

УДК 634.738:631.52

О. В. МОРОЗОВ

**УСЛОВИЯ ПРОРАСТАНИЯ ГИБРИДНЫХ СЕМЯН,
ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ СКРЕЩИВАНИИ ТЕТРАПЛОИДНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
СЕМЕЙСТВА VACCINIACEAE S. F. GRAY**

Настоящая работа является продолжением наших многолетних исследований по созданию фертильных гибридных форм между брусникой обыкновенной и другими представителями семейства *Vacciniaceae* [1, 2]. Эксперименты по получению межвидовых гибридов на диплоидном уровне, в том числе и наш опыт [3], не привели к желаемым результатам [4–6]. Все гибридные формы поколения F_1 , синтезированные с участием в качестве одного из родительских растений брусники обыкновенной, оказались стерильными. Следует отметить, что редки случаи и естественной гибридизации. В литературе описан природный диплоидный гибрид брусники с черникой обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), имеющий латинское название *V. × intermedium* Ruthe. По сведениям [7], он стерилен. Нам удалось также найти лишь одно краткое указание, относящееся к середине XIX века, о предполагаемом естественном гибриде между голубикой топяной и брусникой обыкновенной, который получил название *V. uliginosum* L. var. *splendes* Rupr. [8]. В более поздней и современной литературе, посвященной семейству *Vacciniaceae*, сведения об аналогичных гибридах природного или искусственного происхождения отсутствуют.

Очевидно, что реализация огромных селекционных и формообразовательных возможностей межвидовой гибридизации по отношению к бруснике обыкновенной заключается в проведении эксперимента на тетраплоидном уровне. Такой подход обоснован теоретически и многократно с успехом подтвержден результатами практической селекции различных плодовых и ягодных культурных растений. Наиболее убедительным примером могут служить прекрасные гибридные сорта голубики высокорослой, которые созданы именно благодаря скрещиванию полиплоидных форм и последующей селекционной работе с экспериментальными растениями [9, 10]. Тетраплоидную форму брусники обыкновенной, таким образом, следует рассматривать в качестве ключа, посредством которого можно открыть резерв генетической изменчивости различных комбинаций отдаленных скрещиваний видов семейства *Vacciniaceae*.

На наш взгляд, в филогенетической иерархии семейства *Vacciniaceae* брусника обыкновенная занимает промежуточное положение между голубикой и клюквой, однако с большим приближением к последнему таксону. Запланированная нами апробация различных комбинаций скрещивания этих видов позволит выявить наиболее реальные и перспективные возможности обмена и интеграции генетического материала ценных ягодных растений.

Исследования по межвидовой гибридизации тетраплоидных представителей семейства *Vacciniaceae* с участием брусники обыкновенной проводятся впервые. Отсутствие научного задела, а также обычно незначительное количество получаемых гибридных семян, трудоемкость подобных экспериментов объективно усложняют разработку методической части работы и ограничивают возможность проведения широкомасштабных экспериментов по межвидовой гибридизации. Многие вопросы данной проблемы пока не решены.

Многочисленные эксперименты свидетельствуют о том, что в опытах по отдаленной гибридизации весьма существенна вероятность отрицательного эффекта при проращивании семян. Невысокая всхожесть гибридных семян может быть обусловлена естественными факторами морфофизиологического механизма торможения прорастания [11], а также постгамной несовместимостью компонентов скрещиваний. Нарушение строения гибридных эмбриональных структур — зародыша, эндосперма, семени — часто также является причиной частич-

ного или полного отсутствия проростков. Несовместимость может проявляться и на более поздних стадиях онтогенеза. Так, известен случай, когда около половины всходов от отдаленного скрещивания с участием брусники обыкновенной и клюквы мелкоплодной погибло на стадии эпикотилия от красного хлороза [4]. Автор считает данное заболевание одним из механизмов гибридного барьера между двумя видами. Получение семян, таким образом, ни в коей мере еще нельзя рассматривать как свидетельство и гарантию окончательного успеха гибридизационного эксперимента.

В литературе имеются сведения об условиях прорастания семян голубики топяной [12, 13], клюквы болотной [14], голубики высокорослой [15, 16], брусники обыкновенной [17, 18]. Большинство исследователей едины в констатации факта довольно низкой всхожести семян брусники обыкновенной. При этом довольно часто условия проведения эксперимента у разных авторов по отношению к одному и тому же виду чрезвычайно различаются. В связи с этим возникает необходимость разработки методики проращивания семян, отличающихся к тому же измененным в результате гибридизации генотипом.

Целью настоящей работы явилось выявление оптимальных условий прорастания гибридных семян, полученных от скрещивания тетраплоидной ($2n = 48$) брусники обыкновенной с некоторыми видами семейства *Vacciniaceae* аналогичного уровня плоидности.

Объекты и методы. Работа проводилась на Ганцевичской опытно-экспериментальной базе Центрального ботанического сада НАН Беларуси, расположенной в северо-западной части Белорусского Полесья.

Использовавшиеся в опыте родительские растения, представленные в коллекции базы, имеют различное географическое происхождение. Сорта голубики высокорослой интродуцированы из Северной Америки, форма клюквы болотной — из Эстонии, голубики топяной — из Осиповичского района Могилевской области. Брусника обыкновенная получена нами из Магаданского региона [1].

Изучались семена следующих комбинаций скрещивания: *V. uliginosum* L. (голубика топяная) × *V. vitis-idaea* L. (брусника обыкновенная), *V. vitis-idaea* L. × *V. palustris* L. (клюкwa болотная), *V. vitis-idaea* L. × голубика высокорослая (смесь пыльцы различных сортов), голубика высокорослая (с. *Rancocas*) × *V. vitis-idaea* L., голубика высокорослая (с. *Herbert*) × *V. vitis-idaea* L., сеянцы голубики высокорослой × *V. vitis-idaea* L.

Начальным этапом работы явилась выбраковка невыполненных семян, так как предварительные опыты показали, что они вообще не способны прорасти. Их число в ягодах различных комбинаций скрещивания было значительно и варьировало от 42 до 91%. Семена проращивали сразу после извлечения из свежесобранных ягод, а также после хранения в течение 6 мес. (с августа по март) в холодильнике при температуре +3 °С в сухом песке в двух вариантах: выделенные из ягод, в ягодах. При планировании проращивания семян из свежих ягод полагали, что в таком виде они еще не вошли в состояние физиологического покоя. В случае успеха в данном варианте опыта появлялась возможность ускорения селекционного процесса.

Непосредственно перед высевом во всех вариантах опыта осуществляли теплую стратификацию: выдерживание при $t = 20-25$ °С на увлажненной фильтровальной бумаге в чашках Петри в течение 5—9 дней. Ее проведение вызвано необходимостью доразвития зародыша, так как несформированность его в полной мере в той или иной степени характерна для семян практически всех видов растений [11]. Об эффективности этого приема для доразвития зародыша судили по растрескиванию семенной кожуры.

Семена проращивали в смеси верхового слаборазложившегося осоково-сфагнового торфа и среднезернистого песка в соотношении 1 : 1. После посева на глубину 1—2 мм поверхность субстрата мульчировали 2-миллиметровым слоем мелко нарезанного сфагнового мха. Проращивание проводили при комнатной температуре (20—25 °С в дневное время, 10—15 °С в ночное). Верхний слой почвы поддерживали в постоянно увлажненном состоянии. Для защиты от прямых солнечных лучей и создания повышенной влажности воздуха в приземном слое поверхность растительных емкостей была укрыта целлофановой пленкой, поверх которой размещали слой спандбонда.

Результаты и их обсуждение. Проращивание семян после длительного хранения (в течение 6 мес.) не привело к появлению всходов ни в одной из комбинаций скрещивания. Причины этого, помимо возможных генетических нарушений эмбрионов, разнообразны. Основная из них состоит в том, что длительное хранение является фактором, стимулирующим глубокий органический покой [11], выход из которого возможен, вероятно, только при проведе-

нии многоэтапной стратификации. Иногда для «запуска» механизма прорастания требуется довольно сложная предпосевная подготовка, а появление всходов растягивается на несколько лет. В связи с этим объективным будет предположение о том, что в случае отсутствия всходов имели место так называемые «мертвые» посевы, т. е. высев семян вполне жизнеспособных, но не прошедших необходимую предпосевную обработку.

Нельзя исключать и того, что принятые способы хранения семян могли не соответствовать условиям, обеспечивающим сохранение их жизнеспособности. Так, например, известно, что при хранении семян зерновых культур высокие посевные свойства обеспечиваются при их влажности, равной 14%. Данные об условиях хранения семян представителей семейства *Vacciniaceae*, а тем более межвидовых гибридов в литературе отсутствуют.

Вполне обоснованно также предположение о негативном влиянии на всхожесть семян патогенов, развивающихся в процессе их длительного хранения. Возможно, что отрицательный результат является следствием комплексного влияния нескольких факторов.

Результаты проращивания семян, выделенных из свежесобранных ягод, представлены в таблице. Как видно из полученных данных, семена всех комбинаций скрещивания оказались всхожими. Наиболее высокая всхожесть отмечена в вариантах *V. vitis-idaea* × голубика высокорослая (при использовании смеси пыльцы различных сортов) — 71% и *V. vitis-idaea* × *V. palustris* — 60,7%. Всхожесть семян, полученных в результате опыления сортов и сеянцев голубики высокорослой пыльцой тетраплоидной *V. vitis-idaea*, оказалась существенно ниже и составила 31,4—46%. Семена комбинации скрещивания *V. uliginosum* × *V. vitis-idaea* явились наименее жизнеспособными (проросло лишь 8,9%).

Всхожесть гибридных семян

Комбинация скрещивания		Количество семян		Всхожесть, %
♀	♂	заложенных на проращивание, шт.	проросших, шт.	
<i>V. uliginosum</i>	<i>V. vitis-idaea</i>	78	7	8,9
<i>V. vitis-idaea</i>	<i>V. palustris</i>	28	17	60,7
<i>V. vitis-idaea</i>	Голубика высокорослая, смесь пыльцы различных сортов	31	22	71,0
Голубика высокорослая, сорт Rancocas	<i>V. vitis-idaea</i>	1622	510	31,4
Голубика высокорослая, сорт Herbert	<i>V. vitis-idaea</i>	152	70	46,0
Сеянцы голубики высокорослой	<i>V. vitis-idaea</i>	35	13	37,1

Отмечены довольно значительные различия комбинаций скрещивания в сроках появления и интенсивности роста и развития проростков. В наиболее «быстрой» — *V. uliginosum* × *V. vitis-idaea* — положительный эффект зафиксирован уже спустя 2,5 мес. после скрещивания или через 15 дней после высева семян (середина августа). Прорастание было дружным. Семена взошли в течение 7 дней.

Начало появления сеянцев в остальных комбинациях отмечено спустя 30—40 дней после высева, причем процесс прорастания оказался весьма растянут во времени. Особенно длительным было формирование проростков в скрещиваниях с использованием в качестве материнской формы голубики высокорослой — 60—75 дней.

Следует отметить, что у растений комбинации *V. uliginosum* × *V. vitis-idaea* не наблюдалось замедления развития и непосредственно после стадии семядольных листьев, в то время как для всех остальных вариантов характерной является определенная инертность формирования надэпикотильной части. После появления семядольных листьев растения продолжают оставаться в этом состоянии в течение 25—45 дней. Даже после образования первого настоящего листа развитие сеянцев происходит все так же замедленно. В результате спустя полгода после высева семян некоторые растения комбинации *V. uliginosum* × *V. vitis-idaea* имели 15—17 настоящих листьев, тогда как у сеянцев остальных вариантов опыта их число колебалось от 2 до 5. Анализ морфологических признаков листового аппарата у молодых сеянцев этой комбинации скрещивания позволил установить бесспорную гибридность лишь у четырех

особей. Все остальные растения имели явные признаки материнской формы. Интересно отметить, что, находясь в одинаковых условиях с гибридными экземплярами, в 3-месячном возрасте все сеянцы голубики топяной погибли.

Окончательная оценка гибридности растений в остальных комбинациях скрещивания будет проводиться в дальнейшем. Отметим, однако, что в каждой из них уже на начальных стадиях онтогенеза, прослеживается двойкий характер формирования сеянцев (различия в форме, окраске листьев, расположении их на побеге). Одна группа растений по фенотипу приближается к материнской форме, а другая характеризуется промежуточными признаками. Это дает основание предположить, что она представлена гибридами.

Проведенные исследования позволили установить, что гибридные семена, полученные от скрещиваний тетраплоидной *V. vitis-idaea* с культурными и дикорастущими, интродуцированными и местными видами семейства *Vacciniaceae* аналогичного уровня пloidности (голубикой высокорослой, голубикой топяной, клюквой болотной), являются жизнеспособными. Изучение особенностей их прорастивания показало, что постгамный барьер названных вариантов гибридизации преодолим в обычных условиях без привлечения сложных методов эмбриокультуры. Данный факт следует рассматривать как свидетельство достаточно высокой степени филогенетической близости скрещивавшихся видов. При прорастивании естественным путем не подвергается изменению генотип растений. Это позволит в последующем иметь истинное, не искаженное представление о признаках и свойствах гибридных форм, в том числе и о хозяйственно ценных, а следовательно, и о перспективности того или иного варианта скрещивания.

Таким образом, одним из важнейших условий получения гибридных сеянцев является высев семян, выделенных из свежесобранных ягод. Это позволит существенно ускорить селекционный процесс. Прорастивание семян после длительного хранения (6 мес) не приводит к положительному эффекту. Обязательной перед посевом является тепловая стратификация длительностью 5—9 дней, которая обеспечивает доразвитие зародыша. Появление всходов не регламентируется необходимостью полного солнечного освещения.

Summary

Main conditions permitting to obtain seedlings from tetraploid *V. vitis idaea* L. seeds interhybridization with *V. uliginosum* L., *V. palustris* L. species and varieties of bilberry (*Rancocas*, *Herbert*) were determined.

Литература

1. Марозаў А. У. // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. 1995. № 2. С. 5—11.
2. Морозов О. В. // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. 1996. № 4. С. 18—23.
3. Марозаў А. У. // Весці АН Беларусі. Сер. біял. навук. 1993. № 2. С. 18—24.
4. Ahokas H. // Ann. Bot. Fennici. 1979. Vol. 16. P. 3—6.
5. Christ E. // Acta Horticulturae. 1977. N 61. P. 285—294.
6. Niirsalmi H. // J. of Agric. Science in Finland. 1988. Vol. 60, N 4. P. 223—233.
7. Ahokas H. // Ann. Bot. Fennici. 1971. Vol. 8. P. 254—256.
8. Аврорин Н. А. // Ботан. журн. 1958. Т. XLIII, № 11. С. 1719—1724.
9. Рейман А., Плишка К. Высокорослая голубика. М., 1984.
10. Heerман D., Kroger A., Herse H., Wasserman F. // Erwerbsobstbau. 1984. N. 11. S. 263—266.
11. Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н. Справочник по прорастиванию покоящихся семян. Л., 1985.
12. Тьяк Г. В. // Экологические свойства брусничных ягодных растений в природе и культуре. Рига, 1989. С. 130.
13. Гримашиевич В. В. Голубика (*Vaccinium uliginosum*) в Полесье и мероприятия по повышению ее продуктивности: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Мн., 1986.
14. Гронский И. Я., Шницковскис А. Э., Лиепнице М. Т. // Достижения и перспективы в области инвентаризации, изучения рационального освоения и охраны недревесных лесных ресурсов на территории европейской части СССР. Тарту, 1986. С. 51.
15. Буткене З. П., Буткус В. Ф. // Достижения и перспективы в области инвентаризации, изучения рационального освоения и охраны недревесных лесных ресурсов на территории европейской части СССР. Тарту, 1986. С. 26.
16. Рипа А. К., Коломийцева В. Ф., Аудриня Б. А. Клюква крупноплодная, голубика высокая, брусника. Рига, 1992.
17. Кондратюк Е. Н., Шабарова С. И. // Бюл. Глав. ботан. сада. 1968. Вып. 70. С. 93—95.
18. Филиппова Л. Н. Биология северных растений при введении их в культуру. Л., 1981.