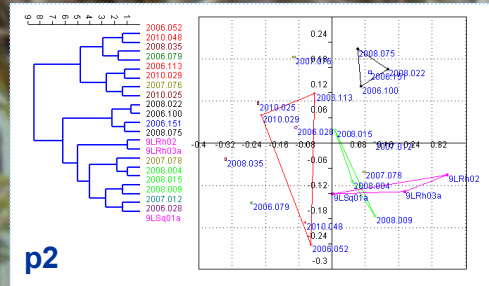


Изследване междувидовите отношения при българските представители на сем. Orobanchaceae посредством ISSR маркери

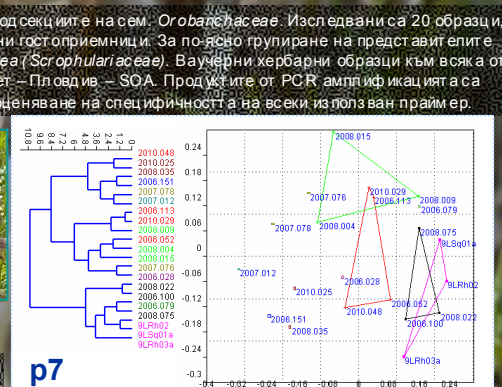
Кирил Стоянов¹ & Илия Денев²

1 - Аграрен университет – Пловдив, Катедра Ботаника и Агриметорология, ул. Менделеев 12, Пловдив
тел.: 032 654332, e-mail orobanche@abv.bg, www.botanica.hit.bg

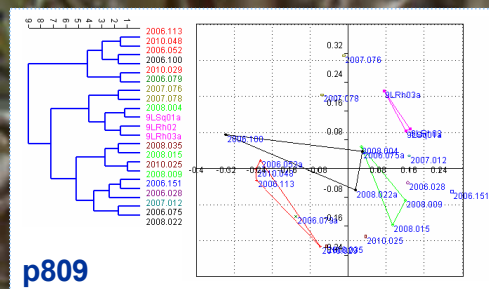
2 - ПУ „Паисий Хилендарски“ кат. „Физиология на растенията и молекулярна биология“, ул. „Цар Асен“ 24 Пловдив
iliden@uni-plovdiv.bg



Пробите от *O. cumana* се отделят от останалите изследвани видове и се групират с *P. mutellii*. Видовете *O. gracilis*, *O. lutea* и *O. saurophyllacea* се групират заедно. Видовете от *Lathraea*, въпреки че остават във вътрешен кластер, се отделят един от друг и се групират със *subsect. Minores*.



Групирането е неясно. Пробите от *O. cumana* се групират заедно с род *Lathraea*.



Orobancha gracilis се отделя, без да се групират по разовидности. Видовете от *subsect. Minores* са раздалечени в кластер от втори род. Маркерът е селективен за *O. saurophyllacea* и *O. lutea*. Въпреки, че род *Lathraea* попада в най-вътрешния възел, разклоняването в неговия кластер съответства на двата вида и маркерът е селективен за тях.

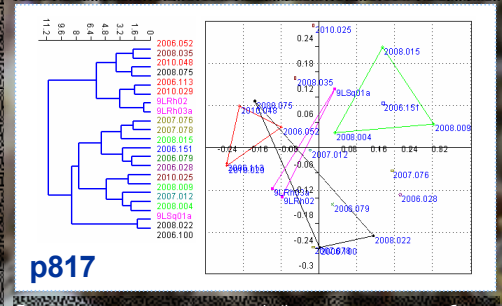
Използваните 8 праймера проявяват уникална специфичност при разделяне на родовете, видовете и разовидностите. Род *Lathraea* ясно се отделя от останалите изследвани представители, с разпределени видове в отделни кластери. Добро групиране се наблюдава при представителите на *subsect. Minores*, като и при *O. gracilis* и *O. cumana*. Използваните маркери са оказали недостатъчно селективни при разделянето на секциите *Inflatae* и *Glandulosae*. *Phelanthes mutellii* и *Lathraea* се групират заедно с видовете от род *Orobancha*. Тези факти показват, че избраните маркери са слабо селективни на ниво род и семейство.

Специфични за двата вида от род *Lathraea* са р2, р809, р817, р826, р836 и р891, което показва, че посочените маркери са подходящи за изследване на изменчивостта в този род. Фактът, че пробите от род *Lathraea* не се отделят като външен кластер показва, че използваните праймери не са подходящи за разграничаване на *Orobanchaceae* от *Scrophulariaceae*.

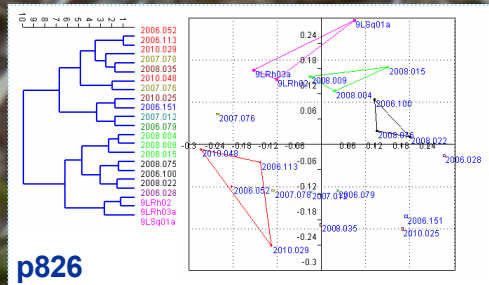
Селективни за *O. cumana* (sect. *Inflatae*) са маркерите р2, р7, р826. При р7 този вид се групират с *P. mutellii* още в първия възел и се отделя от останалите представители на *Orobancha*. Този факт с въвежда с разполагането на *O. cumana* в собствена секция. Наблюдава се генетично вариране на *O. cumana* в зависимост от гостоприемника (*Helianthus annuus* [2006.100, 2008.022]) или *Artemisia maritima* [2006.075]) при продуктите от р2, р7, р809, р817, р836, р891. Въпреки генетичните разлики, информацията не е достатъчна за отделяне на вътрешвидови таксонови нива.

Двата представителя на *subsect. Celeatae* се обединяват само от р809. Правилно впечатление, голямото еволюционно разстояние между двата разовидности на *O. saurophyllacea*, в сравнение с използваните индивиди от *O. lutea*. Този факт потвърждава достоверността на *O. saurophyllacea* var. *macrolepis*. Продуктите на *O. gracilis* се групират по разовидности или без законна мерност, което потвърждава статуса на *O. gracilis* var. *spruneri* и не позволява повишаването на ранга му.

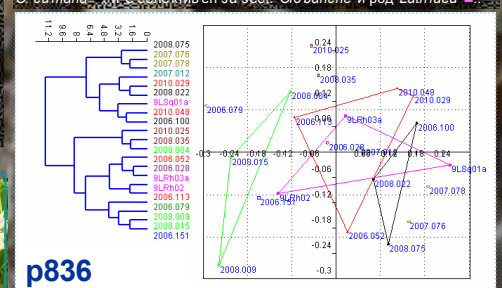
Селективни по отношение на представителите на *subsect. Minores* се явяват маркерите р2, р7, р817, р826 и р891. В същото време представителите на *O. pubescens* [2008.009] се отделят от другите два вида в подсекцията (р2, р7, р891), което с въвежда и на по-ясните му морфологични белези, в сравнение с другите два вида.



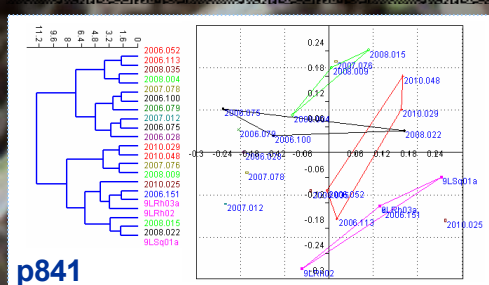
Ясно се разделят в видовете от род *Lathraea* и относително добре се различават *O. gracilis*. Разновидностите на *O. saurophyllacea* се разделят в първия възел. Добро групиране на *subsect. Minores* пробите от *O. lutea* са в общ кластер. Представителите на *subsect. Glandulosae* се групират. Маркерът е селективен за *O. cumana* и е селективен за sect. *Orobancha* и род *Lathraea*.



Род *Lathraea* се отделя при еволюция в възел, с по-разредено по видове. *O. cumana* се групират с *O. lutea*. *Subsect. Minores* показват близко родство. *Orobancha gracilis* и *O. lutea* се групират в общ кластер без законна мерност. Разновидностите на *O. saurophyllacea* попадат в отделени кластери. Маркерът е селективен за *Lathraea*, *O. subsect. Minores*, *O. gracilis* и *O. cumana*.

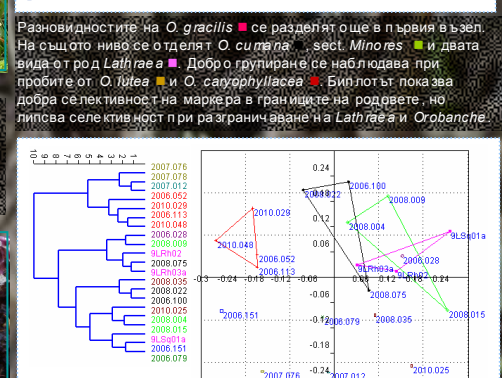


Разновидностите на *O. gracilis* се разделят още в първия възел. На същото ниво се отделят *O. cumana* sect. *Minores* и двата вида от род *Lathraea*. Добро групиране се наблюдава при пробите от *O. lutea* и *O. saurophyllacea*. Билото показва добра селективност на маркера в границите на родовете, но липсва селективност при разграничаване на *Lathraea* и *Orobancha*.



Липсва закономерност в разпределението на пробите от *Lathraea*. Разделянето на *O. saurophyllacea* от *O. lutea* става още в първия възел, но без групиране на пробите. Наблюдава се добро групиране и разделяне на разовидностите на *O. gracilis* във втория възел, като в билото те попадат в различни квадранти.

Представеното изследване е част от проучването на сем. *Orobanchaceae* в България. Използваните в изследването маркери доказват наличието на разовидности на *O. saurophyllacea* var. *macrolepis* T. Georg. и потвърждават таксономичния ранг на *O. gracilis* var. *spruneri* (F.W. Schultz) Beck. Генетичните разлики между индивидите от *O. cumana* в тръх културни и диви гостоприемници показват селективно влияние на гостоприемника при този вид.



Двата вида *Lathraea* се групират и разделят един от друг на ниво втори възел, в общ кластер със *subsect. Minores*, *O. cumana* и *O. saurophyllacea*. Пробите на *O. gracilis* и *O. lutea* се групират, въпреки това добре, но без разделяне по разовидности в *O. gracilis*.

Изследването е финансирано от финансовата подкрепа по проекти ИФС - Б-608 - ДТК 02/40 - В СД51Р 000 1-3, 3 04177 (ФНИ към МОМН), NATO grant, G1-G98 3884 и ERA-147.

Investigation of the interspecific relationships between Bulgarian representatives of Orobanchaceae using ISSR markers

Kiril Stoyanov & Iliya Denev

Department Botany and Agrimeteorology, Agricultural University of Plovdiv, 12, Mendeleev, 4000 Plovdiv, Bulgaria, orobanche@abv.bg; www.botanica.hit.bg
Plovdiv University "Paissy Hilendarski", Department Plant Physiology and Molecular Biology, 24 Tar Asen, Plovdiv, Bulgaria, iliden@uni-plovdiv.bg

Microsatellite markers were used for evaluation of the biodiversity and phylogenetic relationships between Bulgarian representatives of the family *Orobanchaceae*. The plants were collected from various locations in the country. The DNA was isolated from the flowering stems and used as template for ISSR-PCR reactions. Eight out of 16 primers were selected for this study. The ISSR products were separated on agarose gel and visualized by UV-light. The molecular masses the products were determined and used to fill Boolean matrices that were subjected to cluster analysis. Representatives from genus *Lathraea* (*Scrophulariaceae*) were used for external controls. The consequent cladograms, based on the average Euclidean distances, displayed clear grouping by species. Genus *Lathraea* was clearly separated from the representatives of *Orobanchaceae*. The representatives of *subsect. Minores* were grouped in a separate cluster, as well as *O. gracilis* and *O. cumana*. *Orobancha cumana* showed genetic variability that depended on the host. The molecular markers confirm the existence of *O. saurophyllacea* var. *macrolepis* T. Georg. and *O. gracilis* var. *spruneri* (F. Schütz) Beck.