

## Новые генетические источники для селекции видов *Prunus L.* на полиплоидном уровне

О. В. Мочалова<sup>1</sup>, Д. А. Гусев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный Алтайский научный центр агробiotехнологий, Барнаул, Россия

✉ E-mail: mochalov.olga@yandex.ru

**Аннотация.** Исследование направлено на изучение распределения числа хромосом у новых, полученных через культуру *in vitro*, амитотических клоновых линий гибридной вишни степной и микровишни песчаной; на сравнение фертильности и размеров пыльцы у амитотических триплоидных и гексаплоидных клонов вишни; на выявление новых перспективных полиплоидных генетических источников для их последующего использования в селекции.

**Методы.** В научной работе использованы общепринятые цитологические и статистические методы. **Результаты.** Установлены закономерности выхода индуцированных полиплоидов как от исходного числа хромосом, так и от происхождения и индивидуальных особенностей изначальных генотипов. Для амитотических гексаплоидных генотипов гибридной вишни выявлено высокое качество пыльцы на уровне 81,8–92,6 % фертильности (у триплоидов такой пыльцы найдено 4,6–18,8 %), поэтому изученные 4 клоновых генотипа вишни (12-1-1Т2, 12-1-1Т6, 12-1-2Т3, 12-1-2Тв) рекомендованы в скрещивания для выведения устойчивых к грибным болезням сортов. Не обнаружено достоверных различий по диаметру фертильной пыльцы (46,3–47,8 мкм) между амитотическими триплоидами и гексаплоидами вишни. Поэтому, по всей вероятности, фертильная пыльца у триплоидов несет в себе нередуцированный триплоидный набор хромосом. **Новизна.** Изучен совершенно новый и оригинальный для рода *Prunus L.* селекционный материал – полиплоидные гибриды вишни степной *P. fruticosa* Pall. с восточно-азиатскими вишнями *P. serrulata* Lindl., *P. canescens* Bois., *P. incisa*. Thoub. Получены аргументы в пользу положительной селекционной перспективы перевода новых сортов вишни на гексаплоидный уровень ( $2n = 48$ ), в том числе через метод удвоения числа хромосом у стерильных триплоидных межвидовых гибридов в культуре *in vitro*. Впервые созданные тетраплоидные ( $2n = 32$ ) амитотические клоновые линии микровишни *P. pumila* L. необходимо апробировать в скрещиваниях с терном и терносливами.

**Ключевые слова:** *Prunus L.*, гибрид, полиплоид, *in vitro*, клоновая линия, число хромосом, фертильность пыльцы, размер пыльцы, генетический источник, селекция.

**Для цитирования:** Мочалова О. В., Гусев Д. А. Новые генетические источники для селекции видов *Prunus L.* на полиплоидном уровне // Аграрный вестник Урала. 2019. № 11 (190). С. 44–51. DOI: ...

**Дата поступления статьи:** 28.08.2019.

### Постановка проблемы (Introduction)

Полиплоидия является инструментом филогенеза для покрытосеменных растений [1–3]. Она естественным образом сопровождает процесс видообразования косточковых растений и приводит к формированию полиплоидного ряда с основным хромосомным числом  $n = 8$ . Особенно часто в природных и селекционных популяциях сливы и вишни встречается аллополиплоидия, приводящая к удвоению числа хромосом в семенном потомстве у отдаленных межвидовых гибридов и обеспечивающая восстановление у их потомков нормальной фертильности мужской и женских половых сфер [1–5].

Для увеличения генетической изменчивости в селекционном процессе косточковых культур желательнее использовать сорта и гибриды видов вишни и микровишни на разном хромосомном уровне – от диплоидного ( $2n = 16$ ) до октоплоидного ( $2n = 64$ ). Для каждого вида существует свой природный оптимальный уровень по кратному количеству базового генома, при этом возможен перевод культуры на совершенно новое соматическое

число хромосом, которое может оказаться оптимальным для будущей селекции. Так, для сливы непревзойденным представляется гексаплоидный набор хромосом ( $2n = 48$ ), представленный культурогенным (не встречающимся в природе) видом сливы домашней *P. domestica* L. У вишни гексаплоиды, как у сливы, встречаются только в культуре и только у отдаленных гибридов. В настоящее время необходимо понять селекционные перспективы перевода новых сортов вишни на гексаплоидный уровень, в том числе при использовании метода удвоения числа хромосом у стерильных триплоидных межвидовых гибридов. Для разных диплоидных видов сливы и микровишни представляется важным индуцировать и апробировать тетраплоидные генотипы ( $2n = 32$ ), в частности, для последующих скрещиваний с тетраплоидным терном и для получения устойчивых тернослив [1, 5, 6].

Использование метода полиплоидии в роде *Prunus L.* дает совершенно новые возможности для расширения генетической изменчивости, включая комбинационную и эпигенетическую. Для аллополиплоидов свойственна

повышенная адаптационная пластичность в сочетании с высокой фертильностью репродуктивных процессов. Это направление, абсолютно новое, позволит расширить границы формообразующего процесса, дать возможность для интрогрессий, гетерозиса, апомиксиса. Высокая степень урожайности нового генетического материала (6–8 т/га) обеспечивается стабилизирующим отбором на уровне 3–4 семенных поколений [1, 5].

В генофонде Отдела НИИ садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко ФГБНУ ФАНЦА (далее НИИСС) имеются зимостойкие и устойчивые к грибным болезням диплоидные, триплоидные, тетраплоидные, пентаплоидные и гексаплоидные гибриды от скрещивания диплоидных видов вишен между собой и от скрещиваний вишни степной (*P. fruticosa* Pall.) с разными диплоидными и тетраплоидными видами вишни (*P. cerasus* L., *P. maackii* Rupr., *P. maximoviczii* Rupr., *P. pennsylvanica* L., *P. serrulata* Lindl., *P. canescens* Bois., *P. incisa*. Thoub.). Начиная с 80-х годов прошлого столетия в алтайском генофонде вишни были обнаружены спонтанные гексаплоиды – гибриды с вишней обыкновенной (3-66-9, 5-98-277) и с вишней Маака (ВЧ 8-83-46, ВЧ 89-95-48), возникшие в результате слияния одной редуцированной и одной нередуцированной гаметы. В результате их переопыления между собой получены гексаплоиды условно второго поколения – 1067-05-13, 1068-07-2 [4–6]. Абсолютно новым направлением в селекции вишни в настоящее время является получение гексаплоидных генотипов путем удвоения числа хромосом у стерильных триплоидных гибридов вишни степной с редкими восточно-азиатскими видами, устойчивыми к коккомикозу и имеющими плоды с повышенным содержанием биологически-активных веществ [5, 6].

Актуально и перспективно получение полиплоидов цветковых растений через использование культуры *in vitro*. В мире это особенно применяется для южных плодовых и декоративных растений [7–11], но не найдено для косточковых растений. На Алтае для представителей рода *Prunus* удалось индуцировать удвоение числа хромосом через культуру *in vitro* у гибридных триплоидов (12-1-1, 12-1-2) и впервые получить константные по числу хромосом гексаплоидные клоновые линии, несущие геномы вишни степной и редких восточно-азиатских видов (*P. canescens*, *P. serrulata*, *P. incisa*). Также в результате использования амитотика трифлуралина удалось выделить тетраплоидные и гексаплоидные клоновые линии от двух диплоидных и одного триплоидного генотипов микровишни песчаной *P. pumila* L. [12, с. 36].

Целью проведенной НИР было изучить распределение числа хромосом среди полученных амитотических клоновых линий вишни и микровишни; сравнить качество и размеры пыльцы у амитотических триплоидных и гексаплоидных клонов вишни; выявить новые перспективные полиплоидные генетические источники для их последующего использования в селекции.

#### Методология и методы исследования (Methods)

В качестве материала для исследований взяты зрелая пыльца и вегетативные ткани индуцированных *in vitro* клоновых амитотических линий разных представителей рода *Prunus* L. Исходные триплоидные гибриды вишни

степной *P. fruticosa* с вишнями серой *P. canescens* (12-1-1), остропильчатой *P. serrulata* (12-1-2) и разрезанной *P. incisa* (12-4-17) получены из ЦСБС СО РАН от В. С. Симагина. Диплоидный (ВП 4) и триплоидный (ВП 9) сеянцы микровишни песчаной отобраны в генофонде НИИСС, а диплоид ВП 2-24-07 был передан в НИИСС из генофонда Южно-Уральского НИИ садоводства и картофелеводства.

Прямой подсчет чисел хромосом осуществляли на давленных временных препаратах из молодых листочков вегетативных почек, окрашенных уксусным гематоксилином по методике ЦГЛ им. И. В. Мичурина [13, с. 2]. Фертильность и размер пыльцевых зерен определяли по общепринятым методикам [14, с. 143; 15 с. 93] после окраски ацетокармином. Для подсчета процента фертильности пыльцы просматривали не менее 300 пыльцевых зерен. Измерение диаметра проводили для 50 пыльцевых зерен каждого генотипа, лежащих анфас, с использованием цифровой камеры для микроскопа ТС-500 (ЛОМО). При обработке результатов исследований использованы общепринятые методы биологической статистики [16, с. 238] и пакет прикладных программ Microsoft Office Excel 2007.

#### Результаты (Results)

В 2015–2017 годах был проведен подсчет числа хромосом у 25 клоновых амитотических линий, принадлежащих к трем генотипам гибридной вишни от скрещивания вишни степной с редкими восточно-азиатскими видами. Также уровень пloidности был изучен у 11 амитотических клоновых линий, полученных *in vitro* от спонтанного триплоидного генотипа микровишни песчаной (ВП 9). Среди полученных *in vitro* клоновых линий вишни и микровишни выявлены триплоиды, гексаплоиды и миксоплоиды. Последние содержат в меристематических клетках смесь триплоидных и гексаплоидных хромосомных наборов. Большинство среди полученных клоновых амитотических линий составили триплоиды – 55,6 %. Гексаплоиды и миксоплоиды присутствовали в меньшем и равном количестве – по 22,2 % (таблица 1).

Количественный выход полиплоидов зависел от генотипа. Так, у гибрида с вишней серой (12-1-1) выявлено гораздо больше гексаплоидных линий (55,6 %), чем у гибрида с вишней остролистной 12-1-2 (14,3 %). Гибрид с вишней разрезанной 12-4-17 оказался в целом неспособным к индукции большого количества клоновых линий и не дал полиплоидов. Триплоид микровишни песчаной ВП 9 показал себя практически не восприимчивым к амитотическому действию использованной концентрации трифлуралина, у него выявлена всего одна гексаплоидная клоновая линия – ВП Т14 (0,09 %).

В 2018 году проведен подсчет числа хромосом у 27 клоновых линий микровишни песчаной, полученных в культуре *in vitro* после обработки трифлуралином двух исходных генотипов. В результате отобрано 11 клоновых линий со стабильным тетраплоидным набором хромосом: 1<sub>n</sub>, 1Т, 2Т, 5Т, 6Т, 10Т, 14Т, 22Т, 26Т, 34Т, 36Т. Они составили 40,8 % от общего числа изученных генотипов. Также были выявлены диплоиды (2n = 16) в количестве 29,6 % и миксоплоиды (2n = 16, 32) – 29,6 % (таблица 2).

Таблица 1  
Распределение числа хромосом среди амитотических линий *Prunus L.*, 2015–2017 гг.

Номера исходных генотипов (2n = 24)	Происхождение исходных генотипов	Всего изучено линий	Из них под номерами генотипов		
			Триплоиды (2n = 24)	Гексаплоиды (2n = 48)	Миксоплоиды (2n = 24, 48)
12-1-1	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. canescens</i>	9	T <sub>6</sub> ; T1	T <sub>a</sub> ; T <sub>a6</sub> ; T2; T6; T <sub>6/n</sub>	T <sub>a6</sub> ; T <sub>a62</sub>
12-1-2	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. serrulata</i>	14	T1; T2; T <sub>б</sub> ; T <sub>г</sub> ; T <sub>д</sub> ; T <sub>к</sub> ; T <sub>л</sub> ; T <sub>м</sub>	T3; T9	T <sub>a</sub> ; T <sub>в</sub> ; T <sub>з</sub> ; T <sub>и</sub>
12-4-17	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. incisa</i>	2	T1; T2	Нет	Нет
ВП 9	<i>P. pumila</i>	11	T5; T6; T7; T9; T11; T12; T13; T17	T14	T4; T8
	<b>Итого:</b>	<b>36</b>	<b>20 (55,6 %)</b>	<b>8 (22,2 %)</b>	<b>8 (22,2 %)</b>

Table 1  
The distribution of chromosomal sets within amitotic *Prunus L.* lines, 2015–2017

Numbers of initial genotypes (2n = 24)	The origin of initial genotypes	Total quantity of lines studied	From it's the lines with the genotypic numbers		
			Triploids (2n = 24)	Hexaploids (2n = 48)	Mixoploids (2n = 24, 48)
12-1-1	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. canescens</i>	9	Tb; T1	Ta; Tab; T2; T6; Tb/n	Tab; Tab2
12-1-2	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. serrulata</i>	14	T1; T2; TB; Tg; Td; Tk; Tl; Tm	T3; T9	Ta; Tv; Tz; Ti
12-4-17	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. incisa</i>	2	T1; T2	No	No
VP 9	<i>P. pumila</i>	11	T5; T6; T7; T9; T11; T12; T13; T17	T14	T4; T8
	<b>Total:</b>	<b>36</b>	<b>20 (55.6 %)</b>	<b>8 (22.2 %)</b>	<b>8 (22.2 %)</b>

Таблица 2  
Распределение числа хромосом среди амитотических линий *P. pumila L.*, 2018 г.

Номера исходных генотипов (2n = 16)	Изучено клоновых линий	Из них, под номерами генотипов		
		Диплоиды (2n = 16)	Тетраплоиды (2n = 32)	Миксоплоиды (2n = 16, 32)
ВП 4	14	2 <sub>а</sub> , 3T, 8T, 11T, 13T	1 <sub>а</sub> , 1T, 2T, 5T, 6T, 10T	4T, 7T, 12T
ВП 2-24-07	13	29T, 30T, 32T	14T, 22T, 26T, 34T, 36T	15T, 17T, 18T, 19T, 31T
<b>Итого:</b>	<b>27</b>	<b>8 (29,6 %)</b>	<b>11 (40,8 %)</b>	<b>8 (29,6 %)</b>

Table 2  
The distribution of chromosomal sets within amitotic *P. pumila L.* lines, 2018

Numbers of initial genotypes (2n = 16)	Total quantity of lines studied	From it's the lines with the genotypic numbers		
		Diploids (2n = 16)	Tetraploids (2n = 32)	Mixoploids (2n = 16, 32)
VP 4	14	2 <sub>а</sub> , 3T, 8T, 11T, 13T	1 <sub>а</sub> , 1T, 2T, 5T, 6T, 10T	4T, 7T, 12T
VP 2-24-07	13	29T, 30T, 32T	14T, 22T, 26T, 34T, 36T	15T, 17T, 18T, 19T, 31T
<b>Total:</b>	<b>27</b>	<b>8 (29.6 %)</b>	<b>11 (40.8 %)</b>	<b>8 (29.6 %)</b>

Таким образом, изучение особенностей распределения числа хромосом среди клоновых амитотических линий, полученных от триплоидных представителей рода *Prunus*, показало преобладание генотипов с исходным числом хромосом – в среднем 55,6 %. В отличие от триплоидов, диплоидные генотипы микровишни песчаной ВП 4 и ВП 2-24-07 показали хорошую восприимчивость к действию амитотического агента. От них в среднем получено 43,8 % и 38,5 % тетраплоидных клоновых линий соответственно.

В 2018 году наблюдали первое массовое цветение и хорошее плодоношение у клоновых гексаплоидных гибридных линий, полученных *in vitro* от гибрида вишни степной с вишней серой 12-1-1 и от гибрида вишни степной с вишней остролистной 12-1-2.

Фертильность пыльцы у триплоидных клонов находилась в диапазоне 4,6–18,8 %, а у гексаплоидных – в диапазоне 81,8–92,6 %. Клоны гибрида 12-1-1 имели на триплоидном уровне достоверно лучшую фертильность, чем клоны 12-1-2. В то же время гексаплоидные клоны 12-1-1 по этому показателю достоверно уступали гексаплоидным клонам 12-1-2. Все парные сравнения показателей разного уровня плоидности по критерию Стьюдента (*t* на уровне от 2,97 до 52,45 при *t*<sub>0,05</sub> равном 1,96) оказались достоверно отличающимися (таблица 3).

Таким образом, по признаку фертильности пыльцы гексаплоидный уровень числа хромосом для гибридов вишни является оптимальным по сравнению с триплоидным. Это дает большие перспективы для создания нового поколения полигенных гексаплоидных сортов вишни.

## Фертильность (%) пыльцевых зерен у клоновых линий вишни разной ploidy, 2018 г.

Гибрид	Номер клона	2n	Среднее ( $M \pm m$ )	Коэффициент Стьюдента ( $t$ )*	
12-1-1	T1	24	10,80 ± 1,04		
	T <sub>b</sub>	24	18,80 ± 1,66		
	T2	48	81,80 ± 1,64		
	T6	48	83,90 ± 1,65		
	Среднее – 3x(1)			14,80 ± 1,35	$t_{3x(1), 6x(1)} = 32,1$
	Среднее – 6x(1)			82,85 ± 1,64	$t_{6x(1), 6x(2)} = 2,97$
12-1-2	T <sub>d</sub>	24	5,90 ± 0,82		
	T <sub>l</sub>	24	4,60 ± 0,73		
	T <sub>v</sub>	48	85,80 ± 1,58		
	T3	48	92,60 ± 1,15		
	Среднее – 3x(2)			5,25 ± 0,82	$t_{3x(1), 3x(2)} = 6,04$
	Среднее – 6x(2)			89,20 ± 1,37	$t_{3x(2), 6x(2)} = 52,45$
Среднее по триплоидам			10,03 ± 1,09		
Среднее по гексаплоидам			86,03 ± 1,51	$t_{3x, 6x} = 40,86$	

Примечание:  $t_{0,05} = 1,96$ .

Table 3

## The fertility (%) of pollen grains in cherry clonal lines at different ploidy level, 2018

Hybrid	Number of clon	2n	Average ( $M \pm m$ )	Student's t-test ( $t$ )*	
12-1-1	T1	24	10.80 ± 1.04		
	T <sub>b</sub>	24	18.80 ± 1.66		
	T2	48	81.80 ± 1.64		
	T6	48	83.90 ± 1.65		
	Average – 3x (1)			14.80 ± 1.35	$t_{3x(1), 6x(1)} = 32.1$
	Average – 6x(1)			82.85 ± 1.64	$t_{6x(1), 6x(2)} = 2.97$
12-1-2	T <sub>d</sub>	24	5.90 ± 0.82		
	T <sub>l</sub>	24	4.60 ± 0.73		
	T <sub>v</sub>	48	85.80 ± 1.58		
	T3	48	92.60 ± 1.15		
	Average – 3x(2)			5.25 ± 0.82	$t_{3x(1), 3x(2)} = 6.04$
	Average – 6x (2)			89.20 ± 1.37	$t_{3x(2), 6x(2)} = 52.45$
Average for triploids			10.03 ± 1.09		
Average for hexaploids			86.03 ± 1.51	$t_{3x, 6x} = 40.86$	

Note:  $t_{0,05} = 1,96$ .

Полученные данные позволяют рекомендовать изученные гексаплоидные клоновые линии 12-1-1T2, 12-1-1T6, 12-1-2T3, 12-1-2T<sub>b</sub> для использования в селекционных скрещиваниях.

В 2018 году проведено измерение диаметра пыльцы у 8 гибридных триплоидных и гексаплоидных клоновых линий. У всех изученных генотипов пыльцевые зерна оказались достаточно выровненными по размеру – коэффициент вариации не превышал уровня 10 % за исключением триплоида 12-1-2 T<sub>d</sub> (11,4 %). Расчет средних показателей не выявил достоверных различий по диаметру пыльцы между триплоидами и гексаплоидами. Средние показатели для этих двух уровней оказались в диапазоне 46,3–47,8 мкм (таблица 4).

Учитывая, что основной хромосомный набор в пыльце у гексаплоидов равен  $n = 3x = 24$ , отсутствие достоверной разницы с триплоидами свидетельствует о нередуцированном числе хромосом (равном соматическому  $2n = 24$ ) в фертильной пыльце у триплоидов. Большой коэффициент вариации, как и большой размах доверительного интервала, у триплоидов по сравнению с диплоидами свидетельствует о наличии у них некоторого количества анеуплоидной, внешне фертильной пыльцы. Для уточнения этих предположений требуется подробное изучение микроспорогенеза.

Таблица 4

Средний диаметр (мкм) пыльцы у клоновых линий вишни разной ploidy, 2018 г.

Гибрид	Номер клона	2n	Средний диаметр*	Минимальное – максимальное	Коэффициент вариации	
12-1-1	T1	24	47,39 ± 1,28	32,73–55,90	9,78	
	T <sub>b</sub>	24	46,68 ± 1,10	37,05–58,85	8,53	
	T2	48	46,87 ± 0,72	42,11–52,59	5,57	
	T6	48	46,83 ± 0,82	39,98–60,42	6,38	
	Среднее – 3x			47,04 ± 1,19	32,73–58,85	9,17
	Среднее – 6x			46,85 ± 0,77	39,98–60,42	5,92
12-1-2	T <sub>d</sub>	24	48,37 ± 1,23	35,69–56,73	9,14	
	T <sub>r</sub>	24	46,05 ± 1,45	33,47–58,31	11,39	
	T <sub>v</sub>	48	47,61 ± 0,88	36,40–57,46	6,67	
	T3	48	45,59 ± 0,98	38,22–59,15	7,78	
	Среднее – 3x			47,21 ± 1,34	33,47–58,31	10,18
	Среднее – 6x			46,60 ± 0,93	36,40–59,15	7,13
Среднее по триплоидам			47,12 ± 0,64	32,73–58,85	9,84	
Среднее по гексаплоидам			46,72 ± 0,44	36,40–60,42	6,76	

Примечание: \* среднее значение ± доверительный интервал.

Table 4

The average pollen diameter (µm) in cherry clonal lines at different ploidy level, 2018

Hybrid	Number of clone	2n	Average diameter*	Maximum mean – minimum mean	The coefficient of variation	
12-1-1	T1	24	47.39 ± 1.28	32.73–55.90	9.78	
	T <sub>b</sub>	24	46.68 ± 1.10	37.05–58.85	8.53	
	T2	48	46.87 ± 0.72	42.11–52.59	5.57	
	T6	48	46.83 ± 0.82	39.98–60.42	6.38	
	Average – 3x			47.04 ± 1.19	32.73–58.85	9.17
	Average – 6x			46.85 ± 0.77	39.98–60.42	5.92
12-1-2	T <sub>d</sub>	24	48.37 ± 1.23	35.69–56.73	9.14	
	T <sub>r</sub>	24	46.05 ± 1.45	33.47–58.31	11.39	
	T <sub>v</sub>	48	47.61 ± 0.88	36.40–57.46	6.67	
	T3	48	45.59 ± 0.98	38.22–59.15	7.78	
	Average – 3x			47.21 ± 1.34	33.47–58.31	10.18
	Average – 6x			46.60 ± 0.93	36.40–59.15	7.13
Average for triploids			47.12 ± 0.64	32.73–58.85	9.84	
Average for hexaploids			46.72 ± 0.44	36.40–60.42	6.76	

Note: \* average mean ± confidence interval.

### Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Изучение особенностей распределения числа хромосом среди клоновых амитотических линий разных представителей рода *Prunus* показало зависимость величины выхода индуцированных полиплоидов как от исходного числа хромосом, так и от происхождения и индивидуальных особенностей изначальных генотипов. Это подтверждает экспериментальные данные, полученные рядом исследователей для зерновых и цветочных культур: [9, 17–20]. Выявлено, что у полиплоидов по сравнению с исходными диплоидами и триплоидами наряду с увеличением размеров вегетативных и генеративных органов наблюдается повышение фертильности пыльцы и яйцеклеток.

Изучение уровня фертильности пыльцы у косточковых растений подтверждает перспективность использования метода полиплоидизации *in vitro* для восстановления нормальной половой репродукции у гексаплоидов по сравнению с исходными стерильными гибридными триплоидами. Высокое качество пыльцы на уровне 81,8–92,6 % фертильности дает выгодный прогноз для использования их

в качестве опылителей и для выведения нового поколения зимостойких сортов вишни на гексаплоидном уровне.

Размер пыльцевых зерен является диагностическим признаком [18, с. 282; 19, с. 10]. Он тесно связан с полиплоидным рядом, присущим данному роду растений. Его использование позволяет предварительно выделять в генофонде полиплоиды и источники нередуцированных гамет без прямого подсчета числа хромосом и без изучения особенностей мейоза. Для изученных клоновых линий вишни этот показатель, как и других культур, может служить для предварительного отбора гексаплоидных клоновых линий среди смешанной популяции триплоидных и гексаплоидных гибридных генотипов, индуцированных через использование культуры *in vitro*. Статистическим методом доказано, что фертильная пыльца у триплоидов по размеру (среднему диаметру) не отличается от фертильной пыльцы гексаплоидов. По-видимому, основная масса такой пыльцы содержит нередуцированный, равный соматическому, триплоидный набор хромосом.

В результате проведенной в ФГБНУ ФАНЦА работы выделены новые стабильные по плоидности гексаплоидные гибридные генотипы вишни степной, тетраплоидные и гексаплоидный генотипы микровишни песчаной для использования их в селекционных межвидовых скрещиваниях.

### Библиографический список

1. Матюнин М. Н. Биологические особенности и селекция косточковых культур в Горном Алтае. Горно-Алтайск, 2016. 344 с.
2. Sattler M. C., Carvalho C. R., Clarindo W. R. The polyploidy and its key role in plant breeding // *Planta*. 2016. Vol. 243 (2), Pp. 281–296. DOI: 10.1007/s00425-015-2450-x.
3. Zhao L., Jiang X.-W., Zuo Y.-j., Liu X.-L., Chin S.-W., Haberle R. [et al.] Multiple Events of Allopolyploidy in the Evolution of the Racemose Lineages in *Prunus* (Rosaceae) Based on Integrated Evidence from Nuclear and Plastid Data // *PLoS ONE*. 2016. No. 11 (6). DOI: 10.1371/journal.pone.0157123.
4. Lyozin M. S., Asbaganov S. V., Mochalova O. V., Gusev D. A., Simagin V. S. Study of chromosome composition of the southern Ural genotypes of *Prunus pumila* L. by various methods // *Prospects of Development and Challenges of Modern Botany. BIO Web of conferences*. No. 11 (2018) 00028. URL: [https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/abs/2018/02/bioconf\\_pdcmb2018\\_00028/bioconf\\_pdcmb2018\\_00028.html](https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/abs/2018/02/bioconf_pdcmb2018_00028/bioconf_pdcmb2018_00028.html). DOI: 10.1051/bioconf/20181100028.
5. Мочалова О. В., Плаксина Т. В., Гусев Д. А., Бояндина Т. Е. Гексаплоидная вишня на Алтае: перспективы и научные достижения // *Вестник Алтайской науки*. 2015. № 1. С. 222–230.
6. Мочалова О. В. Полигеномные пентаплоидные и гексаплоидные гибриды вишни степной для гаметной селекции // *Садоводство и виноградарство*. 2017. № 5. С. 19–23. DOI: 10.18454/VSTISP.2017.5.7585.
7. Grosser J. W., Kainth D., Dutt M. Production of Colchicine-induced Autotetraploids in Pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) through Indirect Organogenesis // *HortScience*. 2014. Vol. 49. No. 7. Pp. 944–948. DOI: 10.21273/HORTSCI.49.7.944.
8. Elyazid D. M. A., El-Shereif A. R. In vitro induction of polyploidy in *Citrus reticulada* Blanco // *Am. J. Plant Sci*. 2014. No. 5. Pp. 1679–1685. DOI: 10.4236/ajps.2014.511182.
9. Manzoor A., Achmad T., Bashir M. A., Baig M. M. Q., Quresh A. A., Shah M. R. N., Haliz I. A. Induction and identification of colchicine induced polyploidy in *Gladiolus grandiflorum* “White Prosperity” // *Folia Hort*. 2018. Vol. 30 (2). Pp. 307–319. DOI: 10.2478/fhort-2018-0026.
10. Adam H., Raza M., Salahuddin. Induced polyploidy as a tool of increasing tea (*Camellia sinensis* L.) production // *J. Northeast Agric. Univ*. 2015. Vol. 22 (3). Pp. 43–47. DOI: 10.1016/S1006-8104(16)30005-8.
11. Li Z., Ruter J. M. Development and evaluation of diploid and polyploidy *Hibiscus moscheutos* // *HortScience*. 2017. Vol. 52 (5). Pp. 676–681. DOI: 10.21273/HORTSCI11630-16.
12. Мочалова О. В., Гусев Д. А. Индукция полиплоидии у вишни степной и микровишни песчаной через культуру in vitro // *Достижения науки и техники АПК*. 2016. Т. 30. № 9. С. 36–39.
13. Горбачева Н. Г. Микроспорогенез у гексаплоидного отдаленного гибрида ВЧ-89-95-48 [Электронный ресурс] // *Современное садоводство – Contemporary horticulture*. 2015. № 3. С. 1–4. URL: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2015/3/41.pdf>.
14. Клименко З. К., Кузьменко Д. К., Зыкова В. К. Морфологическая характеристика и качество пыльцы сортов, перспективных гибридных и мутантных форм садовых роз селекции Никитского ботанического сада // *Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада*. Ялта, 2017. Т. 145. С. 142–148.
15. Авраменко М. Н., Тарануха Г. И., Витко Г. И. Цитология. Лабораторный практикум. Учебно-методическое пособие. Горки, 2017. 108 с.
16. Кремер Н. Ш. Математическая статистика: учебник и практикум для академического бакалавриата. Москва: Издательство Юрайт, 2018. 259 с.
17. Mostafa G. G., AbouAlhamd M. F. Detection and Evaluation the Tetraploid Plants of *Celosia argentea* Induced by Colchicines // *International Journal of Plant Breeding and Genetics*. 2016. No. 10. Pp. 110–115. DOI: 10.3923/ijpb.2016.110.115.
18. Hao Lihong, Ma Hui, Teixeira da Silva Jaime A., Yu Xiaonan. Pollen Morphology of Herbaceous Peonies with Different Ploidy Levels // *J. Amer. Soc. Hort. Sci*. 2016. Vol. 141 (3). Pp. 275–284. DOI: 10.21273/JASHS.141.3.275.
19. Wang Lin-Jiao, Sheng Mao-Yin, Wen Pei-Cai & Du Jia-Ying. Morphological, physiological, cytological and phytochemical studies in diploid and colchicine-induced tetraploid plants of *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn // *Botanical Studies*. 2017. Vol. 58. No. 2. URL: <https://as-botanicalstudies.springeropen.com/articles/10.1186/s40529-016-0157-3> (appeal date: 23.08.2019). DOI: 10.1186/s40529-016-0157-3.
20. Kushwah K. S., Verma R. C., Patel S., Jain N. K. Colchicine Induced Polyploidy in *Chrysanthemum carinatum* L. // *J. Phylogenetics Evol. Biol*. 2018. Vol. 6 (1). P. 193. DOI: 10.4172/2329-9002.1000193.

### Об авторах:

Ольга Владимировна Мочалова<sup>1</sup>, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией биотехнологии и цитологии, ORCID 0000-0003-0449-1225, AuthorID 388921, +7 (385) 268-45-75, [mochalov.olga@yandex.ru](mailto:mochalov.olga@yandex.ru)

Дмитрий Александрович Гусев<sup>1</sup>, научный сотрудник лаборатории биотехнологии и цитологии, ORCID 0000-0001-6856-4695, AuthorID 915620, +7 (385) 268-45-75, [dmitryagus@mail.ru](mailto:dmitryagus@mail.ru)

<sup>1</sup> Федеральное государственное научное учреждение «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Барнаул, Россия

## New genetic sources for breeding of *Prunus* L. species on polyploid level

O. V. Mochalova<sup>1</sup>✉, D. A. Gusev<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnology, Barnaul, Russia

✉ E-mail: mochalov.olga@yandex.ru

**Abstract.** This research is aimed at studying of the chromosomal number distribution within the new, in vitro cultured, amitotic clonal lines of *Prunus* species, at comparing of the fertility and size of pollen for triploid and hexaploid amitotic clones and at identifying of new genetic sources and their subsequent use in breeding. **Methods.** The standard cytological and statistical methods were used in this scientific work. **Results.** The regularities of induced polyploids output both from the initial number of chromosomes and from the origin and individual characteristics of the original genotypes were established. For amitotic hexaploid genotypes of hybrid cherry, high pollen quality was discovered at the level of 81,8–92,6 % of fertility (in triploids the 4,6–18,8 % of such pollen was found), therefore, the studied 4 clonal cherry genotypes (12-1-1T2, 12-1-1T6, 12-1-2T3, 12-1-2T<sub>4</sub>) are recommended for breeding of resistant to fungal diseases varieties. No significant differences were found in the diameter of fertile pollen (46.3–47.8 μm) between cherry amitotic triploids and hexaploids. Therefore, in all likelihood, fertile pollen in triploids carries an unreduced triploid set of chromosomes. **Prime scientific novelty.** A completely new and original selection material for the genus *Prunus* L. – polyploid hybrids of *P. fruricosa* Pall. with rare East-Asiatic cherry species *P. ser-rulata* Lindl., *P. canescens* Bois., *P. incisa*. Thoub. were studied. The arguments in favor of a positive breeding prospect for the transfer of new cherries varieties to the hexaploid level ( $2n = 48$ ), including an in vitro culture method of chromosome number doubling for the sterile triploid interspecific hybrids, have been obtained. The first created tetraploid ( $2n = 32$ ) amitotic clonal lines of microcherry *P. pumila* L. must be tested in crosses with thorns and hybrids of thorns.

**Keywords:** *Prunus* L., hybrid, polyploid, clonal line, in vitro, chromosomal number, pollen fertility, pollen size, genetic sources, breeding.

**For citation:** Mochalova O. V., Gusev D. A. Novyye geneticheskiye istochniki dlya selektsii vidov *Prunus* L. na poliploidnom urovne [New genetic sources for breeding of *Prunus* L. species on polyploid level] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2019. No. 11 (190). Pp. 44–51. DOI: ... (In Russian.)

**Paper submitted:** 28.08.2019.

### References

1. Matyunin M. N. Biologicheskie osobennosti i selektsiya kostochkovykh kul'tur v Gornom Altae [Biological features and breeding of stone-fruit crops in The Altai Mountains]. Gorno-Altaysk, 2016. 344 p. (In Russian.)
2. Sattler M. C., Carvalho C. R., Clarindo W. R. The polyploidy and its key role in plant breeding // *Planta*. 2016. Vol. 243 (2), Pp. 281–296. DOI: 10.1007/s00425-015-2450-x.
3. Zhao L., Jiang X.-W., Zuo Y.-j., Liu X.-L., Chin S.-W., Haberle R. [et al.] Multiple Events of Allopolyploidy in the Evolution of the Racemose Lineages in *Prunus* (Rosaceae) Based on Integrated Evidence from Nuclear and Plastid Data // *PLoS ONE*. 2016. No. 11 (6). DOI: 10.1371/journal.pone.0157123.
4. Lyozin M. S., Asbaganov S. V., Mochalova O. V., Gusev D. A., Simagin V. S. Study of chromosome composition of the southern Ural genotypes of *Prunus pumila* L. by various methods // *Prospects of Development and Challenges of Modern Botany*. BIO Web of conferences. No. 11 (2018) 00028. URL: [https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/abs/2018/02/bioconf\\_pdcmb2018\\_00028/bioconf\\_pdcmb2018\\_00028.html](https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/abs/2018/02/bioconf_pdcmb2018_00028/bioconf_pdcmb2018_00028.html). DOI: 10.1051/bioconf/20181100028.
5. Mochalova O. V., Plaksina T. V., Gusev D. A., Boyandina T. E. Geksaploidnaya vishnya na Altae: perspektivy i nauchnye dostizheniya [Hexaploid cherry for Altai: perspectives and science achievements] // *Vestnik Altayskoy nauki*. 2015. No. 1. Pp. 222–230. (In Russian.)
6. Mochalova O. V. Poligenomnye pentaploidnye i geksaploidnye gibridy vishni stepnoy dlya gametnoy selektsii [Polygenomic pentaploid and hexaploid hybrids of steppe cherry for gametes breeding] // *Sadovodstvo i vinogradarstvo*. 2017. No. 5. Pp. 19–23. DOI: 10.18454/VSTISP.2017.5.7585. (In Russian.)
7. Grosser J. W., Kainth D., Dutt M. Production of Colchicine-induced Autotetraploids in Pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) through Indirect Organogenesis // *HortScience*. 2014. Vol. 49. No. 7. Pp. 944–948. DOI: 10.21273/HORTSCI.49.7.944.
8. Elyazid D. M. A., El-Shereif A. R. In vitro induction of polyploidy in *Citrus reticulada* Blanco // *Am. J. Plant Sci*. 2014. No. 5. Pp. 1679–1685. DOI: 10.4236/ajps.2014.511182.
9. Manzoor A., Achmad T., Bashir M. A., Baig M. M. Q., Quresh A. A., Shah M. R. N., Haliz I. A. Induction and identification of colchicine induced polyploidy in *Gladiolus grandiflorum* “White Prosperity” // *Folia Hort*. 2018. Vol. 30 (2). Pp. 307–319. DOI: 10.2478/fhort-2018-0026.
10. Adam H., Razaa M., Salahuddin. Induced polyploidy as a tool of increasing tea (*Camellia sinensis* L.) production // *J. Northeast Agric. Univ*. 2015. Vol. 22 (3). Pp. 43–47. DOI: 10.1016/S1006-8104(16)30005-8.

11. Li Z., Ruter J. M. Development and evaluation of diploid and polyploidy *Hibiscus moscheutos* // HortScience. 2017. Vol. 52 (5). Pp. 676–681. DOI: 10.21273/HORTSCI11630-16.
12. Mochalova O. V., Gusev D. A. Induksiya poliploidii u vishni stepnoy i mikrovischni peschanoy cherez kul'turu in vitro [Induction of polyploidy for Frutescent Cherry and Bessey Cherry by in vitro culture] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2016. No. 30 (9). Pp. 36–39. (In Russian.)
13. Gorbacheva N. G. Mikrosporogenez u geksaploidnogo otdalennogo gibrida VCh-89-95-48 [Microsporogenesis in a hexaploid distant HF hybrid 89-95-48] [e-resource] // Sovremennoe sadovodstvo – Contemporary horticulture. 2015. No. 3. Pp. 1–4. URL: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2015/3/41.pdf>. (In Russian.)
14. Klimenko Z. K., Kuz'menko D. K., Zykova V. K. Morfologicheskaya kharakteristika i kachestvo pyl'tsy sortov, perspektivnykh gibridnykh i mutantnykh form sadovykh roz selektsii Nikitskogo botanicheskogo sada [Morphological characteristics and pollen quality of varieties, promising hybrid and mutant forms of garden roses breeding Nikitsky Botanical garden] // Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada. Yalta, 2017. Vol. 145. Pp. 142–148. (In Russian.)
15. Avramenko M. N., Taranukho G. I., Vitko G. I. Tsitologiya. Laboratornyy praktikum Uchebno-metodicheskoe posobie [Cytology. Laboratory workshop. Educational and methodical manual]. Gorki, 2017. Pp. 93–94. (In Russian.)
16. Kremer N. Sh. Matematicheskaya statistika: uchebnyk i praktikum dlya akademicheskogo bakalavriata [Mathematical statistics: textbook and workshop for academic undergraduate.]. Moscow: Izdatel'stvo Yurayt, 2018. 259 p. (In Russian.)
17. Mostafa G. G., AbouAlhamd M. F. Detection and Evaluation the Tetraploid Plants of *Celosia argentea* Induced by Colchicines // International Journal of Plant Breeding and Genetics. 2016. No. 10. Pp. 110–115. DOI: 10.3923/ijpb.2016.110.115.
18. Hao Lihong, Ma Hui, Teixeira da Silva Jaime A., Yu Xiaonan. Pollen Morphology of Herbaceous Peonies with Different Ploidy Levels // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 2016. Vol. 141 (3). Pp. 275–284. DOI: 10.21273/JASHS.141.3.275.
19. Wang Lin-Jiao, Sheng Mao-Yin, Wen Pei-Cai, Du Jia-Ying. Morphological, physiological, cytological and phytochemical studies in diploid and colchicine-induced tetraploid plants of *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn // Botanical Studies. 2017. Vol. 58. No. 2. URL: <https://as-botanicalstudies.springeropen.com/articles.10.1186/s40529-016-0157-3> (appeal date: 23.08.2019). DOI: 10.1186/s40529-016-0157-3.
20. Kushwah K. S., Verma R, C., Patel S., Jain N. K. Colchicine Induced Polyploidy in *Chrysanthemum carinatum* L. // J. Phylogenetics Evol. Biol. 2018. Vol. 6 (1). P. 193. DOI: 10.4172/2329-9002.1000193.

#### Authors' information:

Olga V. Mochalova<sup>1</sup>, doctor biological science, leader researcher, head of biotechnology and cytology laboratory, ORCID 0000-0003-0449-1225, AuthorID 388921, +7 (385) 268-45-75, [mochalov.olga@yandex.ru](mailto:mochalov.olga@yandex.ru)

Dmitry A. Gusev<sup>1</sup>, researcher fellow of biotechnology and cytology laboratory, ORCID 0000-0001-6856-4695, AuthorID 915620, +7 (385) 268-45-75, [dmitryagus@mail.ru](mailto:dmitryagus@mail.ru)

<sup>1</sup> Federal Altaic Scientific Center of Agrobiotechnology, Barnaul, Russia