

УДК 582.623:575.2:575.8

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ВЕРИФИКАЦИЯ МЕЖВИДОВОГО ГИБРИДА *Salix* × *zhataica* (Salicaceae)
ИЗ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

© 2019 г. А. П. Ефимова¹, Т. А. Полякова², *, М. М. Белоконов², Ю. С. Белоконов², Д. В. Политов²

¹Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения
Российской академии наук, Якутск, 677980 Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: tat-polyakova@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.05.2018 г.

После доработки 04.07.2018 г.

Принята к публикации 05.07.2018 г.

Приводятся результаты морфологического и молекулярно-генетического анализов, подтверждающие гибридную природу *Salix* × *zhataica* Efimova, Shurduk et Ahti (ива жатайская). В частности, по совокупности фенотипических признаков (на основании дискриминантного анализа) гибрид, полученный, по всей вероятности, в результате межвидовой гибридизации *S. brachypoda* (Trautv. et C.A. Mey.) Kom. и *S. pyrolifolia* Ledeb., оказался более близким *S. brachypoda*, что косвенно свидетельствует о возможности этого “родителя” быть материнским. Для верификации гибрида и его предполагаемых родительских видов проанализирован полиморфизм таких молекулярно-генетических маркеров, как ядерные микросателлитные локусы и нуклеотидные последовательности ITS-региона, которые показали высокую эффективность использования. Например, в ITS-регионе обнаружены две однонуклеотидные транзиции, свидетельствующие о заимствовании гибридом соответствующих нуклеотидов от обоих родительских видов. Приведенные свидетельства показывают, что *S.* × *zhataica* действительно является гибридом между *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia*.

Ключевые слова: гибрид *Salix* × *zhataica*, *S. brachypoda*, *S. pyrolifolia*, Якутия, гибридизация, микросателлитный анализ, ITS-регион.

DOI: 10.1134/S0016675819050059

Ивы (*Salix* L., Salicaceae Mirb.) известны как одни из наиболее изменчивых представителей древесных растений, среди которых часто наблюдаются случаи естественной внутривидовой интрогрессивной гибридизации [1–6].

В 2009 г. [7] был обнаружен новый межвидовой гибрид ивы, обнаруженный в бассейне Средней Лены между 62° и 63° с.ш., 129° и 130° в.д. Гибрид получил бинарное название *Salix* × *zhataica* Efimova, Shurduk et Ahti – ива жатайская. Гипотеза гибридности найденных особей и версия его родительских видов – *S. brachypoda* (Trautv. et C.A. Mey.) Kom. (ива коротконожковая) и *S. pyrolifolia* Ledeb. (грушанколистная) – были выдвинуты авторами по результатам сравнительно-морфологического анализа. Гербарный аутиентик (голотип) гибрида находится в гербарии Института биологических проблем криолитозоны СО РАН в Якутске (SASY), изотипы – в Н, LE.

Родительские виды принадлежат к разным довольно отдаленным секциям: *S. brachypoda* – к Incubaceae A. Kern., *S. pyrolifolia* – к Hastatae A. Kern.

подрода *Vetrix* Dumort. [8]. Число хромосом *S. pyrolifolia* – $2n = 38$ [9]. Данные о числах хромосом *S. brachypoda* в литературе отсутствуют. Гетерозисные явления не наблюдаются. *S.* × *zhataica* представлен и женскими, и мужскими особями почти в равных пропорциях. Растения образуют жизнеспособные семена: лабораторная всхожесть составляет 90%.

Гибрид спорадически встречается на естественных, практически неизмененных человеком долинных экотопах, где, как правило, симпатрично произрастают оба родительских вида. К настоящему времени установлены четыре дополнительные точки нахождения в Якутии: три – в бассейне Средней Лены, одна – в Юго-Восточной Якутии (окр. кордона Чабда в низовьях р. Май). Среди гибридного потомства, вопреки ожиданиям, F₁ не наблюдается, регистрируются лишь бэкрессы. Отсутствие первого поколения, вероятно, объясняется продолжительностью гибридизационного процесса и коротким жизненным циклом ив. В гибридных зонах “чистые”

особи *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia* внешне хорошо различимы, но часто наблюдаются единичные признаки, выходящие за рамки характерных для этих видов пределов морфологической изменчивости. Это свидетельствует о циркулировании интрогрессивных генов в “чистых” популяциях.

Закономерности наследования и экспрессии генов в гибридной зоне свидетельствуют о том, что морфологические признаки зачастую не проявляются простым аддитивным образом. В связи с этим необходимо рассматривать проблему на основе совокупности морфологических и молекулярных данных [5, 10], поэтому для более убедительного подтверждения гибридной природы *S. × zhataica* нами проведен молекулярно-генетический анализ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал гибридных особей собран в *locus classicus* в окрестностях пос. Жатай (Zhat) близ г. Якутска (Центральная Якутия), а также на месте сбора изотипов – в распадке коренного берега близ Вилюйского тракта (Vilu). “Чистые” образцы родительских видов были собраны как в окрестностях пос. Жатай, так и в удаленных от места гибридизации пунктах: Зеленом лугу (окрестности г. Якутска), близ с. Хатырык и с. Тюбятцы (Центральная Якутия, левобережье среднего течения р. Лены), на Ленских Столбах, в среднем течении р. Яны (Северо-Восточная Якутия), а также с фондовых гербарных материалов с устья р. Алдан (Центральная Якутия) и близ устья р. Олекма (Юго-Западная Якутия). Материалом для анализа микросателлитной изменчивости послужили образцы листьев индивидуальных особей *Salix brachypoda* ($n = 15$), *S. pyrolifolia* ($n = 15$) и *S. × zhataica* ($n = 8$). Тестирование и отбор пригодных для анализа гибридизации микросателлитных локусов проводили на четырех образцах *S. brachypoda* и четырех образцах *S. pyrolifolia* из зон аллопатрии.

Для анализа морфологических признаков в *locus classicus* собирались особи, отображающие весь набор фенотипических вариаций гибрида. Среди родительских видов были отобраны типичные особи. Изучены следующие внешние признаки: длина листовой пластинки; ширина листовой пластинки; длина черешка; длина прилистника; ширина прилистника; длина ножки корбочки. Эти параметры четко дифференцируют внешние особенности изучаемых видов и их гибрида. Дискриминантный анализ морфометрических данных проведен в программе Statistica [11].

Для выделения ДНК с 2-летних побегов собирались молодые неповрежденные листья и сушились в силикагеле. Выделение ДНК проводили по стандартным методикам для растительных тка-

ней из 20–25 мг сухого растительного материала с применением цетилтриметиламмонийбромид (СТАВ) [12, 13].

Тестирование проводили с использованием молекулярного маркирования образцов по 14 ядерным микросателлитным локусам [14, 15], разработанным для разных видов ив и входящим в набор тест-системы для индивидуальной идентификации представителей рода *Salix*: *Sa54B*, *SB24*, *SB38*, *SB80*, *SB85*, *SB88*, *SB100*, *SB196*, *SB210*, *SB233*, *SB243*, *SB525*, *SB880* и *SB904* [16].

Для проведения полимеразной цепной реакции использовали наборы реагентов для ПЦР-амплификации ДНК “GenePak® PCR Core” производства ООО “Лаборатория Изоген” согласно прилагаемым инструкциям. Амплификацию ядерных микросателлитных локусов проводили с использованием режима ПЦР, включавшего предварительную денатурацию ДНК при 94°C в течение 3 мин, затем 35 циклов, состоящих из 30 с денатурации при 94°C, 30 с отжига при 50°C и инкубирования 1 мин 30 с при 72°C. Финальная элонгация проводилась 15 мин при температуре 72°C. Для локуса *SB38* температура отжига была 48°C. Программа завершалась охлаждением реакционной смеси до 4°C. Продукты ПЦР (амплификаты) анализировали с помощью электрофореза в 6%-ном полиакриламидном геле (ПААГ) в трис-ЭДТА-боратной буферной системе. После электрофореза гели окрашивали в растворе бромистого этидия и визуализировали в УФ-свете. Графические изображения гелей (электрофореграммы) сохраняли с помощью системы гель-документации “Doc-Print II” (Vilbet Lourmat) с дальнейшей обработкой в графических редакторах. Размер амплифицированных фрагментов определяли с помощью программного обеспечения Photo-Capt (Vilbet Lourmat). В качестве стандартного маркера длины использовали ДНК плазмиды pBR322 *E. coli*, обработанную эндонуклеазой рестрикции *HpaII*, с диапазоном длин фрагментов от 9 до 622 пар нуклеотидов (пн).

Анализ полученных данных проводили с помощью надстройки для MS Excel GenAlEx [17, 18]. Распределение генотипов с помощью метода главных компонент выполнено в программе Statistica [11].

При амплификации фрагмента ITS-оперона использовали праймеры ITS6 и ITS9, разработанные для восточноазиатских видов трибы Spiraeeae [19]. Цикл амплификации включал денатурацию при 94°C в течение 1 мин, отжиг праймеров при 58°C в течение 50 с и элонгацию при 72°C в течение 1 мин с числом циклов – 30. Полученные ПЦР-фрагменты были очищены набором реагентов для быстрой элюции ДНК из агарозных гелей Diatom DNA Elution (ООО “Лаборатория Изоген”). Секвенирование ITS-фрагментов проводи-

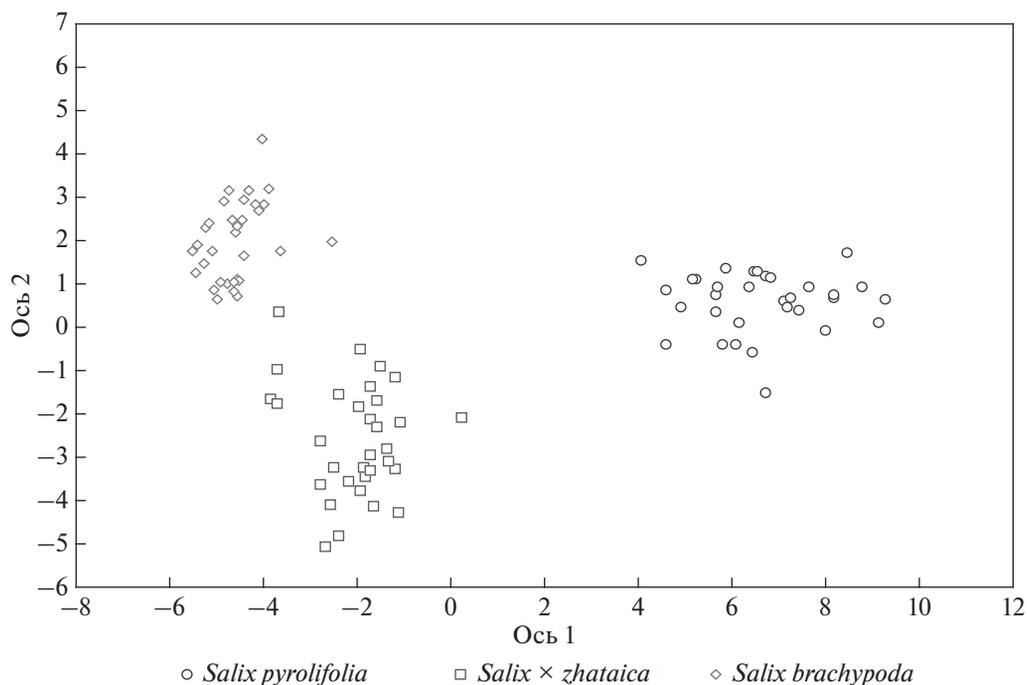


Рис. 1. Диаграмма дискриминантного анализа образцов гибрида *Salix × zhataica* и его родительских видов *S. pyrolifolia*, *S. brachypoda* по морфометрическим признакам.

ли в ЗАО “Евроген” в обоих направлениях. Сиквенсы были попарно выравнены в программе BioEdit [20], множественное выравнивание выполнено в программе ClustalW2 с последующей визуальной проверкой спорных позиций на хроматограммах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выдвинутая ранее гипотеза, что *Salix × zhataica* действительно является межвидовым (межсекционным) гибридом двух видов — *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia* [7], подтверждается нами на основе анализа полиморфизма ядерных микросателлитных локусов (nrSSR), изменчивости нуклеотидных последовательностей ITS-региона рДНК, а также совокупности диагностических морфологических признаков.

У образцов гибрида *S. × zhataica* и его родительских видов *S. pyrolifolia*, *S. brachypoda* изучены диагностические морфометрические признаки, характеризующие размеры листовой пластинки, черешка и прилистников, а также длину ножки коробочки. Дискриминантный анализ фенотипических признаков показал связи между гибридом и исходными видами (рис. 1). В диаграмме по осям 1 и 2 выделились три группы, соответствующие двум родительским видам и гибриду. При этом совокупность образцов гибрида расположилась между обоими видами. Некоторое смещение его “облака” относительно родительских групп

показывает, что гибрид имеет собственные фенотипические очертания. При этом на диаграмме совокупность исследованных образцов гибрида находится ближе к *S. brachypoda*, чем к *S. pyrolifolia*, что косвенно свидетельствует о том, что первый является материнским “родителем”. От него унаследовано подавляющее большинство морфологических признаков, что подтверждается камеральными сравнительно-морфологическими исследованиями [7].

Проведенный микросателлитный анализ показал, что по большинству из 14 ядерных микросателлитных локусов спектры амплифицируемых фрагментов *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia* перекрывались по длинам. В отдельных локусах наблюдалось отсутствие амплификации у некоторых образцов (т.н. “нуль-аллели”). В результате тестирования были отобраны три локуса — *Sa54B*, *SB24* и *SB233*, позволяющие наиболее четко отличить представителей этих двух видов. Характеристики продуктов амплификации этих локусов приведены в табл. 1.

Длины амплифицируемых фрагментов ядерных микросателлитных локусов *S. × zhataica* в большинстве случаев совпадали с фрагментами *S. brachypoda* или *S. pyrolifolia*. В локусе *Sa54B* был обнаружен один аллель, отсутствующий у чистых видов, а в локусе *SB24* таких аллелей выявлено три. Их наличие свидетельствует о том, что в нашем материале недостаточно представлены *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia*, и обнаруженная нами изменчивость

Таблица 1. Характеристики амплифицируемых фрагментов ядерных микросателлитных локусов *S. brachypoda*, *S. pyrolifolia* и *S. × zhataica*

Локус	Общее число аллелей	Длины амплифицируемых фрагментов		
		<i>S. brachypoda</i> (n = 15)	<i>S. pyrolifolia</i> (n = 15)	<i>S. × zhataica</i> (n = 8)
<i>Sa54B</i>	10	105–131 (6)	117–141 (7)	117–135 (5)
<i>SB24</i>	22	143–177 (12)	129–141, 179 (6)	135–211 (7)
<i>SB233</i>	11	199–225 (8)	211–221 (5)	203–227 (5)

Примечание. n – число особей; в скобках после диапазона длин амплифицируемых фрагментов дано число аллелей у вида.

не охватывает весь спектр генетических вариаций, присутствующих в естественных популяциях. Однако этот факт не влияет на приведенные в данном сообщении выводы.

По результатам факторного анализа распределения генотипов представители видов *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia* также четко различаются (рис. 2). Особи, отнесенные на основании морфологического анализа к *S. × zhataica*, на плоскости двух первых главных компонент занимают промежуточное положение между *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia*. Причем некоторые из них обладают большей схожестью с одним из родительских видов, что позволяет предположить возможность возвратных скрещиваний *S. × zhataica* с *S. brachypoda*.

Для подтверждения гибридной природы образцов *S. × zhataica* также были привлечены нуклеотидные последовательности ITS-региона рДНК,

которые в настоящее время зарекомендовали себя наиболее востребованными маркерами для видоидентификации растений [21–24] благодаря ряду преимуществ, среди которых высокая вариабельность, консервативная протяженность, высокая копияность, а также двуродительское наследование [25], обеспечивающее идентификацию недавно возникших гибридов [26].

Данные по нуклеотидной изменчивости ITS-региона рДНК *S. brachypoda*, *S. pyrolifolia*, *S. × zhataica* также указывают на гибридную природу последнего. В результате амплификации для каждого образца были получены фрагменты длиной около 650 пн, включавшие полноразмерный регион межгенных спейсеров ITS1 и ITS2, а также гена 5.8S. После выравнивания длина анализируемого фрагмента ITS насчитывала 585 позиций (табл. 2). Сравнительное изучение ITS-фрагмента у изу-

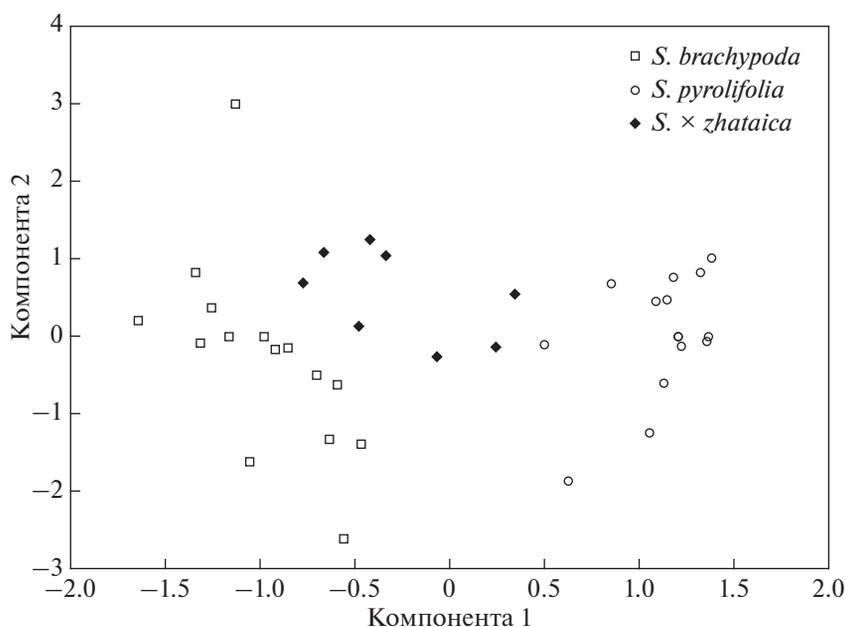


Рис. 2. Распределение генотипов ивы на плоскости двух первых главных компонент.

Таблица 2. Характеристики ITS1–5.8S–ITS2-региона рДНК у *S. brachypoda*, *S. pyrolifolia* и их гибрида *S. × zhataica*

Показатель	ITS1	5.8S	ITS2	Всего
Выравненная длина, пн	221	167	197	585
GC-состав, %	66.2	55.1	68.6	–
Число константных сайтов	220	166	197	583
Число переменных сайтов (замен)	1	1	0	2

Таблица 3. Однонуклеотидные замены в регионе ITS рДНК у видов *S. brachypoda*, *S. pyrolifolia* и их гибрида *S. × zhataica*

Позиция	Участок ITS	<i>S. brachypoda</i>	<i>S. × zhataica</i>			<i>S. pyrolifolia</i>
			Zhat	Vilu1	Vilu2	
139	ITS1	T	C	C	C	C
368	5.8S	C	T	C	C	T

ченых видов и гибрида показало наличие двух точечных мутаций – транзиций (табл. 3). Обнаруженная нами относительно слабая изменчивость ITS-региона согласуется с ранее полученными данными по семейству Salicaceae [27] и роду *Salix* [28]. Проанализированы различия в нуклеотидном составе фрагментов ITS изучаемых видов, в том числе трех образцов гибридов. Позиция 139 в спейсере ITS1 является дискриминирующей. Несмотря на то что позиция 368 гена 5.8S рДНК представляет собой синонимичный сайт, демонстрируемые различия также указывают на гибридизацию *Salix brachypoda* и *S. pyrolifolia* и соответственно гибридное происхождение *S. × zhataica*. Таким образом, анализ ITS-региона рДНК для видов *S. brachypoda*, *S. pyrolifolia* и их гибрида *S. × zhataica* выявил специфические однонуклеотидные замены, указывающие на гибридное происхождение *S. × zhataica*.

Выдвинутая ранее гипотеза, что *Salix × zhataica* действительно является межвидовым (межсекционным) гибридом двух видов – *S. brachypoda* и *S. pyrolifolia* [7], подтверждается нами на основе анализа полиморфизма ядерных микросателлитных локусов, изменчивости нуклеотидных последовательностей ITS-региона рДНК, а также совокупности диагностических морфометрических признаков. По результатам дискриминантного анализа гибриды по совокупности своих морфометрических признаков занимают промежуточное положение, но ближе к *S. brachypoda*. Анализ нуклеотидного состава ITS-региона рДНК показал наличие двух однонуклеотидных транзиций, указывающих на заимствование гибридом соответствующих нуклеотидов от обоих родительских ви-

дов. Анализ совокупности изученных морфологических и молекулярных признаков свидетельствует о гибридном происхождении *S. × zhataica*, а также о возвратных скрещиваниях *S. × zhataica* и *S. brachypoda*, в которых последняя выполняет функцию материнской особи.

Исследование поддержано Проектом ИБПК СО РАН VI.52.1.8 “Фундаментальные и прикладные аспекты изучения разнообразия растительного мира Северной и Центральной Якутии” (0376-2018-0001, рег. номер АААА-А17-117020110056-0); грантом РФФИ № 15-44-05103 “р_восток_a”, а также частично Программой фундаментальных исследований Президиума РАН № 32 “Эволюция органического мира. Роль и влияние планетарных процессов” (тема 0112-2018-0027 “Изучение генетических механизмов эволюции на геномном и организменном уровне: роль гибридизации, последствия глобальных экологических изменений”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляева И.В. Новый гибрид *Salix triandra* и *S. dasyclados* (Salicaceae) // Бот. журн. 1998. Т. 83. № 11. С. 111–113.
2. Elven R., Karlsson T. *Salix* L. 1. Lycopodiaceae to Polygonaceae // Flora Nordica. Stockholm: The Bergius Foundation, 2000. P. 117–188.
3. Triest L. Hybridisation in staminate and pistillate *Salix alba* and *S. fragilis* (Salicaceae): morphology versus RAPDs // Plant Systemat. Evol. 2001. V. 226. P. 143–154.

4. Короначинский И.Ю., Милютин Л.И. Естественная гибридизация древесных растений. Новосибирск: Гео, 2006. 223 с.
5. Fogelqvist J., Verkhozina A.V., Katyshev A.I. et al. Genetic and morphological evidence for introgression between three species of willows // BMC Evol. Biol. 2015. V. 15. № 193. 10 p. doi 10.1186/s12862-015-0461-7
6. Gramlich S., Sagmeister P., Dullinger S. et al. Evolution in situ: hybrid origin and establishment of willows (*Salix* L.) on alpine glacier forefields // Heredity. 2016. V. 116. P. 531–541.
7. Ефимова А.П., Шурдук И.Ф., Ахти Т. Новый межвидовой гибрид рода *Salix* (Salicaceae) из Якутии // Бот. журн. 2009. Т. 94. № 1. С. 83–89.
8. Скворцов А.К. Ивы СССР: систематический и географический обзор. М.: Наука, 1968. 262 с.
9. Фёдорова-Саркисова О.В. О числе хромосом некоторых видов ив и тополей // Докл. АН СССР. 1946. Т. 54. № 4. С. 357–360.
10. Hardig T.M., Brunsfeld S.J., Fritz R.S. et al. Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone // Mol. Ecol. 2000. V. 9. P. 9–24.
11. StatSoft, Inc. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. 1998. WEB: <http://www.statsoft.com>.
12. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue // Focus. 1990. V. 12. P. 12–15.
13. Devey M.E., Bell J.C., Smith D.N. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD, and microsatellite markers // Theor. Appl. Genet. 1996. V. 92. P. 673–679.
14. Barker J.H.A., Pahlich A., Trybush S. et al. Microsatellite markers for diverse *Salix* species // Mol. Ecol. Notes. 2003. V. 3. № 1. P. 4–6.
15. King R.A., Harris S.L., Karp A., Barker J.H.A. Characterization and inheritance of nuclear microsatellite loci for use in population studies of the allotetraploid *Salix alba* – *Salix fragilis* complex // Tree Genetics & Genomes. 2010. V. 6. № 2. P. 247–258.
16. Политов Д.В., Белоконь М.М., Белоконь Ю.С. и др. Способ молекулярного маркирования, основанный на микросателлитных локусах, предназначенный для идентификации генотипов ивы: пат. 2630662 Рос. Федерации. 2017. Бюл. № 26.
17. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. V. 6. P. 288–295.
18. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // Bioinformatics. 2012. V. 28. P. 2537–2539.
19. Potter D., Still S.M., Grebenc T. et al. Phylogenetic relationships in tribe Spiraeae (Rosaceae) inferred from nucleotide sequence data // Plant Systemat. Evol. 2007. V. 266. P. 105–118.
20. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids Symp. 1999. Ser. 41. P. 95–98.
21. Baldwin B.G., Sanderson M.J., Porter J.M. et al. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny // Annals Missouri Bot. Garden. 1995. V. 82. P. 247–277.
22. Рыжова Н.Н., Бурляева М.О., Кочиева Е.А., Вишнякова М.А. Использование ITS-последовательностей для оценки таксономических отношений у представителей трибы *Viciae* (Adans.) Bronn Сем. Fabaceae Lindl. // Экол. генетика. 2007. № 3. С. 5–14.
23. Polyakova T.A. Nuclear ribosomal DNA ITS region variability in the genus *Spiraea* from Asian Russia // Molecular Phylogenetics: Contributions to the 4th Moscow Intern. Conf. “Molecular Phylogenetics” (Moscow, Russia, September 23–26, 2014). Moscow: TORUS PRESS, 2014. P. 58.
24. Полякова Т.А., Шатохина А.В. Филогенетические взаимоотношения российских видов рода *Spiraea* L. (Rosaceae Juss.) по морфологическим и молекулярным данным // 50 лет без К.И. Мейера. XIII Моск. совещ. по филогении растений: Материалы междунар. конф. (2–6 февраля 2015 г., Москва) / Под ред. Тимониной А.К. М.: МАКС Пресс, 2015. С. 263–265.
25. Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И. и др. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // Экол. генетика. 2011. Т. IX. № 1. С. 32–43.
26. Alvarez I.A., Wendel J.F. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference // Mol. Phylogenet. Evol. 2003. V. 29. № 3. P. 417–434.
27. Leskinen E., Alström-Rapaport C. Molecular phylogeny of Salicaceae and closely related Flacourtiaceae: evidence from 5.8S, ITS1 and ITS2 of the rDNA // Plant Systemat. Evol. 1999. V. 215. P. 209–227.
28. Ефимова А.П., Полякова Т.А., Шатохина А.В. Изменчивость нуклеотидного состава ITS-региона различных видов ив из Якутии // Проблемы изучения растительного покрова Сибири: Материалы V междунар. науч. конф. (Томск, 20–22 октября 2015 г.). Томск, 2015. С. 67–69.

Morphological and Molecular Genetic Verification of Interspecific Hybrid *Salix* × *zhataica* (Salicaceae) from Central Yakutia

A. P. Efimova^a, T. A. Poliakova^{b,*}, M. M. Belokon^b, Y. S. Belokon^b, and D. V. Politov^b

^aInstitute for Biological Problems of Cryolithozone of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Yakutsk, 677980 Russia

^bVavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: tat-polyakova@yandex.ru

The results of morphological and molecular genetic analysis confirming the hybrid nature of *Salix* × *zhataica* Efimova, Shurduk et Ahti are presented. In particular, according to the set of phenotypic features (on the basis of discriminant analysis), the hybrid was obtained, in all probability, as a result of interspecific hybridization of *S. brachypoda* (Trautv. et C.A. Mey.) Com. and *S. pyrolifolia* Ledeb, and was closer to *S. brachypoda*, which indirectly indicates the possibility of this “parent” to be a maternal parent. The polymorphism of molecular genetic markers such as nuclear microsatellite loci and nucleotide sequences of ITS region was analyzed in order to verify the hybrid and its parent species — *S. brachypoda* (Trautv. et C.A. Mey.) Com. and *S. pyrolifolia* Ledeb. These markers showed high efficiency of their use. For instance, in the ITS region 2 single nucleotide transitions were found, indicating that the hybrid is borrowing the corresponding nucleotides from both parent species. The given evidences show that *S.* × *zhataica* is indeed a hybrid between *S. brachypoda* and *S. pyrolifolia*.

Keywords: interspecific hybrid, Central Yakutia, hybrid *Salix* × *zhataica*, hybridization, microsatellite analysis, ITS-region, nucleotide transitions.