

ВИКОРИСТАННЯ ДІЛЯНКИ ХЛОРОПЛАСТНОЇ ДНК *rpl32-trnL*(UAG) ДЛЯ ГЕНЕТИЧНОГО БАРКОДИНГУ ІНВАЗІЙНИХ ВИДІВ РОДУ *GALINSOGA*

Ю.О. ТИНКЕВИЧ, А.Є. ШЕЛИФІСТ, О.В. ЧЕРЕВАТОВ, І.І. ПАНЧУК, Р.А. ВОЛКОВ *

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, 58002, Чернівці, Україна

E-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

Автор для кореспонденції – Волков Р.А., e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

Galinsoga parviflora та *G. quadriradiata* належать до найуспішніших інвазійних видів родини *Asteraceae*, які з кінця XVIII сторіччя активно поширились Європою та іншими континентами. Попри значний вплив цих рослин на агроєкосистеми, генетична структура їхніх популяцій залишається недостатньо вивченою з використанням молекулярно-генетичних підходів. За допомогою сиквенування та біоінформатичного аналізу було досліджено поліморфізм міжгенного спейсера *rpl32-trnL*(UAG) хлоропластної ДНК у зразках *Galinsoga* з України, інших країн Європи та Китаю. Встановлено, що переважна більшість зразків *G. parviflora* та *G. quadriradiata* представлена двома основними гаплотипами *Par1* та *Qua1*, що свідчить про низьке генетичне різноманіття цих видів в межах їх вторинного ареалу та підтверджує гіпотезу одноразової інтродукції обмеженої кількості вихідного матеріалу. Також виявлено чотири рідкісні гаплотипи, які, ймовірно, виникли в межах інвазійного ареалу. Показано, що при гібридизації між *G. parviflora* та *G. quadriradiata* обидва види можуть виступати в ролі материнської форми. Підтверджено ефективність використання ділянки *rpl32-trnL*(UAG) для генетичного баркодингу та встановлено, що *G. parviflora* домінує у центральних і північних, тоді як *G. quadriradiata* – у західних областях України.

Ключові слова: біоінформатичний аналіз, генетичний поліморфізм, молекулярна геноміка, молекулярна еволюція та філогенія, хлоропластна ДНК (хпДНК), *Galinsoga*.

Вступ. Негативний вплив інвазійних видів на довкілля становить проблему світового значення. Серед рослин лідером за кількістю інвазійних видів є родина айстрові (*Asteraceae*) (Li et al., 2025). Зокрема, до найуспішніших адвентивних рослин належать представники роду *Galinsoga* (незбутниця), що об'єднує від 12 до 15 видів (POWO, 2025; WFO, 2025). Два види з

найширшим первинним ареалом, *G. parviflora* Cav. та *G. quadriradiata* Ruiz and Pav., розповсюдились на всі материки, окрім Антарктиди (GBIF, 2025). Їх поширення в Європі розпочалося наприкінці XVIII сторіччя внаслідок «втечі» з ботанічних садів. Обмін рослинами між садами сприяв майже одночасному початку інвазії у різних частинах континенту (Galera and Sudnik-Wojcikowska, 2010).

Антропогенна трансформація територій, особливо розвиток дорожньої мережі, є ключовим фактором прискорення інвазії видів роду *Galinsoga* (Chen et al., 2025), які на сьогодні становлять серйозну загрозу для багатьох сільськогосподарських культур, як то бобові, капуста, томати та полуниця, спричиняючи значні втрати врожаю (Damalas, 2008). Поруч із цим, високий вміст поживних і біологічно-активних речовин робить види незбутниця потенційно перспективними харчовими та кормовими культурами (Qin et al., 2025).

Galinsoga parviflora та *G. quadriradiata* морфологічно подібні між собою і водночас характеризуються значною внутрішньовидовою мінливістю, що ускладнює їх ідентифікацію (Canne, 1977; Damalas, 2008). При цьому *G. quadriradiata* вважається найбільш поліморфним таксоном роду, який представлений трьома морфотипами, які демонструють неповну репродуктивну сумісність (Canne, 1977).

Генетичні відмінності між видами є суттєвими: *G. parviflora* є диплоїдом ($2n = 16$), а *G. quadriradiata* – алотетраплоїдом ($2n = 32$). З огляду на морфологічну подібність хромосом припускається, що *G. parviflora* є можливим предком *G. quadriradiata* (Damalas, 2008). Проте інші цитогенетичні дані – відсутність кон'югації хромосом у триплоїдних гібридів ($2n = 24$) та мейотичні аномалії у *G. quadriradiata* – суперечать цій гіпотезі (Gopinathan and Babu, 1982).

Невелика кількість вихідного матеріалу *G. parviflora* та *G. quadriradiata*, завезеного у XVIII ст. з Перу та Венесуели до Старого Світу (Galera and Sudnik-Wojcikowska, 2010) зумовила низьке генетичне різноманіття в адвентивній частині ареалу. Для популяцій обох цих видів з України (Tynkevich et al., 2025a) та для *G. quadriradiata* з Китаю (Chen et al., 2025) ця гіпотеза підтверджена ISSR-аналізом. Тим не менш, екологічні дослідження демонструють популяційну диференціацію *G. quadriradiata* за ростовими характеристиками, ефективністю засвоєння азоту та конкурентоздатністю із аборигенними рослинами (Zhang et al., 2024).

На території України *G. parviflora* зустрічається дещо частіше, що може відображати швидшу інвазію цього виду внаслідок більшої екологічної пластичності порівняно з *G. quadriradiata* (Pysek et al., 1998). Однак картина розповсюдження обох видів може вимагати корекції внаслідок їх помилкової ідентифікації через морфологічну подібність, як це було показано з використанням ISSR-маркерів для чотирьох з 33 проаналізованих зразків *Galinsoga* (Tynkevich et al., 2025a).

У межах вторинного (адвентивного) ареалу гібридизація між *G. parviflora* та *G. quadriradiata* призводить до формування триплоїдних гібридів, які розмножуються вегетативно і описані як *Galinsoga* × *mixta* Murr (Duistermaat et al., 2014; POWO, 2025). Раніше, ґрунтуючись на результатах аналізу морфологічних ознак, припускалось, що міжвидові гібриди *Galinsoga* можуть зустрічатись і на території України (Yavorska, 2008), що було нещодавно підтверджено з використанням молекулярних маркерів (Tynkevich et al., 2025a).

Молекулярні методи досі застосовувались для вивчення видів *Galinsoga* лише епізодично. Зокрема, аналіз генетичного різноманіття популяцій адвентивних видів проводився виключно із використанням ISSR-маркерів (Chen et al., 2025; Tynkevich et al., 2025a). Для представників родини Asteraceae інші молекулярні методи, а саме — сиквенування хлоропластної ДНК (хпДНК) та ITS1-ITS2, застосовувалось лише для філогенетичної реконструкції (Baldwin et al., 2002; Peller et al., 2010; Rivera et al., 2021) або ДНК-баркодингу регіональної флори (Kress et al., 2005; Xu et al., 2018; Gill et al., 2019; Tommasi et al.,

2021; Zhang et al., 2022), причому, досі не було запропоновано ділянку геному, використання якої для баркодингу дозволило б ефективно розрізняти *G. parviflora* та *G. quadriradiata*.

Незважаючи на повсюдне поширення інвазійних представників роду *Galinsoga* в Україні та їх шкідливість для сільського господарства, генетичні дослідження українських популяцій лише розпочинаються (Tynkevich et al., 2025a).

Хлоропластна ДНК є зручним інструментом для генетичного баркодингу завдяки легкості ампліфікації, сиквенування та можливості порівняння з раніше отриманими даними, депонованими у GenBank (Li et al., 2015; Tynkevich et al., 2023). Міжгенний спейсер *rpl32-trnL* (UAG), який демонструє найвищий вміст поліморфної інформації серед хлоропластних баркодів покритонасінних (Shaw et al., 2007), був успішно використаний для оцінки генетичного різноманіття інших інвазійних видів, зокрема *Impatiens glandulifera* (Kurose et al., 2020; Tynkevich et al., 2025c) та видів роду *Reynoutria* (Tynkevich et al., 2025b). З огляду на вищезазначене, метою цього дослідження була ідентифікація хлоропластних гаплотипів інвазійних рослин роду *Galinsoga* з України та інших європейських країн за ділянкою *rpl32-trnL*(UAG).

Матеріали і методи. *Рослинний матеріал та виділення ДНК.* Зразки рослин видів *Galinsoga* були відібрані з гербаріїв Чернівецького національного університету (CHER) та державного природознавчого музею м. Львів (LWS), а також зібрані авторами статті та ентузіастами-природознавцями на території 13 областей України, а також у Польщі, Литві, Німеччині та Швеції впродовж 2024 р. (табл. 1). Таксономічну приналежність зразків визначали за морфологічними ознаками. Виділення геномної ДНК з гербарних зразків здійснювали цетавлоновим методом (Porebski et al., 1997). На стадії лізису проводили обробку зразків протеїназою K (Sigma-Aldrich, США) (Tynkevich et al., 2022).

Ампліфікація та сиквенування. Ділянку *rpl32-trnL*(UAG) хпДНК ампліфікували із застосуванням праймерів (табл. 2), комплементарних до фланкуючих фрагментів кодувальних ділянок відповідних генів (Shaw et al., 2007). Для проведення ПЛР змішували наступні компоненти: 15 нг ДНК, 6 мкл 5× полімеразної суміші FIREPol Master Mix (Solis BioDyne) та

Таблиця 1. Використані для аналізу послідовності *rpl32-trnL(UAG)*

Зразок	Географічне походження	Номер у GenBank	Гаплотип	Джерело
Gal-1	с. Шацьк, Волинська обл., Україна	PX675665	Par1	Ця стаття
Gal-6	м. Сколе, Львівська обл., Україна	PX675666	Par1	Ця стаття
Gal-8	с. Лази, Івано-Франківська обл., Україна	PX675667	Qual	Ця стаття
Gal-15	с. Купка, Чернівецька обл., Україна	PX675668	Qual	Ця стаття
Gal-29	с. Замостя, Чернівецька обл., Україна	PX675669	Par1	Ця стаття
Gal-38	с. Лунка, Чернівецька обл., Україна	PX675670	Par1	Ця стаття
Gal-44	с. Байраки, Чернівецька обл., Україна	PX675671	Par1	Ця стаття
Gal-46	м. Городенка, Івано-Франківська обл., Україна	PX675672	Qual	Ця стаття
Gal-47	с. Проходи, Волинська обл., Україна	PX675673	Par1	Ця стаття
Gal-48	с. Григорівка, Хмельницька обл., Україна	PX675674	Par1	Ця стаття
Gal-50	м. Сторожинець, Чернівецька обл., Україна	PX675675	Qual	Ця стаття
Gal-51	м. Герца, Чернівецька обл., Україна	PX675676	Par1	Ця стаття
Gal-56	м. Коростинів, Житомирська обл., Україна	PX675677	Par2	Ця стаття
Gal-59	м. Чернівці, Чернівецька обл., Україна	PX675678	Qual2	Ця стаття
Gal-60	м. Краків, Малопольське воеводство, Польща	PX675679	Qual	Ця стаття
Gal-61	с. Юрківці, Чернівецька обл., Україна	PX675680	Par1	Ця стаття
Gal-62	с. Нижні Ворота, Закарпатська обл., Україна	PX675681	Qual	Ця стаття
Gal-64	с. Боришківці, Тернопільська обл., Україна	PX675682	Par1	Ця стаття
Gal-68	с. Буша, Рівненська обл., Україна	PX675683	Par1	Ця стаття
Gal-69	с. Горошова, Тернопільська обл., Україна	PX675684	Qual	Ця стаття
Gal-70	с. Горошова, Тернопільська обл., Україна	PX675685	Par1	Ця стаття
Gal-72	м. Кременець, Тернопільська обл., Україна	PX675686	Par1	Ця стаття
Gal-73	м. Верхня Рожанка, Львівська обл., Україна	PX675687	Par1	Ця стаття
Gal-74	м. Клайпеда, Клайпедський повіт, Литва	PX675688	Qual	Ця стаття
Gal-75	м. Київ, Україна	PX675689	Par1	Ця стаття
Gal-76	м. Київ, Україна	PX675690	Par1	Ця стаття
Gal-79	м. Рахів, Закарпатська обл., Україна	PX675691	Qual	Ця стаття
Gal-80	с. Іванівці, Закарпатська обл., Україна	PX675692	Qual	Ця стаття
Gal-81	м. Ужгород, Закарпатська обл., Україна	PX675693	Qual	Ця стаття
Gal-82	с. Кульчіївці, Хмельницька обл., Україна	PX675694	Par1	Ця стаття
Gal-84	с. Негровець, Хмельницька обл., Україна	PX675695	Qual	Ця стаття
Gal-85	м. Івано-Франківськ, Івано-Франківська обл., Україна	PX675696	Par1	Ця стаття
Gal-86	м. Кропивницький, Кіровоградська обл., Україна	PX675697	Par1	Ця стаття
Gal-87	м. Кельн, земля Північний Рейн-Вестфалія, Німеччина	PX675698	Qual	Ця стаття
Gal-89	с. Лазещина, Закарпатська обл., Україна	PX675699	Qual	Ця стаття
Gal-91	м. Тернопіль, Тернопільська обл., Україна	PX675700	Par1	Ця стаття
Gal-94	м. Тернопіль, Тернопільська обл., Україна	PX675701	Qual	Ця стаття
Gal-97	м. Ходорів, Львівська обл., Україна	PX675702	Qual	Ця стаття
Gal-101	с. Чабани, Київська обл., Україна	PX675703	Par1	Ця стаття
Gal-108	м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., Україна	PX675704	Par1	Ця стаття
Gal-109	с. Оленівка, Хмельницька обл., Україна	PX675705	Par1	Ця стаття
Gal-111	с. Лебедин, Черкаська обл., Україна	PX675706	Par1	Ця стаття
Gal-112	м. Кельн, земля Північний Рейн-Вестфалія, Німеччина	PX675707	Par1	Ця стаття
Gal-114	м. Мальме, лен Сконе, Швеція	PX675708	Qual	Ця стаття

Зразок	Географічне походження	Номер у GenBank	Гаплотип	Джерело
Gal-O88, O90	росія	OP832588 OP832590	Par1	GenBank
Gal-O89	росія	OP832589	Par3	GenBank
Gal-O91	росія	OP832591	Par4	GenBank
Gal-N53	хребет Цінлін, пров. Шеньсі, Китай	NC_031853	Qua1	Wang et al., 2018
Gal-N87	пров. Сичуань, Китай	NC_046787	Par1	Zhang et al., 2019
Gal-E58	Норвегія	ERR5555158	Par1	PRJEB43865
Gal-E47	Данія	ERR8268547	Qua1	PRJEB50550
Gal-E60	Швейцарія	ERR14029660	Par1	PRJEB82787
Gal-E81	Франція	ERR14041381	Qua1	PRJEB82787

Примітки. Номери доступу та назви геномних проектів NCBI: PRJEB82787 – «5107 genome skims from the Alpine vascular flora»; PRJEB50550 – «484 genome skims from the Norwegian arctic vascular flora»; PRJEB43865 – «1500 genome skims from the Norwegian arctic vascular flora»

15 пікомоль кожного з двох обраних праймерів в загальному об'ємі 30 мкл. Результати ампліфікації перевіряли за допомогою електрофорезу у 1,5%-вому агарозному гелі. Отримані продукти ПЛР очищали екстракцією хлороформом та сиквенували на фірмі LGC Genomics (Німеччина) із застосуванням праймерів, використаних для ампліфікації.

Перевірка якості, анотування та розрахунок рівня подібності послідовностей проводились з використанням програмного забезпечення Geneious Prime 2026.0.1. Отримані нуклеотидні послідовності депонували в базі даних GenBank під номерами, зазначеними в табл. 1.

Збирання послідовностей з використанням даних геномного сиквенування. Для аналізу були також використані повногеномні бібліотеки NGS сиквенування, які доступні для видів роду *Galinsoga* в базі даних SRA (Sequence Read Archive, NCBI). Референс-орієнтоване *de novo* збирання послідовностей *rpl32-trnL*(UAG) проводили методом графів де Брейна, реалізованим в програмному забезпеченні GeneMiner (Xie et al., 2024). Використовували параметри

за замовчуванням і значення bootstrap = 100. В якості референтних застосовували сиквенувані нами послідовності *rpl32-trnL*(UAG).

Множинне вирівнювання та аналіз гаплотипів. Послідовності *rpl32-trnL*(UAG) вирівнювали в програмі MAFFT методом G-INS-i (Katoh and Standley, 2013). Кількість варіабельних та парсимоній-інформативних сайтів визначали в програмі MEGA11 (Tamura et al., 2021). Середня попарна подібність між послідовностями була розрахована з використанням програми Geneious Prime 2026.0.1. Щоб включити інформацію про індели у філогенетичний аналіз, застосовували метод кодування інделів як дискретних ознак (Simmons and Ochoterena, 2000). Кодування проводили за допомогою інструменту FastGap 1.2 (Borchsenius, 2009). Для обрахунку мережі гаплотипів використовували median-joining метод реалізований в програмі POPART-1.7 (Leigh et al., 2015).

Результати та обговорення. Поліморфізм ділянки *rpl32-trnL*(UAG). Зразки рослин для дослідження були зібрані на території 13 областей України та чотирьох країн Західної, Централь-

Таблиця 2. Праймери, використані для ПЛР-ампліфікації ділянки *rpl32-trnL*(UAG)

Назва праймера	Орієнтація праймера	Нуклеотидна послідовність	Температура гібридизації
rpL32-F	Пряма	5'-cagttccaaaaaacgtactt-3'	57 °C
trnL(UAG)	Зворотна	5'-ctgcttcctaagagcagcgt-3'	



Рис. 1. Географічне походження зразків рослин роду *Galinsoga*. Блакитним та жовтим кольорами показано локалізацію гаплотипів *G. parviflora* та *G. quadriradiata*, відповідно

ної та Північної Європи (рис. 1). Ділянку хлоропластного геному *rpl32-trnL(UAG)* сиквенували для 26 зразків рослин, які за морфологічними ознаками були віднесені до *G. parviflora* та 18 зразків, віднесених до *G. quadriradiata*. Для чотирьох зразків з Північної Європи та Альпійського регіону послідовність *rpl32-trnL(UAG)* була зібрана із наявних в SRA повногеномних бібліотек рідів. Крім того, для аналізу було використано відповідну ділянку з двох повних хлоропластних геномів зразків з Китаю та чотири окремі послідовності ділянки *rpl32-trnL(UAG)* зразків з території росії, які доступні у базі даних GenBank (табл. 1).

Загальна довжина вирівнювання всіх отриманих послідовностей *rpl32-trnL(UAG)* складає 839 нп (рис. 2, табл. 3), а рівень середньої парної подібності становить 98,5 %. Вирівнювання послідовностей містить п'ять нуклеотидних замін: 1 транзицію і 4 трансверсії, а та-

кож 2 індели. Цікаво, що в послідовностях *rpl32-trnL(UAG)* зразків *Galinsoga* переважають трансверсії, так само, як і в послідовностях цієї ділянки зразків *Impatiens glandulifera* і видів роду *Reynoutria* (Tynkevich et al., 2025b, 2025c). Дві з п'яти нуклеотидних замін є парсимоній-інформативними (табл. 4). Два з трьох інделів пояснюються різною кількістю нуклеотидів в розміщених один за одним оліго-А та оліго-Т ланцюжках. Ще один індел виник внаслідок дуплікації АТ-багатої ділянки довжиною 21 нп в центральній частині спейсера *G. quadriradiata* (рис. 2).

Видоспецифічні варіанти ділянки *rpl32-trnL(UAG)*. Два основні варіанти досліджуваної ділянки відрізняються однією з двох парсимоній-інформативних нуклеотидних замін та трьома інделами. Оскільки один з варіантів зустрічається переважно у зразків, визначених на основі морфологічних ознак як *G. parviflora*, а

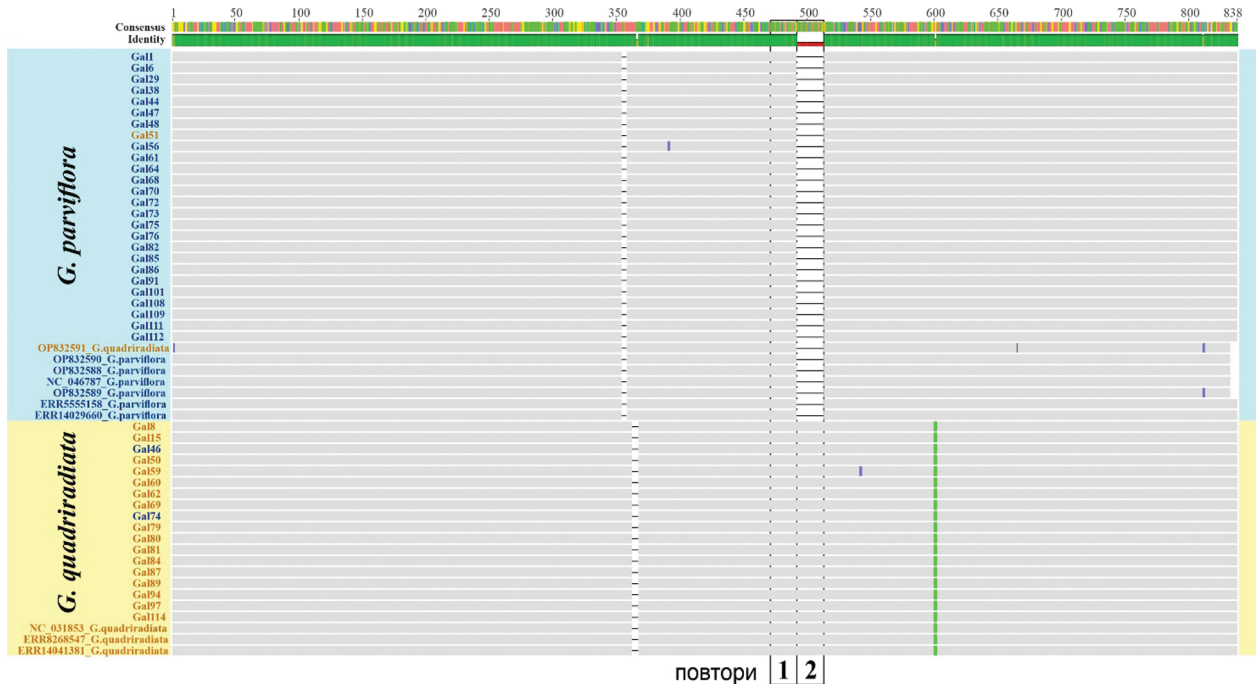


Рис. 2. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей ділянки хпДНК *rpl32-trnL(UAG)* зразків рослин роду *Galinsoga*. Назви зразків рослин, морфологічно ідентифікованих як *G. parviflora* та *G. quadriradiata*, надруковано синім та помаранчевим кольорами, відповідно

інший — *G. quadriradiata*, ми назвали їх, відповідно, Par1 та Qua1. В той же час, в чотирьох випадках морфологічна ідентифікація зразків не узгоджувалась із визначенням для них гаплотипом. Так, зразки Gal-46 та Gal-74 були визначені як *G. parviflora*, проте мають гаплотип Qua1, тоді як для зразків Gal-51 та Gal-091 ситуація є оберненою. На побудованій на основі вирівнювання послідовностей *rpl32-trnL(UAG)* median-joining мережі (рис. 3) загалом візуалізуються 6 гаплотипів. Крім Par1 та Qua1, чотири інші гаплотипи представлені одиночними зразками. Гаплотипи Par2 та Qua2 вияв-

лено у зразках з України, а Par3 та Par4 — з Росії. Останні два гаплотипи містять одну спільну нуклеотидну заміну.

Генетичний поліморфізм видів роду *Galinsoga*. Виявлені нами чотири мутації в послідовності ділянки *rpl32-trnL(UAG)* дозволяють чітко визначати видову належність зразків інвазійних видів роду *Galinsoga*. Три з чотирьох зразків, для яких визначення видової належності за гаплотипом ділянки *rpl32-trnL(UAG)* та морфологічними ознаками не співпадають, були раніше проаналізовані з використанням ISSR-маркерів (Tynkevich et al., 2025a). Для двох зразків, Gal-46 та Gal-51, результати ISSR-аналізу узгоджуються із ідентифікацією за хпДНК. Ще один зразок, Gal-74, за ISSR-маркерами був визначений як гібридний, із значним переважанням в геномі генетичного матеріалу *G. quadriradiata*, що відповідає наявності у нього хлоропластного гаплотипу Qua1. Аналогічно, хлоропластний гаплотип Par1, знайдений у гібридного зразка Gal-64, відповідає більшому вмісту в геномі генетичного матеріалу *G. parviflora* (Tynkevich et al., 2025a). Назагал наші результати свідчать, що при гібридизації

Таблиця 3. Параметри вирівнювання ділянки *rpl32-trnL(UAG)*

Параметр	Значення
Кількість зразків	54
Довжина вирівнювання, нп	824
Варіабельні нуклеотидні позиції	6
Парсимоній-інформативні позиції	3
Індели	2
Середня попарна подібність, %	98,3

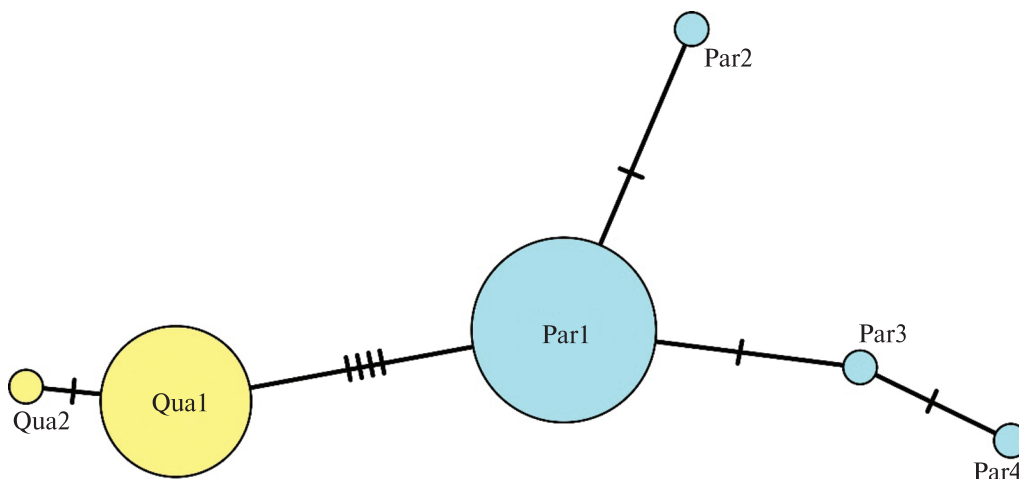


Рис. 3. Median-joining мережа гаплотипів *rpl32-trnL(UAG)*, зображених як кола. Розмір кола пропорційний кількості зразків із цим гаплотипом. Блакитним та жовтим кольорами показано гаплотипи *G. parviflora* та *G. quadriradiata*, відповідно. Кількість рисок на гілках відповідає кількості мутацій, які відрізняють гаплотипи

G. parviflora та *G. quadriradiata* обидва види можуть виступати материнською формою.

В цій роботі проаналізовано 33 зразки, які за послідовністю *rpl32-trnL(UAG)* належать до *G. parviflora*. Ці зразки походять з Китаю, Німеччини, Норвегії, росії, України та Швейцарії; для них ідентифіковано чотири гаплотипи, які відрізняються між собою не більше, ніж на 2 нуклеотидні заміни. Для 19 зразків *G. quadriradiata* географія походження є ширшою і включає Данію, Китай, Литву, Німеччину, Польщу, Україну, Францію та Швецію; для них було ідентифіковано лише два гаплотипи. Абсолютна більшість зразків обох видів належить до основних гаплотипів Par1 та Qua1. Отже, ми можемо констатувати, що генетичний поліморфізм обох інвазійних видів *Galinsoga* за ділянкою *rpl32-trnL(UAG)* виявився дуже низьким на всій території Євразійського континенту. Такий висновок добре узгоджується із припущенням про одноразове завезення незначної кількості посадкового матеріалу обох видів із Південної Америки до ботанічних садів Старого Світу. Можна припустити, що чотири рідкісні гаплотипи (Par2-Par4 та Qua2), які виявлені лише у окремих зразків, виникли вже в межах вторинного ареалу, зокрема, два з них знайдені на території України (табл. 1). Вірогідно, низький рівень генетичного поліморфізму, виявлений у вторинному ареалі *Galinsoga*, пов'язаний із проходженням популяцій через так зване «пляш-

кове горло», що є типовим для інвазійних видів (Shaik et al., 2015; Mukherjee et al., 2016; Tynkevich et al., 2025b). Проте, для підтвердження цього припущення бажаний додатковий аналіз із застосуванням більш поліморфних локусів, наприклад ядерних маркерів, таких як спейсерні ділянки 5S рДНК чи 35S рДНК (Poczai and Huvönen, 2010; Ishchenko et al., 2018; Garsia et al., 2020; Ishchenko et al., 2020; Chen et al., 2024).

Цікаво, що генетичне різноманіття зразків *G. quadriradiata* виявилось нижчим, ніж *G. parviflora*, що відповідає даним попередніх аналізів із використанням ISSR-маркерів (Chen et al., 2025; Tynkevich et al., 2025a). З огляду на ймовірне гібридне походження *G. quadriradiata* (Cane, 1977), можна припустити, що цей вид є еволюційно молодшим за *G. parviflora* та має вужчий генетичний бекграунд навіть в межах первинного ареалу. Нажаль, на сьогодні молекулярні дослідження зразків роду *Galinsoga* з Центральної та Південної Америки відсутні. Залучення таких зразків для аналізу походження адвентивних популяцій є необхідним наступним кроком для кращого розуміння причин успішної інвазії видів роду *Galinsoga*.

Проведений генетичний баркодинг із використанням ділянки *rpl32-trnL(UAG)* показав, що види *Galinsoga* нерівномірно розповсюджені на території України (рис. 1). Так, у всіх зразках з центральних та північних областей знайдені лише гаплотипи, специфічні для

G. parviflora, тоді як в найбільш західній Закарпатській області виявлено лише гаплотип Qual, специфічний для *G. quadriradiata*. В інших західних областях зустрічаються гаплотипи обох видів. Така картина розповсюдження *G. parviflora* та *G. quadriradiata* на території України може бути наслідком їх первинної міграції з різних вихідних джерел, наприклад, різних ботанічних садів. Альтернативним поясненням може бути різна пристосованість цих двох видів до еколого-географічних умов різних регіонів.

Висновки. Аналіз ділянки *rpl32-trnL*(UAG) хпДНК показує переважне поширення на Євразійському континенті єдиного гаплотипу для *G. parviflora* – Par1 та єдиного гаплотипу для *G. quadriradiata* – Qual. Також виявлено чотири рідкісні гаплотипи, які представлені унікальними зразками. Ці гаплотипи ймовірно виникли вже в межах ареалу інвазії. Аналіз рослин, які утворилися внаслідок гібридизації між *G. parviflora* та *G. quadriradiata* показує, що обидва види можуть виступати материнською формою при схрещуванні. Використання ділянки *rpl32-trnL*(UAG) для баркодингу свідчить, що *G. parviflora* розповсюджений у центральних та північних областях України, а *G. quadriradiata* – у Закарпатській області. На решта території зустрічаються обидва види.

Автори висловлюють подяку Катерині Близнюк, Олені Волюці, Юліану Гавриліву, Валентину Кліщу, Людмилі Козуб, Юлії Медюх, Аліні Михальчук, Владиславу Мірутенко, Валерії Молостовій, Андрію Новікову, Ліані Онук, Олені Погореловій, Маргариті Середенко, Олені та Анні Тинкевич, Аллі Токарюк, Катерині Удовиченко, Анні Черказьяновій, Ілі Чорнею, Катерині Шишкіній, Владиславу Шурупі, Дмитру Якушенко за наданий рослинний матеріал. Ми також вдячні Катерині Близнюк за технічну допомогу у виконанні експериментальної частини роботи.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей і хребетних тварин в якості об'єктів дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

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

APPLICATION OF THE CHLOROPLAST DNA *RPL32-TRNL*(UAG) REGION FOR GENETIC BARCODING OF INVASIVE SPECIES OF THE GENUS *GALINSOGA*

Y.O. Tynkevich, A.E. Shelyfist,
O.V. Cherevatov, I.I. Panchuk, R.A. Volkov

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
2 Kotsiubynsky str., 58002 Chernivtsi, Ukraine
E-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

Galinsoga parviflora and *G. quadriradiata* are among the most successful invasive species of the family Asteraceae, having actively spread across Europe and other continents since the late 18th century. Despite the significant impact on agroecosystems, the genetic structure of their populations remains insufficiently studied using molecular approaches. Using sequencing and bioinformatic analysis, we characterized the polymorphism of the chloroplast DNA intergenic spacer *rpl32-trnL*(UAG) in *Galinsoga* samples from Ukraine, other European countries, and China. It was found that the vast majority of *G. parviflora* and *G. quadriradiata* samples are represented by two main haplotypes, Par1 and Qual, indicating low genetic diversity of these species within their secondary range and supporting the hypothesis of a single introduction involving a limited amount of source material. Four rare haplotypes were also identified, which likely originated within the invaded range. It was shown that in hybridization between *G. parviflora* and *G. quadriradiata* both species can act as the maternal parent. The effectiveness of the *rpl32-trnL*(UAG) region for genetic barcoding was confirmed, and it was found that *G. parviflora* dominate in the central and northern regions of Ukraine, while *G. quadriradiata* prevails in the western regions of the country.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Baldwin, B.G., Wessa, B.L., and Panero, J.L., Nuclear rDNA evidence for major lineages of helenioid *Heliantheae* (Compositae), *Syst. Bot.*, 2002, vol. 27, no. 1, pp. 161–198. <http://www.jstor.org/stable/3093903>
2. Borchsenius, F., FastGap 1.2, Department of Biosciences, Aarhus University, Denmark, 2009 Published online at http://www.aubot.dk/FastGap_home.htm.
3. Canne, J.M., A revision of the genus *Galinsoga* (Compositae: Heliantheae), *Rhodora*, 1977, vol. 79, no. 819, pp. 319–389
4. Chen, G., Stepanenko, A., and Borisjuk, N. Contrasting patterns of 5S rDNA repeats in European and Asian ecotypes of greater duckweed, *Spirodela polyrrhiza* (Lemnaceae), *Frontiers in Plant Science*, 2024, vol. 15, art. 1378683. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1378683>

5. Chen, Y., Song, X., Liu, G., Wang, J., Zhang, C., Chang, X., et al. Unraveling the invasion patterns of *Galinsoga quadriradiata* in mountain ranges: Insights from human activities, phenotypic and genetic variations, *Plant Divers.*, 2026, vol. 48, no. 1, pp. 192–203. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2025.05.012>
6. Damalas, C.A., Distribution, biology, and agricultural importance of *Galinsoga parviflora* (Asteraceae), *Weed Biol. Manage.*, 2008, vol. 8, no. 3, pp. 147–153. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2008.00290.x>
7. Duistermaat, H., Gottschlich, G., Kadereit, J., Kilian, N., Rottensteiner, W.K., Uhlemann, I., Vitek, E., Vogt, R., and Wagenitz, G., Asteraceae Dumort. – Korbchenblüter, in *Exkursionsflora für Istrien, Klagenfurt: Naturwissenschaftlicher Verein für Karnten*, 2014, pp. 770–774.
8. Galera, H., and Sudnik-Wojcikowska, B., Central European botanic gardens as centres of dispersal of alien plants, *Acta Soc. Bot. Pol.*, 2010, vol. 79, no. 2, pp. 147–156. <https://doi.org/10.5586/asbp.2010.020>
9. Garcia, S., Wendel, J.F., Borowska-Zuchowska, N., Annouche, M., Kuderova, A., and Kovarik, A., The utility of graph clustering of 5S ribosomal DNA homoeologs in plant allopolyploids, homoploid hybrids, and cryptic introgressants, *Frontiers in Plant Science*, 2020, vol. 11, art. 41. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00041>
10. Gill, B.A., Musili, P.M., Kurukura, S., Hassan, A.A., Goheen, J.R., Kress, W.J., Kuzmina, M., Pringle, R.M., and Kartzin, T.R., Plant DNA-barcode library and community phylogeny for a semi-arid East African savanna, *Mol. Ecol. Resour.*, 2019, vol. 19, no. 4, pp. 838–846. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13001>
11. Gopinathan, M.C. and Babu, C.R., Cytogenetics of *Galinsoga parviflora* Cav. and *G. ciliata* (Raf.) Blake, and their natural hybrids (Asteraceae), *New Phytol.*, 1982, vol. 91, no. 3, pp. 531–539. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03331.x>
12. Ishchenko, O.O., Mel'nyk, V.M., Parnikoza, I.Y., Budzhak, V.V., Panchuk, I.I., Kunakh, V.A., and Volkov, R.A., Molecular organization of 5S ribosomal DNA and taxonomic status of *Avenella flexuosa* (L.) Drejer (Poaceae), *Cytol. Genet.*, 2020, vol. 54, pp. 505–513. <https://doi.org/10.3103/S0095452720060055>
13. Ishchenko, O.O., Panchuk, I.I., Andreev, I.O., Kunakh, V.A., and Volkov, R.A., Molecular organization of 5S ribosomal DNA of *Deschampsia antarctica*, *Cytol. Genet.*, 2018, vol. 52, no. 6, pp. 416–421. <https://doi.org/10.3103/S0095452718060105>
14. Katoh, K., and Standley, D.M., MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability, *Mol. Biol. Evol.*, 2013, vol. 30, no. 4, pp. 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
15. Kress, W.J., Wurdack, K.J., Zimmer, E.A., Weigt, L.A., and Janzen, D.H., Use of DNA barcodes to identify flowering plants, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 102, no. 23, pp. 8369–8374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503123102>
16. Kurose, D., Pollard, K.M., and Ellison, C.A., Chloroplast DNA analysis of the invasive weed, Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*), in the British Isles. *Sci. Rep.*, 2020, vol. 10, art. 10966. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67871-0>
17. Leigh, J.W., Bryant, D., and Nakagawa, S., POPART: full-feature software for haplotype network construction, *Methods Ecol. Evol.*, 2015, vol. 6, no. 9, pp. 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
18. Li, D., Potgieter, L.J., Aronson, M.F., Axmanová, I., Baiser, B., Carboni, M., et al. GUBIC: The global urban biological invasions compendium for plants. *Ecol. Solutions Evidence*, 2025, vol. 6, no. 1, e70020. <https://doi.org/10.1002/2688-8319.70020>
19. Li, X., Yang, Y., Henry, R.J., Rossetto, M., Wang, Y., and Chen, S., Plant DNA barcoding: From gene to genome, *Biol. Rev.*, 2015, vol. 90, no. 1, pp. 157–166. <https://doi.org/10.1111/brev.12104>
20. Mukherjee, A., Williams, D.A., Gitzendanner, M.A., Overholt, W.A., and Cuda, J.P., Microsatellite and chloroplast DNA diversity of the invasive aquatic weed *Hygrophila polysperma* in native and invasive ranges, *Aquat. Bot.*, 2016, vol. 129, pp. 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2015.12.004>
21. Pelter, P.B., Kennedy, A.H., Tepe, E.J., Shidler, J.B., Nordenstam, B., Kadereit, J.W., and Watson, L.E., Patterns and causes of incongruence between plastid and nuclear Senecioneae (Asteraceae) phylogenies, *Am. J. Bot.*, 2010, vol. 97, no. 5, pp. 856–873. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900287>
22. Poczai, P., and Hyvärinen, J. Nuclear ribosomal spacer regions in plant phylogenetics: problems and prospects. *Molecular biology reports*, 2010, vol. 37, no. 4, pp. 1897–1912. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9630-3>
23. Porebski, S., Bailey, L.G., and Baum, B.R., Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components, *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 1997, vol. 15, no. 1, pp. 8–15. <https://doi.org/10.1007/BF02772108>
24. Pyšek, P., Prach, K., and Mandak, B., Invasions of alien plants into habitats of Central European landscape: an historical pattern, in *Plant Invasions: Ecological Mechanisms and Human Responses*, 1998, pp. 23–32
25. Qin, Y., Khadka, D., Duan, Z., Nie, J., Chen, X., Lin, F., and Luo, B. Potential feed and food applications of invasive *Galinsoga quadriradiata*: insights from ethnobotanical, nutritional and HS-SPME-GC-MS investigations, *Genet. Resour. Crop Evol.*, 2025, vol. 72, pp. 9669–9681. <https://doi.org/10.1007/s10722-025-02528-3>

26. Rivera, P., Villasenor, J.L., Terrazas, T., and Panero, J.L., The importance of the Mexican taxa of Asteraceae in the family phylogeny, *J. Syst. Evol.*, 2021, vol. 59, no. 5, pp. 935–952. <https://doi.org/10.1111/jse.12681>
27. Shaik, R.S., Gopurenko, D., Urwin, N.A., Burrows, G.E., Lepschi, B.J., and Weston, L.A. Population genetics of invasive *Citrullus lanatus*, *Citrullus colocynthis* and *Cucumis myriocarpus* (Cucurbitaceae) in Australia: inferences based on chloroplast and nuclear gene sequencing. *Biol. Invas.*, 2015, vol. 17, no. 8, pp. 2475–2490. <https://doi.org/10.1007/s10530-015-0891-6>
28. Shaw, J., Lickey, E.B., Schilling, E.E., and Small, R.L., Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III, *Am. J. Bot.*, 2007, vol. 94 no. 3, pp. 275–288. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275>
29. Simmons, M.P., and Ochoterena, H., Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses, *Syst. Biol.*, 2000, vol. 49, no. 2, pp. 369–381. <https://doi.org/10.1093/sysbio/49.2.369>
30. Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S., MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11, *Mol. Biol. Evol.*, 2021, vol. 38, no. 7, pp. 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
31. Tommasi, N., Biella, P., Guzzetti, L., Lasway, J.V., Njovu, H.K., Tapparo, A., Agostinetto, G., Peters, M.K., Steffan-Dewenter, I., Labra, M., and Galimberti, A., Impact of land use intensification and local features on plants and pollinators in Sub-Saharan smallholder farms, *Agric. Ecosyst. Environ.*, 2021, vol. 319, no. 9, pp. 107560. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107560>
32. Tynkevich, Y.O., Blyzniuk, K.H., Ivanovych, Y.I., Roshka, N.M., Tokaryuk, A.I., Shelyfist, A.Y., and Volkov, R.A. Genetic diversity of Ukrainian populations of invasive species of the genus *Galinsoga* assessed by ISSR-markers. *Cytol. Genet.*, 2025a, vol. 59, no. 1, pp. 11–23. <https://doi.org/10.3103/S0095452725010141>
33. Tynkevich, Y.O., Boychuk, S.V., Shelyfist, A.Y., Chorney, I.I., and Volkov, R.A., Molecular phylogeny and genetic diversity of Carpathian members of the genus *Muscari* inferred from plastid DNA sequences. *Cytol. Genet.*, 2023, vol. 57, no. 5, pp. 387–398. <https://doi.org/10.3103/S0095452723050079>
34. Tynkevich, Y.O., Cherkazianova, A.S., Chorney, I.I., Panchuk, I.I., and Volkov, R.A. Genetic polymorphism of invasive species of Knotweed (*Reynoutria*) assessed by the *matK* and *rpl32-trnL* (UAG) regions of chloroplast DNA. *Cytol. Genet.*, 2025b, vol. 59, no. 3, pp. 259–269. <https://doi.org/10.3103/S0095452725030089>
35. Tynkevich, Y.O., Roshka, N.M., Panchuk, I.I., and Volkov, R.A. Distribution of two chloroplast haplotypes of the invasive weed Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*) in Ukraine and other European countries. *Cytol. Genet.*, 2025c, vol. 59, no. 5, pp. 465–475. <https://doi.org/10.3103/S009545272505010X>
36. Tynkevich, Y.O., Shelyfist, A.Y., Kozub, L.V., Hemleben, V., Panchuk, I.I., and Volkov, R.A., 5S ribosomal DNA of genus *Solanum*: molecular organization, evolution, and taxonomy, *Front. Plant Sci.*, 2022, vol. 13, art. 852406. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.852406>
37. Wang, X.Y., Zhou, Z.S., Liu, G., and Qian, Z.Q. Characterization of the complete chloroplast genome of the invasive weed *Galinsoga quadriradiata* (Asterales: Asteraceae). *Conserv. Genet. Resour.*, 2018, vol. 10, no. 1, pp. 89–92. <https://doi.org/10.1007/s12686-017-0771-8>
38. Xie, P., Guo, Y., Teng, Y., Zhou, W., and Yu, Y., GeneMiner: A tool for extracting phylogenetic markers from next-generation sequencing data, *Mol. Ecol. Res.*, 2024, vol. 24, no. 3, pp. e13924. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13924>
39. Xu, S.Z., Li, Z.Y., and Jin, X.H., DNA barcoding of invasive plants in China: A resource for identifying invasive plants, *Mol. Ecol. Resour.*, 2018, vol. 18, no. 1, pp. 128–136. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12715>
40. Yavorska, O., New records of some alien plants in the Kyiv urban area, *Visn. Lviv Univ. Biol. Ser.*, 2008, vol. 48, pp. 44–48
41. Zhang, Q., Ye, J.F., Le, C.T., Njenga, D.M., Rabarijaona, N.R., Omollo, W.O., Lu, L.M., Liu, B., and Chen, Z.D., New insights into the formation of biodiversity hotspots of the Kenyan flora, *Diversity Distrib.*, 2022, vol. 28, no. 12, pp. 2696–2711. <https://doi.org/10.1111/ddi.13624>
42. Zhang, W.G., Song, X.J., Petri, L., Liu, G., Chen, X.Y., Liu, R.L., Huang, F.F., Zou, J.B., and Zhu, Z.H., Elevated nitrogen and co-evolution history with competitors shape the invasion process of *Galinsoga quadriradiata*, *J. Plant Ecol.*, 2024, vol. 17, no. 4, p. rtac047. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtac047>
43. Zhang, Z., Chen, Y., Jiang, X., Zhu, P., Zeng, Y., Tang, T., and Li, L., Characterization of the complete chloroplast genome sequence of *Galinsoga parviflora* and its phylogenetic implications. *Mitochondrial DNA Part B*, 2019, vol. 4, no. 2, pp. 2106–2108. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1623106>

Надійшла в редакцію 02.10.2025
Після доопрацювання 21.10.2025
Прийнята до друку 18.03.2026