

# ТЕСТВАНЕ НА ISSR МАРКЕРИ ПРИ *RUMEX ACETOSELLA* COMPLEX В БЪЛГАРИЯ

Цветанка Райчева<sup>1</sup>, Илия Денев<sup>2</sup>

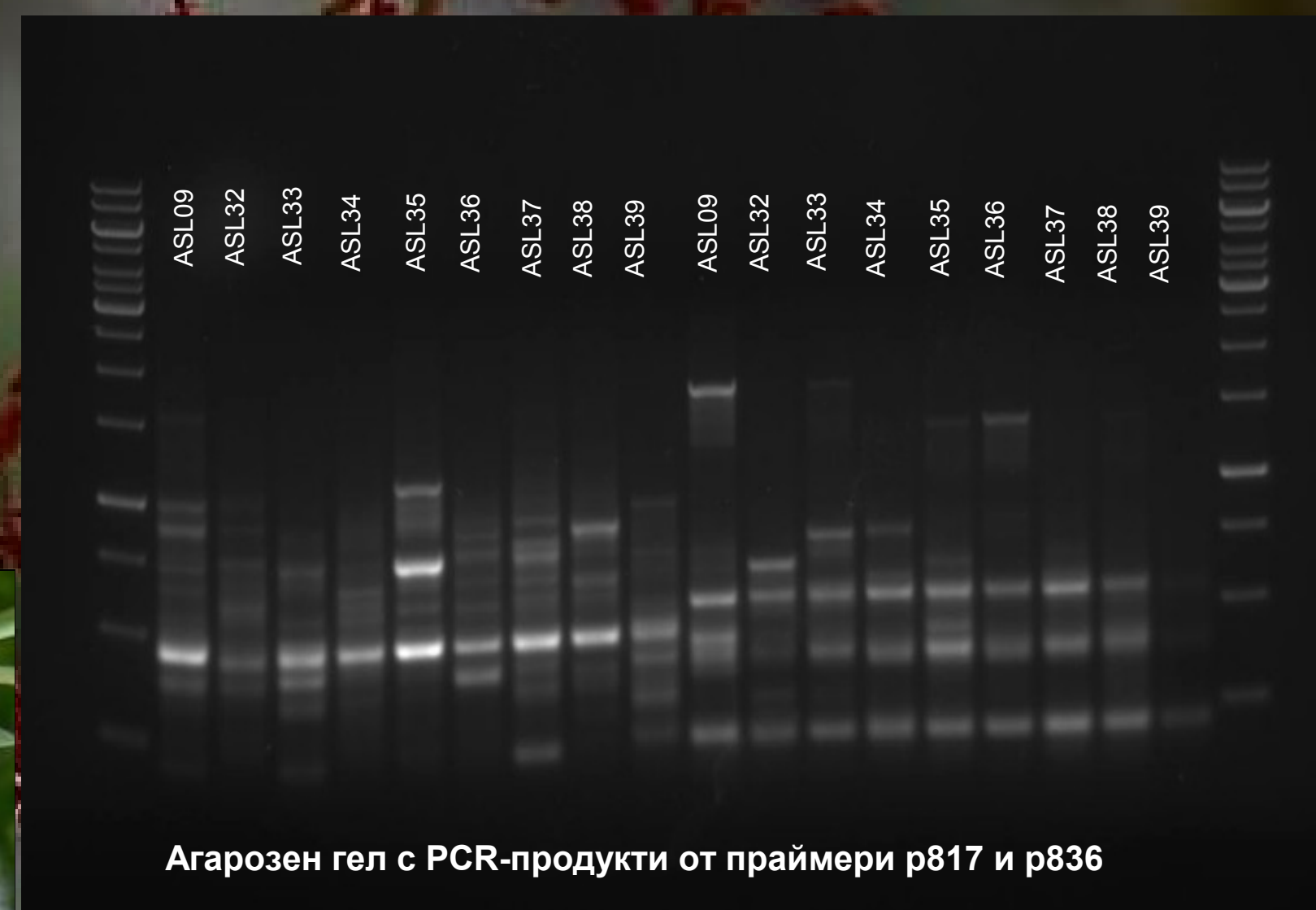
<sup>1</sup> Аграрен университет – Пловдив, raicheva@abv.bg

<sup>2</sup> Пловдивски университет, iliden@uni-plovdiv.bg

*Rumex acetosella* в широк смисъл включва двудомни таксони със специфични механизми за определяне на пола. Групата е изключително разнообразен и сложен полиплоиден комплекс, който представлява предизвикателство като таксономичен казус пред таксономи и изследователи. Таксоните в агрегатния комплекс са възприемани като видове, подвидове, разновидности или форми и до днес са обект на непрекъснати таксономични ревизии. Притежават близки морфологични характеристики и различни нива на плоидност - диплоидно, тетраплоидно, хексаплоидно и октоплоидно. Някои раси на *R. acetosella* са разпространени почти в целия свят, често напълно натурализирани. В екологичен план групата включва пластични синантропни космополити, в много райони на света са включени в списъка на инвазивните и плевелни видове. В българската флора се срещат два вида *R. tenuifolius* (Walr.) Á. Löve и агрегатната група *R. acetosella* L., която включва 4 разновидности (Вълев 1966).

Разграничаването на видовете от подрод *Acetosella* (Meissn.) Fourr. в различните таксономични източници и класификационни схеми не се основава на еднозначни критерии (според едни автори определят е хромозомния брой и нивото на плоидност Löve (1983), според други морфологията и географското разпространение. Високата изменчивост във формата на листата и метлицата (Harris 1973) са причина опростените определителни ключове, основани на тези белези да се приемат като недостатъчно надеждни. Разграничаването на разновидностите на *R. acetosella* - var. *acetosella*; var. *integrifolius* Wallr. и var. *multifidus* (L.) DC. се базира на броя на страничните дялове на приосновните листа.

Разделянето чрез ДНК фрагменти чрез ISSR маркери позволява групиране по видове, подвидове и популации.



Агарозен гел с PCR-продукти от праймери p817 и p836

Анализът на разпределението на полиморфните ивици на ДНК-продукти, получени чрез ISSR показват високи нива на полиморфизъм при шесте използвани праймера (фиг. 1). Резултатите показват, че пробите с ланцетни цели листа (определяни като вид *R. tenuifolius*) имат по-голямо сходство с таксоните с копиевидни петури (определили като типична разновидност на *R. acetosella* var. *acetosella*). Въпреки тясната връзка между тях, няма подкрепа основана на морфологични особености. Резултата от нашето изследване формира групиране на таксоните, което подкрепя класификационната схема на Prodan (1956), според която изменчивостта в агрегатната група не е основана на дивергентни наследствени белези – изменчивостта е възприета с ранг форма. Нашето изследване не е в състояние да изясни таксономичната позиция на членовете, поради недостатъчен брой тествани проби. Но идентифицира необходимостта от ревизия на таксономичния ранг, който при нашите видове не е преразглеждан от 1966 г. Методът дава полезна алтернативна информация за проверка и сравнение с класификацията, основана на морфологични белези. Приликите между диворастащите популации на комплекса открити с ISSR, показват, че таксоните притежават по-близко родство. Вероятно в групата протичат съвременни видообразователни процеси, но все още с ниска степен на дивергенция, в сравнение с интерпретацията на морфологичната таксономия. Основание за това твърдение ни дава липсата на корелация между обособеността на популациите и пространствената изолация. Предвид широкия спектър от екологични условия (ксерофитни, мезофитни и сциофитни) маже да се предположат процеси на локална адаптация на различни генотипове.

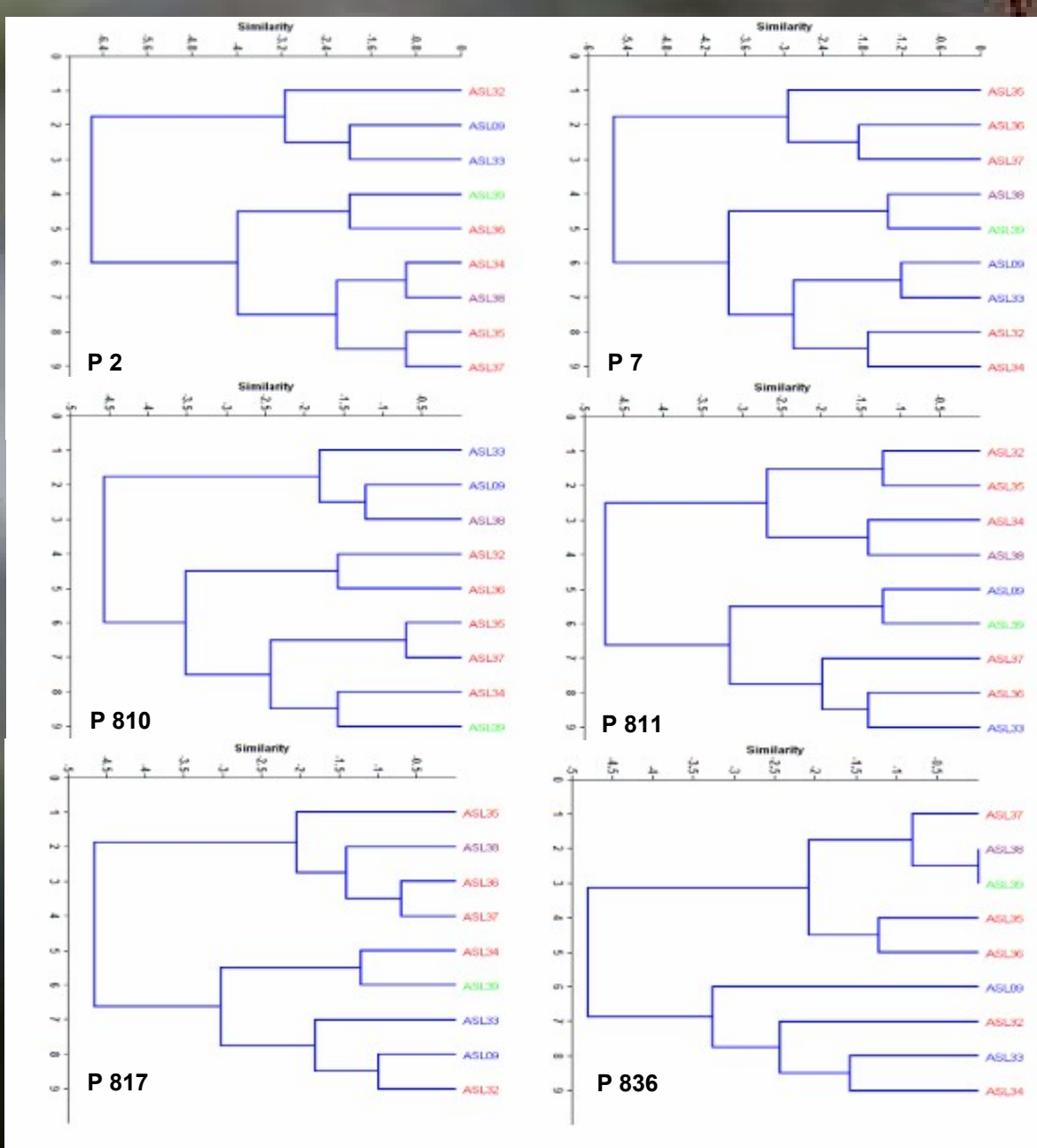
Изследваните таксони от *R. acetosella* показват високи нива на генетична изменчивост и сложни взаимоотношения. Образците с наделени дялове на приосновните листа, определяни от автори като *multifida* с ранг подвид, разновидност или форма се групират в общи кластери с образци без изрязани дялове на листата. Това изследване не потвърждава морфологичната вариабилност при листата при *R. acetosella* като консервативен белег и доказва липсата на надеждност на определителните ключове основани на този белег. Трябва да се търсят други белези, различни от простите морфологични прояви за детерминиране на таксономични единици в тази сложна в таксономично отношение група. Разпространението и връзките между членовете й се нуждаят от допълнително проучване и преценка на таксономичния статус. Не се потвърждава генотипната отдалеченост на *R. tenuifolius* от *R. acetosella*, което поставя под съмнение видовият статус на *R. tenuifolius*. Морфологията на листата и разклоняването на метлицата са конвергентни белези, което ги прави ненадеждни за таксономията на *R. acetosella* s.l.

## TESTING OF ISSR MARKERS IN *RUMEX ACETOSELLA* COMPLEX IN BULGARIA TSVETANKA RAYCHEVA, ILIYA DENEV

### Abstract

Nine samples of *Rumex acetosella* complex in Bulgaria were studied using ISSR markers. The taxa were defined on the basis of their specific morphological features. Total genomic DNA was extracted from fresh leaves and used as template for ISSR – PCR. Six ISSR primers from the collection of the University of British Columbia (Nucleic Acid-Protein Service Unit, UBC Primer Set #9) were used to amplify polymorphic microsatellite loci. The PCR reactions were carried out in Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems). To obtain uniformity in PCR reactions we used PCR master mix (Fermentas, Cat No K0171). The amplified unambiguous bands were scored by molecular weights and redistributed in classes to compile a presence/absence matrix. The dendrograms were based on the results obtained by each of primers used. Cluster and principle analysis showed that the population can not be separated significantly. There is not relationship between morphological and genetic distance of *R. tenuifolius* and *R. acetosella*. We suggest the distribution and relationship between members of this group require further study and reassessment of the taxonomic status.

Изследването е реализирано с финансовата подкрепа на договори BG051PO001-3.3.04/17; ИФС-Б-606 при МОН



Фиг. 1. Кластер анализ на резултатите от PCR-реакции със съответните праймери