

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РОДА *NERASCLEUM*: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

© Шипилина Л. Ю., Чухина И.Г., Бажанова О.В., Семилет Т.В.,
Стрыгина К.В., Швачко Н.А., Хлесткина Е.К.



Лилия Юрьевна Шипилина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: l.shipilina@vir.nw.ru
ORCID: 0000-0001-7590-3173



Ирена Георгиевна Чухина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: i.chukhina@vir.nw.ru
ORCID: 0000-0003-3587-6064



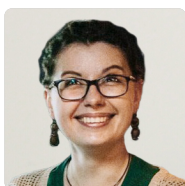
Ольга Вячеславовна Бажанова

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: o.bazhanova@vir.nw.ru



Татьяна Вячеславовна Семилет

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: t.semilet@vir.nw.ru
ORCID: 0000-0001-7275-3878



Ксения Владимировна Стрыгина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт
генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: k.strygina@vir.nw.ru
ORCID: 0000-0001-6938-1348



Наталья Альбертовна Швачко

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: n.shvachko@vir.nw.ru
ORCID: 0000-0002-1958-5008



Елена Константиновна Хлесткина

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург, Российская Федерация
e-mail: director@vir.nw.ru
ORCID: 0000-0002-8470-8254

Цель работы – выявление филогенетических отношений внутри рода *Heracleum*, оценка возможности применения полученных знаний для решения практических задач, в частности уточнения объема сорных видов борщевиков. Материалом послужили 102 образца рода *Heracleum*, собранные в европейской части России (от территории Северного Кавказа до Заполярья), и 14 гербарных образцов различных видов борщевика. Анализ полиморфизма ДНК осуществляли при помощи ISSR-маркеров, RAPD-маркеров, а также на основе секвенирования района ITS-2. Данный анализ привнес ясность в аспекты видового разнообразия борщевиков на исследованных территориях. Благодаря анализу базы данных NCBI и секвенированию области ITS-2 образцов изучаемых популяций *Heracleum* установлено, что большинство образцов являются родственными группе гигантских борщевиков. Выделен кластер образцов, генетически близких к борщевiku Сосновского, разделяющихся на два субкластера, из которых один, вероятно, содержит межвидовые гибриды, а другой – образцы, сходные именно с *H. sosnowskyi*. Оценочно, последние составляют менее 30%. В результате проведенного RAPD-анализа показано, что среди изучаемых представителей рода *Heracleum* наблюдается высокая генетическая разнородность гигантских борщевиков на Северо-Западе Европейской части России и склонность их к образованию межвидовых гибридов. Полученные данные указывают на то, что без тщательного анализа, вплоть до идентификации на уровне ДНК, участки засорения растениями гигантских борщевиков могут быть ошибочно отнесены к территориям распространения борщевика Сосновского. Для идентификации «спорных» образцов предложен метод экспресс-проверки (как возможный арбитражный метод) с использованием высоко полиморфного ISSR-маркера. Представлен конкретный кейс проверки на наличие засорения борщевиком *H. sosnowskyi* территории, подлежащей контролю распространения данного вида, показавший отсутствие *H. sosnowskyi* среди «спорных» образцов борщевика.

Heracleum, ISSR, ITS, RAPD, борщевик, кластерный анализ, молекулярные маркеры, филогенетический анализ, сорные растения.

Благодарность

Исследование выполнено в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту темы НИР № FGEM-2024-0002 «Исследование растительных биоресурсов в пространственном и временном аспекте с применением современных цифровых и генетических технологий». Авторы благодарят (1) Ботанический институт РАН, предоставивший материалы разных видов борщевика для сравнительного анализа; (2) компанию «Nord Stream 2 AG» за интерес к проведению исследований гигантских борщевиков на территории Кур-

гальского заказника в Ленинградской области в связи с обеспокоенностью компании по поводу сохранения экологического баланса на данной территории; (3) администрацию Пушкинского района Санкт-Петербурга за интерес к проведению исследований борщевиков на территории Павловска, что стимулировало изучение возможности применения методов анализа полиморфизма ДНК для решения практических задач.

Введение

Гигантские борщевики, в число которых входят борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) и борщевик Мантегацци (*H. mantegazzianum* Somm. et Lev.), в последние десятилетия активно расселяются за пределы своего естественного ареала, находящегося на территории Кавказа, Закавказья, Дагестана. В настоящее время борщевик как адвентивное растение интенсивно распространяется во многих регионах страны, вытесняя естественную растительность (Сандина, 1959; Лунева, 2014; Черная книга флоры Сибири, 2016; Афонин и др., 2017; Озерова и др., 2018).

Для ликвидации инвазионных популяций борщевика и предотвращения его экспансии на территории России необходимо всестороннее изучение аборигенного и адвентивного генофонда данного рода, в том числе исследование его генома. Секвенирование и сборка полного генома инвазионной формы борщевика (*H. sosnowskyi*) были осуществлены только в 2024 году (Schelkunov et al., 2024), в геноме борщевика выявлено необычно большое количество генов (55106), в отличие от 25–35 тысяч (норма у большинства растений, в т. ч. у близкого к борщевiku вида *Daucus carota*, имеющего ок. 30 тыс. генов (Iorizzo et al., 2012; Iorizzo et al., 2016) при отсутствии недавних полногеномных дупликаций) (Schelkunov et al., 2024). Вероятно, геномные данные о борщевике Сосновского помогут в ближайшем будущем дополнить существующие методы борьбы с ним (Мотыль и др., 2013; Khlestkina, 2012) новыми способами противодействия.

Однако распространение инвазионных видов зачастую сопровождается межвидовой гибридизацией, образованием новых форм. Об этом свидетельствует отмечаемая в популяциях борщевика большая фенотипическая разнородность (Сандина, 1959; Лунева, 2013; Черная книга флоры Сибири, 2016). В связи с этим одних лишь сведений о геноме конкретного вида недостаточно, необходимы популяционные и филогенетические исследования на основе анализа полиморфизма ДНК. Именно этому посвящена представленная работа. Ее цель – исследовать при помощи анализа полиморфизма ДНК филогенетические отношения внутри рода *Heracleum* с использованием образцов разных видов из Гербария Ботанического института РАН и образцов, собранных в европейской части России от Северного Кавказа до Заполярья, а также применить полученные знания для решения практических задач. Для анализа полиморфизма ДНК мало изученных видов распространены методы ДНК-фингерпринтинга (мультилокусные ДНК-маркеры), к которым относят, среди прочих, RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA – случайно амплифицируемая полиморфная ДНК) и ISSR (Inter Simple Sequence Repeats – межмикросателлитный полиморфизм) (Khlestkina, 2012). Наличие секвенирования пластидного генома *H. moellendorffii* (Kang et al., 2019) позволяет использовать применяемый у других таксонов способ ДНК-штрихкодирования – ITS (Internal transcribed spacer – внутренний транскрибированный спейсер, консервативный участок генов рибосомальной РНК) (Group et al, 2011) и для разных видов борщевика (Kang et al., 2019).

Материалы и методы

Материалом для проведения исследования стали 102 образца борщевика (*Heracleum* L.), из них 87 образцов, собранных в Кингисеппском районе Ленинградской области, в пригороде г. Санкт-Петербурга, на территории Кольского полуострова и на территории Кавказского заповедника в рамках исследования по договору № PO19-5179 с Nord Stream 2 AG, а также 14 гербарных образцов четырех различных видов борщевика (*H. sphondylium*, *H. stevenii*, *H. sibiricum*, *H. sosnowskyi*), предоставленные Ботаническим институтом РАН (табл. 1, Приложение). Выделение геномной ДНК из образцов свежего и гербарного материала осуществляли при помощи набора DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) согласно инструкции производителя. Препарат гербарных образцов подвергался инкубации с буфером следующего состава: 100 мМ трис-HCl, pH = 8,0; 0,35 М сорбитол; 5 мМ ЭДТА; 1% PVP.

Амплификацию геномной ДНК с праймерами ОРА проводили в 20 мкл ПЦР-смеси, содержащей 30 нг ДНК-матрицы, по 4 нг праймера, 0,25 мМ каждого dNTP, 1х реакционного буфера (67 мМ TrisHCl, pH 8,8, 2,0 мМ MgCl₂, 18 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01% Твин-20) и 1U Taq полимеразы. Продукты амплификации разделяли в 2% агарозном геле.

Амплификацию геномной ДНК с ISSR-праймером проводили в 20 мкл ПЦР-смеси, содержащей 30 нг ДНК-матрицы, 4 нг праймера, 0,25 мМ каждого dNTP, 1х реакционного буфера (67 мМ TrisHCl, pH 8,8, 1,3 мМ MgCl₂, 18 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01% Твин-20) и 4U Taq полимеразы. Продукты амплификации разделяли в 2% агарозном геле. Для гербарных образцов перед постановкой ПЦР применили дополнительный этап рефрагментации с помощью набора Sigma-Aldrich GenomePlex Complete Whole Genome

Amplification (WGA) Kit (Великобритания) согласно протоколу производителя. Технология обогащения фрагментов ДНК путем целевой гибридизации позволяет накопить пул фрагментов ДНК для повышения точности сборки протяженных областей генома.

Амплификацию геномной ДНК с остальными праймерами проводили в 20 мкл ПЦР-смеси, содержащей 30 нг ДНК-матрицы, по 1 нг каждого праймера, 0,25 мМ каждого dNTP, 1х реакционного буфера (67 мМ TrisHCl, pH 8,8, 1,5 мМ MgCl₂, 18 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01% Твин-20) и 1U Taq полимеразы. Продукты амплификации разделяли в 1% агарозном геле.

Используемые праймеры для ПЦР и протоколы приведены в табл. Праймеры были разработаны с использованием программы Oligo Primer Analysis Software v.7 (<https://www.oligo.net/>). Выделение из геля и очистку ПЦР-фрагментов проводили набором diaGene для элюции ДНК из агарозного геля (Диаэм) согласно протоколу производителя. Секвенирование ПЦР-фрагментов проводили по Сэнгеру.

Филогенетический анализ на основании полученных данных молекулярно-генетического анализа осуществляли при помощи программ NTSYS 2.0 (при сравнении аллелей маркерных локусов) и MEGA X (при сравнении нуклеотидных последовательностей). Помимо последовательностей ITS образцов, анализируемых в настоящей работе, при построении филогенетического древа были дополнительно использованы последовательности ITS представителей рода *Heracleum*, выявленные в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Coordinators, 2018). Кластерный анализ в программе MEGA X (<https://www.megasoftware.net/home>) (Kumar et al, 2018) проводили с использованием алгоритма UPGMA (Unweighted Pair-Group

Таблица. Праймеры для ПЦР, используемые в работе

Цель	Структура праймеров	Наименование гена или праймера [Ссылка (или номер последовательности, к которой подбирались праймеры)]	Протокол
Проверка качества ДНК для ПЦР	5'CACACGGTGCCAATTTATGAA3' / 5'GATCACGGCCAGCAAGGT3'	<i>DcACT</i> [GenBank: X17525]	1 цикл 94 °C 2 мин; 13 циклов 94 °C 15 сек, 65 °C 30 сек (уменьшение с каждым циклом на 0.7 °C), 72 °C 45 сек; 24 цикла 94 °C 15 сек, 56 °C 30 сек, 72 °C 45 сек; 1 цикл 72 °C 5 мин.
	5'TCTGGTGCCATACCCAAGGA3' / 5'ATAGGCCTTCTCAGCGGAGAT3'	<i>DcTBA</i> [GenBank: AY007250]	
	5'GGGCTCTCTATGTCTCCACATTC3' / 5'AAACTGTTCACTAACTCGTCGAAACA3'	<i>Dcβ-TUB</i> [GenBank: AAB64308]	
	5'TCTTCGCCGGCAAGCA3' / 5'GTGGACTCCTTCTGGATGTTGATG3'	<i>DcUBQ</i> [GenBank: U68751]	
	5'GACTACGTCCCTGCCCTTTG3' / 5'TCACCGACCATTCAATCG3'	<i>Dc18S</i> [GenBank: X17534]	
	5'GGGAGGTGCAAGAAAGTTATCA3' / 5'TTCCTTTTCATTGACACCAACA3'	<i>DcGAPDH</i> [GenBank: AY491512]	
	5'TGGTGATGCTGGTTTCGTTAAG3' / 5'AGTGGAGGGTAGGACATGAAGGT3'	<i>DcEF-1A</i> [GenBank: D12709]	
Филогенетический анализ	5'CGATGAAGAACGTAGCGAATG3' / 5'AATGTGTGCCGCCTAAGGGTCT3'	<i>Heracleum</i> ITS-2 [GenBank: MG220206, EF043026, AM167916]	1 цикл 94 °C 2 мин; 45 циклов 94 °C 45 сек, 37 °C 45 сек, 72 °C 2 мин; 1 цикл 72 °C 5 мин.
	5'CAGGCCCTTC3'	OPA-01	
	5'AGTCAGCCAC3'	OPA-03	
	5'AATCGGGCTG3'	OPA-04	
	5'GGTCCCTGAC3'	OPA-06	
	5'CAATCGCCGT3'	OPA-07	
	5'GGGTAACGCC3'	OPA-09	
	5'GTGATCGCAG3'	OPA-10	
	5'GAAACGGGTG3' / 5'CAAACGTCGG3'	OPA-11 / OPA-19	
Разработка экспресс-метода для идентификации образцов борщевика	5'AGAGAGAGAGAGAGAGC3'	ISSR	1 цикл 94 °C 2 мин; 45 циклов 94 °C 45 сек, 49 °C 45 сек, 72 °C 2 мин; 1 цикл 72 °C 5 мин.
Источник: результаты исследований авторов.			

Method Using Arithmetic Averages – метод невзвешенного попарного среднего; восходящий метод иерархической кластеризации) при бутстреп-поддержке 1000. Генетическое сходство на основе данных генотипирования осуществляли при использовании программы NTSYS pc, ver. 2.2 (<https://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html>).

Результаты и обсуждение

Результаты кластерного анализа на основе данных секвенирования ITS (выявлены в базе NCBI) указывают на формирова-

ние среди представителей рода *Heracleum* определенных групп. Наиболее интересной для настоящего исследования является Кавказская группа гигантских борщевиков, в которую входят *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum* (рис. 1).

Для секвенирования ITS-2 были отобраны случайным образом 23 собранных в 2019 году образца, а также 11 гербарных образцов (Приложение). Благодаря проведенному анализу удалось установить, что ряд борщевиков, произрастающих на территории Кавказского заповедника, являются генетически близки-



Рис. 1. Филогенетический анализ представителей рода *Heracleum* по данным ITS-последовательностей из NCBI

Программа MEGA X, алгоритм UPGMA. Пояснения даны в тексте.
Источник: результаты исследований авторов.

ми к гербарным образцам *H. stevenii* (H3) и *H. sosnowskyi* (*villosum*) (H11), собранным в Крыму в 2015 и 1906 годах соответственно, что ставит под сомнение правильность видового определения растений. Также удалось выяснить, что борщевики, распространенные на Кольском полуострове и определяемые как борщевики Сосновского *H. sosnowskyi*, а также борщевики из Кингисеппского района, определенные как борщевики сибирские *H. sibiricum*, оказались близки к гербарным образцам борщевика обыкновенного *H. sphondylium* и, соответственно, должны относиться к этому виду или же являться с ним гибридами.

Часть секвенированных по региону ITS-2 последовательностей группировалась с гигантскими борщевиками, гене-

тически близкими к *H. mantegazzianum* и *H. sosnowskyi* (рис. 2, выделенная группа в фиолетовой рамке). В этой группе выделяются два кластера, нижний из которых разделяется на два субкластера. К первому субкластеру относятся борщевики, собранные на территории Кольского полуострова, два представителя Кавказского заповедника, а также один борщевик из Кингисеппского района. Интересным является тот факт, что в данную группу попал один гербарный образец *H. stevenii* (H13). Таким образом, эти образцы генетически крайне близки к *H. stevenii*, ареалом обитания которого является территория Кавказа. Второй субкластер включает преимущественно растения, собранные в Кингисеппском районе Ленинградской области и в пригороде Санкт-Петербур-

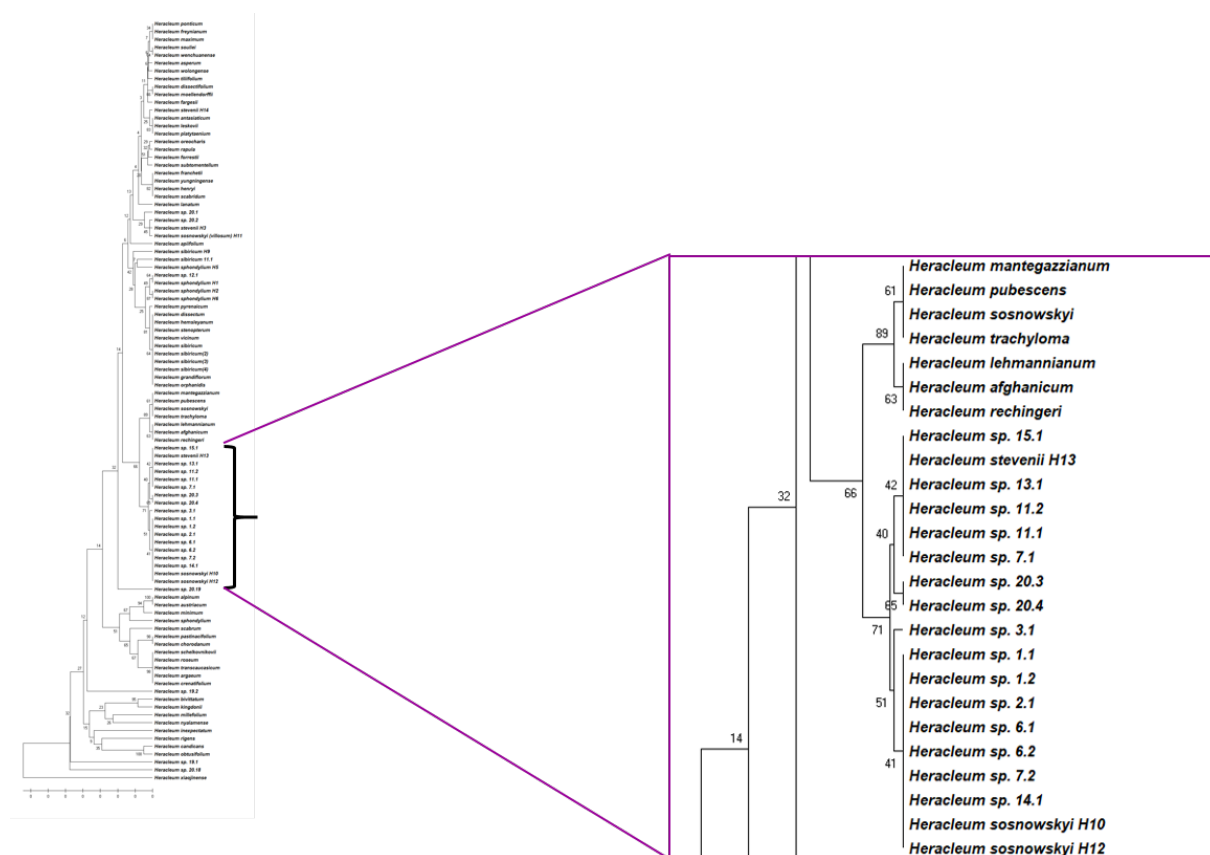


Рис. 2. Филогенетический анализ представителей рода *Heracleum*, секвенированных (по ITS-2) в настоящей работе

Программа MEGAX, алгоритм UPGMA. Фиолетовым выделен кластер образцов представителей рода *Heracleum*, проанализированных в настоящем исследовании и попавших в одну группу.

Н – гербарные образцы; sp. – неопределенные до вида проанализированные представители рода *Heracleum*.

Источник: результаты исследований авторов.

га, а также один образец с территории Кольского полуострова. Именно этот суб-кластер включает и гербарные образцы *H. sosnowskyi*. Таким образом, встречаемость образцов, сходных с *H. sosnowskyi*, оценочно составляет менее 30%.

Некоторые образцы, собранные на Кольском полуострове и в Кавказском заповеднике, достоверно не группируются ни с одним из секвенированных или найденных через поиск в NCBI представителем рода *Heracleum*. Таким образом, для более точного определения видового состава исследованных нами популяций необходимо секвенировать более крупные участки генома.

В дополнение к секвенированию был проведен скрининг отобранных пред-

ставителей *Heracleum* посредством RAPD-анализа с 10 праймерами ОРА (см. табл.). В результате выявлены и проанализированы суммарно 102 локуса. На основе полученных данных построены бинарные матрицы, которые затем использовались для создания филогенетического дерева с применением программы NTSYS и алгоритма UPGMA. Полученное дерево разделяется на три кластера (рис. 3).

Данный анализ привнес ясность в аспекты видового разнообразия борщевиков на исследованных территориях. В кластер I попали образцы из Кавказского заповедника, а также часть образцов из Кингисеппского района, ранее попадавшие в одну группу с борщевик-

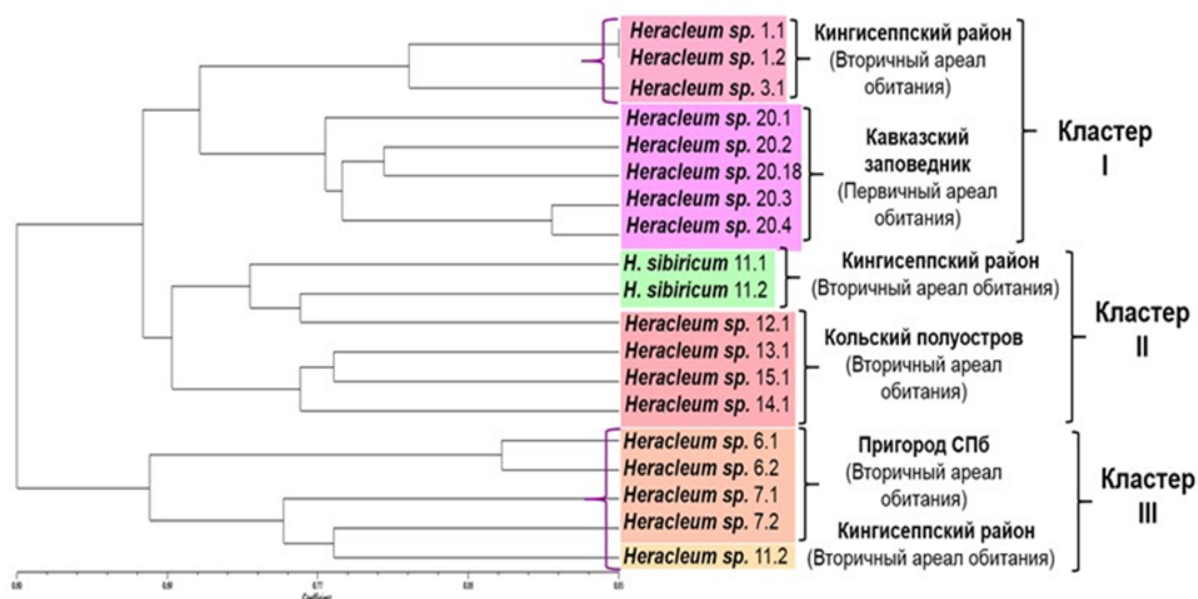


Рис. 3. Филогенетический анализ представителей рода *Heracleum*

Программа NTSYS, алгоритм UPGMA на основе данных RAPD-анализа.
Источник: результаты исследований авторов.

ком Сосновского. Таким образом, вероятно, мы имеем дело не только с борщевиком Сосновского, но и с гибридными формами данного растения на территории Кингисеппского района. Однако, судя по анализу двух деревьев, чистые негибридные формы борщевика Сосновского встречаются в Кингисеппском районе, а также в пригороде Санкт-Петербурга (кластер III), чего нельзя сказать о борщевиках, собранных на территории Кольского полуострова, выделяющихся в кластер II вместе с безвредными формами борщевика из Кингисеппского района. Это подтверждает гипотезу о склонности борщевиков к образованию гибридов. Так, в ходе работы было продемонстрировано, что большинство проанализированных образцов борщевика являются генетически близкими к гигантским борщевикам, родственными *H. sosnowskyi* и *H. mantegazzianum*. Однако среди собранных и проанализированных представителей рода *Heracleum* наблюдается высокая генетическая разнообразность и склонность к образованию

межвидовых гибридов, в том числе с безвредными борщевиками.

Идентификация борщевика Сосновского является практически значимой задачей, в том числе в свете возможных арбитражных споров. В связи с этим в 2024 году на территории Павловска были отобраны «спорные» образцы борщевика (Приложение, образцы сбора 2024 года), отбор проводился случайным образом с участка, обозначенного как «засоренный борщевиком Сосновского». Была поставлена задача проведения экспресс-проверки, на основе которой можно было бы однозначно ответить, относятся ли данные образцы к *H. sosnowskyi* или нет. Для ее решения выбран высоко полиморфный ISSR маркер. Результаты анализа изучаемых образцов в сравнении с гербарным образцом *H. sosnowskyi* представлены на рис. 4.

По результатам анализа полиморфизма ДНК был сделан вывод о том, что спорные образцы, собранные в Павловске в 2024 году, не относятся к *H. sosnowskyi*. Данный метод может быть предложен в качестве арбитражного.

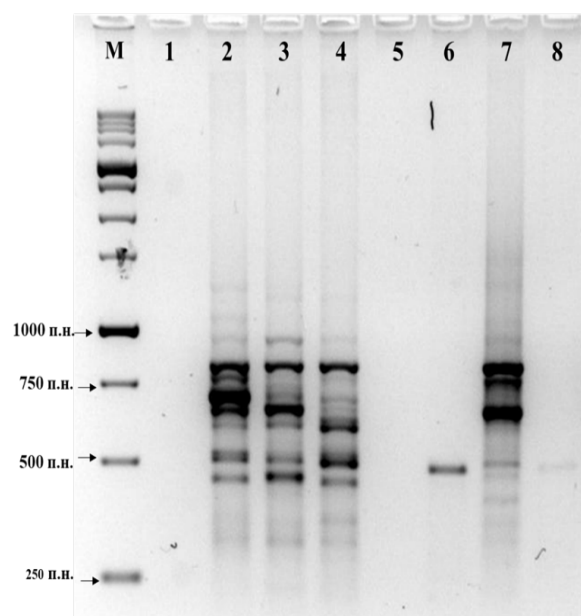


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации образцов *Heracleum*

М – Маркер молекулярного веса; 1 – отрицательный контроль; 2, 3, 4, 7 – образцы, собранные в Павловске (2024 год); 5, 6, 8 – гербарные образцы *Heracleum sosnowskyi* Manden.

Источник: результаты исследований авторов.

Заключение

Молекулярно-генетический анализ позволил внести ясность в аспекты видового разнообразия борщевиков на исследованных территориях. Большинство образцов являются родственными группе гигантских борщевиков. На Северо-Западе образцы *H. sosnowskyi* оценочно составляют менее 30%, тогда как большая часть представляет собой межвидовые гибриды. Полученные данные указывают на то, что без тщательного анализа, вплоть до идентификации на уровне ДНК, участки засорения растениями гигантских борщевиков могут быть ошибочно отнесены к территориям распространения борщевика Сосновского, который утратил статус сельскохозяйственной культуры в 2015 году и был официально включен в российский реестр сорных растений. Предложен арбитражный экспресс-метод, позволяющий идентифицировать наличие или отсутствие борщевика Сосновского среди «спорных» образцов.

ЛИТЕРАТУРА

- Афонин А.Н. [и др.] (2017). Эколого-географический анализ распространения и встречаемости борщевика сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) в связи со степенью аридности территорий и его картирование для европейской территории России // *Экология*. № 1. С. 66–69.
- Лунева Н.Н. (2013). Борщевик Сосновского в России: современный статус и актуальность его скорейшего подавления // *Вестник защиты растений*. Т. 1. С. 29–43.
- Лунева Н.Н. (2014). Борщевик Сосновского в Российской Федерации // *Защита и карантин растений*. № 3. С. 12–18.
- Мотыль М., Гаранович И., Титок В. (2013). Биорациональные гербициды-радикальное средство победы над борщевиком // *Наука и инновации*. Т. 6. № 124. С. 67–70.
- Озерова Н.А., Кривошеина М.Г. (2018). Особенности формирования вторичных ареалов борщевиков Сосновского и Мантегацци (*Heracleum sosnowskyi*, *H. mantegazzianum*) на территории России // *Российский журнал биологических инвазий*. № 1. С. 78–87.
- Сандина И.Б. (1959). Борщевик, его биология и культура в Ленинградской области // *Интродукция и зеленое строительство*. М.-Л. С. 259–261.
- Черная книга флоры Сибири (2016) / науч. ред. Ю.К. Виноградова, отв. ред. А.Н. Куприянов. Новосибирск: Гео. 440 с.
- Coordinator N.C.B.I. (2018). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D8–D13. DOI: 10.1093/nar/gkx1095
- Group C.P.B.O.L., Li D.-Z., Gao L.-M. et al. (2011). Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), 19641–19646. DOI: 10.1073/pnas.1104551108

- Iorizzo M., Ellison S., Senalik D. et al. (2016). A high-quality carrot genome assembly provides new insights into carotenoid accumulation and asterid genome evolution. *Nature Genetics*, 48(6), 657–666. DOI: 10.1038/ng.3565
- Iorizzo M., Senalik D.A., Szklarczyk M., Grzebelus D., Spooner D., Simon P. (2012). De novo assembly of the carrot mitochondrial genome using next generation sequencing of whole genomic DNA provides first evidence of DNA transfer into an angiosperm plastid genome. *BMC Plant Biology*, 12(1), 61. DOI: 10.1186/1471-2229-12-61
- Kang L., Li S., Liu L. et al. (2019). Sequence and phylogenetic analysis of complete plastid genome of a medicinal plant *Heracleum moellendorffii*. *Mitochondrial DNA, Part B*, 4(1), 1251–1252. DOI: 10.1080/23802359.2019.1591210
- Khlestkina E.K. (2012). Molecular methods for analyzing the structure–function organization of genes and genomes in higher plants. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2(3), 243–251. DOI: 10.1134/S2079059712030064
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096
- Schelkunov M.I., Shtratnikova V.Yu., Klepikova A.V. et al. (2024). The genome of the toxic invasive species *Heracleum sosnowskyi* carries an increased number of genes despite absence of recent whole-genome duplications. *The Plant Journal*, 117(2), 449–463. DOI: 10.1111/tpj.16510

Приложение

Список использованных в исследованиях образцов борщевика. Жирным выделены образцы, использованные для молекулярного анализа. Н – гербарный образец.

Код / Code	Вид / Species	Место сбора / Collection site	Дата сбора / Collection date
H1	<i>Heracleum sphondylium</i>	Закарпатская область, УССР, Мукачевский округ, Село Станово, предгорья, на лугу возле речки Transcarpathian Region, Ukrainian Soviet Socialist Republic, Mukachevo District, foothills, meadow near a river	21.07.1950
H2	<i>Heracleum sphondylium</i>	Закарпатская область, Раховский округ, окрестности горы Рахова, в горах, в кустарниках Transcarpathian Region, Rakhov District, neighbouring mountains, in shrubs	31.07.1947
H3	<i>Heracleum stevenii</i>	Республика Крым, городской округ Ялта, подъем от Ялты на Ай-Петринскую яйлу, возле газопровода. Щебнистая осыпь с ясноткой голой Crimean Republic, Yalta urban district, ascent from Yalta to Ai-Petri plateau, near gas pipeline, rubble scree with <i>Lamium glaberrimum</i> (K. Koch) Taliev	18.06.2015
H4	<i>Heracleum flavescens</i>	Ровенская область, Александрийский район, окрестности села Каменная гора, ольшаник Rovny Province, Alexandriysky District, Kamennaya Gora village vicinities, <i>Alnus</i> grove	25.06.1957
H5	<i>Heracleum sphondylium</i>	Санкт-Петербург, Павловск, опушка леса возле реки Тызья. У юго-западной окраины г. Павловска St. Petersburg, Pavlovsk, forest boundary near Tyzva river, SW boundary of Pavlovsk	07.05.1991
H6	<i>Heracleum sphondylium</i>	Псковская область, Псковский район, у деревни Неелово, обочина шоссе Pskov Province, Pskov District, near Neelovo village, curb of the highway	10.06.2008
H7	<i>Heracleum persicum</i>	Ленинградская область, окрестности города Мга, в кустарниках у дороги по правому берегу реки Мги, между станциями Турышкино и Сологубовка Leningrad Province, Mga town vicinities, in shrubs near the road along the Mga river right bank, between Turyshkino and Sologubovka stations	07.05.1991
H8	<i>Heracleum sibiricum</i>	Петербургская губерния, Лужский уезд, бассейн реки Плюссы, устье Сяберка Petersburg Governorate, Luga County, Plyussa river basin, Syaberka river mouth	13.07.1923
H9	<i>Heracleum sibiricum</i> <i>var. longifolium</i>	Петербургская губерния, Лужский уезд, бассейн реки Плюссы, ниже ж/д моста через реку Лугу Petersburg Governorate, Luga County, Plyussa river basin, downstream of the railway bridge across the Luga river	02.08.1923
H10	<i>Heracleum sosnowskyi</i>	Смоленская область, Смоленский район, южная окраина пос. Каспля, залежь, заросшая борщевиком Smolensk Province, Smolensk District, S vicinity of Kasplya village, fallow land overgrown with hogweed	11.07.2004
H11	<i>Heracleum sosnowskyi (villosum)</i>	Крым Crimea	1906
H12	<i>Heracleum sosnowskyi</i>	Тверская область, 9 км южнее г. Андреаполь, обочина шоссе у реки Западная Двина Tver Province, 9 km S of Andreapol town, curb of the highway near the Western Dvina river	03.08.2004
H13	<i>Heracleum stevenii</i>	Крымский государственный заповедник, центральная котловина, на осыпях сланца Crimean Nature Reserve, central depression, on shale screes	17.07.1955
H14	<i>Heracleum stevenii</i>	Чатыр-Даг, Южный склон, каменистые россыпи у подножья Эклизи-буруна Chatyr-Dagh, S slope, stony screes at the Eklizi-Burun foot	19.08.1948
1.1	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, за районной администрацией, обочина дороги Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, near the local administration building, curb of the road	16.04.2019
1.2	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, за районной администрацией, обочина дороги Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, near the local administration building, curb of the road	16.04.2019

Код / Code	Вид / Species	Место сбора / Collection site	Дата сбора / Collection date
1.3	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, за районной администрацией, обочина дороги Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, near the local administration building, curb of the road	16.04.2019
1.4	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, за районной администрацией, обочина дороги Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, near the local administration building, curb of the road	16.04.2019
1.5	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, за районной администрацией, обочина дороги Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, near the local administration building, curb of the road	16.04.2019
2.1	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заброшенная ферма, участок обрабатывался глифосатами или выкашивался Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, abandoned farm buildings, the area has either been treated with glyphosate or mown	16.04.2019
2.2	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заброшенная ферма, участок обрабатывался глифосатами или выкашивался Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, abandoned farm buildings, the area has either been treated with glyphosate or mown	16.04.2019
2.3	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заброшенная ферма, участок обрабатывался глифосатами или выкашивался Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, abandoned farm buildings, the area has either been treated with glyphosate or mown	16.04.2019
2.4	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заброшенная ферма, участок обрабатывался глифосатами или выкашивался Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, abandoned farm buildings, the area has either been treated with glyphosate or mown	16.04.2019
2.5	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заброшенная ферма, участок обрабатывался глифосатами или выкашивался Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, abandoned farm buildings, the area has either been treated with glyphosate or mown	16.04.2019
3.1	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заросли кустарников вдоль дороги, поворот на мост Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, shrubs along the road, a turn to the bridge	16.04.2019
3.2	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заросли кустарников вдоль дороги, поворот на мост Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, shrubs along the road, a turn to the bridge	16.04.2019
3.3	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Большое Куземкино, заросли кустарников вдоль дороги, поворот на мост Leningrad Province, Kingisepp District, Bolshoe Kuzemkino village, shrubs along the road, a turn to the bridge	16.04.2019
4.1	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником	16.04.2019
4.2	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	16.04.2019
4.3	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	16.04.2019

Код / Code	Вид / Species	Место сбора / Collection site	Дата сбора / Collection date
4.4	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	16.04.2019
4.5	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	16.04.2019
5.1	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, вдоль дороги, у гаражей St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., along the road near garages	17.04.2019
5.2	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, вдоль дороги, у гаражей St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., along the road near garages	17.04.2019
5.3	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, вдоль дороги, у гаражей St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., along the road near garages	17.04.2019
5.4	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, вдоль дороги, у гаражей St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., along the road near garages	17.04.2019
5.5	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, вдоль дороги, у гаражей St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., along the road near garages	17.04.2019
6.1	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, за детской площадкой St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., near the childrens playground	17.04.2019
6.2	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, за детской площадкой St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., near the childrens playground	17.04.2019
6.3	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, за детской площадкой St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., near the childrens playground	17.04.2019
6.4	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, за детской площадкой St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., near the childrens playground	17.04.2019
7.1	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
7.2	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
7.3	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
7.4	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
7.5	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
8.1	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
8.2	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
8.3	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
8.4	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
9.1	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
9.2	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
9.3	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019
10.1	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, берег реки Поповки St. Petersburg, Pavlovsk, Popovka river bank	17.04.2019

Код / Code	Вид / Species	Место сбора / Collection site	Дата сбора / Collection date
11.1	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.2	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.3	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.4	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.5	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.6	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.7	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.8	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.9	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.10	<i>Heracleum sp.</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.11	<i>Heracleum sibiricum</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
11.12	<i>Heracleum sibiricum</i>	Ленинградская обл., Кингисеппский р-н, п. Малое Куземкино, стихийная свалка на границе с Кургальским заказником Leningrad Province, Kingisepp District, Maloye Kuzemkino village, unauthorized landfill at the Kurgalsky protected area boundary	21.05.2019
12.1	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ПОСВИР, край поля Apatity, Polar Experiment Station of VIR, edge of a field	04.06.2019
13.1	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ПОСВИР, обочина дороги Apatity, Polar Experiment Station of VIR, curb of a road	04.06.2019

Код / Code	Вид / Species	Место сбора / Collection site	Дата сбора / Collection date
14.1	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ПОСВИР, ул. Козлова, 2 Apatity, Polar Experiment Station of VIR, 2, Kozlova St.	04.06.2019
15.1	<i>Heracleum sp.</i>	Кировск, 25 км, рядом с рудником ФОСАГРО Kirovsk, 25 km from the city, near the FOSAGRO mine	04.06.2019
16.1	<i>Heracleum sp.</i>	Кировск, профилакторий Тирвас, рядом с ПАБСИ Kirovsk, Tirvas dispensary, near Polar-Alpine Botanical Garden	04.06.2019
17.1	<i>Heracleum sp.</i>	Кировск, пр. Ленина, 28, гаражи Kirovsk, 28, Lenina Ave., garages	04.06.2019
18.1	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
18.2	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
18.3	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
18.4	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
18.5	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
18.6	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
18.7	<i>Heracleum sp.</i>	Апатиты, ул. Нечаева, 4 Apatity, 4, Nechaeva St.	04.06.2019
19.1	<i>Heracleum sp.</i>	Терский берег, Умба, ул. Морская, 65 Tersky District, Umba urban-type settlement, 65, Morskaya St.	04.06.2019
19.2	<i>Heracleum sp.</i>	Терский берег, Умба, ул. Морская, 65 Tersky District, Umba urban-type settlement, 65, Morskaya St.	04.06.2019
19.3	<i>Heracleum sp.</i>	Терский берег, Умба, ул. Морская, 65 Tersky District, Umba urban-type settlement, 65, Morskaya St.	04.06.2019
19.4	<i>Heracleum sp.</i>	Терский берег, Умба, ул. Морская, 65 Tersky District, Umba urban-type settlement, 65, Morskaya St.	04.06.2019
20.1	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.2	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.3	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.4	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.5	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.6	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.7	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.8	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.9	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.10	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.11	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019

Код / Code	Вид / Species	Место сбора / Collection site	Дата сбора / Collection date
20.12	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.13	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.14	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.15	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.16	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.17	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.18	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
20.19	<i>Heracleum sp.</i>	Сочи, Красная поляна, гора Аибга Sochi, Krasnaya Polyana, Aibga mountain	03.07.2019
24.2	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, 4 St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., 4	27.11.2024
24.3	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, 4 St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., 4	27.11.2024
24.4	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, 4 St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., 4	27.11.2024
24.7	<i>Heracleum sp.</i>	Санкт-Петербург, Павловск, ул. Горная, 4 St. Petersburg, Pavlovsk, Gornaya St., 4	27.11.2024

Сведения об авторах

Лилия Юрьевна Шипилина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: l.shipilina@vir.nw.ru)

Ирена Георгиевна Чухина – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: i.chukhina@vir.nw.ru)

Ольга Вячеславовна Бажанова – младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: o.bazhanova@vir.nw.ru)

Татьяна Вячеславовна Семилет – научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: t.semilet@vir.nw.ru)

Ксения Владимировна Стрыгина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: k.strygyna@vir.nw.ru)

Наталия Альбертовна Швачко – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: n.shvachko@vir.nw.ru)

Елена Константиновна Хлесткина – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) (Российская Федерация, 190000, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44; e-mail: director@vir.nw.ru)

MOLECULAR GENETIC STUDY OF THE GENUS *HERACULUM*: THEORETICAL AND APPLIED ASPECTS

Shipilina L. Yu., Chukhina I.G., Bazhanova O.V., Semilet T.V.,
Strygina K.V., Shvachko N.A., Khlestkina E.K.

The aim of the work is to identify phylogenetic relationships within the genus Heraculum, to assess the possibility of applying the knowledge gained to solve practical problems, in particular, to clarify the volume of weed species of hogweed. The material consisted of 102 specimens of the genus Heraculum collected in the European part of Russia (from the territory of the North Caucasus to the Arctic), and 14 herbarium specimens of various species of hogweed. DNA polymorphism was analyzed using ISSR markers, RAPD markers, and ITS-2 region sequencing. This analysis brought clarity to the aspects of the species diversity of hogweed in the studied territories. Thanks to the analysis of the NCBI database and sequencing of the ITS-2 region of the samples of the studied Heraculum populations, we found that most of the samples are related to the group of giant hogweed. A cluster of samples genetically close to Sosnovsky hogweed has been identified, which are divided into two subclusters, one of which probably contains interspecific hybrids, and the other contains samples similar specifically to H. sosnowskyi. The latter are estimated to be less than 30%. As a result of the RAPD analysis, it was shown that among the studied representatives of the genus Heraculum, there is a high genetic heterogeneity of giant hogweed in the North-West of the European part of Russia and their tendency to form interspecific hybrids. The data obtained indicate that without careful analysis, up to identification at the DNA level, areas of infestation with giant hogweed plants may be mistakenly attributed to the distribution areas of Sosnovsky hogweed. An express verification method (as a possible arbitration method) using a highly polymorphic ISSR marker is proposed to identify “disputed” samples. A specific case study is presented to check for the presence of H. sosnowskyi hogweed in the territory subject to control of the spread of this species, which showed the absence of H. sosnowskyi among the “controversial” samples of hogweed.

Heraculum, ISSR, ITS, RAPD, hogweed, cluster analysis, molecular markers, phylogenetic analysis, weeds.

REFERENCES

Afonin A.N. et al. (2017). Ecological and geographical analysis of the distribution and occurrence of Sosnovsky hogweed (*Heraculum sosnowskyi* Manden) in connection with the degree of aridity of territories and its mapping for the European territory of Russia. *Ekologiya*, 1, 66–69 (in Russian).

- Coordinator N.C.B.I. (2018). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D8–D13. DOI: 10.1093/nar/gkx1095
- Group C.P.B.O.L., Li D.-Z., Gao L.-M. et al. (2011). Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), 19641–19646. DOI: 10.1073/pnas.1104551108
- Iorizzo M., Ellison S., Senalik D. et al. (2016). A high-quality carrot genome assembly provides new insights into carotenoid accumulation and asterid genome evolution. *Nature Genetics*, 48(6), 657–666. DOI: 10.1038/ng.3565
- Iorizzo M., Senalik D.A., Szklarczyk M., Grzebelus D., Spooner D., Simon P. (2012). De novo assembly of the carrot mitochondrial genome using next generation sequencing of whole genomic DNA provides first evidence of DNA transfer into an angiosperm plastid genome. *BMC Plant Biology*, 12(1), 61. DOI: 10.1186/1471-2229-12-61
- Kang L., Li S., Liu L. et al. (2019). Sequence and phylogenetic analysis of complete plastid genome of a medicinal plant *Heracleum moellendorffii*. *Mitochondrial DNA, Part B*, 4(1), 1251–1252. DOI: 10.1080/23802359.2019.1591210
- Khlestkina E.K. (2012). Molecular methods for analyzing the structure–function organization of genes and genomes in higher plants. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 2(3), 243–251. DOI: 10.1134/S2079059712030064
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096
- Luneva N.N. (2013). Sosnovsky's hogweed in Russia: The current status and relevance of its early suppression. *Vestnik zashchity rastenii*, 1, 29–43 (in Russian).
- Luneva N.N. (2014). Sosnovsky's hogweed in the Russian Federation. *Zashchita i karantin rastenii*, 3, 12–18 (in Russian).
- Motyl' M., Garanovich I., Titok V. (2013). Biorational herbicides are a radical means of defeating hogweed. *Nauka i innovatsii*, 6(124), 67–70 (in Russian).
- Ozerova N.A., Krivosheina M.G. (2018). Features of the formation of secondary areas of Sosnovsky and Mantegazzi hogweed (*Heraczoom sosnowskyi*, H. mantegazzianum) in Russia. *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii*, 1, 78–87 (in Russian).
- Sandina I.B. (1959). Borscht, its biology and culture in the Leningrad region. In: *Introduktsiya i zelenoe stroitel'stvo* [Introduction and Green Building]. Moscow-Leningrad (in Russian).
- Schelkunov M.I., Shtratnikova V.Yu., Klepikova A.V. et al. (2024). The genome of the toxic invasive species *Heracleum sosnowskyi* carries an increased number of genes despite absence of recent whole-genome duplications. *The Plant Journal*, 117(2), 449–463. DOI: 10.1111/tpj.16510
- Vinogradova Yu.K., Kupriyanov A.N. (Eds.). (2016). *Chernaya kniga flory Sibiri* [The Black Book of Siberian Flora]. Novosibirsk: Geo.

Information about the authors

Liliya Yu. Shipilina – Candidate of Sciences (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: l.shipilina@vir.nw.ru)

Irena G. Chukhina – Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: i.chukhina@vir.nw.ru)

Olga V. Bazhanova – Junior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: o.bazhanova@vir.nw.ru)

Tatyana V. Semilet – Research Associate, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: t.semilet@vir.nw.ru)

Ksenia V. Strygina – Candidate of Sciences (Biology), Senior researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: k.strygina@vir.nw.ru)

Natalia A. Shvachko – Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: n.shvachko@vir.nw.ru)

Elena K. Khlestkina – Doctor of Sciences (Biology), RAS Corresponding Member, director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (42, 44, Bolshaya Morskaya Street, Saint Petersburg, 190000, Russian Federation; e-mail: director@vir.nw.ru)