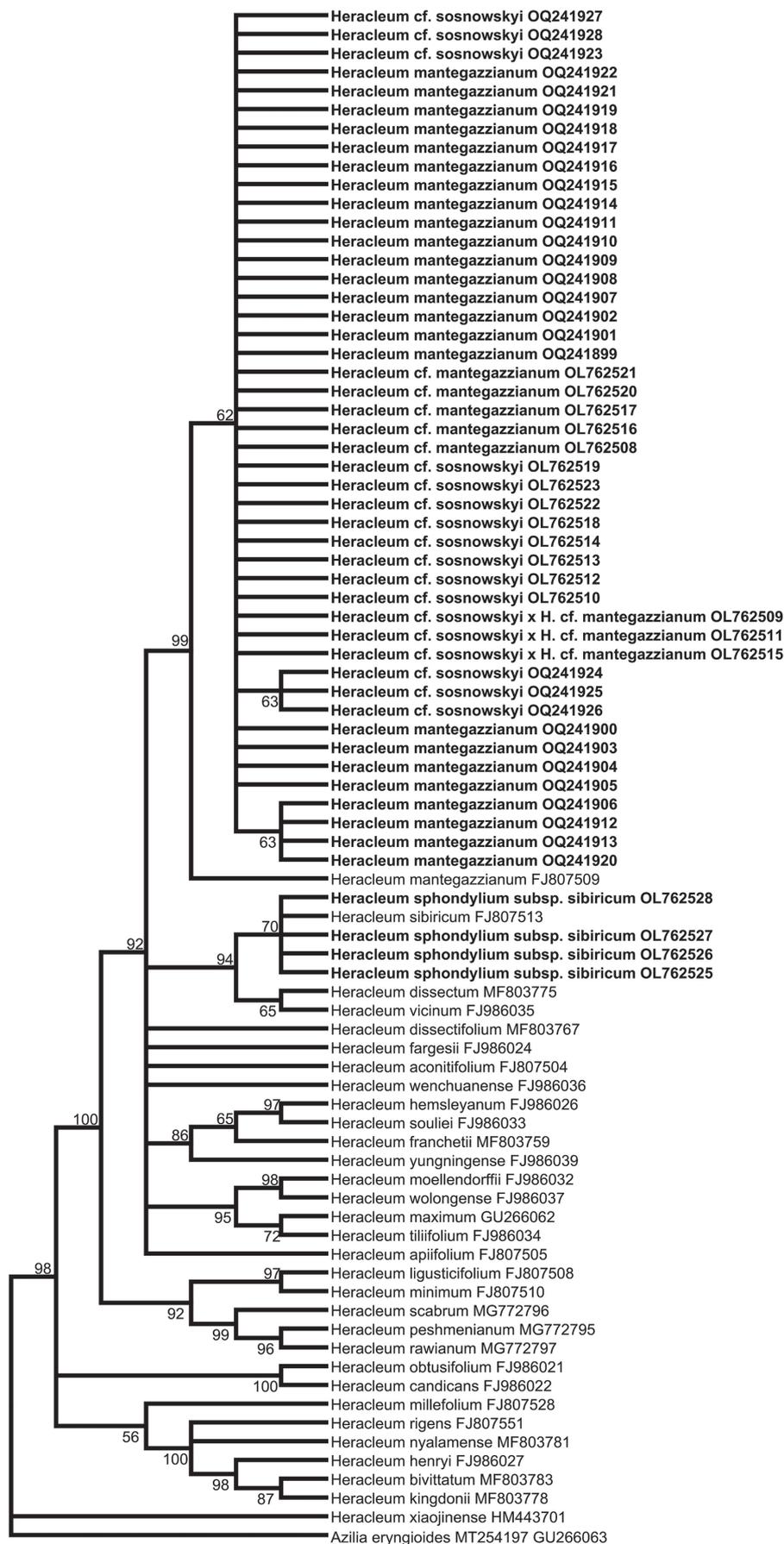


Рис. 7. Филогенетическое древо изученных видов рода *Heracleum*, созданное на основе последовательностей маркера ETS с использованием алгоритма максимального правдоподобия. Регистрационные номера образцов в GenBank приведены после названий видов. Образцы, полученные авторами, выделены жирным шрифтом.

mantegazzianum, выявлено две замены в позициях 60 (G/A) и 294 (C/T), которые никак не коррелировали с видовой принадлежностью. Средняя попарная генетическая дистанция между образцами гигантских инвазионных борщевиков, собранных на Кавказе и севере европейской части России, варьировала от 0% до 0.5% (табл. 2). При этом средняя попарная генетическая дистанция для всех видов рода *Heracleum*, взятых в анализ, составила от 2.8 до 17%. Единственный образец *H. mantegazzianum*, доступный в GenBank (NCBI:FJ807509), взятый нами в анализ, выбивается из общей группы гигантских инвазионных борщевиков за счёт наличия замены в положении 355 (A/G) и трёх делеций в позициях 19, 37 и 71 (рис. 7).

Последовательности ETS, полученные для образцов *Heracleum sphondylium* subsp. *sibiricum*, были идентичны последовательностям этого маркера, доступным в GenBank для *H. sibiricum* (рис. 7).

Филогенетический анализ комбинированной последовательности (ITS+ETS = 971 п.о.) воспроизвёл топологию деревьев, которые были получены при раздельном анализе последовательностей ITS и ETS.

Обсуждение

В рамках данного исследования проведён поиск генетических отличий между образцами *H. mantegazzianum*, собранными в нативной части ареала этого вида на Западном Кавказе, образцами гигантских инвазионных борщевиков из окрестностей г. Кировск и г. Сыктывкар и образцами *H. sosnowskyi*, собранными в окрестностях г. Нальчик (из района происхождения семенного материала для первичной интродукции на севере Европейской части России). Сравнение генетических последовательностей и поиск в них значимых отличий проверены с использованием девяти маркеров, часть из которых широко применяется для ДНК-баркодинга сосудистых растений. Семь последовательностей относятся к хлоропластной ДНК: *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH*, *rps16* intron, *trnQ-rps16*, *rps16-trnK*, и *rpl32-trnL* и два маркера к ядерной ДНК: ITS и ETS.

Последовательности *rbcL* и *matK* продемонстрировали минимальный уровень поли-

морфизма, что характеризует их как мало пригодные для разграничения видов не только в комплексе гигантских инвазионных борщевиков, но и других видов рода *Heracleum*. Маркеры *psbA-trnH*, *rps16* intron, *trnQ-rps16*, *rps16-K* и *rpl32-trnL* обладают различным уровнем полиморфизма, но их изменчивость не коррелирует с отнесением образцов к *H. mantegazzianum* (*H. cf. mantegazzianum*) и *H. sosnowskyi* (*H. cf. sosnowskyi*), выполненным на основании оценки морфологических признаков растений. Наши результаты хорошо согласуются с ранее полученными данными по реконструкции филогении семейства Ариáceе на основе последовательностей хлоропластной ДНК [Logacheva et al., 2008; Liu et al., 2014]. Последовательности ITS и ETS ядерной ДНК продемонстрировали достаточный уровень полиморфизма, который оказался хорошо согласован с границами большинства взятых в анализ видов рода *Heracleum*. Следует отметить, что, согласно с ранее проведёнными исследованиями, эволюция этих последовательностей не всегда хорошо коррелирует с эволюцией морфологических признаков в семействе Ариáceе [Logacheva et al., 2010; Yu et al., 2011; Liu et al., 2014].

Проведённый нами молекулярно-филогенетический анализ показал, что применение последовательностей ITS и ETS в отдельности или совместно позволяет отделить растения *H. mantegazzianum*, отобранные в границах нативного ареала, и образцы гигантских инвазионных борщевиков, собранные в местах их первичной интродукции, от других представителей рода *Heracleum*. Это свидетельствует в пользу выдвинутой нами гипотезы о том, что все образцы гигантских инвазионных борщевиков, собранные нами на севере европейской части России и на территории Западного Кавказа, возможно, относятся к одному виду – *H. mantegazzianum*. Другими словами, высока вероятность того, что все образцы, идентифицированные нами на основании оценки морфологических признаков как *H. mantegazzianum*, *H. cf. mantegazzianum*, *H. sosnowskyi*, *H. cf. sosnowskyi* *H. cf. sosnowskyi* и *H. cf. sosnowskyi* × *H. cf. mantegazzianum* являются одним видом – *H. mantegazzianum* или гибридом между *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum*.

А.А. Марченко в диссертации [1953, с. 38] указывает: «Особенно выделяется своей мощностью высокотравье, образованное гигантскими видами борщевиков, достигающими 2–3 метров высоты... Борщевик Сосновского встречается совместно с борщевиком Мантегацци...». В этой части диссертации приводятся фотографии *H. mantegazzianum* в высокотравных сообществах Северного Кавказа. То есть А.А. Марченко свободно различал в границах одного сообщества *H. mantegazzianum* от *H. sosnowskyi*. Учитывая способность к гибридизации близкородственных [Сацыперова, 1984] и даже таких филогенетически далёких друг от друга видов как *H. mantegazzianum* и *H. sphondylium* [Stewart, 1979], следует признать, что невозможно совместное произрастание и поддержание генетической изоляции *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi*.

Спорность границ между видами, филогенетически близкими к *H. mantegazzianum*, становится очевидной при сопоставлении монографических сводок, содержащих описания морфологии и ареала кавказских видов *Heracleum* [Манденова, 1950; Тамамшян, 1967; Пименов, Остроумова, 2012]. При обработке рода *Heracleum* в работе «Флора Кавказа» [Гроссгейм, 1967] С.Г. Тамамшян указала *H. sosnowskyi* в качестве синонима *H. wilhelmsii*. Сопоставление карты ареалов *H. mantegazzianum* и *H. wilhelmsii* из данной монографии [Гроссгейм, 1967] с картой ареалов *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi*, приведённой в работе С. Яходовой с соавторами [Jahodová et al. 2007a], показывает, что границы ареалов *H. wilhelmsii* и *H. sosnowskyi* на двух картах практически совпадают. Также совпадают карты ареалов *H. mantegazzianum*, приведённые в обеих работах. При этом район работ А.А. Марченко [1953] расположен значительно ближе к центру ареала *H. mantegazzianum*, чем к центру ареала *H. sosnowskyi* (*H. wilhelmsii*) [Chadin, 2024]. С позиции М.Г. Пименова и Т.А. Остроумовой [2012] название *H. sosnowskyi* является валидным, а *H. mantegazzianum* является синонимом *H. wilhelmsii*.

Как было указано во введении, гигантские инвазионные борщевики из Мурманской обл.

и Республики Коми явились основой для получения семенного материала, который широко рассылался в регионы бывшего СССР. Результаты нашей работы демонстрируют, что инвазионный ареал *H. mantegazzianum* включает не только Западную Европу, как считалось ранее, но и практически всю территорию Европы.

Анализ литературы и полученные нами результаты указывают на один из двух возможных выводов: (а) – растения, впервые интродуцированные на севере европейской части России, скорее всего, могли быть неверно идентифицированы как *H. sosnowskyi* (в том числе из-за гибридизации двух видов, спонтанно произошедшей на самом первом этапе интродукции), или (б) – название *H. sosnowskyi*, возможно, следует считать синонимом *H. mantegazzianum*. В настоящее время мы установили только факт отсутствия на территории Мурманской обл. и Республики Коми растений *H. sosnowskyi*. Отметим, что гипотезу о синонимии названий *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum* поддерживают результаты, полученные группой исследователей под руководством М.Д. Логачёвой [Ptitsyna et al., 2023]. Исследования разнообразия маркеров пластидной и ядерной ДНК образцов *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum* из гербариев (MW, LE) и растений, отобранных на территории инвазионного ареала (преимущественно европейской части России), позволили авторам сделать вывод о том, что «...there is no clear distinction between *H. sosnowskyi* and *H. mantegazzianum* based on current data...» (...нет чёткой разницы между *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum* на основе текущих данных...).

Эти выводы, на первый взгляд, противоречат обширному исследованию генетического разнообразия комплекса гигантских борщевиков, проведённому группой С. Яходовой [Jahodová et al., 2007b]. В упомянутом исследовании для определения генетических дистанций между образцами *H. sosnowskyi*, *H. mantegazzianum* и *H. persicum*, собранными как из инвазионного, так и нативного ареалов этих видов, были применены AFLP-маркеры. Однако внимательный анализ результатов этой работы показывает,

что, хотя образцы, идентифицированные как *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum*, образуют отдельные кластеры на дендрограмме, построенной на основе AFLP-маркеров, на самом деле они принадлежат к одной и той же кладе более высокого уровня. В пределах этой клады *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum* разделяются с бутстреп-поддержкой менее, чем 50%. Также стоит отметить, что метод AFLP обычно позволяет получить большее количество полиморфных локусов и, как правило, позволяет идентифицировать большее количество однородных групп внутри изучаемых видов растений по сравнению с использованием ISSR (межмикросателлитных) и SSR (микросателлитных) маркеров [Nybom, 2004].

Исследования популяционной генетики *H. mantegazzianum* с использованием микросателлитных маркеров в Великобритании [Walker et al., 2003] и Финляндии [Niinikoski, Korpelainen, 2015] позволили авторам идентифицировать хорошо выделяемые популяционные группы внутри этого вида. На территории Великобритании эти генетические границы между популяциями *H. mantegazzianum* коррелировали с границами водосборных бассейнов. Границы между двумя кластерами восьми популяций *H. mantegazzianum*, изученных в Финляндии, связывают с двумя независимыми событиями внедрения этого инвазионного вида на территорию страны. Ещё один пример наличия противоречий между границами видов внутри секции *Pubescentia*, проведёнными на основе морфологических признаков, и границами генетически однородных групп, подтверждается результатами исследования двух других видов этой секции: *H. persicum* и *H. rechingeri* Manden. [Daemi-Saeidabad et al., 2020]. Микросателлитные маркеры не позволили выявить различий между образцами этих видов.

Выводы

Таким образом, нами показано, что растения *H. mantegazzianum*, собранные в границах нативного ареала этого вида, и гигантские инвазивные борщевики, собранные в районах их первичной интродукции на севере ев-

ропейской части России, демонстрируют неустойчивые различия по морфологическим признакам, идентичные экологические признаки и не различаются по ДНК-маркерам. Всё это свидетельствует в пользу гипотезы о том, что *H. mantegazzianum* – единый полиморфный вид. Возможно, в середине XX в. популяции *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum* из разных регионов Большого Кавказа ещё можно было отличить друг от друга, но с началом интенсивных усилий по интродукции генофонды обоих видов смешались. Для того, чтобы проверить эту гипотезу и гипотезу о некорректности выделения *H. sosnowskyi* в качестве самостоятельного вида, необходимо изучить образцы растений этого гигантского борщевика из *locus classicus* (окрестности села Леловани, Адигенский муниципалитет, край Самцхе-Джавахети, Грузия).

Финансирование работы

Исследование выполнено в рамках НИ-ОКТР «Фотосинтез, дыхание и биоэнергетика растений и фототрофных организмов (физиолого-биохимические, молекулярно-генетические и экологические аспекты)» (рег. № 122040600021-4).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

Статья не содержит никаких исследований с участием животных в экспериментах, выполненных кем-либо из авторов.

Литература

- Валуйских О.Е., Шадрин Д.М. Филогенетическое положение *Phlojodicarpus villosus* (Ariaceae) на основе анализа последовательностей ITS b TRNH-PSBA // Turczaninowia. 2021. Т. 24. № 4. С. 12–22. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.24.4.2>
- Гроссгейм А.А. Флора Кавказа. 2-е изд., перераб. и доп. Том 7. Umbelliferae-Scrophulariaceae. Л.: Наука, 1967. 894 с.
- Кудинов М.А., Касач А.Е., Чекалинская И.И., Черник В.В., Чурилов А.К. Интродукция борщевиков в Белоруссии. Минск: Наука и техника, 1980. 200 с.
- Манденова И.П. Кавказские виды рода *Heracleum* / Акад. наук Груз. ССР. Тбилис. ботан. ин-т. Тбилиси: Изд-во АН Груз. ССР, 1950. 104 с.

- Манденова И.П. Фрагменты монографии кавказских борщевиков // Заметки по систематике и географии растений. 1944. Вып. 12. С. 15–19.
- Марченко А.А. Биологические особенности и кормовые достоинства борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.): Дис. ... канд. биол. наук / Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Л., 1953. <https://zenodo.org/doi/10.5281/zenodo.10774472>
- Озерова Н.А., Кривошеина М.Г. Особенности формирования вторичных ареалов борщевиков Сосновского и Мантегацци (*Heracleum sosnowskyi*, *H. mantegazzianum*) на территории России // Российский журнал биологических инвазий. 2018. № 1. С.78–87.
- Пименов М.Г., Остроумова Т.А. Зонтичные (Umbelliferae) России. М., 2012. 477 с.
- Сацыперова И.Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения. Л.: Наука, 1984. 223 с.
- Скупченко Л.А. Семеноведение борщевика на Севере. Л.: Наука, 1989. 119 с.
- Тамашян С.Г. Род *Heracleum* // Флора Кавказа. 2-е изд. Т. 7. Umbelliferae – Scrophulariaceae. М.; Л., 1967 с. 121–130.
- Толмачёв А.И. Флора северо-востока Европейской части СССР. Т. 4. Семейства Umbelliferae – Compositae. Л.: Наука, 1977. 312 с.
- Цвелёв Н.Н. Определитель сосудистых растений северо-западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, 2000. 781 с.
- Шумова Э.М. Изучение онтогенетического морфогенеза борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) и борщевика Мантегацци (*Heracleum mantegazzianum* Somm. Et lev.) в связи с введением их в культуру: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1970. 15 с.
- Эбель А.Л., Зыкова Е.Ю., Михайлова С.И., Черногривов П.Н., Эбель Т.В. Расселение и натурализация инвазивного вида *Heracleum sosnowskyi* Manden. (Apiaceae) в Сибири // Экология и география растений и растительных сообществ: Материалы IV Международной научной конференции (Екатеринбург, 16–19 апреля 2018 г.). Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та; Гуманитарный ун-т, 2018. С. 1065–1070.
- Baldwin B.G., Sanderson M.J., Porter J.M. et al. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny // *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1995. Vol. 82. No. 2. P. 247. <https://doi.org/10.2307/2399880>
- Banasiak Ł., Piwczyński M., Uliński T., Downie S.R., Watson M.F., Shakya B., Spalik K. Dispersal patterns in space and time: a case study of Apiaceae subfamily Apioideae // *Journal of Biogeography*. 2013. Vol. 40. No. 7. P. 1324–1335. <https://doi.org/10.1111/jbi.12071>
- Barcoding Facility for Organisms and Tissues of Policy Concern 2019 // (<https://bopco.myspecies.info/blog>).
- BOLD Systems (Electronic resource) // (<http://www.boldsystems.org>). Accessed on 03 March 2024.
- Calviño C.I., Downie S.R. Circumscription and phylogeny of Apiaceae subfamily Saniculoideae based on chloroplast DNA sequences // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2007. Vol. 44. No. 1. P. 175–191. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.01.002>
- Chadin I. Comparing the native distribution ranges of *Heracleum mantegazzianum* and related *Heracleum* species // (<https://doi.org/10.5281/zenodo.10776798>). Accessed on 04 March 2024.
- Daemi-Saeidabad M., Shojaeiyan A., Vivian-Smith A. et al. The taxonomic significance of ddRADseq based microsatellite markers in the closely related species of *Heracleum* (Apiaceae) // *PLoS ONE*. 2020. Vol. 15:e0232471. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232471>
- Dalke I.V., Chadin I.F., Zakhochiy I.G., Malyshev R.V., Maslova S.P., Tabalenkova G.N., Golovko T.K. Traits of *Heracleum sosnowskyi* Plants in Monostand on Invaded Area // *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10 (11): e0142833. doi:10.1371/journal.pone.0142833
- Degtjareva G.V., Logacheva M.D., Samigullin T.H. et al. Organization of chloroplast psbA-trnH intergenic spacer in dicotyledonous angiosperms of the family Umbelliferae // *Biochemistry (Moscow)* 2012. Vol. 77. P. 1056–1064. <https://doi.org/10.1134/S0006297912090131>
- Downie S.R., Plunkett G.M., Watson M.F., Spalik K., Katz-Downie D.S., Valiejo-Roman C.M., Terentieva E.I., Troitsky A.V., Lee B.Y., Lahham J., El-Oqlah A. Tribes and clades within Apiaceae subfamily Apioideae: The contribution of molecular data // *Edinburgh Journal of Botany*. 2001. 58 (2): 301–330. DOI: 10.1017/S0960428601000658
- Downie S.R., Spalik K., Katz-Downie D.S., Reduron J-P. Major clades within Apiaceae subfamily Apioideae as inferred by phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences // *Plant Diversity and Evolution*. 2010. Vol. 128. No. 1–2. P. 111–136. <https://doi.org/10.1127/1869-6155/2010/0128-0005>
- GBIF Occurrence Download (Electronic resource) // (<https://doi.org/10.15468/dl.bgbtbf>). Accessed on 03 March 2024.
- Genbank (Electronic resource) // (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Accessed on 03 March 2024.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 2003. Vol. 270. No. 1512. P.313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hebert P.D.N., Gregory T.R. The promise of DNA barcoding for taxonomy // *Syst. Biol.* 2005. Vol. 54. No. 5. P. 852–859. <https://doi.org/10.1080/10635150500354886>
- Inaturalist.org (Electronic resource) // (<https://www.inaturalist.org/observations/130244287>, <https://www.inaturalist.org/observations/130244501>, <https://www.inaturalist.org/observations/130244237>). Accessed on 03 March 2024.
- Jahodová S., Fröberg L., Pyšek P., Geltman D., Trybush S., Karp A. Taxonomy, identification, genetic relationships and distribution of large *Heracleum* species in Europe // *Ecology and management of giant hogweed (Heracleum mantegazzianum)* / Eds P. Pyšek, M.J.W. Cock, W. Nentwig, H.P. Ravn. CABI, Wallingford, 2007a. P. 1–19.

- Jahodová Š., Trybush S., Pyšek P., Wade M., Karp A. Invasive species of *Heracleum* in Europe: an insight into genetic relationships and invasion history // *Diversity and Distributions*. 2007b. Vol. 13. No. 1. 99–114.
- Kress W.J., Erickson D.L., Jones F.A. et al. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009. Vol. 106. P. 18621–18626. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909820106>
- Kumar S., Nei M., Dudley J., Tamura K. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences // *Briefings in Bioinformatics*. 2008. Vol. 9. No. 4. P. 299–306. <https://doi.org/10.1093/bib/bbn017>
- Liu J., Shi L., Han J., et al. Identification of species in the angiosperm family Apiaceae using DNA barcodes // *Molecular Ecology Resources*. 2014. Vol. 14. P. 1231–1238. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12262>
- Logacheva M.D., Valiejo-Roman C.M., Degtjareva G.V. et al. A comparison of nrDNA ITS and ETS loci for phylogenetic inference in the Umbelliferae: An example from tribe Tordylieae // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2010. Vol. 57. No. 1. P. 471–476. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.06.001>
- Logacheva M.D., Valiejo-Roman C.M., Pimenov M.G. ITS phylogeny of West Asian *Heracleum* species and related taxa of Umbelliferae–Tordylieae W.D.J.Koch, with notes on evolution of their psbA-trnH sequences // *Plant Systematics and Evolution*. 2008. Vol. 270. P.139–157. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0619-x>
- Moiseev K.A. Report on the Work Results in 1967 of the Plant Introduction Laboratory, Institute of Biology, Komi Branch, USSR Academy of Sciences. 1967. Available online: <https://doi.org/10.5281/zenodo.8276069> (31 Dec 2023).
- Nielsen C., Hartvig P., Kollmann J. Predicting the distribution of the invasive alien *Heracleum mantegazzianum* at two different spatial scales // *Diversity Distribution*. 2008. Vol. 14. P. 307–317. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00456.x>
- Niinikoski P., Korpelainen H. Population genetics of the invasive giant hogweed (*Heracleum* sp.) in a northern European region // *Plant Ecol*. 2015. Vol. 216. P. 1155–1162. <https://doi.org/10.1007/s11258-015-0498-0>
- Nybohm H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants // *Molecular Ecology*. 2004. Vol. 13. P. 1143–1155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02141.x>
- Perglova I., Pergl J., Pyšek P. Reproductive ecology of *Heracleum mantegazzianum* // *Ecology and management of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*)* / Eds P. Pyšek, M.J.W. Cock, W. Nentwig, H.P. Ravn. CABI, Wallingford, 2007. P. 55–73.
- Ptitsyna E., Dudov S., Ezhova M. et al. Genetic diversity of invasive plant *Heracleum sosnowskyi*. *Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology (PlantGen2023): abstracts* / Eds. A.A. Kalachev., T.A. Gorhkova, M.L. Ponomareva; FIC KazSC RAS // *The 7th International Scientific Conference (July 10–15, 2023, Kazan, Russia)*. Kazan: FEN, 2023. p. 236.
- Pyšek P., Cock M.J.W., Nentwig W., Ravn H.P. Ecology and management of giant hogweed (*Heracleum mantegazzianum*). CABI, Wallingford, 2007. 324 p.
- Shadrin D.M. DNA Barcoding: Applications // *Russian Journal of Genetics*. 2021. Vol. 57. P. 489–497. <https://doi.org/10.1134/S102279542104013X>
- Shadrin D., Dalke I., Zakhochiy I., Shilnikov D., Kozhin M., Chadin I. Supplementary materials for the manuscript «*Heracleum sosnowskyi* or *Heracleum mantegazzianum*? DNA-based identification of invasive hogweeds (Apiaceae) in two key regions of the species' invasion history in the former USSR». 2024. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10439140>
- Shekhovtsov S.V., Shekhovtsova I.N., Peltek S.E. DNA Barcoding: Methods and Approaches // *Biology Bulletin Reviews*. 2019. Vol. 9. P. 475–483. <https://doi.org/10.1134/S2079086419060057>
- Shneyer V.S., Rodionov A.V. Plant DNA Barcodes // *Biology Bulletin Reviews*. 2019. Vol. 9. P. 295–300. <https://doi.org/10.1134/S207908641904008X>.
- Sommier S., Levier E. *Decas umbelliferarum novarum Caucasi* // *Nuovo Giornale Botanico Italiano*. Ser. 2. 1895. Vol. 2. P. 73–84.
- Stewart F. Hybridization between *Heracleum mantegazzianum* Somm. & Lev. and *H. sphondylium* L. (Umbelliferae) in the British Isles. 1979. 342 p. Available online: https://era.ed.ac.uk/bitstream/handle/1842/11429/Stewart1979_001.pdf;jsessionid=F720481AE46B668A50453C7B2E8BD719?sequence=1 (31 Dec 2023).
- Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // *Plant Molecular Biology*. 1991. Vol. 17. P. 1105–1109. <https://doi.org/10.1007/BF00037152>
- Tate J.A., Simpson B.B. Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and Diverse Origins of the Polyploid Species // *Systematic Botany*. 2003. Vol. 28. P. 723–737.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // *Nucleic Acids Research*. 1994. Vol. 22. No. 22. P. 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Timme R.E., Kuehl J.V., Boore J.L., Jansen R.K. A comparative analysis of the *Lactuca* and *Helianthus* (Asteraceae) plastid genomes: identification of divergent regions and categorization of shared repeats // *Am J Bot*. 2007. Vol. 94. P. 302–312. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.302>
- Vladimirov V., Petrova A., Barzov Z., Gudžinskas Z. The alien species of *Heracleum* (Apiaceae) in the Bulgarian flora revisited // *Phytologia Balcanica*. 2019. Vol. 25. No. 3. P. 395–405.
- Walker N.F., Hulme P.E., Hoelzel A.R. Population genetics of an invasive species, *Heracleum mantegazzianum*: implications for the role of life history, demographics and independent introductions // *Molecular Ecology*. 2003. Vol. 12. P. 1747–1756. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01866.x>

Wang Q-Z., Zhou S-D., Liu T-Y. et al. Phylogeny and classification of Chinese *Bupleurum* based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer and *rps16* // *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*. 2008. Vol. 50. P. 105–116.

Yu Y., Downie S.R., He X. et al. Phylogeny and biogeography of Chinese *Heracleum* (Apiaceae tribe Tordylieae) with comments on their fruit morphology // *Plant Systematics and Evolution*. 2011. Vol. 296. P. 179–203. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0486-3>

MOLECULAR AND GENETIC STUDIES OF *HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN. AND *HERACLEUM MANTEGAZZIANUM* SOMMIER & LEVIER (APIACEAE) OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA

© 2024 Shadrin D.M.^{a,*}, Dalke I.V.^a, Zakhozhiy I.G.^a, Shilnikov D.S.^{b,c}, Kozhin M.N.^d, Chadin I.F.^a

^aInstitute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, 167982, Russia

^bKomarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 197022, Russia

^cPerkalsky Dendrological Park of the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Pyatigorsk, 357509, Russia

^dPolar-Alpine Botanical Garden-Institute of N.A. Avrorin – Subdivision of the Federal Research Centre “Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences”, Kirovsk, 184209, Russia
e-mail: *shdimas@ya.ru

Nine molecular markers were used to search for genetic differences between samples of *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier collected in the native range of the species in the Western Caucasus (Karachay-Cherkess Republic), samples collected near Kirovsk (Murmansk Region) and Syktyvkar (Komi Republic), and samples of *Heracleum sosnowskyi* Manden collected near Nalchik (Kabardino-Balkar Republic). New data on the sequences of the markers *rbcL*, *matK*, *trnL*, *trnH-psbA*, *rps16*, *trnQ-rps16*, *rps16-trnK*, *rpl32-trnL*, ITS and ETS were compared with the data available in the GenBank database for the studied and other species of the genus *Heracleum*. The sequences of ITS and ETS of nuclear DNA showed a sufficient level of polymorphism, which was in good agreement with the boundaries of the majority of the analyzed species of the genus *Heracleum*, with the exception of the specimens assigned to *H. mantegazzianum* and *H. sosnowskyi* on the basis of morphological characters. Analysis of the molecular data showed that all the specimens studied collected in the northern European part of Russia and in the territory of the Western Caucasus, most likely belong to one species, *H. mantegazzianum*. The results obtained confirm the absence of *H. sosnowskyi* plants in Murmansk Region and Komi Republic. One of the possible explanations for the obtained data could be the spontaneous hybridization of *H. mantegazzianum* and *H. sosnowskyi* in Murmansk Region and Komi Republic.

Key words: *Heracleum sosnowskyi*, *Heracleum mantegazzianum*, biological invasions, invasive range, DNA barcoding, ITS, ETS, European Russia, Western Caucasus.