

# ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГИГАНТСКИХ БОРЩЕВИКОВ НА ТЕРРИТОРИИ ВИТЕБСКОЙ ОБЛАСТИ (НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ АНАЛИЗА IGS-ЛОКУСА)

С.В. Пантелеев\*, П.С. Кирьянов\*, Л.М. Мерзвинский\*\*,  
П.Ю. Колмаков\*\*, Ю.И. Высоцкий\*\*, Г.Г. Пирханов\*\*,  
А.Ю. Леонов\*\*, В.В. Василевич\*\*, О.Ю. Баранов\*

\*Государственное научное учреждение «Институт леса НАН Беларуси»

\*\*Учреждение образования «Витебский государственный университет  
имени П.М. Машерова»

В настоящее время в природных условиях республики встречаются два аборигенных вида: борщевик сибирский (*H. sibiricum* L.) и борщевик обыкновенный (*H. sphondylium* L.). Однако известно, что в Беларуси с середины 50-х годов XX века и на протяжении более 20 лет были подвержены интродукции более 10 видов борщевиков, включая *H. sosnowskyi*. Поэтому предположительно на территории страны расселены также борщевик Мантегацци (*H. mantegazzianum* Somm. et Levier.), борщевик Лемана (*H. lehmannianum* Bunge.), борщевик шероховато-окаймленный (*H. trachyloma* Fisch. et Mey) и борщевик персидский (*H. persicum* Desf.). При этом достоверные данные по распространности инвазивных видов *Heracleum* spp. и их гибридов отсутствуют. В связи с вышесказанным актуальным является изучение генотипических особенностей группы «гигантских борщевиков» на территории Беларуси.

Цель исследования – выявить особенности генетической структуры гигантских борщевиков в пределах Витебской области.

**Материал и методы.** Материалом послужили живые вегетативные органы гигантских борщевиков, собранные в Витебской области Республики Беларусь. Для выявления молекулярно-генетических различий среди изученных образцов борщевиков были использованы два типа подходов: а) анализ большого числа некодирующих локусов, дисперсно расположенных в ядерном геноме, характеризующихся низким аллельным полиморфизмом; б) анализ отдельных локусов, характеризующихся большим аллельным полиморфизмом. Степень генетической дифференциации рассчитывалась на основании усреднения значений, полученных для отдельных локусов, что отражает общую тенденцию в формировании отличий между их геномами. В качестве маркеров были использованы RAPD-локусы, аллельный полиморфизм которых описывается в виде диаллельной системы (доминантного аллеля «1» и рецессивного «0»). Полученные в ходе ПЦР ампликоны локусов IGS исследуемых растений были секвенированы с применением Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США) согласно общепринятым методикам. Видовая идентификация осуществлялась в международном геномном банке Национального центра биотехнологической информации (NCBI, США).

**Результаты и их обсуждение.** Проведенное исследование двух регионов межгенного спейсера, примыкающих к генам 18S (обозначен как 18S-IGS) и к 28S (обозначен как 28S-IGS) рНК, позволило выявить несколько вариантов генотипов среди изученных образцов *Heracleum* spp. Отличительными характеристиками идентифицированных генотипов являлись различия как в структуре нуклеотидных последовательностей, так и специфика получаемых электрофоретических профилей, содержащих гомоморфные и гетероморфные спектры. Для выявления степени генетического полиморфизма применялся метод RAPD маркирования. Дендрограммы, построенные по методу полной связи, показали высокую степень генетической гетерогенности образцов. Выделены кластеры по межвидовой изменчивости.

Эксперимент по молекулярной идентификации принадлежности образцов к определенному таксону проводился на основе анализа канонических регионов рДНК: ITS и IGS. Только по межгенному спейсеру IGS (фрагмент ETS региона) исследуемые образцы гигантских борщевиков достоверно различимы. На основе анализа межгенного спейсера IGS ряд образцов был идентифицирован как вид. Анализ других образцов показал наличие альтернативной последовательности, что говорит о гибридизации. Проведенный в международных генетических базах данных анализ принадлежности вариантов I и II к тому или иному виду *Heracleum* продемонстрировал, что наибольший уровень сходства установлен с *H. freynianum* (NCBI MG772794.1) – 100%, с *H. lehmannianum* (NCBI MG772793.1) – 99,46%, с *H. afghanicum* (NCBI MG772792.1) – 99,46%, с *H. mantegazzianum* (NCBI FJ807509.1) – 99,46%. Однако следует отметить, что сравнительный анализ в базах данных (вследствие отсутствия полной информации для 18S-IGS) производился в относительно консервативной проксимальной (по отношению к гену 18S рНК) части 18S-IGS локуса (координаты 1–368 н.о., или 76% от величины последовательности), что может указывать только на их определенную родственность, но ни в коем случае не свидетельствует об идентичности с ними.

**Заключение.** Гигантские борщевики являются генетически и экологически пластичными, хорошо создающими гибриды биологическими объектами, имеющими большое значение как инвазивные виды чужеродной флоры. Их генетическая гетерогенность отражается в особенностях морфологии и экологии образовавшихся популяций гигантских борщевиков и способствует быстрому расширению инвазий.

**Ключевые слова:** гигантские борщевики, инвазивные виды, молекулярная идентификация, генотип, RAPD диагностика, секвенирование, межгенный спейсер.

# GENOTYPE FEATURES OF GIGANTIC HOGWEED ON THE TERRITORY OF VITEBSK REGION (BASED ON IGS-LOCUS ANALYSIS DATA)

S.V. Panteleyev\*, P.S. Kiryanov\*, L.M. Merzhvinski\*\*,  
P.Yu. Kolmakov\*\*, Yu.I. Vysotski\*\*, G.G. Pirkhanov\*\*,  
A.Yu. Leonov\*\*, V.V. Vasilevich\*\*, O.Yu. Baranov\*

\*State Scientific Establishment “Institute of Forest of the NASc of Belarus”

\*\*Education Establishment “Vitebsk State P.M. Masherov University”

At present there are two aborigine species of hogweed in the natural conditions of the Republic: *H. sibiricum* L. and *H. sphondylium* L. However, since the late 1950-ies for more than 20 years more than 10 species of hogweed were known to be introduced in Belarus, including *H. sosnowskyi*. That is why *H. mantegazzianum* Somm. et Levier, *H. lehmannianum* Bunge., *H. trachyloma* Fisch. et Mey and *H. persicum* Desf. are supposed to populate the territory of the country. At the same time, there are no reliable data on the distribution of invasive species of *Heracleum* spp. and their hybrids. The upper mentioned makes it possible to conclude that a study of genotype features of the group of gigantic hogweed on the territory of Belarus is current.

The research purpose is to identify features of the genetic structure of gigantic hogweed within the limits of Vitebsk Region.

**Material and methods.** The material was live vegetative organs of gigantic hogweed which were collected in Vitebsk Region of the Republic of Belarus. To find out molecular-genetic differences among the studied samples of hogweed two types of approaches were used: a) an analysis of a big number of non-coding locuses which are dispersed in the nuclear genome and characterized by low allelic polymorphism; b) an analysis of some locuses which are characterized by big allelic polymorphism. The degree of genetic differentiation was estimated on the basis of the average values obtained for individual locuses, which reflects the general tendency in the formation of differences among their genomes. RAPD locuses were used as markers, allelic polymorphism of which is described as a diallelic system (the dominant allele “1” and the recessive “0”). The obtained in the course of PCR amplicones of locuses IGS of the studied plants were sequenced using Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, the USA) according to generally accepted methods. The species identification was made in the International Gene Bank of the National Center for Biotechnological Information (NCBI, the USA).

**Findings and their discussion.** The study of two regions of transgenic spacer which join genes 185 (indicated as 185-IGS) and 285 (indicated as 285-IGS) of rRNA made it possible to find out several variants of genotypes among the studied samples of *Heracleum* spp. The outstanding characteristics of the identified genotypes were the differences both in the structure of nucleotide sequences and the specificity of the obtained electrophoresis profiles which contained homomorphic and heteromorphic spectrums. To identify the degree of genetic polymorphism RAPD marking method was used. Dendrograms built according to the method of complete link demonstrated a high degree of genetic heterogeneity of the samples. Cross-species changeability clusters were found out.

The experiment of molecular identification of sample attribution to a certain taxon was based on the analysis of canonic regions of pDNA: ITS and IGS. The samples of gigantic hogweed reliably differed only according to transgene spacer IGS (fragment ETS region). Based on the analysis of transgene spacer IGS a number of samples were identified as a species. The analysis of other samples showed the presence of an alternative sequence, which means hybridization. The analysis of the attribution of variants I and II to this or that *Heracleum* species which was conducted in international genetic data bases showed that the greatest likeness was identified with *H. freynianum* (NCBI MG772794.1) – 100%, with *H. lehmannianum* (NCBI MG772793.1) – 99,46%, with *H. afghanicum* (NCBI MG772792.1) – 99,46%, with *H. mantegazzianum* (NCBI FJ807509.1) – 99,46%. However, it should be mentioned that the comparative analysis in data bases (due to the lack of complete information for 185-IGS) was conducted only in rather conservative proximal (in relation to gene 185 pRNA) part of 185-IGS locus (coordinates 1–368 n.o., or 76% of the value of the sequence), which can indicate only their certain relations but in no case their identity.

**Conclusion.** Gigantic hogweed is genetically and ecologically plastic; they are biological objects which create hybrids easily; they are significant as invasive species of alien flora. Their genetic heterogeneity is reflected in the features of morphology and ecology of the shaped populations of gigantic hogweed and promotes quick spread of invasions.

**Key words:** gigantic hogweed, invasive species, molecular identification, genotype, RAPD diagnostics, sequencing, transgene spacer.