

SAKREDOVISNING 2012

Kartering och nyttjande av genetisk mångfald hos svenska kulturrosor

Dnr: 25-10198/06, 25-10893/07, 25-12011/08, 25-10996/09, 25-12789/11

Ulrika Carlson-Nilsson
SLU, Institutionen för växtförädling, Balsgård
Fjälkestadsvägen 459, 291 94 Kristianstad

Målsättning

Programmet för Odlad Mångfald (POM), vid Centrum för Biologisk Mångfald (CBM), påbörjade riksomfattande inventeringar av svenska kulturrosor 2005. Fältarbetet avslutades 2010. Insamlingen av intressanta rosor slutfördes 2011.

Genom det SJV/POM-finansierade projektet ”Genetisk variation hos äldre kulturrosor anpassade för svenskt klimat” (Dnr: 25-10198/06) inleddes 2007 ett samarbete mellan POM och forskare vid dåvarande Området för Växtförädling och Bioteknik (numera Institutionen för växtförädling) vid Sveriges Lantbruksuniversitet, Balsgård. År 2008, 2009 samt 2010 erhöles finansiering för en fortsättning av projektet, nu benämnt ”Genetisk variation hos kulturrosor anpassade för svenskt klimat, fortsättning” (Dnr: 25-10893/07, 25-12011/08 och 25-10996/09). Efter ett uppehåll under 2011, då projektet ej beviljades medel, fortsatte arbetet under 2012 nu under namnet ”Kartering och nyttjande av genetisk mångfald hos svenska kulturrosor (Dnr: 25-12789/11).

Projektets målsättning har under samtliga år varit att:

- 1) underlätta identifierings- och klassificeringsarbetet av okända kulturrosor i den nationella rosinventeringen
- 2) vinna kunskap om den genetiska variationen mellan de insamlade accessionerna
- 3) och därmed erhålla ett så bra underlag som möjligt för att utarbeta en strategi inför valet av de rosor som är bevarandevärda och skall ingå i POMs nationella genbank

Inledning

Sverige har utvecklat ett nationellt program för att inventera, evaluera, karaktärisera, bevara och hållbart nyttja diversiteten hos äldre kulturväxter av skilda slag, däribland rosor. Inventeringen av kulturrosor arbetar med rosor som har en dokumenterad odlingshistoria från tiden före 1950.

Det nu rapporterade genetikprojektet är ett delprojekt inom POMs nationella rosprojekt. Det laborativa arbetet, framtagningen av DNA-profiler för de enskilda accessionerna och den genetiska karaktäriseringen av det samlade rosmaterialet utförs av Balsgård (projektansvarig Ulrika Carlson-Nilsson). Den taxonomiska klassificeringen av de studerade rosorna och

beslut om vilka rosor som ska ingå i den nationella genbanken tas av POM, med POMs projektledare för rosinventeringen (Lars-Åke Gustavsson) som huvudansvarig.

Ett av POMs mål är att i en nationell genbank bevara största möjliga mångfald av de äldre kulturrosor som finns runt om i Sverige. För att kunna göra detta på ett biologiskt och ekonomiskt tillfredsställande sätt måste variationen i hela eller delar av det inventerade materialet på något sätt uppskattas. Först därefter kan storleken och utformningen av genbanken fastställas.

Samtliga undersökningar inom det nu sökta genetikprojektet utförs i nära samarbete med POM för att infria målsättningen att resultatet skall vara en hjälp vid POMs arbete att skapa en genetiskt värdefull genbank av äldre kulturrosor. Resultaten kommer att vara vägledande vid valet av vilka rosor som kommer att ingå i den nationella genbanken.

Identifiering och klassificering av rosor

Vid identifiering och klassificering av rosor används främst två metoder, traditionella morfologiska studier och modern genteknik. På senare år har flera olika DNA-markörer framgångsrikt använts vid klassificering av rosor och för att studera genetiskt släktskap mellan arter och sorter. En typ av DNA-markörer är så kallade mikrosatellit-markörer vilka har utvecklats till ett allt viktigare verktyg för identifiering och kartering av referenssamlingar. Dock finns det ännu ingen allmänt tillgänglig databas som möjliggör snabb och lätt bestämning av individuella prover, ej heller för de olika sortgrupperna av prydnadsrosor, såsom Gallica-, Damascena-, Spinosissima- och Bourbon-rosorna.

Etablering och användning av POMs DNA-referensdatabas

Resultat från rosinventeringarna 2005 och 2006 visade att flera av de inventerade accessionerna inte kunde sortbestämmas enbart med hjälp av morfologiska karaktärer. För att underlätta identifierings- och klassificeringsarbetet av de i POMs inventeringar funna kulturrosorna erhöles år 2007 finansiering av SJV/POM för första årets arbete inom det nu rapporterade projektet.

Första steget i detta genetikprojekt var att vinna kunskap om DNA-profiler hos odlade rosor, såväl arter som kända sorter i skilda sortgrupper. I samråd med POM valdes 2007 160 genotyper ut från det befintliga sortimentet av äldre kulturrosor i Fredriksdals rosarium, Helsingborg. Genotyperna omfattar särskilt betydelsefulla arter och sorter i kulturrosornas släkträd. Dess DNA-profiler samlades i en referenssamling, POMs DNA-referensdatabas. Databasen fungerar nu som jämförelsematerial för DNA-profiler framtagna från de okända accessioner som samlats in vid inventeringarna under perioden 2005–2010.

Arbetet med att ta fram referenssamlingen utfördes med hjälp av mikrosatellit-markörer. Tio primer-par som av holländska forskare utvecklats speciellt för rosor användes i arbetet.

DNA-profiler från okända rosor undersöks med holländska primer-par

Redan de preliminära resultaten från 2007 visade på en tydlig genetisk variation bland de studerade genotyperna och unika DNA-profiler kunde tas fram för de studerade arterna och kända sorterna. I projektets andra fas har arbetet under 2008, 2009, 2010 och 2012 års projekt inriktats på att skapa DNA-profiler från okända rosor som påträffats under POMs inventeringar. Samma holländska primer-par som vid arbetet med de kända arterna och sorterna har använts i detta arbete.

Dessa okända accessioner har sedan hösten 2006 planterats i provodlingar på Fredriksdal, Helsingborg. Rosor som inte är villiga att skjuta rotskott på den ursprungliga växtplatsen har i stället okulerats. De sista insamlingarna, och planteringarna, gjordes 2011. I dagsläget innehåller provodlingen 1 364 accessioner. Under 2008–2012 har drygt 500 av dessa okända accessioner undersökts och DNA-profiler har tagits fram för flertalet av dem.

Fokus på de mest variationsrika rosgrupperna

Under 2009 fokuserades studien på de sortgrupper som tidigare visat den största genetiska och morfologiska variationen, nämligen sorter i Gallica-, Damascena-, Damascena Bifera-, Alba-, Centifolia-, Centifolia Muscosa-, Francofurtana- samt Bourbon-Gruppen. Rosor i dessa sortgrupper hör också till de rosor som påträffas oftast under rosinventeringen. De allra vanligaste är just Gallica- och Damascena-rosor. Rosorna inom dessa sortgrupper hör också till de äldsta kulturrosorna i vårt land. Ett skäl till att välja dessa rosor var att vinna kunskaper om den genetiska variationen inom de största sortgrupperna för att med hjälp av denna information underlätta inventerings- och insamlingsarbetet under det sista inventeringsåret 2010.

Under 2010 beslutades i samråd med Lars-Åke Gustavsson att koncentrera urvalet av nya okända accessioner till insamlade rosor som av inventerarna bedömts tillhöra grupperna Gallica- och Damascena-rosor.

2012 års DNA-studie fokuserades på rosor i Bourbon-Gruppen, Gallica-Gruppen, Spinosissima-Gruppen, Remontant-Gruppen och Rugosa-Gruppen samt enstaka accessioner i några särskilt kritiska sortkomplex som dessutom är svåra att placera i en sortgrupp.

Material och metoder

2007

I samråd med Lars-Åke Gustavsson och POMs inventeringssektariat bestämdes vilka arter/sorter som skulle ingå i referenssamlingen.

Unga späda blad utan synliga angrepp av insekter eller svampar samlades in sommaren 2007 från 160 utvalda genotyper. Flertalet genotyper samlades in på Fredriksdals rosarium och de genotyper som saknades där plockades från olika lokaler i Skåne samt på Cedergrens plantskola, Råå. Bladen förvarades kallt i kylväska tills de kunde placeras i kylskåp (cirka +5-7 °C). DNA extraherades från bladen med hjälp av ”eZNA Plant DNA Kit”. Extraktionerna gjordes inom 2-3 dygn från insamlingstillfället.

Tio olika primer-par användes sedan för att genom PCR-teknik amplifiera specifika mikrosatellit-sekvenser i DNAt. Storleken på dessa mikrosatellit-fragment för respektive primer-par och genotyp bestämdes därefter med hjälp av kapillär-elektrofores (köpt tjänst, Swegene, Malmö).

Genom varje genotyps specifika uppsättning av mikrosatellit-fragment för de tio olika primer-paren togs en DNA-profil fram för respektive genotyp. Detta gjordes med hjälp av dataprogrammet ”Gene mapper”.

Genom att konstruera en binär databas utifrån förekomst (1) eller avsaknad (0) av de olika förekommande fragmentlängderna (allelerna) konstruerades ett dendrogram (släktträd) för

dessa kända genotyper med hjälp av metoden UPGMA (unweighted pair-group method of arithmetic averages) i statistikprogrammet ”SPSS”.

2008

Växtmaterialet för 2008 års arbete inom projektet hämtades från provodlingen på Fredriksdal, Helsingborg. Under sommaren samlades blad in från de först planterade 220 okända accessionerna på samma sätt som beskrevs ovan för 2007. Denna gång placerades dock proverna i -80 °C i stället för i kylskåp. Extraktion av DNA gjordes därefter fortlöpande under sensommaren. Dock utfördes denna gång extraktionerna med hjälp av ”Qiagen DNeasy Plant Mini Kit” istället för med ”eZNA Plant DNA Kit” som användes vid 2007 års extraktioner. Anledningen till detta var att DNA-kvaliteten alternativt koncentrationen på flera av proverna vid 2007 års extraktioner visade sig vara allt för låg för att fungera tillfredsställande för några av primer-paren.

För att kunna jämföra dessa okända accessioner med de arter/sorter som ingår i referenssamlingen användes samma tio primer-par för att genom PCR-teknik amplifiera samma specifika mikrosatellit-sekvenser i DNAt. Även denna gång storleksbestämde de resulterande fragmenten genom kapillär-elektrofores av Swegene, Malmö. Resultaten analyserades sedan på Balsgård med hjälp av programmet ”Gene mapper”.

De morfologiskt svårtbestämda accessionernas DNA-profiler jämfördes därefter med de i DNA-databasen redan befintliga profilerna från 2007 års undersökningar för en identifiering till sort eller åtminstone till sortgrupp. Jämförelserna gjordes genom att studera var de okända rosorna placerade sig i ett dendrogram tillsammans med genotyperna i referenssamlingen. Detta dendrogram konstruerades liksom tidigare med hjälp av metoden UPGMA i statistikprogrammet ”SPSS”.

2009

Under 2009 fortsatte arbetet på samma sätt som beskrivits för 2008 med ytterligare 100 nya, okända rosor från provodlingen på Fredriksdal, Helsingborg. Se vidare sidan 3 för en beskrivning av vilka rosor som valdes för årets studie.

Med hjälp av samma dataprogram som tidigare år konstruerades ett dendrogram där de okända rosorna i 2009 års undersökning ingick tillsammans med 49 namngivna sorter från referenssamlingen. Referensrosorna tillhörde grupperna Alba (12 st), Bourbon (4 st), Centifolia (8 st), Centifolia Muscosa (4 st), Damascena (7 st), Damascena Bifera (2 st), Francofurtana (3 st) och Gallica (9 st).

2010

Arbetet fortsatte på likartat sätt under 2010, nu med 75 stycken okända accessioner från provodlingen. Som tidigare nämnt låg fokus detta år i första hand på rosor i Gallica- och Damascena-Gruppen. Även några okända rosor i sortgrupper som har ett nära släktskap med dessa två grupper ingick.

Fram t o m 2009 användes tio mikrosatellit-sekvenser (primer-par) för amplifiering med hjälp av PCR-teknik. Några av primer-paren gav dock i allt för hög grad ofullständiga resultat varför vi övervägde att minska antalet primer-par i det fortsatta arbetet (se vidare sidan 6). De genomförda studierna gav för många av rosorna tillfredsställande resultat med enbart sex primer-par. I samråd med Dr Gerhard Esselink, Holland, som är den huvudsakliga upphovsmannen till de primer-par som använts i genetikprojektet, beslutade vi därför att från

och med 2010 genomföra DNA-studierna i första hand med sex primer-par mot tidigare tio. Minskningen av antalet primer-par gör arbetet mindre tids- och kostnadskrävande. För flertalet rosor innebär förändringen sannolikt ingen kvalitetsförsämring. För sortkomplex där analyserna med sex primer-par inte påvisar någon genetisk variation, men där morfologiska skillnader trots allt tycks föreligga, kommer senare ytterligare primer-par att användas.

För 2010 års studie valdes fem av de sex primer-par som en grupp forskare (inkluderande Dr Esselink) använt vid en studie publicerad 2007 (Babaei et al., *Microsatellite analysis of Damask rose (Rosa damascena Mill.) accessions from various regions in Iran reveals multiple genotypes*, *BMC Plant Biology*, 7:12). De fem primer-paren är valda bl a med tanke på att de är placerade på olika kromosomer i rosgenomet, vilket ger större möjlighet att fånga upp mer av den totala variationen i genomet hos de undersökta rosorna. Det sjätte primer-paret i den utländska studien har inte ingått bland de tio primer-par som använts inom genetikprojektets tidigare arbete. Detta primer-par ersattes därför, efter samråd med Dr Esselink, med ett väl fungerande primer-par som ingick i genetikprojektets tidigare arbete.

Även 2010 storleksbestämde de resulterande fragmenten från PCR-amplifieringarna genom kapillär-elektrofores av Labmedicin Skåne (tidigare Swegene). Resultaten tolkades därefter på Balsgård på vanligt sätt, dock användes detta år ett annat dataprogram ("Gene marker") än det tidigare använda "Gene mapper". De båda programmen är likvärdiga men "Gene marker" har visat sig vara mer lättarbetat. Samtliga tidigare erhållna resultat tolkades dock ännu en gång i det nya programmet "Gene marker" för att undvika eventuella felaktigheter orsakade av programbytet.

Efter utvärderingen konstruerades på samma sätt som tidigare bl a ett dendrogram innehållande både de accessioner från 2010 års insamling som hittills gett resultat (73 st) och ett urval av accessioner från tidigare års studier av rosor tillhörande Gallica-, Damascena-, Alba-, Centifolia-, Centifolia Muscosa-, Francofurtana, Bourbon- och Boursault-Gruppen (220 st). I dendrogrammet ingick även 8 genotyper från referensdatabasen.

Ploiditalsbestämningar genomfördes för ett 20-tal olika accessioner med hjälp av flödescytometri. Arbetet utfördes som köpt tjänst vid Lantmännen SW Seed AB samt vid Plant Cytometry Services, Holland.

2012

Under senaste årets arbete samlades 120 stycken okända accessioner in från Bourbon-Gruppen, Gallica-Gruppen, Spinosissima-Gruppen, Remontant-Gruppen och Rugosa-Gruppen. Även några enstaka accessioner i några särskilt kritiska sortkomplex, som dessutom är svåra att placera i en sortgrupp, ingick.

Växtmaterialet behandlades på samma vis som under tidigare år och samma metoder användes vid de laborativa momenten. Dock utfördes storleksbestämningen (kapillär-elektroforesen) av de resulterande fragmenten från PCR-amplifieringarna detta år av ett laboratorium vid Den Kgl Veterinaer- og Landbohøjskole (KVL) i Köpenhamn i stället för av Labmedicin Skåne, Malmö. Detta eftersom denna tjänst inte längre går att köpa från Labmedicin Skåne. Resultaten tolkades därefter på Balsgård liksom under 2010 med hjälp av dataprogrammet "Gene marker".

I slutskedet av 2012 års arbete drabbades vi av problem som tyvärr försenade årets slutliga resultatrapportering. Problemen visade sig härröra från bytet av laboratorium för

storleksbestämningen av mikrosatellitfragmenten och uppdagades då utvärderingen av resultaten från kapillärelektroforesen skulle genomföras under november och december. Av denna anledning beviljades vi därför uppskov med den slutliga rapporteringen till 2013-03-15.

Resultat och diskussion

2007

De första preliminära resultaten från 2007 års studier av de 160 kända genotyperna i referenssamlingen visade en tydlig genetisk variation när de tio olika primer-paren användes. Detta visade att det med hjälp av dessa primer-par var möjligt att ta fram unika DNA-profiler för olika genotyper.

Tyvärr erhöles dock inte tillförlitliga resultat för alla kombinationer av genotyp och primer-par vid analyserna. För vissa genotyper erhöles inga resultat för något av primer-paren. Saknas resultat från en eller flera av de tio primer-paren plockas denna genotyp automatiskt bort när ett dendrogram skall konstrueras av datorprogrammet. Detta gör att ett fullständigt dendrogram innehållande alla analyserade genotyper inte kan tas fram förrän samtliga genotyper erhållit tillfredsställande resultat för alla tio primer-par vid storleksbestämningen av de amplifierade fragmenten. Ett dendrogram för samtliga genotyper undersökta med alla tio primer-paren gick därför inte att konstruera i detta läge. Preliminära tolkningar, gjorda tillsammans med Lars-Åke Gustavsson, av resultaten från studierna av referenssamlingen rapporterades i "Sakredovisning, 2007".

2008

DNA från samtliga 220 okända accessioner från 2008 års insamling amplifierades detta år med alla tio primer-paren. Alla fungerande prover storleksbestämdes med hjälp av kapillärelektrofores. Liksom vid 2007 års analyser gav dock vissa av accessionerna inte tillförlitliga resultat i kombination med några av primer-paren. Tyvärr fanns ingen möjlighet att inom ramen för 2008 års projekttid hinna upprepa dessa körningar för att se om bättre resultat kunde erhållas exempelvis vid högre DNA-koncentration.

Av de accessioner där inga resultat kunde fås för något av de tio primer-paren vid 2007 års analyser insamlades nytt växtmaterial under sommaren 2008 och nytt DNA extraherades med "Qiagen DNeasy Plant Mini Kit". Fortfarande fanns dock tyvärr enstaka accessioner som inte fungerade tillfredsställande för en eller ett av par primer-paren och där följaktligen resultat saknades för att en fullständig DNA-profil skulle kunna tas fram.

Det visade sig också att en del av resultaten från storleksbestämningen var mycket svårtolkade delvis beroende på bristande information om de olika rosornas kromosomtal. Rosor är polyploider och ploiditytet varierar från diploider upp till åtminstone hexaploider. Är ploiditytet känt underlättas tolkningen av resultaten från fragmentlängdsbestämningarna avsevärt.

Ett slutligt dendrogram baserat på samtliga tio primer-par och 160+220 rosor kunde tyvärr inte tas fram på grund av att fortfarande inte alla accessioner erhållit tillförlitliga resultat för samtliga primer-par.

Preliminära resultat presenterades vid rosinventerarnas höstträff i Vårdsnäs, 25–26 oktober 2008, tillsammans med Lars-Åke Gustavsson och rapporterades i "Sakredovisning, 2008".

2009

DNA från samtliga av de 100 insamlade nya okända accessionerna amplifierades med de tio primer-paren. Tyvärr visade det sig att några av PCR-plattorna uppvisade endast ett fåtal resultat efter storlekssorteringen av fragmenten. Troligtvis gick något fel under PCR-processen och inga eller ytterst få fragment amplifierades. De aktuella plattorna innehöll framför allt amplifieringar med två av primer-paren. Tyvärr fanns varken tillräckligt med tid eller medel kvar för att upprepa amplifieringarna vid den tidpunkt då detta inträffade. Detta medförde att dessa två primer-par ej kunde ingå i det dendrogram som konstruerades. För de resterande åtta primer-paren fungerade PCR-amplifieringarna relativt tillfredsställande, dock inte för samtliga rosor. Högst procent ingående accessioner erhöles då fem olika primer-par ingick i dendrogrammet. Tolkningar av dendrogrammet gjorda av Lars-Åke Gustavsson presenterades i "Sakredovisning, 2009".

Samtidigt som målsättningen för 2009 var att studera variationen framför allt inom rosgrupperna Alba, Bourbon, Centifolia, Centifolia Muscosa, Damascena, Damascena Bifera, Francofurtana och Gallica fortsatte arbetet med rosor från övriga grupper. De rosor från 2007 och 2008, som ännu inte gett tillförlitliga resultat eller inga resultat över huvud taget för en eller flera primer-par, analyserades om 2009. För vissa rosor som tidigare år inte gett några resultat för något av de tio primer-paren plockades även nytt bladmaterial varefter helt nytt DNA extraherades fram före analysen. Genom dessa omkörningar gav flera accessioner nya tillförlitliga resultat även om fortfarande flera behöver analyseras ytterligare för att uppnå fullständiga resultat.

2010

Till skillnad från tidigare år då arbetet inom projektet tyvärr varit relativt problemfyllt löpte 2010 års arbete helt planerligt och förutom att 75 nya okända rosor analyserades har nya analyser av samtliga ej fungerande okända accessioner från 2008 och 2009 genomförts, med lyckat resultat, med de sex primer-par som valdes ut enligt ovan inför 2010 års arbete. Av de totalt 395 okända analyserade rosorna återstod efter 2010 års arbete endast 39 accessioner som ännu inte hade resultat för ett eller flera primer-par. Mer än hälften av dessa saknade resultat för enbart ett primer-par.

2010 års studie fokuserade som tidigare nämnts i första hand på rosor i Gallica-Gruppen och Damascena-Gruppen. Därutöver ingick också några okända rosor i sortgrupper som har ett nära släktskap med Gallica-Gruppen och Damascena-Gruppen. Därför innefattade det dendrogram som bifogades 2010 års sakredovisning de under hela projektiden analyserade accessionerna som hör till Gallica-Gruppen och Damascena-Gruppen samt följande sortgrupper: Alba-Gruppen, Centifolia-Gruppen, Centifolia Muscosa-Gruppen (mossrosor), Francofurtana-Gruppen, Bourbon-Gruppen och Boursault-Gruppen. Observera att många av de funna rosorna ännu inte har kunnat föras till en sortgrupp.

Bland resultaten från de hittills genomförda DNA-studierna finns det många exempel på nödvändigheten att kombinera resultat från både morfologiska och genetiska studier för att den slutliga klassificeringen och valet av enskilda sorter för den nationella genbanken ska bli så korrekt som möjligt.

Flera rosor, som av inventerarna bedömts vara olika sorter när de studerats på sina fyndplatser, har visat sig ha samma DNA-profil, enligt den detaljnivå som hittills uppnåtts med sex primer-par. Omvänt har det också i många fall visat sig att rosor, som på sina

fyndplatser bedömts vara identiska, har skilda DNA-profiler. I taxonomiska särskilt kritiska sortkomplex kan det därför bli nödvändigt att genomföra DNA-analyser med fler primer-par än de nu använda sex för att erhålla så säkra resultat som möjligt. För detaljinformation om erhållna resultat 2010 hänvisas till 2010 års sakredovisning.

2012

Förutom de problem som uppstod i samband med bytet av laboratorium för storleksbestämningen av de resulterande fragmenten från PCR-amplifieringarna har 2012 års arbete fortskridit planenligt.

Förutom analyserna av de 120 nya okända accessionerna gjordes under 2012 även förnyade analyser av ett antal okända accessioner där tillfredsställande resultat för en eller ett par primer-par inte tidigare erhållits. Dessa accessioner har därför inte kunnat ingå i de tidigare redovisade dendrogrammen.

Under arbetet med att klassificera POMs insamlade rosor har DNA-analyserna i flertalet fall bekräftat preliminära morfologiska bestämningar. I några fall har DNA-studierna uppdagat en större genetisk variation än väntat. De uppnådda resultaten från DNA-studien ska under de kommande åren vägas mot resultaten från de morfologiska studierna i provodlingen på Fredriksdal, vilka för varje år som går blir allt tydligare. Få slutliga resultat från de morfologiska studierna på Fredriksdal föreligger idag. Först när samtliga rosor i provodlingen på Fredriksdal nått en ålder av 3–5 år kan jämförbara morfologiska resultat erhållas och värdet av att odla de insamlade rosorna under samma klimat- och odlingsförhållanden utvärderas.

I dagsläget ger därför resultaten från DNA-studierna ett tydligare besked om enskilda accessioners släktskap och gruppering i kloner/genotyper än vad de hittills genomförda morfologiska studierna gör. Det gäller såväl plantorna i provodlingen som moderplantorna på de enskilda accessionernas fyndplatser. De samlade DNA-studierna har redan gett ny kunskap om de äldre kulturrosornas variation och släktskap, vilket på sikt - när hela rosinventeringen avslutats och utvärderats - kommer att resultera i att delar av rosornas släkträd måste skrivas om.

I det till denna sakredovisning bilagda dendrogrammet (Bilaga 1, Dendrogram 2012) ingår hittills uppnådda resultat från samtliga års DNA-studier. I detta dendrogram ingår 490 okända rosor, fördelade på 175 kloner/genotyper enligt följande gruppering i sortgrupper:

Gallica-Gruppen	35
Damascena-Gruppen	12
Alba-Gruppen	6
Centifolia-Gruppen	3
Centifolia Muscosa-Gruppen	10
Francofurtana-Gruppen	1
Bourbon-Gruppen	12
Remontant-Gruppen	6
Boursault-Gruppen	1
Setigera-Gruppen	1
Arvensis-Gruppen	1
Storblommiga klätterros-Gruppen	1
Rugosa-Gruppen	18

Spinossissima-Gruppen	47
Foetida-Gruppen	4
Glauca-Gruppen	3
Moyesii-Gruppen	3
Foecundissima-Gruppen	2
Okänd grupptillhörighet	9

Förklaringar till dendrogrammet

Accessioner markerade med grönt analyserades i årets studie. Rosa markeringar är referenssorter. Röd text I–X och blå linje markerar avgränsningar av dendrogrammet i 10 delar vilka kommenteras i den fortsatta texten.

Del I

I dendrogrammets första del I (sid 1–4) ingår samtliga studerade rosor i Gallica-Gruppen. 35 av de 41 klonerna i del I utgörs av gallicarosor. Under året kunde studien påvisa och klassificera 9 nya gallicarosor i provodlingen på Fredriksdal. Gallica-Gruppen är den äldsta sortgruppen i ros släktet och utgör grunden för den vidare utvecklingen av samtliga kulturrosor.

Av de 35 identifierade gallicaklonerna finns endast två att tillgå i svenska plantskolor. De övriga 33 är kvarstående sorter från en äldre tids sortiment. Ingen spontan hybridisering med nybildning av sorter torde ha förekommit i Sverige. Av de totalt ca 2 000 introducerade gallicarosorna på jorden beräknas endast ca 300 sorter finnas kvar i odling någonstans på jordklotet idag. Ca 1 700 sorter anses således ha dött ut. Med största sannolikhet har några av de sorter som betraktats som utdöda påträffats i POM-inventeringen.

De övriga 6 klonerna i del I är sorter i Centifolia Muscosa-gruppen, mossrosor, vilket tydliggör ett nära släktskap mellan dessa mossrosor och sorter i Gallica-Gruppen. 4 av de 6 mossrosorna identifierades som nya kloner i årets studie.

Del II

I del II ingår dendrogrammets samtliga sorter i Damascena-Gruppen, Centifolia-Gruppen och Francofurtana-Gruppen. Därutöver innehåller del II även några rosablommande sorter i Alba-Gruppen, två sorter i Muscosa-Gruppen och två sorter med ännu oklar grupptillhörighet, klonerna 47 och 48. Dessa är med största sannolikhet hybrider i vilka främst gallica-, alba- och damascenerrosor ingår.

I denna del har endast 10 nya rosor analyserats eftersom grupperna inte var prioriterade i årets studie.

3 av dem visade sig vara nya kloner. En av dem hör till Alba-Gruppen, en till Damascena-Gruppen och en av dem har ännu inte kunnat klassificeras.

Klon 53 är säregen i den meningen att den består av tre genetiskt mycket närbesläktade sorter med distinkta morfologiska karaktärer. De tre sorterna är centifoliarosorna 'Centifolia Major' (bl a Ref 54 och 317), 'Petite de Hollande' (bl a POM 123) samt mossrosen 'Communis' (POM 1039). För att genetiskt kunna särskilja de tre sorterna måste de studeras med ytterligare några primer-par.

Del II består efter årets studie av 21 definierade kloner.

Del III

Denna del består till största delen av sorter i Bourbon-Gruppen. 3 nya kloner av bourbonrosor identifierades i årets studie. Del III innehåller även en mossros samt "Skedarosen" och "Von Lingens ros", båda med ännu okänd grupptillhörighet.

Särskild uppmärksamhet ägnades åt klonerna 72 och 83. Den förra har påträffats vid ett flertal tillfällen från Skåne till Ångermanland. Den uppvisar ett tämligen enhetligt utseende så när som på några fynd där uppgiftslämnarna noterat att blomfärgen är ljusare än normalt. DNA-studien kunde inte påvisa någon genetisk skillnad inom det insamlade materialet.

Klon 83 är en bourbonros av 'Great Western'-typ. Skillnaden i kronbladens teckning och färg är stor. Några plantor har blommor med helt släta och enhetligt färgade kronblad, på andra plantor har kronbladen mycket dekorativa strimmor och skiftande mörka och ljusa nyanser. Årets DNA-studie kunde inte påvisa någon genetisk skillnad bakom denna morfologiska variation. Kanske är den genetiska skillnaden lika liten som mellan den enhetligt karminröda 'Officinalis' och den strimmiga 'Rosa Mundi' i Gallica-Gruppen? Denna skillnad kunde först påvisas med 10 primerpar.

I del III har hittills 19 kloner kunnat påvisas.

Del IV

I denna del utgör vitblommiga sorter i Alba-Gruppen den dominerande delen. Gruppen ägnades mycket liten uppmärksamhet i årets DNA-studie. En ny klon med namnet 'Huldra' (POM 345) definierades.

Del V

I del V ingår dendrogrammets samtliga sorter i Remontant-Gruppen, en av de prioriterade sortgrupperna i årets DNA-studie. 10 av årets 13 prover är remontantrosor som fördelar sig på 6 kloner, alla nya för POM-studien. Klon 94 är också med största sannolikhet en remontantros, men dess morfologi behöver studeras ytterligare för att säkerställa dess släktskap.

Av de 10 klonerna i dendrogrammets del V är således 6 eller 7 remontantrosor. De övriga är av vitt skilda ursprung: boursaultrosen 'Blush Boursault' (POM 53), en hybrid i Setigera-Gruppen (POM 1283) och "Ölandsrosen" (POM 309), en storblommig klätterros.

Del VI

I denna del ingår sorter med vildrosornas egenskaper, både klättrande och buskformade sorter. Alla de fem nya proverna visade sig vara för POM-studien nya kloner. POM 1035, en hybrid med *Rosa arvensis* från Valdemarsvik, kan mycket väl vara en under lång tid omskriven klätterrosor som förmodats vara utdöd på jorden. POM 239 är en hybrid med *Rosa moyesii*, mandarinros, från Uppsala botaniska trädgård. POM 298, POM 1013 och POM 1064 är mycket dekorativa hybrider med *Rosa glauca*, daggros.

Del VII

Denna del av dendrogrammet består uteslutande av hybrider med ursprung i arten *Rosa rugosa*, vresros. Gruppen hade hög prioritet under årets DNA-studie. 11 rosor analyserades och hela 10 av dem visade sig vara nya kloner i POMs studie av rosorna i provodlingen på Fredriksdal.

6 av klonerna 129–137 har blommor med enkla kronblad och är med stor sannolikhet hybrider med *Rosa rugosa*. Övriga kloner i del VII har mer eller mindre tätt fyllda blommor.

I Rugosa-Gruppen har 18 kloner definierats och den innehåller få dubletter. Inom del VII finns bara tre kloner av vilka det förekommer fynd från mer än en lokal, övriga 15 kloner har bara påträffats på en enda växtplats.

Del VIII

Spinosissima-Gruppen är genetiskt och morfologiskt mycket variabel. Gruppen har sitt ursprung i den vilda arten *Rosa spinosissima*, pimpinellros. Flertalet kulturrosor i sortgruppen förädlades mellan 1793 och ca 1830. Att spontan hybridisering inte är ovanlig i sortgruppen innebär att nya sorter sannolikt uppkommit i Sverige ända in i nutid. Gruppen är av stort hortikulturellt värde för svenska trädgårdar.

Gruppen var högprioriterad i årets DNA-studie. 35 prover av svårklassificerade kollektioner togs. Av dessa visade det sig att hela 23 utgör nya kloner. Det fanns således endast 12 dubletter bland årets studerade pimpinellrosor.

I dendrogrammet fördelar sig klonerna i Spinosissima-Gruppen i väl avgränsade kluster. Vid denna första genomgång av dendrogrammet förefaller korrelationen mellan de genetiska och morfologiska resultaten vara tämligen god.

Med ett undantag (POM 1362 "Puderrosen") har klonerna 138–150 enkla blommor i vita och rosa blomfärger. Varje accession är unik, inga dubletter förekommer. Klustret innehåller 13 kloner och 9 av dem är för studien nya kloner i årets DNA-studie.

Klonerna 151–156 innehåller 6 kloner varav tre är nya. Till klustret hör sorter med släktskap till 'Irish Rich Marbled' och 'Double Pink'.

Klonen 157 är en för studien ny klon med halvfyllda vita blommor.

Klonerna 158–165 består av 5 kloner med fyllda vita blommor. Två av dem har stora blommor och överensstämmer väl med de rosor som går under namnet *Rosa spinosissima* 'Plena', fylld pimpinellros. De övriga tre klonerna avviker markant från dessa två genom de små blommorna och låga växtsättet. Klustret innehåller också tre i studien unika accessioner (POM 1238, POM 422 och POM 190) med små och ljusrosa blommor.

Klonerna 166–170 uppvisar stor variation, från enkla till fyllda sorter i skiftande rosa nyanser. I klustret ingår två accessioner som påminner om 'Irish Rich Marbled', ett utseende som också finns i klonerna 151–152. Klustret består av 5 kloner, av vilka 4 är nya i årets DNA-studie.

Klonerna 171–175. Klustret består av två vanligt förekommande kloner med flera dubletter, båda av 'Husmoderrose'-typ som har rosa blommor. POM 55 är en vit och småblommig klon av 'Plena'-typ. De två övriga accessionerna behöver studeras ytterligare.

Klonerna 176–182 är alla av 'Poppius'-typ med olika blomfärger, från den vanligast förekommande rosa nyansen till ljusrosa, laxrosa och vit.

Klonerna 183–184 är två sorter med enkla blommor, den vitblommiga ”Frösörosen” och en ljus rosablommig sort som påminner om ’Myriacantha’.

Hittills har sammanlagt 75 accessioner av rosor i Spinosissima-Gruppen studerats. De fördelar sig på 47 kloner.

Del IX och X

Dendrogrammets sista del består av sorter med gula blommor, de enda gulblommiga rosorna i dendrogrammet. Alla utom POM 63 är nära besläktade med *Rosa foetida*, turkisk gulros (Ref 17). POM 63 har svagt gultonat vita blommor.

I del IX har hittills 5 kloner identifieras.

I del X ingår endast referenssorter.