

Анализ генетических взаимосвязей генотипов рода *Rosa* L. из коллекции Никитского ботанического сада с использованием ISSR- и IRAP- ДНК-маркеров

И.И. Супрун¹, С.А. Плугатарь²✉, И.В. Степанов¹, Т.С. Науменко²

¹ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

² Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук, пгт Никита, Ялта, Республика Крым, Россия

✉ e-mail: gardenroses@mail.ru

Аннотация. В связи с развитием селекции и появлением новых сортов растений все более важным становится вопрос паспортизации и структуризации генофонда, поэтому использование молекулярно-генетических методов для выявления генетической оригинальности и оценки генетического разнообразия растений представляется актуальным. В рамках настоящей работы осуществлены поиск информативных ISSR- и IRAP- ДНК-маркеров, перспективных для изучения генетического разнообразия рода *Rosa* L., и анализ с их помощью генетических взаимосвязей образцов из генофондовой коллекции роз Никитского ботанического сада. Материалом для генотипирования послужили 26 образцов, 18 из которых являются культурными сортами, а 8 образцов относятся к дикорастущим видам. В выборку видов включены представители двух подродов *Rosa* и *Platyrhodon*. Подрод *Platyrhodon* представлен одним образцом вида *R. roxburghii* Tratt. Среди культурных роз присутствовали сорта садовых групп: чайно-гибридной, флорибунда и грандифлора. В исследовании было задействовано 32 ISSR- и 13 IRAP-маркеров. После апробации были отобраны как наиболее перспективные пять ISSR-маркеров (UBC 824, ASSR29, 3A21, UBC 864, UBC 843) и три IRAP-маркера (TDK 2R, Cass1, Cass2). Они использовались для генотипирования исследуемой выборки генотипов и в целом перспективны для дальнейшего изучения генетического разнообразия рода *Rosa* L. Количество полиморфных фрагментов варьировало в диапазоне от 12 до 31, в среднем 19.25 фрагмента на маркер. По маркерам UBC 864 и UBC 843 выявлены уникальные фингерпринты для каждого изученного образца. Оценка генетических взаимосвязей изученных видов и сортов роз с использованием методов UPGMA, PCoA и байесовского анализа, выполненная на основе данных IRAP- и ISSR-генотипирования, согласуется с таксономическим положением образцов. Генотип вида *R. roxburghii* подрода *Platyrhodon* определен как генетически наиболее отдаленный образец. Представитель вида *R. bengalensis* методами кластеризации не выделился из группы культурных сортов. При оценке уровня генетического сходства среди культурных сортов садовой розы наиболее генетически обособленными сортами оказались 'Flamingo', 'Queen Elizabeth', 'Kordes Sondermeldung'; для остальных сортов были определены группы наибольшего генетического сходства. Данная оценка отражает общие тенденции в филогенетических отношениях как между изученными видами рода, так и между культурными сортами.

Ключевые слова: *Rosa* L.; розы; генофонд; генотипирование; ДНК-маркеры; IRAP; ISSR; генетическое разнообразие.

Для цитирования: Супрун И.И., Плугатарь С.А., Степанов И.В., Науменко Т.С. Анализ генетических взаимосвязей генотипов рода *Rosa* L. из коллекции Никитского ботанического сада с использованием ISSR- и IRAP- ДНК-маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(5):474-480. DOI 10.18699/VJ20.639

Analysis of genetic relationships of genotypes of the genus *Rosa* L. from the collection of Nikita Botanical Gardens using ISSR and IRAP DNA markers

I.I. Suprun¹, S.A. Plugatar²✉, I.V. Stepanov¹, T.S. Naumenko²

¹ North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, Krasnodar, Russia

² Order of the Red Banner of Labour Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Yalta, Republic of the Crimea, Russia

✉ e-mail: gardenroses@mail.ru

Abstract. In connection with the development of breeding and the creation of new plant varieties, the problem of their genotyping and identification is becoming increasingly important, therefore the use of molecular methods to identify genetic originality and assess plant genetic diversity appears to be relevant. As part of the work performed, informative ISSR and IRAP DNA markers promising for the study of genetic diversity of the *Rosa* L. genus were sought and applied to analysis of genetic relationships among 26 accessions of the genus *Rosa* L. from the gene pool collec-

tion of Nikita Botanical Gardens. They included 18 cultivated varieties and 8 accessions of wild species. The species sample included representatives of two subgenera, *Rosa* and *Platyrhodon*. The subgenus *Platyrhodon* was represented by one accession of the species *R. roxburghii* Tratt. Cultivated roses were represented by varieties of garden groups hybrid tea, floribunda, and grandiflora. The tested markers included 32 ISSRs and 13 IRAPs. Five ISSR markers (UBC 824, ASSR29, 3A21, UBC 864, and UBC 843) and three IRAPs (TDK 2R, Cass1, and Cass2) were chosen as the most promising. They were used for genotyping the studied sample of genotypes. In general, they appeared to be suitable for further use in studying the genetic diversity of the genus *Rosa* L. The numbers of polymorphic fragments ranged from 12 to 31, averaging 19.25 fragments per marker. For markers UBC 864 and UBC 843, unique fingerprints were identified in each accession studied. The genetic relationships of the studied species and varieties of roses analyzed by the UPGMA, PCoA, and Bayesian methods performed on the basis of IRAP and ISSR genotyping are consistent with their taxonomic positions. The genotype of the species *R. roxburghii* of the subgenus *Platyrhodon* was determined genetically as the most distant. According to clustering methods, the representative of the species *R. bengalensis* did not stand out from the group of cultivated varieties. When assessing the level of genetic similarity among the cultivated varieties of garden roses, the most genetically isolated varieties were 'Flamingo', 'Queen Elizabeth', and 'Kordes Sondermeldung'; for most of the other varieties, groups of the greatest genetic similarity were identified. This assessment reflects general trends in phylogenetic relationships, both among the studied species of the genus and among cultivated varieties. Key words: *Rosa* L.; rose; genetic resources; DNA-markers; ISSR; IRAP; genetic diversity.

For citation: Suprun I.I., Plugatar S.A., Stepanov I.V., Naumenko T.S. Analysis of genetic relationships of genotypes of the genus *Rosa* L. from the collection of Nikita Botanical Gardens using ISSR and IRAP DNA markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(5):474-480. DOI 10.18699/VJ20.639

Введение

Согласно базе данных The Plant List (www.theplantlist.org), род *Rosa* L. включает 373 признанных вида. В природной флоре Крыма известно 16 видов этого рода (Ена, 2012). Мировой сортимент садовых роз в настоящее время состоит из более чем 30 тыс. сортов. По своим декоративным и биологическим признакам все это сортовое многообразие подразделяется, по международной классификации, на 36 садовых групп (McFarland, 2007). Работы по селекции роз активизировались в последние годы в Японии, Китае, Индии, Канаде и Новой Зеландии (Plugatar et al., 2017). В России селекционная работа с розами с 1824 г. и по сей день успешно проводится в Никитском ботаническом саду (Плугатарь, 2016). Наиболее перспективными и востребованными в озеленении считаются розы из садовых групп флорибунда, грандифлора, миниатюрной и чайно-гибридной, которые имеют период цветения в среднем от 180 до 200 дней в году в зависимости от сорта (Plugatar et al., 2017).

Мобилизация и сохранение генетических ресурсов всего разнообразия культурных сортов роз и видов, принимавших участие в их создании, являются одним из основных аспектов при создании новых сортов, отвечающих требованиям современного декоративного цветоводства для конкретных регионов выращивания данной культуры (Schanzer, Vagina, 2007; Korkmaz, Dogan, 2018).

Стремительное развитие методов ДНК-маркирования и их внедрение в научную практику способствуют повышению эффективности исследований, направленных на выяснение генетических взаимосвязей образцов на внутри- и межвидовом уровне, изучение генетической структуры коллекций генофондов и создание коллекций, паспортизацию и регистрацию имеющегося генофонда. Помимо этого, методы ДНК-маркирования могут эффективно применяться для поиска доноров генов селекционно-ценных признаков, выявления дублирующих образцов и решения спорных вопросов при включении вновь поступивших образцов. Перспективным может быть использование данных об уровне генетического сходства

в комплексе с фенотипической характеристикой сортов при формировании родительских пар для гибридизации в селекционных программах.

К наиболее ранним филогенетическим исследованиям рода *Rosa* L. с использованием молекулярно-генетических маркеров можно отнести работу Т. Миллана с коллегами (Millan et al., 1996). Для оценки полиморфизма на внутривидовом и межвидовом уровне у представителей различных секций *Rosa* авторы привлекли RAPD-маркеры (random amplified polymorphic DNA). Методом UPGMA были установлены три кластера: в первый сгруппировались образцы секций *Pimpinellifoliae* и *Synstylae*, второй кластер был образован секциями *Chinenses (Indicae)* и *Galicanae*, а третий – видами секций *Cassiorhodon (Cinnamomeae)* и *Caninae*. Однако в более поздней работе на значительно расширенной выборке из 109 образцов, относящихся к 39 видам (Atienza et al., 2005), не удалось получить однозначного распределения образцов по таксонам. Подобные результаты не вполне согласовывались с другим исследованием американских авторов (Jan et al., 1999), также применявших RAPD-маркеры для анализа выборки из 119 образцов 36 видов *Rosa*.

У. Купман с коллегами (Koorman et al., 2008) для филогенетического анализа задействовали AFLP ДНК-маркеры. На основании анализа выборки из 92 образцов, принадлежащих 46 видам, была выполнена реконструкция филогении видов внутри рода *Rosa*. Мультилокусные ДНК-маркеры широко использовались для выяснения генетических взаимосвязей, как для коллекций генофонда, так и при изучении природных популяций различных видов рода *Rosa*. Так, комплексные данные, полученные по результатам ISSR- и RAPD-анализа, позволили группе турецких ученых проанализировать генетические взаимосвязи 27 видов рода *Rosa*, произрастающих на территории Турции (Korkmaz, Dogan, 2018). В работе по изучению генетической связи образцов таифской розы с образцами розы, отобранными в Сирии и Египте, включая розу дамасскую, использовали RAPD-, ISSR- и SSR-маркеры. По результатам генотипирования удалось выявить

наибольшую степень генетического родства таифских роз к дамасским розам сорготипа Gog, произрастающим в Сирии (El-Assal et al., 2014). В ряде отечественных работ, направленных на изучение генетических взаимосвязей в роде *Rosa* и выяснение вопросов, касающихся филогении, также успешно применялись молекулярно-генетические методы анализа, включая ISSR-маркеры (Шанцер, 2013, 2015).

Целью настоящей работы было изучение генетических взаимосвязей между образцами роз (род *Rosa*) различного происхождения из коллекции Никитского ботанического сада с применением IRAP и ISSR мультилокусных маркеров.

Материалы и методы исследований

В качестве растительного материала для генотипирования было отобрано 26 образцов рода *Rosa* L., 18 из которых являются культурными сортами, а 8 образцов относятся к дикорастущим видам (табл. 1). В выборку видов включены представители двух подродов – *Rosa* и *Platyrrhodon*.

Подрод *Platyrrhodon* представлен одним образцом вида *R. roxburghii* Tratt. Среди культурных роз присутствовали сорта групп чайно-гибридной, флорибунда и грандифлора. Для приготовления препарата ДНК из молодых листьев использовался СТАВ-метод (Murray, Thompson, 1980).

Для проведения ДНК-генотипирования были отобраны ISSR- и IRAP-маркеры, согласно сведениям из различных литературных источников (Arzate-Fernandez et al., 2005; Jawdat et al., 2010; Krishna Parvathaneni et al., 2011; Yuying et al., 2011; Senkova et al., 2013; Супрун и др., 2014). Всего было задействовано 32 ISSR-маркера и 13 IRAP-маркеров. Чтобы выявить маркеры, перспективные к использованию для генотипирования образцов рода *Rosa*, была проведена их апробация. ПЦР выполнялась по следующей программе: 3 мин предварительной денатурации при температуре 95 °C; затем 35 циклов: денатурация 35 с при 95 °C, отжиг праймеров 1 мин при 50 °C (в случае IRAP-маркеров при 55 °C), элонгация 1.5 мин при 72 °C; и финальный цикл синтеза при температуре 72 °C в течение 5 мин. Концентрации реагентов в ПЦР смеси: 2.5 мкл 10-кратного

Таблица 1. Образцы рода *Rosa*, отобранные для генотипирования

Номер образца	Наименование вида, сорта	Происхождение
1	'Коралловый Сюрприз'	'Kordes Sondermeldung' × 'Queen Elizabeth'
2	'Мисхор'	'Angelique' × 'Звезда Октября'
3	<i>R. multiflora</i> Thunb.	Дикорастущий вид
4	'Gloria Dei'	Семена: ('George Dickson' × 'Souvenir de Claudius Pernet') × ('Joanna Hill' × 'Charles P. Kilham'); пыльца: 'Margaret McGredy'
5	'Аю-Дар'	'Chrysler Imperial' × 'Kordes Sondermeldung'
6	'Kronenbourg'	Клон сорта 'Peace'
7	<i>R. foetida</i> Herrm.	Дикорастущий вид
8	'Flamingo'	Сеянец × 'Lady Like'
9	<i>R. hugonis</i> Hemsl.	Дикорастущий вид
10	<i>R. indica</i> Linn.	»
11	'Климентина'	'Kordes Sondermeldung' × 'Gloria Dei'
12	'Прекрасная Таврида'	'Gloria Dei' × смесь пыльцы 'Crimson Glory' + 'Poinsettia'
13	<i>R. bracteata</i> J.C. Wendl	Дикорастущий вид
14	'Yves Piaget'	('Pharaoh' × 'Peace') × ('Chrysler Imperial' × 'Charles Mallerin')
15	'Чатыр-Дар'	'Charles Mallerin' × 'Chrysler Imperial'
16	'Chrysler Imperial'	'Charlotte Armstrong' × 'Mirandy'
17	'Prince de Monaco'	'Tamango' × 'Matangi'
18	'Мечта'	'Karl Herbst' × 'Spek's Yellow'
19	<i>R. roxburghii</i> Tratt.	Дикорастущий вид
20	'Queen Elizabeth'	'Charlotte Armstrong' × 'Floradora'
21	'Rouletii' (<i>R. rouletii</i> Correvon, <i>R. chinensis</i> Jacq. f. <i>minima</i>)	Дикорастущий вид
22	'La France'	'Madame Victor Verdier' × 'Madame Bravi'
23	<i>R. bengalensis</i> Pers.	Дикорастущий вид
24	'Traviata'	'Porta Nigra' × 'Paola' × 'William Shakespeare'
25	'Алиса'	'Jubile du Prince de Monaco' × 'Flamingo'
26	'Kordes Sondermeldung'	'Baby Chateau' × 'Crimson Glori'

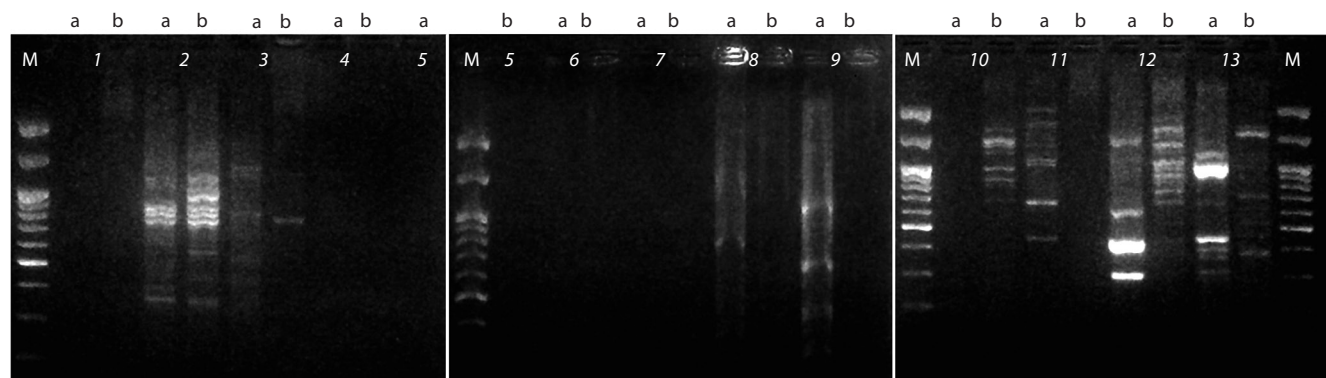


Рис. 1. ДНК-фингерпринты сортов 'La France' (a) и 'Kronenbourg' (b), полученные при апробации IRAP-маркеров:

1 – TDK 1F; 2 – TDK 2R; 3 – TDK 2F; 4 – TDK 12F; 5 – TDK 12R; 6 – TDK 13F; 7 – MET 2F; 8 – MET 2R; 9 – BARE 1; 10 – LTR 3; 11 – LTR 15; 12 – Cass1; 13 – Cass2; M – маркер молекулярной массы ДНК.

буфера для Taq ДНК-полимеразы (ООО «Сибэнзим», Россия), 0.5 или 2.5 мкл dNTP (2.5 мМ), 1 ед. активности Taq ДНК-полимеразы, 2 мкл праймера (3.75 мМ) и 40–50 нг тотальной ДНК в общем объеме 25 мкл. Электрофорез ПЦР-продуктов проводили при напряжении 100 В в 2.5 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (при апробации маркеров использовали 2 % агарозный гель при напряжении 120 В). Визуализацию ДНК осуществляли в ультрафиолете.

На основе результатов генотипирования была построена бинарная матрица для дальнейшего использования данных в программах статистической обработки. Статистическая обработка результатов ISSR- и IRAP-генотипирования и анализ генетических взаимосвязей изученного генофонда выполнены в программе PAST version 2.17c (UPGMA и PCoA анализ). Генетическая структура выборки оценена с помощью программы Structure 2.3.4 (байесовский анализ). В расчете использовали различные значения гипотетических популяций (K) – от 2 до 7 (burn-in period = 200,000; 500,000 iterations).

Результаты

Основным критерием отбора при апробации ДНК-маркеров служило качество фингерпринтов апробируемых маркеров на генотипах роз (для апробации маркеров была использована ДНК сортов 'La France' и 'Kronenbourg'). Спектры амплифицируемых фрагментов по изученным маркерам отражены на рис. 1.

Для дальнейшей работы были отобраны маркеры, обладающие наиболее качественными фингерпринтами. К критериям качества фингерпринтов отнесены количество ДНК-фрагментов, их четкость и яркость на электрофореграмме; это необходимо для достоверной оценки результатов генотипирования. В качестве перспективных были выявлены пять ISSR-маркеров (UBC 824, ASSR29, 3A21, UBC 864, UBC 843) и три IRAP-маркера (TDK 2R, Cass1, Cass2).

Выборка из 26 генотипов представителей рода *Rosa* была проанализирована с использованием перечисленных ISSR- и IRAP-маркеров (табл. 2). Диапазон количества полиморфных аллелей у разных маркеров варьировал от 12 до 31 фрагмента, в среднем 19.25 фрагмента на мар-

Таблица 2. Характеристики отобранных маркеров по результатам генотипирования

Маркер	Кол-во полиморфных фрагментов	F _{ед} * [*]	Кол-во уникальных генотипов
UBC 824	12	3	21
ASSR29	21	3	25
3A21	17	4	18
UBC 864	31	9	26
UBC 843	18	0	26
TDK 2R	21	0	25
Cass1	17	6	22
Cass2	16	5	22

* F_{ед} – число уникальных фрагментов, выявленных только у одного генотипа.

кер. Максимальным количеством полиморфных фрагментов (31) обладал маркер UBC 864, значительное число фрагментов установлено также у маркеров TDK 2R и ASSR29. Два маркера из выборки (UBC 864 и UBC 843) дают уникальные фингерпринты для каждого образца. Маркер UBC 864 обладал и наибольшим количеством уникальных фрагментов, выявленных в единственном экземпляре у одного из образцов выборки. По результатам генотипирования была построена бинарная матрица для дальнейшего использования данных в программах статистической обработки.

В сумме восемь использованных маркеров позволили получить на выборке из 26 образцов 153 полиморфных фрагмента. При обработке результатов генотипирования методом главных координат (PCoA) культурные сорта розы выделились в обособленную группу (рис. 2). Следует отметить, что вид *R. bengalensis* попал в группу сортовых образцов. Наиболее удаленное положение среди видов розы занимает генотип *R. roxburghii*. На некотором удалении от основной массы генотипов выборки находятся *R. hugonis* и *R. foetida*. Виды *R. bracteata*, *R. multiflora* и *R. indica* разместились ближе всего к культурным сортам. При этом *R. indica* занимает обособленное положение

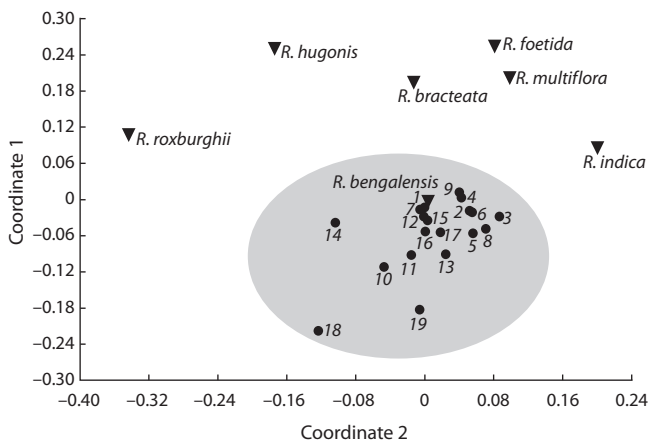


Рис. 2. Результаты PCoA анализа изученной выборки.

Точками обозначены культурные сорта роз: 1 – ‘Коралловый Сюрприз’, 2 – ‘Мисхор’, 3 – ‘Gloria Dei’, 4 – ‘Аю-Дар’, 5 – ‘Kronenbourg’, 6 – ‘Flamingo’, 7 – ‘Климентина’, 8 – ‘Прекрасная Таврида’, 9 – ‘Yves Piaget’, 10 – ‘Чатыр-Дар’, 11 – ‘Chrysler Imperial’, 12 – ‘Prince de Monaco’, 13 – ‘Мечта’, 14 – ‘Queen Elizabeth’, 15 – ‘Rouletii’, 16 – ‘La France’, 17 – ‘Traviata’, 18 – ‘Алиса’, 19 – ‘Kordes Sondermeldung’. Треугольниками отмечены видовые образцы.

относительно двух вышеперечисленных видов, более близкое к культурным формам.

Для определения генетической структуры популяции результаты генотипирования были обработаны с помощью программы Structure 2.3.4; число предполагаемых субкластеров (K) варьировало от 2 до 7. Оптимальное число субкластеров составило 2, при этом в отдельную группу выделились видовые образцы *R. multiflora*, *R. foetida*, *R. hugonis*, *R. indica*, *R. bracteata*, *R. roxburghii*. Вторая группа была сформирована культурными сортами (рис. 3). Образцы *R. bengalensis*, ‘Queen Elizabeth’ и ‘Flamingo’ заняли промежуточное положение между этими группами. При дальнейшем увеличении значения K тенденция к такому распределению сохраняется.

Результаты кластеризации методом UPGMA выявили закономерности в распределении исследованных генотипов, отмеченные и при использовании метода PCoA анализа (рис. 4). В целом клады построенной дендрограммы

показали низкие значения бутстрепа. Наиболее удаленным генотипом является *R. roxburghii*. Отдельный кластер образуют виды *R. hugonis* и *R. foetida*. В следующий кластер вошли *R. bracteata* и *R. multiflora*. Вид *R. indica* занимает обособленное положение относительно других генотипов. Все видовые образцы, за исключением *R. bengalensis*, занимают внешнее положение относительно кластера, включающего культурные формы роз. Среди сортов роз наиболее удалены от общей массы генотипов ‘Queen Elizabeth’ и ‘Flamingo’. Удаленное положение занимает также группа, представленная двумя сортами ‘Kordes Sondermeldung’ и ‘Алиса’. Остальные сорта можно разделить на четыре кластера: первый кластер – ‘Rouletii’, ‘La France’, ‘Traviata’, *R. bengalensis*; второй – ‘Коралловый Сюрприз’, ‘Аю-Дар’, ‘Gloria Dei’, ‘Kronenbourg’, ‘Мисхор’; третий – ‘Chrysler Imperial’, ‘Чатыр-Дар’, ‘Prince de Monaco’, ‘Yves Piaget’, ‘Мечта’; четвертый кластер – ‘Климентина’, ‘Прекрасная Таврида’.

Обсуждение

В настоящей работе проведена оценка генетического родства образцов из генофондовой коллекции роз Никитского ботанического сада. Ниже рассмотрена интерпретация распределения образцов при кластеризации различными методами.

Байесовский анализ позволяет определить генетический вклад предковых форм для каждого изученного генотипа. Поскольку большинство сортов роз имеет гибридное происхождение, то в результате анализа генетического родства образцов установлено, что диплоидные виды четко отделяются от культурных сортов, не привнося существенного вклада в генофонд исследованных сортов. Тем не менее для двух сортов – ‘Flamingo’ и ‘Queen Elizabeth’ – выявлен незначительный вклад диких видов, а генотип *R. bengalensis*, в свою очередь, занимает промежуточное положение между группами диких видов и культурных сортов. Такое распределение свидетельствует о происхождении культурных роз от небольшого количества диких видов, одним из которых является *R. bengalensis*.

Обособленность культурных форм розы при кластеризации отчетливо прослеживается и другими методами,

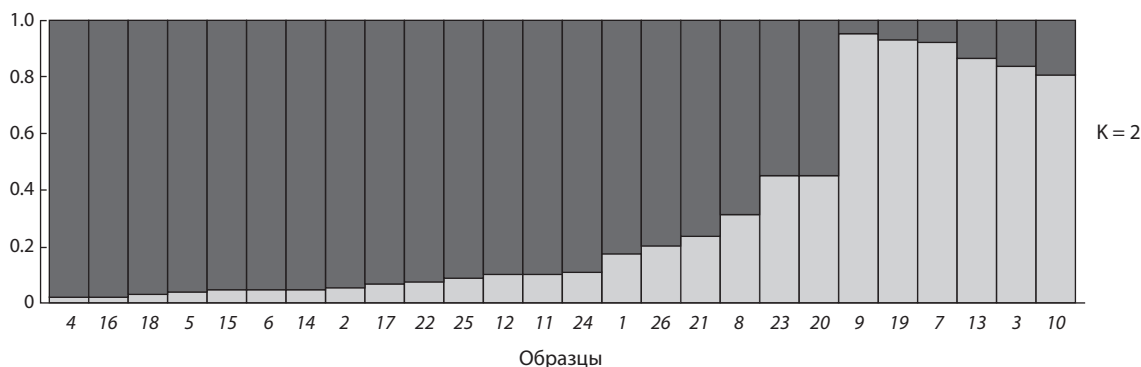


Рис. 3. График байесовского анализа в программе Structure 2.3.4.

Образцы: 1 – ‘Коралловый Сюрприз’, 2 – ‘Мисхор’, 3 – *R. multiflora*, 4 – ‘Gloria Dei’, 5 – ‘Аю-Дар’, 6 – ‘Kronenbourg’, 7 – *R. foetida*, 8 – ‘Flamingo’, 9 – *R. hugonis*, 10 – *R. indica*, 11 – ‘Климентина’, 12 – ‘Прекрасная Таврида’, 13 – *R. bracteata*, 14 – ‘Yves Piaget’, 15 – ‘Чатыр-Дар’, 16 – ‘Chrysler Imperial’, 17 – ‘Prince de Monaco’, 18 – ‘Мечта’, 19 – *R. roxburghii*, 20 – ‘Queen Elizabeth’, 21 – ‘Rouletii’, 22 – ‘La France’, 23 – *R. bengalensis*, 24 – ‘Traviata’, 25 – ‘Алиса’, 26 – ‘Kordes Sondermeldung’.

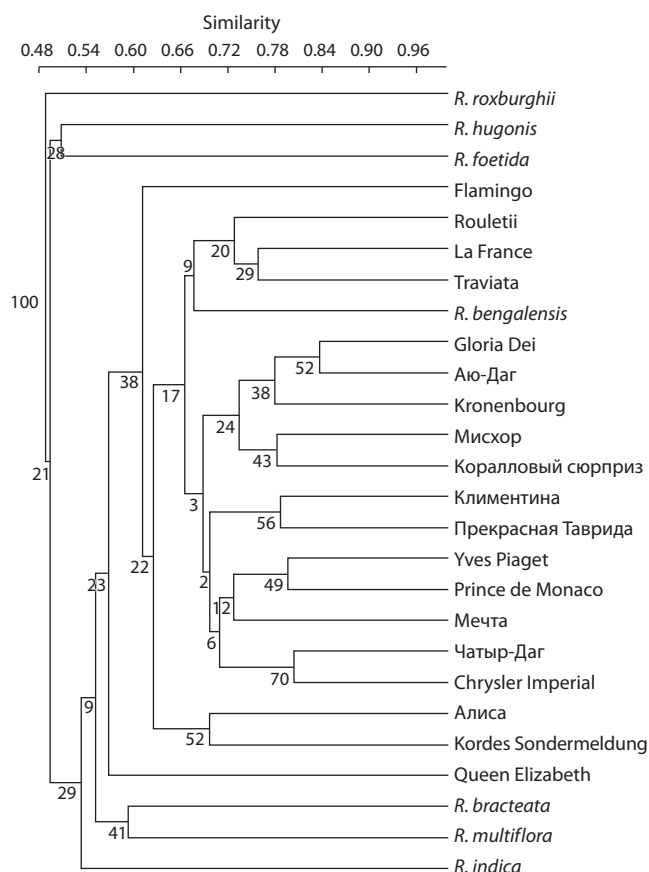


Рис. 4. Кластеризация образцов методом UPGMA.

такими как PCoA и UPGMA. Однако, в отличие от байесовского анализа, эти два метода дают более детальную картину. Метод PCoA дифференцирует дикие виды по степени удаленности от культурных форм. Схожие данные по распределению образцов были получены при выполнении кластеризации методом UPGMA. Низкие значения достоверности клад дендрограммы могут быть обусловлены сложным гибридным происхождением как видовых, так и сортовых образцов (Bruneau et al., 2007). В связи с этим последующая интерпретация результатов UPGMA возможна при сопоставлении со сходными данными, полученными другими методами.

Обобщая сведения по распределению видовых образцов и сортов культурной розы, можно сделать определенные выводы. Филогенетические данные, полученные на основе результатов IRAP- и ISSR-генотипирования, согласуются со сведениями о систематическом положении изученных образцов. Наиболее удаленным от культурных форм видом является *R. roxburghii*, представляющий подрод *Platyrrhodon* рода *Rosa*. Остальные видовые и культурные образцы относятся к подроду *Rosa* одноименного рода. Такое распределение соответствует данным систематики. Тем не менее в ряде молекулярно-генетических работ по изучению филогении рода *Rosa* вид *R. roxburghii* не выделяют из группы видов подрода *Rosa* (Wissemann, Ritz, 2005; Koorman et al., 2008; Fougère-Danezan et al., 2015). Внутри подрода *Rosa* обособленное положение занимают два вида секции *Pimpinellifoliae*. Исследования, прове-

денные на хлоропластных ДНК-маркерах, подтверждают близость этих видов (Wissemann, Ritz, 2005). Секция *Pimpinellifoliae* (из представленных в выборке образцов), вероятно, наименее близка к культурным сортам. Виды *R. multiflora*, *R. bracteata* и *R. indica* образуют ближайшие кластеры с сортовыми образцами, не исключен их вклад в формирование культурного генофонда розы. *R. bengalensis* наравне с культурными сортами входит в единую генетическую группу. Вклад этого вида в формирование культурных сортов не вызывает сомнения. Следует также отметить, что генетическое единство культурных сортов свидетельствует об общности их генофонда.

При анализе генетического родства между сортами роз по результатам IRAP- и ISSR-генотипирования за основу были взяты данные PCoA и UPGMA кластеризации. Сопоставляя данные этих двух методов, можно выделить наиболее достоверные группы сортов, стабильно выявляемые обоими методами. В первую группу вошли 'Rouletii' и 'La France'. Оба сорта имеют западноевропейское происхождение, их родство не очевидно. Вторую группу составили 'Prince De Monaco', 'Yves Piaget', 'Чатыр-Даг' и 'Chrysler Imperial'. Два сорта из этой группы имеют в предках 'Chrysler Imperial' – 'Yves Piaget' и 'Чатыр-Даг'. И если родство сортов 'Chrysler Imperial', 'Yves Piaget' и 'Чатыр-Даг' можно объяснить происхождением двух последних от первого, то объединение их в одну группу с сортом 'Prince De Monaco' трудно истолковать. В третью группу попали 'Gloria Dei', 'Kronenbourg', 'Аю-Даг', 'Коралловый Сюрприз'. Это два сорта ('Аю-Даг' и 'Коралловый Сюрприз'), в родителях у которых присутствует 'Kordes Sondermeldung', а также сорт 'Gloria Dei' и его «спорт» (клональный мутант) 'Kronenbourg'.

Такие сорта, как 'Flamingo', 'Queen Elizabeth', 'Kordes Sondermeldung' и 'Алиса', являются наиболее генетически контрастными. Тем не менее ряд сортов в выборке связан происхождением с указанными тремя сортами: 'Аю-Даг', 'Климентина', 'Коралловый Сюрприз' ('Kordes Sondermeldung'), 'Коралловый сюрприз' ('Queen Elizabeth') и 'Алиса' ('Flamingo').

Закключение

Полученные нами результаты распределения видовых образцов роз по кластерам исходя из их генетического родства согласуются с общепризнанной филогенией. Стоит отметить, что образец вида *R. bengalensis* входит в кластер, образованный культурными сортами. Данный факт может свидетельствовать о вкладе диких роз индийского происхождения в формирование генофонда современных сортов роз. В свою очередь анализ родства культурных сортов садовой розы выявил, что из общей массы исследованных образцов выделяются 'Flamingo', 'Queen Elizabeth', 'Kordes Sondermeldung' и 'Алиса'. Остальные сорта роз были распределены по группам наибольшего генетического сходства. Большая часть результатов кластеризации культурных сортов была объяснена сведениями о их родословной, однако положение некоторых сортов вызвало затруднение в интерпретации. Для определения их родства требуется проведение дальнейших исследований. Таким образом, использованные в работе маркеры показали свою эффективность в изучении рода *Rosa*.

Список литературы / References

- Ена А.В. Природная флора Крымского полуострова. Симферополь, 2012.
[Ena A.V. Natural Flora of the Crimean Peninsula. Simferopol', 2012. (in Russian)]
- Плугатарь Ю.В. Никитский ботанический сад как научное учреждение. *Вестн. РАН*. 2016;86(2):120-126. DOI 10.7868/S0869587316010096.
[Plugatar' Yu.V. Nikitsky Botanical Gardens as a scientific institution. *Vestnik RAN = Herald of the Russian Academy of Sciences*. 2016;86(2):120-126. DOI 10.7868/S0869587316010096. (in Russian)]
- Супрун И.И., Коломиец Т.М., Малиаровская В.И., Соколов Р.Н., Самарина Л.С., Слепченко Н.А. Апробация ISSR ДНК-маркеров для генотипирования редких видов растений Западного Кавказа: *Lilium causicum* Misch. ex Grossh., *Galánthus woronowii* Kolak., *Pancratium maritimum*. *Науч. журн. КубГАУ*. 2014;103(09). <http://ej.kubagro.ru/2014/09/pdf/37.pdf>
[Suprun I.I., Kolomiec T.M., Malyarovskaya V.I., Sokolov R.N., Samarina L.S., Slepchenko N.A. Testing ISSR DNA markers for genotyping rare plant species of the Western Caucasus: *Lilium causicum* Misch. ex Grossh., *Galánthus woronowii* Kolak., *Pancratium maritimum*. *Nauchnyy Zhurnal KubGAU = Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. 2014;103(09). <http://ej.kubagro.ru/2014/09/pdf/37.pdf> (in Russian)]
- Шанцер И.А. Систематика и филогения шиповников (*Rosa*) в свете молекулярно-генетических данных. В: Современная ботаника в России: Труды XIII съезда Рус. ботан. о-ва и конф. «Научные основы охраны и рационального использования растительного покрова Волжского бассейна». Тольятти, 2013;1:272-273.
[Shanzer I.A. The taxonomy and phylogeny of wild rose species (*Rosa*) in the light of molecular data. In: Modern Botany in Russia: Proceedings of the 13th Congress of the Russian Botanical Society and the Conference "Scientific Bases for Protection of the Volga Region". Tolyatti, 2013;1:272-273. (in Russian)]
- Шанцер И.А. Сетчатая эволюция в роде *Rosa* L.: палеоботанические находки, морфологическая систематика и молекулярные данные. *Палеобот. временник. Прил. к журн. "Lethaea Rossica"*. 2015;2:161-164.
[Shanzer I.A. Reticular evolution in the genus *Rosa* L.: paleobotanical findings, morphological systematics, and molecular data. *Paleobotanicheskiy Vremennik. Prilozhenie k Zhurnalu "Lethaea Rossica"* = *Paleobotanical Chronicle: Supplement to the journal "Lethaea Rossica"*. 2015;2:161-164. (in Russian)]
- Arzate-Fernandez A.M., Miwa M., Shimada T., Yonekura T., Ogawa K. Genetic diversity of Miyamasukashi-yuri (*Lilium maculatum* Thunb. var. *bukosanense*), an endemic and endangered species at Mount Buko, Saitama, Japan. *Plant Species Biol.* 2005;20:57-65.
- Atienza S.G., Torres A.M., Millan T., Cubero J.I. Genetic diversity in *Rosa* as revealed by RAPDs. *Agric. Conspec. Sci.* 2005;70(3): 75-85.
- Bruneau A., Starr J.R., Joly S. Phylogenetic relationships in the genus *Rosa*: new evidence from chloroplast DNA sequences and an appraisal of current knowledge. *Syst. Bot.* 2007;32(2):366-378.
- El-Assal S.E.-D., El-Awady M.A., El-Tarras A., Shehab G. Assessing the genetic relationship of taif rose with some rose genotypes (*Rosa* sp.) based on random amplified polymorphic DNA, inter simple sequence repeat and simple sequence repeat markers. *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 2014;10(1):88-98. DOI 10.3844/ajbbsp.2014.88.98.
- Fougère-Danezan M., Joly S., Bruneau A., Gao X.-F., Zhang L.-B. Phylogeny and biogeography of wild roses with specific attention to polyploids. *Ann. Bot.* 2015;115(2):275-291.
- Jan C.H., Byrne D., Manhart J., Wilson H. Rose germplasm analysis with RAPD markers. *HortSci.* 1999;34(2):341-345.
- Jawdat D., Al-Faoury H., Ayyoubi Z., Al-Safadi B. Molecular and ecological study of *Eryngium* species in Syria. *Biologia.* 2010;65(5): 796-804. DOI 10.2478/s11756-010-0086-7.
- Koopman W.J.M., Wissemann V., De Cock K., Van Huylenbroeck J., De Riek J., Sabatino G.J.H., Visser D., Vosman B., Ritz C.M., Maes B., Werlemark G., Nybom H., Debener T., Linde M., Smulders M.J.M. AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: a case study in *Rosa* (Rosaceae). *Am. J. Bot.* 2008;95(3): 353-366.
- Korkmaz M., Dogan N.Y. Analysis of genetic relationships between wild roses (*Rosa* L. spp.) growing in Turkey. *Erwerbs-Obstbau.* 2018;60(4):305-310. DOI 10.1007/s10341-018-0375-9.
- Krishna Parvathaneni R., Natesan S., Arunachalam Devaraj A., Muthuraja R., Venkatachalam R., Prathap Subramani A., Laxmanan P. Fingerprinting in cucumber and melon (*Cucumis* spp.) genotypes using morphological and ISSR markers. *J. Crop Sci. Biotech.* 2011; 1:39-43. DOI 10.1007/s12892-010-0080-1.
- McFarland H. Modern Roses 12. Shreveport: The American Rose Society, 2007.
- Millan T., Osuna F., Cobos S., Torres A.M., Cubero J.I. Using RAPDs to study phylogenetic relationships in *Rosa*. *Theor. Appl. Genet.* 1996;92:273-277.
- Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 1980;10:4321-4325.
- Plugatar S.A., Klymenko Z.K., Plugatar Yu.V., Mitrofanova I.V. Garden roses: results of introduction and selection in Nikita botanical garden. *Acta Hort.* 2017;1167:177-180. DOI 10.17660/Acta Hort.2017.1167.27.
- Schanzer I.A., Vagina A.V. ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) markers reveal natural intersectoral hybridization in wild roses [*Rosa* L., sect. *Caninae* (DC.) Ser. and sect. *Cinnamomeae* (DC.) Ser.]. *Wulfenia.* 2007;14:1-14.
- Senkova S., Ziarovska J., Bezo M., Stefunova V., Razna K. Utilization of IRAP technique for plums genotypes differentiation. *Biosci. Res.* 2013;10(1):1-7.
- Wissemann V., Ritz C.M. The genus *Rosa* (Rosoideae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and *atpB-rbcL* intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. *Bot. J. Linn. Soc.* 2005; 147(3):275-290.
- Yuying S., Xiajun D., Fei W., Binhua C., Zhihong G., Zhena Z. Analysis of genetic diversity in Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) based on REMAP and IRAP molecular markers. *Sci. Hortic.* 2011;132:50-58. DOI 10.1016/j.scienta.2011.10.005.

ORCID ID

I.I. Suprun orcid.org/0000-0003-0355-8395
S.A. Plugatar orcid.org/0000-0002-7234-6217
I.V. Stepanov orcid.org/0000-0002-6251-300X
T.S. Naumenko orcid.org/0000-0003-1220-4927

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 11.09.2019. После доработки 06.07.2020. Принята к публикации 06.07.2020.