

# Молекулярно-таксономично изследване на вътревидовата изменчивост при *R. pulcher* L. (*Polygonaceae* Juss.) в България

Цветанка Райчева<sup>1</sup>, Илия Денев<sup>2</sup>, Десислава Димитрова<sup>3</sup>, Кирил Стоянов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Аграрен университет - Пловдив, e-mails: raicheva@abv.bg; orobanche@abv.bg

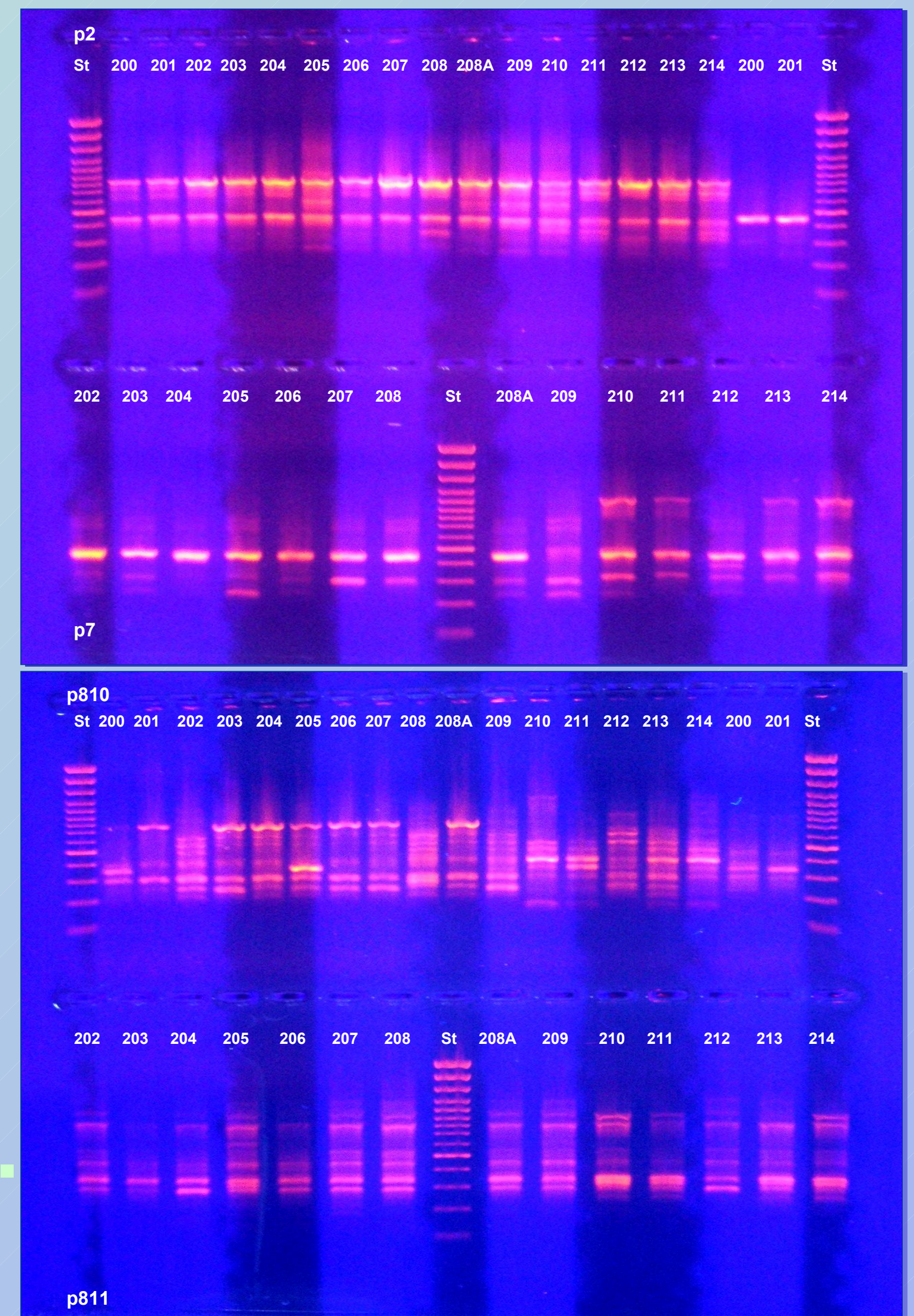
<sup>2</sup> ПУ „П. Хилендарски“, e-mail: iliden@uni-plovdiv.bg

<sup>3</sup> Институт по Ботаника – БАН, e-mail: desco@bio.bas.bg

*Rumex pulcher* е полиморфен вид, представен в Европа от 4 подвида. Различни автори възприемат морфологичната изменчивост в *Rumex pulcher* с различен таксономичен ранг (Hayek 1924, Rechinger 1932, Cullen 1967). Делипавлов (2003) потвърждава участието на *Rumex* subspp. *pulcher*, *woodsii* и *raulinii*. Подвидовете *woodsii* и *raulinii* са разпространени предимно в райони със средиземноморски климат, а новоустановеният от нас таксон subspp. *anodontus* е локализиран до момента наредко в най-южната част на Черноморско крайбрежие - ксерофитни, тревисти местообитания край с. Резово.

## Морфологичен определителен ключ

1. Валвите с 4-9 неравномерни зъбчета по-дълги от 1 мм. Страничните разклонения на съцветието къси, разперени и преплетени. Обикновено голи растения.....2
- 1\*. Валвите с няколко равномерни зъбчета, дълги до 0,5-0,8 мм. Страничните разклонения на съцветието дълги и непреплетени. Основата на стъблата и долната повърхност на приосновните листа с прости власинки.....3
2. Отделни зъбчета на валвите с дължина до 3-3,5 мм.....subsp. *raulinii* (Boiss.) Rech. f.
- 2\*. Отделни зъбчета на валвите с дължина до 1,5-2 мм.....subsp. *pulcher*
3. Валвите 5,2-5,8 мм дълги, 4,2-5,2 мм широки, с приблизително еднакви дължина и ширина, закръглени; ръбовете с равномерни зъбчета от основата почти до върха, 6-8 на брой, 0,5-0,8 мм дълги.....subsp. *woodsii* (De Not.) Arcang.
- 3\*. Валвите 4,8-5,6 мм дълги, 3-3,5 мм широки, по-дълги отколкото широки, триъгълни; ръбовете целокрайни или с неясни, неравномерни зъбчета, близо до основата, отделни зъбчета до 0,5 мм дълги.....subsp. *anodontus* (Hauskh.) Rech. f.



Фигура 1. Разделяне на ISSR продуктите на 1.5 % агарозен гел.

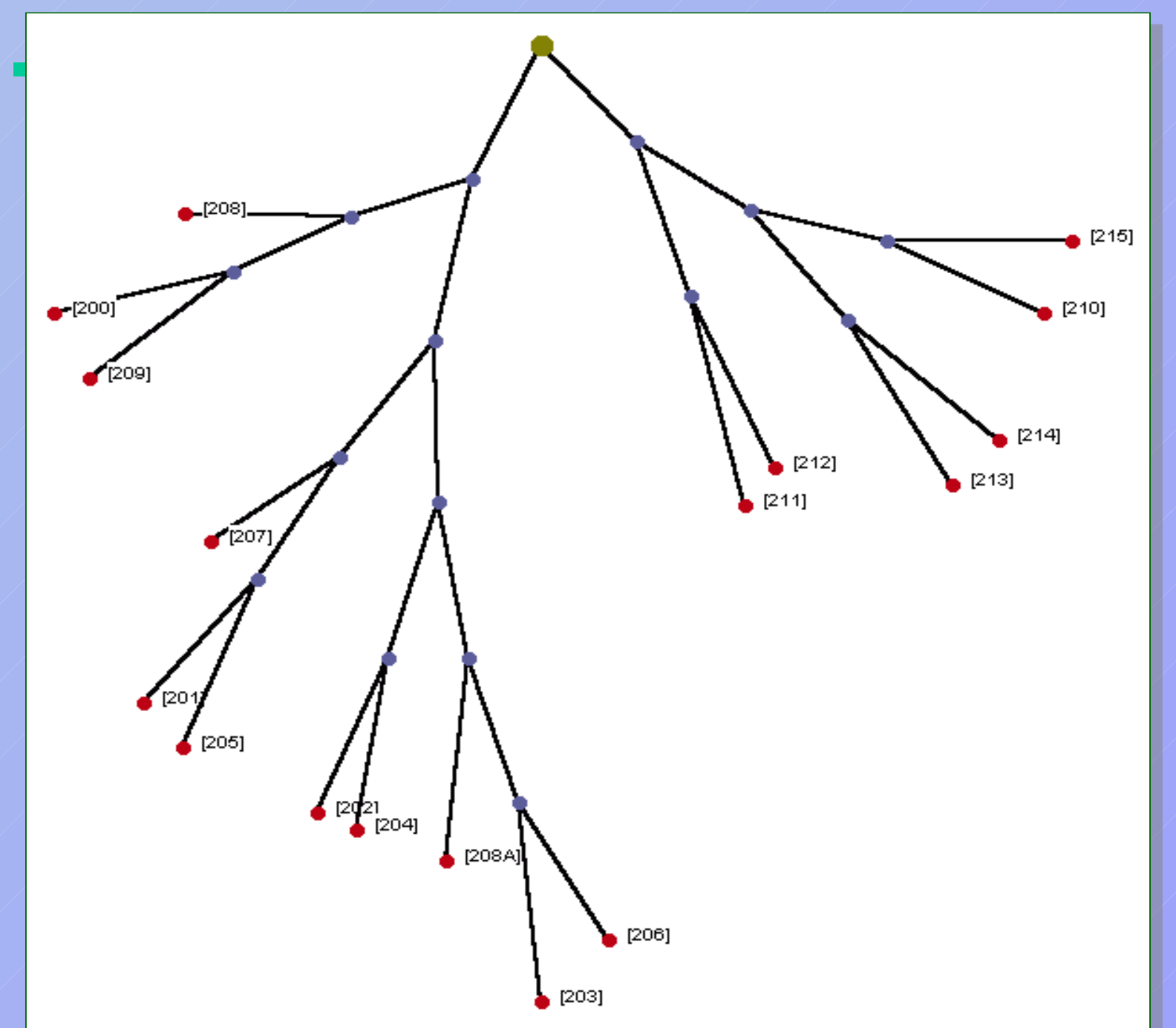
Полиморфните ивици са използвани за построяване на дендрограма представяща различията между подвидовете на *R. pulcher*. ISSR продуктите, получени с проби от отделните подвидове са разделени по подобен начин, като общият вид на геловите е представен на фиг. 1. Приложеният метод в зависимост от използваните праймери групира изследваните проби в подвидове и популации. Резултатите показват ясно разграничаване на пробите по подвидова принадлежност. Обособяват се два кластера (фиг. 2) – проби с номера от 200 до 209 принадлежат на *R. pulcher* subspp. *pulcher* и втори кластер – 210 до 215. Популациите от типичния подвид ясно се разграничават от останалите подвидове.

Приложеният метод в зависимост от използваните праймери групира изследваните проби в подвидове и популации. Резултатите показват ясно разграничаване на пробите по подвидова принадлежност.

Обособяват се два кластера (Фиг. 2) – с номера от 200 до 209 и втори, с номера 210 до 215. Проби с номера от 200 до 209 принадлежат на *R. pulcher* subspp. *pulcher*. Популациите от типичния подвид се групират в отделен кластер, който се разграничава от останалите подвидове. При subspp. *pulcher* се наблюдава висока изменчивост. Образците от Западни Родопи (207, 209) и Черноморско крайбрежие (200, 205, 208, 208A) попадат в различни групи – това се наблюдава при продуктите от използваните праймери (Фиг. 1). Този факт не е свързан с дискретни морфологични различия. Групирането на популации, произхождащи от различни флористични райони, подсказва, че полиморфизмът вероятно е свързан с обмен на гени, поради доказаните хибридни взаимоотношения в изследваната група. Въпреки високата изменчивост типичния подвид заема дивергентна позиция от останалите таксони (Фиг. 2).

Проба 210 и 215 принадлежат към *R. pulcher* subspp. *raulinii*. Популациите от Черноморие и Беласица оформят дискретна група (Фиг. 2). Подвидът се обособява в самостоятелен кластер, което корелира с диференциацията му по морфологични и метрични белези. Проби с номера 212, 213, 214 са от популации на *R. pulcher* subspp. *woodsii*. Образците от Черноморско крайбрежие (213 и 214) се групират в отделен кластер и ясно се разграничават от останалите подвидове. Една от популациите на subspp. *woodsii* (212) от Западни Родопи показва малки различия с останалите образци от същия подвид и се групира с PCR – продукта на *R. pulcher* subspp. *anodontus* (211). Вероятна причина за това са близките морфологични белези между двата подвида, а също и факта, че в изследването е включена една популация от subspp. *anodontus*.

Високото различие в *R. pulcher* чрез използване на PCR – продукти от различни популации в страната, потвърждава вътревидовата изменчивост и съществуването на 4 подвида (subspp. *pulcher*, *woodsii*, *raulinii* и *anodontus*).



Фигура 2. Обобщена кладограма, резултат от групиране на евклидовите разстояния, получени при групиране на PCR-продукти от четирите използвани праймера, според ранга им на значимост.

**Заклучение.** Настоящото проучване демонстрира успешно прилагане на класически морфологичен подход и съвременни молекулярни методи. Получените ивици от ISSR продукти, са с ясно изразен полиморфизъм. Кластерният анализ на резултатите показва таксономично значимо групиране в четири основни кластера съответстващи на четирите изследвани подвида на *R. pulcher* – subspp. *pulcher*, *woodsii*, *raulinii* и *anodontus* в българската флора. Вътревидовият полиморфизъм при *R. pulcher*, кореспондира с различния характер на разпределение на нуклеотидни последователности при полиморфните варианти.

Методът може успешно да бъде приложен и при други критични полиморфни групи от род *Rumex* s. str.

**Abstract** Four subspecies of *Rumex pulcher* occur in Bulgaria are studied – subspp. *pulcher*, *woodsii*, *raulinii*, *anodontus*. *Rumex pulcher* subspp. *anodontus* is new, recently recorded subspecies for the Bulgarian flora. We applied a combination of morphological and molecular taxonomy (ISSR) methods. The amplified as a result of PCR-ISSR reaction unambiguous bands are scored by molecular weights and redistributed in classes to compile a presence/absence matrix. The dendrograms are based on the results obtained by each primer used. They displayed a specific grouping in subspecies and populations. Because the method is free of environment influence this approach could be used for better understanding of taxonomic position of taxa and relationships in genus *Rumex* s. str.