

Växtsystematik hos nyponrosor – en utopi?

HILDE NYBOM

Ordning och reda vill vi människor gärna ha, inte bara hemma utan även i naturen. Och det är ju praktiskt om olika växter och djur har sina egna artbeteckningar, så att man kan känna igen och referera till dem när man till exempel skådar fåglar, plockar svamp eller inventerar en slätteräng. Generellt sett fungerar artbegreppet oftast ganska bra för djur. De flesta djurarter ser olika ut och korsar sig inte, och om de ändå skulle göra det blir avkomman ofta steril, som t ex mulåsnan. Hos växter är artbegreppet mera problematiskt. Hybridiseringar sker ibland mellan växter, som är så olika att de på morfologiska grunder betraktas som tillhöriga olika arter. Ofta är denna hybridisering dessutom kopplad till en kromosomtalsfördubbling, och dylika hybrider har alldeles utmärkt fertilitet!

På Balsgård-SLU har vi intresserat oss för nyponrosor i snart 30 år. Nyponen är inte bara goda (nyponsoppa!) utan även hälsobefrämjande (Werlemark och Nybom 2009). Eftersom nyponrosor är rätt nya inom människans tjänst, har vi arbetat med många olika aspekter av domesticeringen av detta växtslag; odling, växtförädling, sjukdomsresistens, nyponkemi, genetik och systematik, vilket hitills resulterat i fem doktorsavhandlingar och många vetenskapliga artiklar.

Nyponrosornas reproduktion

Nyponrosorna ingår i det stora *Rosa*-släktet, där de utgör sektionen *Caninae*. Alla nyponrosor är polyploida; medan en vanlig, diploid ros har 14 kromosomer (varav 7 förmedlas via äggcellerna och 7 via pollencellerna vid en befruktning), så är nyponrosorna vanligen pentaploida, dvs har 35 kromosomer (arter med 28 respektive 42 förekommer också). Dessa nedärvas via ett mycket speciellt system; meiosen (reduktionsdelning av kromosomerna, föregår bildandet av köns-celler) är nämligen annorlunda hos nyponrosor jämfört med hos alla andra växter (Fig.



Fig. 1. *Rosa rubiginosa* (äppelros). Foto: Gun Werlemark.

2). Detta leder till att en pentaploid nyponplanta bara ärver 7 kromosomer från fadern men däremot 28 kromosomer från modern. Avkomman liknar därför sin mor mycket mer än sin far, både när man tittar på morfologiska karaktärer som bladform och när man använder sig av DNA-markörer (Werlemark och Nybom 2001).

Forskningen på Balsgård har visat att kromosomerna fördelar sig på ett mycket strikt sätt under meiosen. Genom att analysera mikrosatellit DNA-markörer i avkommor från mellanartskorsningar, kan vi nämligen se exakt vilka kromosomer som erhållits från föräldraplantorna (Nybom m.fl. 2004, 2006). Varje nyponplanta har två speciella uppsättningar med vardera 7 kromosomer. Dessa s k 'genom' är näst intill identiska och bildar bivalenten i meiosen (Fig. 2). Därigenom kommer de

också att ärvas via såväl pollen som äggceller (alltså från båda föräldrarna). De övriga tre genomen (också med vardera 7 kromosomer) skiljer sig däremot åt inbördes, och ärvas endast via äggcellerna.

För att ytterligare komplicera saken, kan nyponrosor ibland sätta frön utan föregående befruktning, s k apomixis. Dessa avkommor blir helt identiska med moderplantan. Andelen frön som bildas på detta sätt, påverkas av vilka pollenlämnarna är. När vi till exempel pollinerade *Rosa rubiginosa* med pollen från en annan nyponros, *R. dumalis*, erhöles 5% apomiktiskt bildade fröplantor (Nybom m.fl. 2004, 2006). När samma art pollinerades med prydnadsrosen 'André Brichet', blev resultatet istället 50% apomiktiskt bildade fröplantor (Werlemark m.fl. 2009).

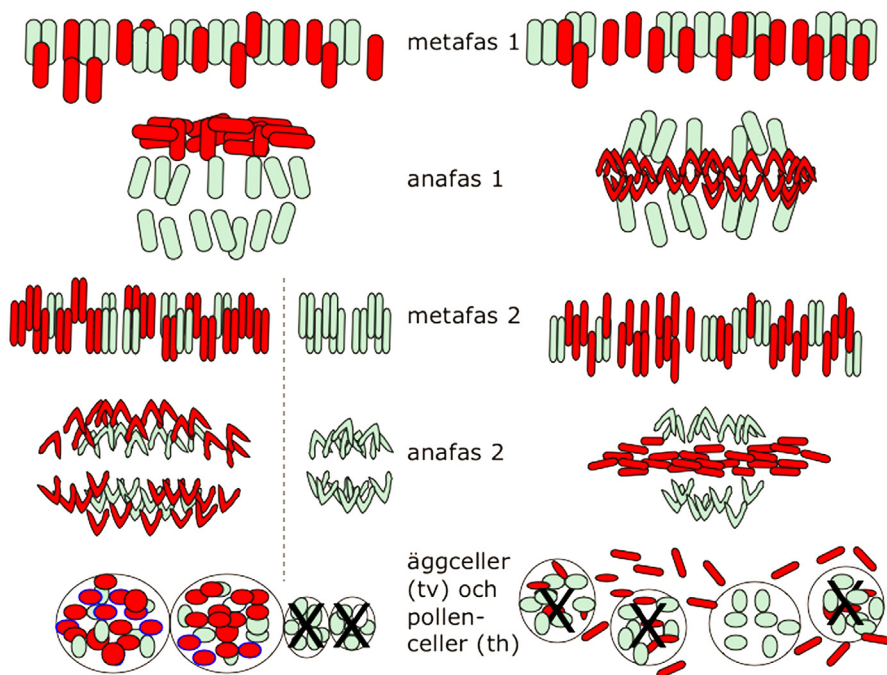


Fig. 2. Nyponrosmeios hos en tetraploid art (28 kromosomer). På honsidan bildar 14 kromosomer tillsammans 7 bivalenter (par) i metafasa 1 medan övriga kromosomer förekommer som univalenten och samlas på ena sidan av cellen i anafasa 1. I den andra meiosdelningen, delar alla kromosomerna sig i kromatider och går till var sin dottercell. Dotterceller som fått alla univalenterna kommer nu att ha 21 kromosomer (14 univalent-kromosomer plus 7 kromosomer från bivalenterna) medan övriga bara har 7 kromosomer (från bivalenterna) och inte är livskraftiga. Även på hansidan bildas 7 bivalenter men univalenterna splittras i kromatider redan i metafasa 1. I metafasa 2 kommer dessa oftast att gå förlorade. Endast pollenceller med de 7 kromosomerna från bivalenterna är livskraftiga.

Nyponrosornas ursprung

Nyponrosornas systematik har vållat stora problem, och uppskattningen av antalet nyponarter varierar därför från ett 10-tal till flera hundra! Numera brukar man räkna med drygt 50–60 olika nyponarter (Wissemann 2003). Dessa har definierats på sina morfologiska karaktärer, som exempelvis pistillernas utformning (bred eller smal stiftkanal), foderbladens utseende och position (framåtriktade eller bakåtriktade) och snart avfallande vid nyponmognaden), samt bladens utseende inklusive förekomst av hår och körtlar som avger en äppeldoft eller lukten av harts. Vissa av dessa karaktärerna nedärvs i speciella kombinationer, och styrs troligen av ett fåtal gener.

På senare tid har man börjat använda olika DNA-baserade metoder för att studera artbildningen i ros-släktet (Koopman m.fl. 2008). Det visar sig då att nyponrosorna utgör en mycket homogen grupp, som skiljer

sig markant från alla andra rosor. Genom att jämföra DNA-sekvenser från olika arter, har vi dessutom sett att de kromosomer som bildar par i meiosen hos nyponrosor och som alltså nedärvs via både ägg och pollen, avviker från alla andra arter inom det stora släktet *Rosa* (Kovařík m.fl. 2008). Troligen representerar de alltså en (utdöd?) 'proto-canina', som har hybridiserat med andra rosor, och därvid även höjt kromosomtalet så att vi så småningom fått dagens nyponrosor. Mycket av denna utveckling har nog skett i Östeuropa och/eller Turkiet och angränsande områden där nyponrosorna är som mest mångformiga och artrika. Preliminära resultat tyder dessutom på att generna i bivalentkromosomerna är aktiva och kodar för olika proteiner 'som vanligt' medan åtminstone vissa gener i univalentkromosomerna ofta är avstängda och alltså inte påverkar plantans utseende och metabolism (Khaitová m.fl. 2010).

GENEROSE-projektet

Balsgård har ingått i ett stort EU-finansierat projekt, GENEROSE, som var verksamt i mitten på 2000-talet. Som en del i detta projekt, samlade vi in vilda nyponrosor från Sverige, Danmark, Tyskland, Holland, Belgien och Frankrike. Dessa undersöktes med två olika typer av DNA-markörer; AFLP (amplified fragment length polymorphism) och mikrosatellit-DNA. Utgångspunkten var att plantor som tillhör samma art, bör likna varandra (dvs ha liknande DNA-markör profiler) mer än de liknar plantor som tillhör andra arter. Här kommer några av resultaten från AFLP-analyserna att presenteras (De Riek m.fl. manuskript insänt). Sammanlagt analyserades 913 nyponrosplantor, fördelade på 255 populationer. Enligt den bestämning av pressat beläggsmaterial som utförts av taxonomisk expertis, hade vi 22 olika arter och två arthybrider i vårt insamlade material.

AFLP-analys

Totalt erhöles 137 polymorfa AFLP-band (finns hos vissa plantor men inte hos andra) i våra analyser. Informationen bearbetades med olika statistiska metoder. För att undvika problem med eventuellt felbestämda plantor, genomfördes först en 'assignment test'; varje plantas AFLP-bandprofil jämfördes med alla de andra, och därefter avgjordes ett datorprogram om just den plantan var tillräckligt lik de andra plantorna med samma artnamn. Alltför avvikande plantor (dvs att de var mer lika arter i en helt annan subsektion än den de borde tillhöra) betraktades som 'unassigned' och togs inte med i nästa steg, som bestod av en diskriminantanalys. I denna analys omvandlades all information från AFLP-profilerna till ett antal diskriminantfunktioner, som syftar till att särskilja de olika grupper (arter) som ingår i analysen. Dessa diskriminantfunktioner kan användas som axlar i tvådimensionella figurer, där varje liten ring motsvarar en planta. Ju närmare varandra ringarna ligger, ju mer lika är de analyserade plantorna. Färgen på ringen visar vilket artnamn vi givit just den plantan. Plantor som betraktades som 'unassigned' (se ovan), ingick inte i uträkningen av diskriminantfunktionerna, men återges ändå i figurerna som små mörka prickar

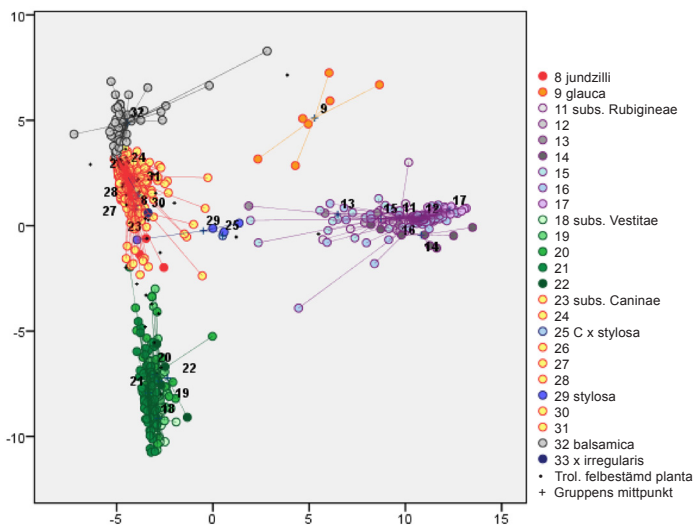


Fig. 3. AFLP-baserad diskriminantanalys för alla nyponosorna; subsektion *Trachyphyllae* (*R. jundzilli*), subsektion *Rubrifoliae* (*R. glauca*), subsektion *Rubigineae* (7 arter, lilafärgade ringar), subsektion *Vestitae* (5 arter, gröna ringar), subsektion *Caninae* (7 arter, gula ringar), subsektion *Stylosae* (*R. stylosa* samt förmodad hybriden *R. canina* x *R. stylosa*), subsektion *Tomentellae* (*R. balsamica*) samt förmodade hybriden *R. x irregularis*. Återgiven från De Riek m.fl., manuskript insänt.

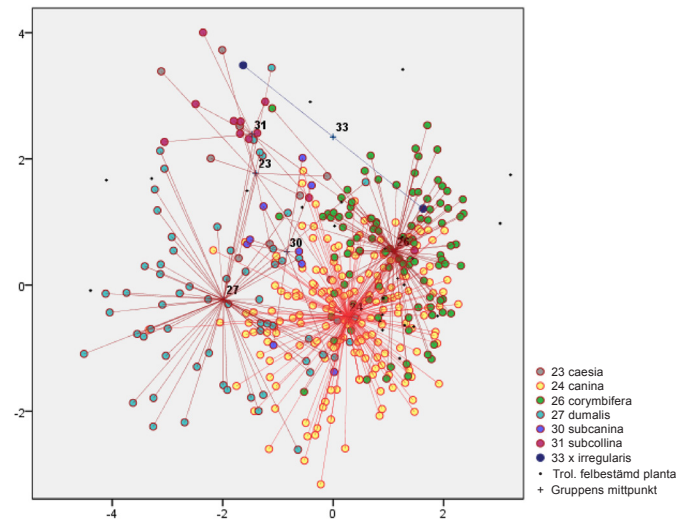


Fig. 4. AFLP-baserad diskriminantanalys av sex arter och en förmodad hybrid i subsektion *Caninae*. Återgiven från De Riek m.fl., manuskript insänt.

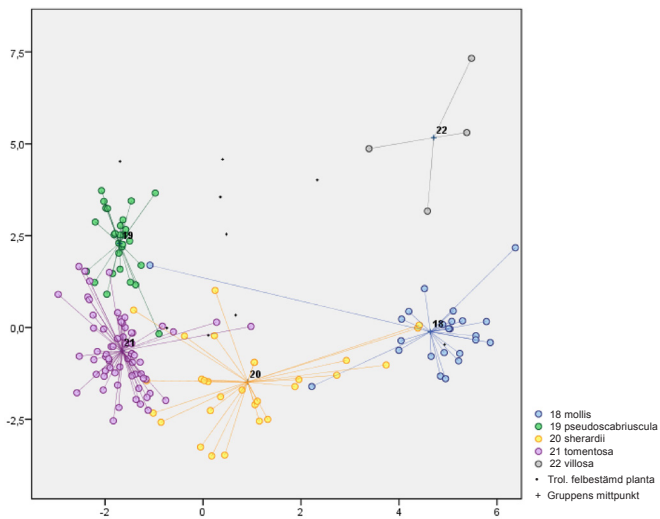


Fig. 5. AFLP-baserad diskriminantanalys av fem arter i subsektion *Vestitae*. Återgiven från De Riek m.fl., manuskript insänt.

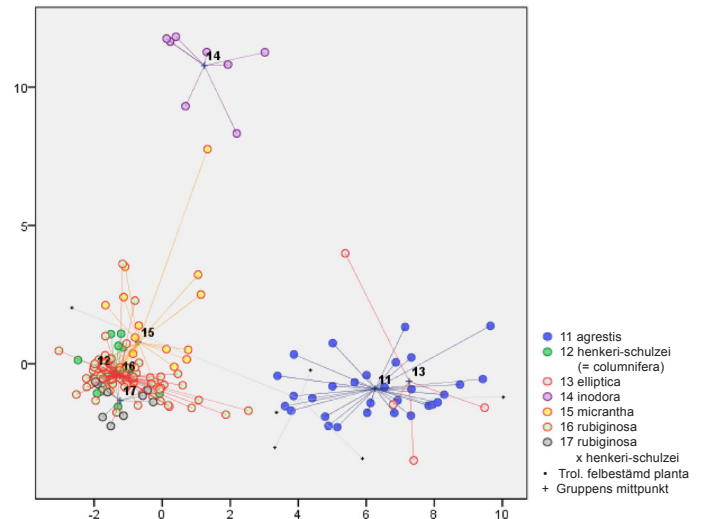


Fig. 6. AFLP-baserad diskriminantanalys av sex arter och en förmodad hybrid i subsektion *Rubigineae*. Återgiven från De Riek m.fl., manuskript insänt.

för att visa att det inte var så skarpa gränser mellan olika arter som man annars kan förledas att tro.

Klassificering av nyponrosor

Sektionen *Caninae*, dvs nyponrosorna, brukar delas in i tre stora subsektioner: *Caninae*, *Rubigineae* och *Vestitae*, samt några mindre: *Rubrifoliae*, *Stylosae*, *Tomentellae* och *Trachyphyllae*. När vi skärskådade AFLP-resultaten för samtliga nyponrosor i en diskriminantanalys, såg vi att subsektionerna *Rubigineae*, *Vestitae*, *Rubrifoliae* (endast en art: *R. glauca*) och *Stylosae* (endast en art: *R. stylosa*) var väl definierade, medan subsektion *Caninae* överlappade med de andra två små subsektionerna, *Tomentellae* (två arter men i vår analys ingick endast *R. balsamica*) och *Trachyphyllae* (endast en art: *R. jundzilli*) (Fig. 3). I en annan analys med bara de tre sistnämnda subsektionerna, avvek dock *Trachyphyllae* från resten och bör nog även fortsättningsvis behandlas som en egen subsektion. Vi föreslår däremot att subsektionerna *Caninae* och *Tomentellae* slås samman till en enda subsektion.

Inom subsektion *Caninae* var det mycket svårt att särskilja några arter utom möjligen *R. montana* som däremot avvek ganska tydligt, och skiljde sig mer från övriga arter än vad *R. balsamica* (förment tillhörig subsektion *Tomentellae*) gjorde. En analys av de övriga arterna i denna subsektion visar stor överlappning (Fig. 4). Detta tyder på att arterna inte uppträder som separata enheter i naturen, utan att det istället sker så mycket genflöde mellan dem att man måste fråga sig om det är rimligt att upprätthålla dem som 'goda arter'.

För subsektionen *Vestitae* blev det en betydligt bättre differentiering mellan arterna (Fig. 5). På samma sätt visar även åtminstone några av arterna i subsektion *Rubigineae* tydliga avgränsningar (Fig. 6). Detta kan tol-

kas som att arterna i *Vestitae* och *Rubigineae* är ganska välgrundade. God differentiering mellan arter är ju vad vi förväntar oss om den taxonomiska indelningen faktiskt återspeglar mängden genflöde mellan och inom populationer i naturen. Men här kan faktiskt själva insamlingsförfarandet ha spelat oss ett spratt! Flertalet arter hade nämligen samlats in i endast 1–3 länder. Därigenom kom troligen den geografiskt betingade variationen att bidra väsentligt till vad som ser ut som god differentiering mellan arter.

Korsningsförsök har visat att pollenets livskraft hos en hybrid är mycket lägre om föräldrarna kommer från två olika subsektioner (Werlemark och Nybom 2009). Troligen beror detta på att bivalentbildningen i meiosen blir störd när de bivalentbildande genomerna inte är tillräckligt lika. Att hybriderna blir m e m sterila, bidrar i sin tur till att upprätthålla ganska god differentiering mellan subsektionerna. När man korsar arter från samma subsektion påverkas däremot inte pollenets livskraft, och det finns alltså inget hinder för att dessa hybrider ska kunna föröka sig. Följden blir väldigt låg genetisk differentiering mellan de olika arterna inom en subsektion. Vi har alltså ett typiskt exempel på det som brukar kallas 'överklassifikation' hos nyponrosorna!

Referenser

De Riek K, Smulders MJM, Nybom H, De Riek J. Genetic structure analysis reveals a basis for dogrose (*Rosa* section *Caninae*) taxonomy. Manuskript insänt.
Kovářík A, Werlemark G, Leitch AR, Souckova-Skalicka K, Lim KY, Khaitová L, Koukalova B, Nybom H (2008) The asymmetric meiosis in pentaploid dogroses (*Rosa* section *Caninae*) is associated with a skewed distribution of rRNA gene families in the gametes. *Heredity* 101: 359–367.

Koopman WJM, Vosman B, Sabatino GJH, Visser D, Van Huylbroeck J, De Riek J, De Riek K, Wissemann V, Ritz CM, Maes B, Werlemark G, Nybom H, Debener T, Linde M, Smulders MJM (2008) AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships in the genus *Rosa* (Rosaceae). *Amer. J. Bot.* 95: 353–366.

Nybom H, Esselink DG, Werlemark G, Vosman B (2004) Microsatellite DNA marker inheritance indicates preferential pairing between highly homologous genomes in polyploid and hemisexual dog-roses *Rosa* L. section *Caninae*. *Heredity* 92: 139–150.

Nybom H, Esselink GD, Werlemark G, Leus L, Vosman B (2006) Unique genomic configuration revealed by microsatellite DNA in polyploid dogroses, *Rosa* sect. *Caninae*. *J. Evol. Biol.* 19: 635–648

Werlemark G, Nybom H (2001) Skewed distribution of morphological character scores and molecular markers in three interspecific crosses in *Rosa* section *Caninae*. *Heredity* 134: 1–13.

Werlemark G, Nybom H (2009) Dogroses: botany, horticulture, genetics and breeding. I: Janick J (Red.) *Horticult. Rev.* 36: 199–255

Werlemark G, Carlson-Nilsson U, Esselink GD, Nybom H (2009) Studies of inter-sectional crosses between pentaploid dogrose species (*Rosa* sect *Caninae* L.) as seed parents and tetraploid garden roses as pollen donors. I: Zlesak DC (Red.) *Roses. Floricult. Ornamental Biotechnol.* 3: 21–27.

Wissemann V (2003) Conventional taxonomy (wild roses). I: Roberts AV, Debener T, Gudín S (Red.) *Encyclopedia of Rose Science*, Elsevier Academic Press, Oxford. 111–117

Faktabladet är utarbetat inom
LTJ-fakultetens område för Växtförädling och bioteknik, Balsgård
www.slu.se/balsgard

Projektet är finansierat av EU QOL-2000, projekt GENEROSE
(ec.europa.eu/research/agriculture/projects/qlrt_2001_01278_en.htm)

Projektansvarig Hilde Nybom, hilde.nybom@slu.se

<http://epsilon.slu.se>