



УДК 634.737/738+634.739.1:631.527(476)

ПРОИСХОЖДЕНИЕ БРУСНИЧНО-ГОЛУБИЧНОГО ГИБРИДА СЕЛЕКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

А.Б. ГОРБУНОВ¹, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией,
Т.В. КУРЛОВИЧ², кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник,
С.В. АСБАГАНОВ¹, кандидат биологических наук, научный сотрудник,
Т.И. СНАКИНА¹, кандидат биологических наук, научный сотрудник

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН

630090, Россия, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101

e-mail: gab_2002ru@ngs.ru

²Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларусь

225431, Республика Беларусь, Ганцевичи, ул. Строителей 25–19

e-mail: vaccinium@mail.ru

Исследование бруснично-голубичного гибрида, созданного в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси, было проведено совместно с Центральным сибирским ботаническим садом СО РАН с целью установления его происхождения. Предметом исследования послужили полученные в 1996 г. межвидовые гибриды аборигенной *Vaccinium uliginosum* L. ($2n = 48$) с естественным тетраплоидом *Vaccinium vitis-idaea* L. ($2n = 48$), использованным в качестве отцовского растения. Гибрид F_1 характеризовался рядом признаков, в большей степени совпадавших с характеристиками голубики. В связи с тем, что плоды гибрида по своей фиолетово-черной окраске походили на гибриды F_1 , полученные в Финляндии, Польше и в России от скрещивания голубики топяной с сортами высокорослой голубики, а цветки при опылении не изолировались и в поколении F_2 отсутствовали красноплодные плоды, возникла необходимость проверить их происхождение. Межвидовые скрещивания *Vaccinium uliginosum* ($2n = 48$) \times *Vaccinium vitis-idaea* ($2n = 48$) выполнены в 2006–2015 гг. с кастрацией и изоляцией цветков. Всего 32 комбинации скрещивания по 30–50 цветков в каждой. Сделано морфологическое описание бруснично-голубичного гибрида и предполагаемых исходных видов. Выделение ДНК проводили по модифицированной методике. Выполнены RAPD- и ISSR-ПЦР анализы. Многолетние скрещивания *Vaccinium uliginosum* \times *Vaccinium vitis-idaea* дали положительные результаты в 2009, 2013 и 2015 гг. Наибольший процент (3,3–35,0 %) завязавшихся ягод отмечен в 2013 г. Число выполненных семян в ягоде от 2 до 26. Всхожесть их была низкой, а проросшие сеянцы постепенно погибли. В реципрокных скрещиваниях ягоды не завязывались. По комплексу морфологических признаков межвидовой гибрид в наибольшей степени близок к полувысокой голубике, в меньшей – к голубице топяной, но далек от брусники. Выявлены наиболее информативные праймеры OPA08 и 17899A. В спектрах амплифицированных фрагментов у гибридов *Vaccinium uliginosum* \times *Vaccinium vitis-idaea* отсутствовали уникальные для *Vaccinium vitis-idaea* ($2n = 48$) компоненты, однако присутствовали характерные для *Vaccinium corymbosum* L., *Vaccinium angustifolium* Aiton и их гибрида *Vaccinium corymbosum* \times *Vaccinium angustifolium*. Слабая репродуктивная совместимость тетрапloidной брусники с голубикой топяной, близость бруснично-голубичного гибрида по морфологическим признакам к полувысокой голубике и топяной и результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР) анализа свидетельствуют о том, что исследованный межвидовой гибрид является не бруснично-голубичным, а голубичным. Наиболее вероятным отцовским растением может быть гибрид *Vaccinium corymbosum* \times *Vaccinium angustifolium*.

Ключевые слова: гибрид, межвидовые скрещивания, морфология, молекулярные маркеры, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium uliginosum*, *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium angustifolium*, брусника, голубика.

Брусничные (*Vaccinioideae* Arn.) – перспективные для интродукции и селекции в России и Беларусь ягодные культуры. Особый интерес представляют высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.), полувысокая (*Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium*) и узколистная (*Vaccinium angustifolium* Aiton) голубики, а также клюква крупноплодная – *Oxycoccus macrocarpus* (Aiton) Pursh.

В 1992 г. в природных условиях Магаданской области обнаружен естественный тетраплоид брусники обыкновенной – *Vaccinium vitis-idaea* L. ($2n = 48$), который интродуцирован на Ганцевичской научно-экспериментальной базе Журавинка Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларусь (ЦБС НАНБ) [1]. В 1996 г. получены межвидовые гибриды аборигенной голубики топяной – *Vaccinium uliginosum* L. ($2n = 48$) с тетраплоидной брусникой, использованной в качестве отцовского растения [2]. Гибрид F_1 характеризовался рядом признаков, которые в большей степени напоминали параметры голубик. Плоды по окраске (фиолетово-черные) были похожи на гибриды F_1 , полученные в Финляндии, Польше и в России от скрещивания голубики топяной с сортами высокорослой голубики [3–6]. Как отмечает О.В. Морозов, при опылении цветки не изолировались [7]. Поэтому не исключалась возможность посещения лишенных оконоцветника цветков шмелеми и пчелами и переноса пыльцы с произрастающих рядом североамериканских голубик на кастрированные цветки голубики топяной. Кроме того, О.В. Морозов сообщил, что у гибридов в поколении F_2 отсутствует признак красноплодности, характерный для брусники. Все это привело к необходимости проверить происхождение бруснично-голубичного гибрида путем создания аналогичных, изучения морфобиологических признаков и молекулярно-генетического анализа гибридов и их предполагаемых родительских форм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в Центральном сибирском ботаническом саду (ЦСБС)

СО РАН (Новосибирск) и на Ганцевичской экспериментальной базе Центрального ботанического сада НАН Беларусь (Ганцевичи). В работе использовали материал уникальной научной установки «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» Центрального сибирского ботанического сада.

Межвидовые скрещивания *Vaccinium uliginosum* ($2n = 48$) × *Vaccinium vitis-idaea* ($2n = 48$) проведены в 2006–2015 гг. в ЦСБС с кастрацией и изоляцией цветков. В каждой комбинации опыляли по 30–50 цветков. Выполнено 32 комбинации скрещивания. Опылено около 1300 цветков. Морфологическое описание сделано на 35 гибридах селекции ЦБС НАН Беларусь, 33 из которых произрастают на Ганцевичской экспериментальной базе, а два были переданы О.В. Морозовым в ЦСБС в 2008 г.

Для морфологического описания исходных видов брусничных было взято по 10 растений голубики топяной, тетраплоидной брусники обыкновенной и полувысокой голубики сорта Northblue ($2n = 48$).

Молекулярно-генетические анализы гибридов и предполагаемых видов выполнены в ЦСБС. При этом выделение ДНК проводилось по модифицированной методике [8, 9]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторе C-1000 (Bio-Rad, USA) в объеме 15 μl . Стандартная реакция содержала однократный Таq буфер, смесь по 0,2 mM каждого dNTP, 4 mM свободного Mg^{2+} в виде раствора $MgCl_2$, 1 μM RAPD или ISSR праймер, 5 ng/ μl геномной ДНК – 2 мкл, 1 ед. HS Таq ДНК полимеразы (Евроген, РФ). Использовали следующий оптимизированный температурный профиль: первичная денатурация при 94 °C – 4 мин; 38 циклов: денатурация 94 °C – 25 с, отжиг праймеров X °C – 30 с, элонгация при 72 °C – 2 мин; финальная элонгация – 10 мин при 72 °C и хранение при 4 °C до дальнейшего использования. Аликвоту ПЦР, содержащую исследуемый фрагмент, анализировали электрофорезом в 1,7%-м агарозном геле в однократном ТАЕ-буфере при напряжении 4 V/cm. Температуры отжига праймеров: OPA-08 (5'-GTGACGTAGG-3', 46 °C); 17899A (5'-(CA)₆AG-3', 58 °C).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Скрещивание голубики топянной с высокорослой эффективнее, когда в качестве материнского растения используется первый вид [3]. В своих исследованиях мы придерживались данных указаний А. Rousi, но сделали также и скрещивания в реципрокных комбинациях. Проводимые нами в течение 10 лет работы по искусственной гибридизации аборигенной сибирской голубики топянной с интродуцированной из Ганцевичей тетрапloidной брусникой обыкновенной, использованной нами в качестве отцовского растения, дали положительные результаты в 2009, 2013, 2015 гг. [10]. В остальные годы ягоды не завязывались. Самый большой процент завязавшихся ягод отмечен в 2013 г., при разбросе от 3,3 до 35,0 % в среднем он составил 10,7 %. Число выполненных семян в ягоде от 2 до 26. Всхожесть их была низкой, а проросшие сеянцы постепенно погибали. Плохая совместимость пыльцы тетрапloidной брусники с тетрапloidной голубикой топянной и слабая жизненность гибридных сеянцев свидетельствуют о генетической отдаленности этих видов. В реципрокном скрещивании *Vaccinium vitis-idaea* ($2n = 48$) \times *Vaccinium uliginosum* было опылено 33 цветка брусники, которые не завязали плоды [11]. Такой же отрицательный результат в этой комбинации получен и в экспериментах О.В. Морозова [7, 12].

Особенности морфологии гибрида и предполагаемых родителей представлены на рис. 1 и в таблице.

По высоте куста и ширине кроны гибриды занимают промежуточное положение между голубикой топянной и полувысокой голубикой сорта Northblue. Лист по большинству параметров походит на лист полувысокой голубики и частично голубики топянной и совсем не походит на лист тетрапloidной брусники обыкновенной. У гибрида, как и у предполагаемых исходных видов голубик, лист опадающий, мезоморфный, средней плотности, а у тетрапloidной брусники вечнозеленый, кожистый и жесткий. По длине листа гибрид приближается к по-

лувысокой голубике, частично к топянной. По ширине листа, длине черешка и кисти он близок к обоим видам голубики и к бруснике, даже превышает их показатели. Цветков в кисти формируется у гибрида 1–8. Это примерно столько, сколько у полувысокой голубики (4–7), но больше, чем у голубики топянной (1–3), и значительно меньше, чем у брусники (3–16). Гибрид, как и все голубики, имеет кувшинчатую форму цветка, а брусника – колокольчатую. Окраска венчики гибрида в большей степени напоминает таковую у полувысокой голубики. Длина и диаметр цветка также приближаются к параметрам полувысокой голубики. По отгибу лопастей венчика гибрид и голубики одинаковы, а у брусники он больше. Число тычинок в цветке у гибрида такое же, как у голубик, и даже больше. У брусники отмечено наименьшее их число – 8. По длине столбика все образцы близки, но гибрид по этому признаку ближе всего к полувысокой голубике. У гибрида и голубик столбик находится на уровне зева цветка, у брусники он сильно выдается. Цветоножка у гибрида длинная (3,0–12,0 мм), такая же, как и у голубики топянной, и больше, чем у полувысокой голубики, самая маленькая – у брусники (1,5–4,0 мм). Форма ягоды у гибрида разнообразная, но ближе к голубикам, чем к бруснике. По длине плода ягоды гибрида близки к ягодам голубик, но превосходят ягоды брусники. Диаметр ягоды меньше, чем у полувысокой голубики, но больше, чем у голубики топянной и особенно брусники. Масса одной ягоды гибрида одинакова с таковой у голубики топянной, но меньше, чем у полувысокой голубики, и больше, чем у брусники. Окраска кожицы плодов у гибрида фиолетово-черная, у голубики топянной – темно-синяя с сизым восковым налетом, у полувысокой голубики – синяя с сизым налетом, у брусники – темно-красная. Окраска мякоти плода синевато-белая и белая у гибрида, синевато-белая у голубики топянной, белая у полувысокой голубики и брусники. Число семязачатков и нормально развитых из них семян у гибрида больше, чем у голубик и брусники, и приближается к полувысокой голубике.



*Рис. 1. Цветение (слева) и плодоношение (справа) брусничных:
 1 – *Vaccinium uliginosum* L., 2 – гибрид *F₁ Vaccinium.uliginosum × Vaccinium vitis-idaea* ($2n = 48$),
 3 – *Vaccinium vitis-idaea* L. ($2n = 48$), 4 – *Vaccinium corymbosum × Vaccinium angustifolium*, сорт Northblue*

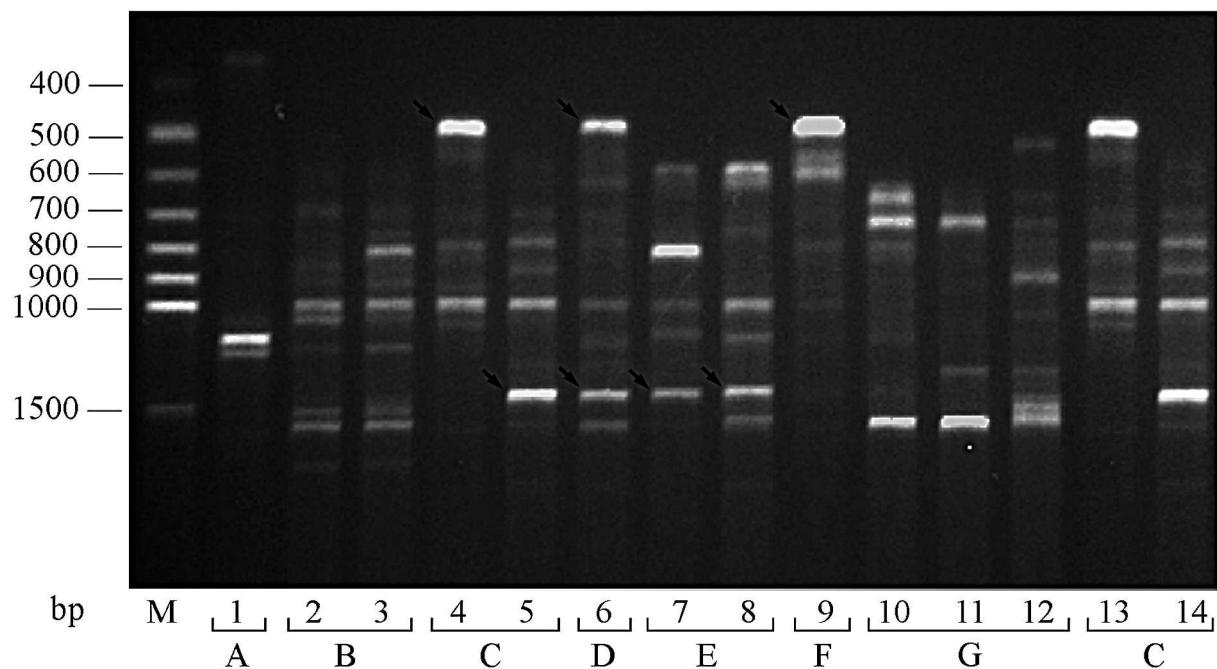


Рис. 2. Электрофореграмма RAPD-PCR геномной ДНК с праймером ОРА08

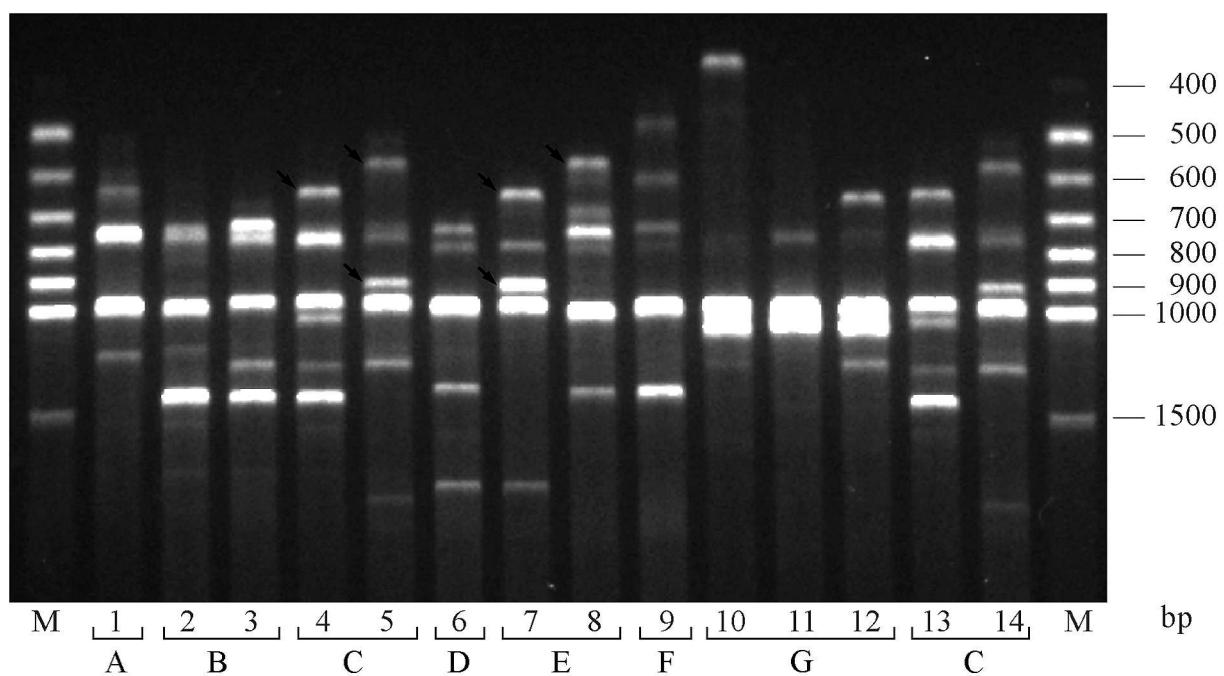


Рис. 3. Электрофореграмма ISSR-PCR геномной ДНК с праймером 17899A

A – *Vaccinium macrocarpus* (Aiton) Pursh, Ben Lear; B – *Vaccinium uliginosum* L., формы № 5–35 (2) и № 9–23 (3); C – *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium. vitis-idaea* (2n = 48), формы № 4-50-1 и № 4-50-2; D – *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium*, Northblue; E – *Vaccinium corymbosum* L., Reka (7) и Bluecrop (8); F – *Vaccinium angustifolium* Aiton, форма № 3-4; G – *Vaccinium vitis-idaea* L., 10 – Koral-le (2n = 24), 11 – Акташ-Улаган (2n = 24), 12 – Магадан (2n = 48).

1–14 – порядковые номера электрофоретических треков

Характеристика межвидового гибрида и предполагаемых исходных родительских форм

| Морфологические признаки | <i>Vaccinium uliginosum</i> L. | <i>Vaccinium uliginosum × Vaccinium vitis-idaea</i> ($2n = 48$) | <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. ($2n = 48$) | <i>Vaccinium corymbosum</i> × <i>Vaccinium angustifolium</i> , Northblue |
|--|--|---|---|---|
| Жизненная форма | Кустарник (свыше 50 см высотой) или кустарничек (высотой до 50 см) | Кустарник, реже кустарничек | Кустарничек | Кустарник, реже кустарничек |
| Высота растения, см | 30–160 | 30–140 | 8–15 | 60–130 |
| Ширина кроны растения, см | 35–160 | 56–124 | 8–24 | 70–110 |
| Характеристика листа | Кожистый, средней плотности, опадающий, обратно-яйцевидный или эллиптический, со слегка загнутыми книзу краями, на верхушке округлый, иногда с шипиком, основание клиновидное, цельнокрайний, верхняя сторона голубовато-, нижняя светло-зеленая | Средней плотности, опадающий, округлый или яйцевидный, основание округлое или клиновидное, цельнокрайний, со слабой пильчатостью, верхняя сторона темно-, нижняя светло-зеленая | Кожистый, плотный, вечнозеленый, овальный, со слегка загнутыми книзу краями, на верхушке тупой или вытянутый, иногда с шипиком, основание клиновидное или в верхней части слегка зазубренный, верхняя сторона темно-, нижняя светло-зеленая | Средней плотности, опадающий, овальный, со слегка загнутыми книзу краями, на основание клиновидное или округлое, цельнокрайний, верхняя сторона темно-, нижняя светло-зеленая |
| Длина листа, см | 0,5–3,8 | 3,1–5,2 | 1,4–2,3 | 2,2–5,6 |
| Ширина листа, см | 0,4–2,4 | 1,1–2,9 | 0,8–1,5 | 1,3–2,4 |
| Длина черешка, мм | 0,5–3,0 | 1,0–4,0 | 0,5–3,0 | 0,5–1,0 |
| Длина кисти, см | 0,5–1,8 | 0,2–2,7 | 0,4–1,8 | 0,6–2,6 |
| Число цветков в кисти | 1–3, реже 4–7 | 1–8 | 3–16 | 4–7 |
| Форма цветка | Кувшинчатая | Кувшинчатая | Колокольчатая | Кувшинчатая |
| Окраска цветка | Белая или розовая | Белая, редко белая с розовыми полосками | Розово-белая | Розово-белая |
| Длина цветка, мм | 5–8 | 7–10 | 5–8 | 10–13 |
| Ширина цветка, мм | 4–5 | 6–7 | 3–4 | 7–9 |
| Отгиб лопастей венчика | Слабый | Слабый | Средний | Слабый |
| Количество тычинок, шт. | 8–10 | 10–11 | 8 | 10 |
| Длина столбика, мм | 3,0–7,0 | 6,0–10,0 | 4,0–8,0 | 7,0–9,5 |
| Расположение столбика относительно венчика | Не выдается из венчика | Не выдается | Сильно выдается | Не выдается |
| Длина цветоножки, мм | 3,0–12,0 | 3,0–12,0 | 1,5–4,0 | 4,0–8,5 |

| Форма ягоды | Приплюснуто-шаровидная | | |
|-----------------------------|--|-----------------------|-------------------------------|
| | Яйцевидная, овальная, грушевидная, эллиптическая | Шаровидная | Приплюснуто-шаровидная видная |
| Длина ягоды, мм | 7,0–15,0 | 5,0–7,0 | 9,0–15,0 |
| Диаметр ягоды, мм | 7,0–12,0 | 6,0–8,0 | 13,0–22,0 |
| Масса 1 ягоды, г | 0,4–0,9 | 0,1–0,2 | 0,7–3,3 |
| Окраска кожицы ягоды | Темно-синяя с сизым налетом | Белая | Синяя с сизым налетом |
| Окраска мякоти ягоды | Фиолетово-черная | Синевато-белая, белая | Белая |
| | Синевато-белая | 4–39 | 7–25 |
| Число нормальных семян, шт. | 11–13 | 5–34 | 13–32 |
| Число шуплых семян, шт. | 4–7 | | |

Таким образом, по морфологическим признакам межвидовой гибрид ближе к полувысокой голубике, в меньшей степени близок к голубике топянной, но далек от брусники.

Анализ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) и ISSR-PCR выявил наиболее информативные праймеры OPA08 и 17899A (рис. 2, 3). В электрофоретических спектрах амплифицированных фрагментов у гибридов *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea* не обнаружено уникальных для *Vaccinium vitis-idaea* ($2n = 48$) компонентов. Однако в спектрах этого гибрида присутствовали компоненты, характерные для *Vaccinium corymbosum* L., *Vaccinium angustifolium* и их гибрида *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium* (указано стрелками). Полученные спектры RAPD-праймера OPA 08 включали 4–11 фрагментов длиной 350–1800 п.н. Фрагмент уникальный для *Vaccinium corymbosum* имел размер 1450 п.н. (рис. 2, E) и выявлялся в спектрах *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium* (рис. 2, D) и у одного из гибридов *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea* (рис. 2, C, спектр 5). Фрагмент уникальный для *Vaccinium angustifolium* имел размер 500 п.н. (рис. 2, F) и выявлялся в спектрах *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium* (рис. 2, D) и у гибрида *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea* (рис. 2, C, спектр 4). Оба этих фрагмента отсутствовали в спектрах *Vaccinium vitis-idaea*. Спектры ISSR-праймера 17899A включали 4–8 фрагментов размером 350–1900 п.н. Этот праймер выявлял уникальные фрагменты только для *Vaccinium corymbosum* длиной 900, 630 и 570 п.н. (рис. 3, E), которые также были обнаружены у гибридов *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea* (рис. 3, C), но отсутствовали в спектрах *Vaccinium vitis-idaea*.

Таким образом, результаты молекулярно-генетического анализа не подтверждают происхождение исследуемого межвидового гибрида путем скрещивания *Vaccinium uliginosum* с тетрапloidной *Vaccinium vitis-idaea*, а свидетельствуют о происхождении в результате гибридизации *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea*.

nosum с *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium angustifolium* или их гибридом *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium*. Последний гибрид является наиболее вероятным отцовским растением, так как в нем присутствуют компоненты, присущие и *Vaccinium corymbosum*, и *Vaccinium angustifolium*.

Таким образом, слабая совместимость пыльцы тетраплоидной брусники с голубикой топяной, близость бруснично-голубичного гибрида по морфологическим признакам к полувысокой голубике и топяной, отсутствие в электрофоретических спектрах гибрида уникальных для брусники компонентов и наличие характерных для *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium angustifolium* и их гибрида *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium*, свидетельствуют о том, что полученный в Ганцевичах межвидовой гибрид является не бруснично-голубичным, а голубичным. Наиболее вероятным отцовским растением может быть гибрид *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium*.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Марозаў А.У. Аўтатэтраплоіды *Vaccinium vitis-idaea* L. у прыродных умовах // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1995. – № 2. – С. 5–11.
2. Морозов О.В. Основные биологические признаки и свойства бруснично-голубичного гибрида F₁ (*Vaccinium uliginosum* L. × *Vaccinium vitis-idaea* L.) // Вестн. НАН Беларусь. Сер. біял. навук. – 2004. – № 3. – С. 17–23.
3. Rousi A. Hybridization between *Vaccinium uliginosum* L. and cultivated blueberry // Ann. Agric. Fenn. – 1963. – Vol. 2. – P. 12–18.
4. Hiirsalmi H. Breeding of highbush blueberry in Finland // Acta Hort. – 1984. – № 165. – P. 71–78.
5. Czesnik E. Investigation of F₁ generation of interspecific hybrids *Vaccinium corymbosum* L. × *Vaccinium uliginosum* L. // Acta Hort. – 1985. – N 165. – P. 85–91.
6. Горбунов А.Б. Состояние сортимента и перспективы селекции голубики в Сибири // Состояние сортимента плодовых и ягодных культур и задачи селекции: тез. докл. и выступл. на междунар. науч.-практ. конф. Орел, 2–5 июля 1996 г. – Орел: ВНИИСПК, 1996. – С. 52–54.
7. Morozov O.V. Compatibility of remote crossing components involving *Vaccinium vitis-idaea* L. // Problems of rational utilization and reproduction of berry plants in boreal forests on the eve of the XXI century: Proc. Internat. Conf., 11–15 September 2000. – Glubokoye-Gomel, Belarus, 2000. – P. 183–187.
8. Khanuja S.P., Shasany A.K., Darokar M., Kumar S. Rapid Isolation of DNA from Dry and Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils // Plant Molecular Biology Reporter. – 1999. – Vol. 17. – P. 1–7. DOI:10.1023/A:1007528101452.
9. Asbaganov S.V., Kobozeva E.V., Agafonov A.V. Application of the electrophoresis of cotyledon storage protein and ISSR-markers to the identification of hybrids between *Sorbus sibirica* Hedl. and *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 33–40. doi:10.1134/S2079059715010013
10. Горбунов А.Б., Снакина Т.И. Голубика // Интродукция нетрадиционных плодовых, ягодных и овощных растений в Западной Сибири / А.Б. Горбунов, В.С. Симагин, Ю.В. Фотев и др.; СО РАН, Центральный сибирский ботанический сад. – Новосибирск: Гео, 2013. – С. 109–127.
11. Горбунов А.Б., Снакина Т.И. Отдаленная гибридизация брусничных в ЦСБС СО РАН, г. Новосибирск // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: материалы междунар. конф., посвящ. 80-летию Центр. бот. сада. Нац. акад. наук Беларуси (19–22 июня 2012, Минск, Беларусь). В 2 ч. – Минск, 2012. – Ч. 2. – С. 287–291.
12. Морозов О.В. Научные основы культуры и селекции брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) в условия Беларуси: дис. ... д-ра. биол. наук. – Минск, 2005. – 274 с.

REFERENCE

1. Mapozaў А.У. Аўтатетраплоиды *Vaccinium vitis-idaea* L. u pryrodnykh umovakh // Vestsi AN Bularus. Ser. biyal. navuk. – 1995. – № 2. – S. 5–11.
2. Morozov O.V. Osnovnye biologicheskie priznaki i svoystva brusnichno-golubichnogo gribida F1 (*Vaccinium uliginosum* L. × *Vaccinium vitis-idaea*

- L.) // Vestsi NAN Bularusi. Ser. biyal. navuk. – 2004. – № 3. – S. 17–23.
3. **Rousi, A.** Hybridization between *Vaccinium uliginosum* L. and cultivated blueberry // Ann. Agric. Fenn. – 1963. – Vol. 2. – P. 12–18.
4. **Hiirsalmi, H.** Breeding of highbush blueberry in Finland // Acta Hort. – 1984. – № 165. – P. 71–78.
5. **Czesnik, E.** Investigation of F1 generation of interspecific hybrids *Vaccinium corymbosum* L. × *Vaccinium uliginosum* L. // Acta Hort. – 1985. – N 165. – P. 85–91.
6. **Gorbunov A.B.** Sostoyanie sortimenta i perspektivy selektsii golubiki v Sibiri // Sostoyanie sortimenta plodovykh i yagodnykh kul'tur i zadachi selektsii: tez. dokl. i vystupl. na mezhdunar. Nauchno-praktich. konf. Orel, 2–5 iyulya 1996 g. – Or l: VNIISPK, 1996. – S. 52–54.
7. **Morozov O.V.** Compatibility of remote crossing components involving *Vaccinium vitis-idaea* L. // Problems of rational utilization and reproduction of berry plants in boreal forests on the eve of the XXI century: Proc. Internat. Conf., 11–15 September 2000. – Glubokoye-Gomel, Belarus, 2000. – P. 183–187.
8. **Khanuja S.P., Shasany A.K., Darokar M., Kumar S.** Rapid Isolation of DNA from Dry and Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils // Plant Molecular Biology Reporter. – 1999. – Vol. 17. – P. 1–7. doi:10.1023/A:1007528101452.
9. **Asbaganov S.V., Kobozeva E.V., Agafonov A.V.** Application of the electrophoresis of cotyledon storage protein and ISSR-markers to the identification of hybrids between *Sorbus sibirica* Hedl. and *Sorbocotoneaster pozdnjakovii* Pojark // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2015. – Vol. 5. – № 1. P. 33–40. doi:10.1134/S2079059715010013
10. **Gorbunov A.B., Snakina T.I.** Golubika // Introduktsiya netraditsionnykh plodovykh, yagodnykh i ovoshchnykh rasteniy v Zapadnoy Sibiri / A.B. Gorbunov, V.S. Simagin, Yu.V. Fotev [i dr.]; SO RAN, Tsentral'nyy sibirskiy botanicheskiy sad. – Novosibirsk: Geo, 2013. – S. 109–127.
11. **Gorbunov A.B., Snakina T.I.** Otdalennaya gibridizatsiya brusnichnykh v TsSBS SO RAN, g. Novosibirsk // Introdukiya, sokhranenie i ispol'zovanie biologicheskogo raznoobraziya mirovoy flory: mater. mezhdunar. konf., posvyashch. 80-letiyu Tsentr. bot. sada. Nats. akad. nauk Belarusi. (19–22 iyunya 2012, Minsk, Belarus'). V 2 ch. Ch. 2. – Minsk, 2012. – S. 287–291.
12. **Morozov O.V.** Nauchnye osnovy kul'tury i selektsii brusniki obyknovennoy (*Vaccinium vitis-idaea* L.) v usloviya Belarusi: dis. ... d-ra. biol. nauk. – Minsk, 2005. – 274 s.

A STUDY ON THE ORIGIN OF THE COWBERRY-BLUEBERRY HYBRID BRED AT THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF NASB

**A.B. GORBUNOV¹, Candidate of Science in Biology, Laboratory Head,
T.V. KURLOVICH², Candidate of Science in Biology, Lead Researcher,
S.V. ASBAGANOV¹, Candidate of Science in Biology, Researcher,
T.I. SNAKINA¹, Candidate of Science in Biology, Researcher**

¹*Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences*

101, Zolotodolinskaya St, Novosibirsk, 630090, Russia

e-mail: gab_2002ru@ngs.ru

²*Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus*

25–19, Stroiteley St, Gantsevichi, 225431, Republic of Belarus,

e-mail: vaccinium@mail.ru

A study on the cowberry-blueberry hybrid developed at the Central Botanical Garden of NASB was conducted jointly with the Central Siberian Botanical Garden SB RAS in order to determine its origin. Subjects of research were interspecific hybrids between native *Vaccinium uliginosum* L. (2n=48) and a natural tetraploid *Vaccinium vitis-idaea* L. (2n=48) used as a paternal plant, which were obtained in 1996. Hybrid F1 was characterized by a range of features resembling to a greater extent to those of blueberry. In connection with the fact that hybrid fruits were black-purple colored and resembled hybrids F1 obtained in Finland, Poland and Russia as a result of crossing of bog blueberry and high-bush blueberry cultivars, and flowers when pollinating were not isolated and red fruits of the cowberry type were absent in the generation F2, a demand for checking their origin arose. Interspecific crossings of *Vaccinium uliginosum* L. (2n=48) × *Vaccinium vitis-idaea* L.

($2n=48$) were carried out in 2006–2015, with emasculation and isolation of flowers. Thirty two combinations of crossing, 30–50 flowers each, were made. A morphological description of the cowberry-blueberry hybrid and assumed initial species was given. Extraction of DNA was conducted by a modified procedure. RAPD- and ISSR-PCR analyses were performed. Multi-year *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea* crossings produced good results only in 2009, 2013, and 2015. The greatest percentage (3.3–35.0%) of berry setting was observed in 2013. The number of plump seeds in a berry was from 2 to 26. Their germinating ability was poor, and seedlings gradually died off. Berries were not set in reciprocal crossings. By a complex of morphological characters, the interspecific hybrid was closer to half-high blueberry, to a lesser extent to bog blueberry, but it was rather different from cowberry. The most informative primers OPA08 and 17899A were revealed. In the spectra of amplified fragments, components unique for *Vaccinium vitis-idaea* L. ($2n=48$) were not found in *Vaccinium uliginosum* × *Vaccinium vitis-idaea* hybrids, however, components typical of *Vaccinium corymbosum* L., *Vaccinium angustifolium* Aiton and their hybrid *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium* were available. Poor reproductive compatibility of tetraploid cowberry with bog blueberry, affinity of the cowberry-blueberry hybrid to half-high blueberry and bog blueberry by morphological characters, as well as results of PCR analysis testify to the fact that the interspecific hybrid studied is blueberry, not cowberry-blueberry. The most likely paternal plant may be a *Vaccinium corymbosum* × *Vaccinium angustifolium* hybrid.

Keywords: hybrid, interspecific crossings, morphology, molecular markers, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium uliginosum*, *Vaccinium corymbosum*, *Vaccinium angustifolium*, cowberry, blueberry.

Поступила в редакцию 21.04.2017
