

ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА У ГЕКСАПЛОИДНЫХ ГИБРИДОВ ВИШНИ СТЕПНОЙ (*PRUNUS FRUTICOSA* PALL.)

О.В. Мочалова , д.б.н.

ФГБНУ Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий (ФГБНУ ФАНЦА), 656910, Россия, Алтайский край, г. Барнаул, Научный городок, 35, mochalov.olga@yandex.ru

Аннотация

Использование гексаплоидов является новым методическим направлением в селекции вишни, позволяющим восстановить правильный ход мейоза и продуктивность у стерильных гибридов, увеличить генетическую изменчивость в семенном потомстве. Целью исследований было выявить цитологические особенности микроспорогенеза и качество пыльцы у спонтанных гексаплоидов вишни степной, находящихся в алтайском генофонде ФГБНУ ФАНЦА, для определения их репродуктивного и селекционного потенциала. Изучены индивидуальные характеристики микроспорогенеза, состав спорад микроспор и морфо-физиология зрелых пыльцевых зерен у единственного гибрида от скрещивания вишни степной (*Prunus fruticosa* Pall.) с вишней обыкновенной (*P. cerasus* L.) и у двух гибридов от скрещивания вишни степной с вишней Маака (*P. maackii* Rupr.). Выявлено, что среднее количество мейоцитов с нарушениями составляет 50...60% от их общего числа и зависит от генотипа. Погодные условия года оказывают заметное влияние на течение микроспорогенеза. Индивидуальным является сочетание нарушений «универсального характера» (связанных с многовариантной конъюгацией хромосом и дисфункцией веретена деления) и цитомиксиса. При конъюгации хромосом у всех гибридов образуются поливаленты, биваленты и униваленты также в индивидуальном сочетании. В хромосомных пластинках метафазы второго деления число хромосом обычно колеблется в пределах $n=3x\pm 5$ хромосом. Лишь у гибрида ВЧ 8-83-46 найдено по 0,8% гаплоидных ($n=8$) и диплоидных ($n=16$) наборов хромосом. Число эуплоидных хромосомных пластинок у изученных форм лежит в пределах 35,8...46,7% от их общего количества. Морфологически правильных тетрад микроспор выявлено на уровне 28,2...68,4%. Обнаружены также диады и триады микроспор (в совокупном их количестве от 0,2 до 20,6%). Фертильность пыльцевых зерен у гексаплоидов была в пределах 58...82%, жизнеспособность пыльцы – 10...35%. У всех гибридов формируются многоапертурные (4 и более ростовых пор) пыльцевые зерна в количестве 7...88% от общего количества фертильных. Хорошее качество пыльцы предполагает успешное использование всех изученных гексаплоидов в интервалентных скрещиваниях для получения генетического и фенотипического разнообразия в генофонде вишни степной.

Ключевые слова: вишня степная, гибрид, гексаплоид, микроспорогенез, пыльца

PECULIARITIES OF MICROSPOROGENESIS IN HEXAPLOID HYBRIDS OF STEPPE CHERRY (*PRUNUS FRUTICOSA* PALL.)

O.V. Mochalova , doc. biol. sci.

FSBSI Federal Altai scientific center of agrobiotechnology (FSBSI FASCA), 656910, Russia, Altai region, Barnaul, Nauchni gorodok, 35, mochalov.olga@yandex.ru

Abstract

The use of hexaploids is a new methodical direction in the breeding of cherry, allowing the reviving of correct meiosis passing and the restoration of sterile hybrids productivity, for increasing of genetic diversity in seed progeny. The purpose of the scientific research was to reveal the cytological peculiarities of microsporogenesis and the quality of pollen for spontaneous steppe cherry hexaploids, located in the Altai gene pool (FSBSI FASCA), to determine their reproductive and breeding potential. The individual characteristics of microsporogenesis, the formation of microspores sporades and the morphophysiology of mature pollen grains for the single hybrid from crossing steppe cherry (*Prunus fruticosa* Pall.) with sour cherry (*P. cerasus* L.) and for two hybrids from crossing steppe cherry with Manchurian cherry (*P. maackii* Rupr.) were estimated. It was revealed that the average number of meiocytes with disturbances was equal 50–60% from their total number and depends on the genotype. Weather conditions of the concrete year have a significant impact on the course of microsporogenesis. As an individual event is a combination of “universal” anomalies (associated with multivariate chromosomal conjugation and dysfunction of the spindle of cell division) and cytomixis. During chromosomal conjugation all hybrids form polyvalents, bivalents and univalents in an individual ratio also. In chromosomal plates of the metaphase of the second division the chromosomal number usually equals $n=3x\pm 5$ chromosomes. Only for the BЧ 8-83-46 hybrid 0.8% of haploid ($n=8$) and the same number of diploid ($n=16$) chromosomal sets were found. The number of euploid chromosomal plates for the studied forms was found in the range of 35.8–46.7% from their total number. Tetrads of microspores with correct morphology were found at the level of 28.2–68.4%. Dyads and triads of microspores were also discovered (in the aggregate amount from 0.2 to 20.6 %). The fertility of pollen grains for hexaploids was within 58–82%, the viability of pollen was 10–35%. All hybrids form multi-aperture (4 or more growth pores) pollen grains in the amount of 7–88% from the total number of fertile ones. The good pollen quality implies the successful use of all studied hexaploids in intervalent crosses to obtain genetic and phenotypic diversity in the gene pool of steppe cherry.

Key words: steppe cherry; hybrid; hexaploid; microspopogenesis; pollen

Введение

Вишня степная (*Prunus fruticosa* L.) – тетраплоидный вид, распространенный в лесостепных биоценозах Западной Сибири, Урала и Заволжья. Он считается самым зимостойким видом вишни, так как выдерживает значительные перепады температур в осенне-зимние и зимне-весенние сезонные периоды года и способен выносить понижение температуры в зимний период до $-45\text{...}-50^\circ\text{C}$ (Колесникова, 2014). К сожалению, этот вид

вишни генетически не устойчив к заболеванию коккомикозом и имеет мелкие плоды кислого вкуса.

Считается, что в филогенетическом плане вишня степная является амфидиплоидным гибридом от скрещивания вишни серой (*P. canescens* Bois.) и антипки (*P. mahaleb* L.). Геномная формула этого вида – CfCfMfMf (Cf – геном вишни серой и Mf – геном антипки) (Еремин, 1985; Колесникова, 2014). Гибридное происхождение вида в результате длительной природной адаптации и перестроек во время конъюгации хромосом не оказало большого влияния на правильный ход микроспорогенеза и на высокое качество пыльцы у форм, произрастающих в природных популяциях (Мочалова, 2018). В то же у стародавних алтайских сортов вишни, таких как Метелица и Алтайская Ласточка, которые по морфологическим признакам считаются чистыми представителями вишни степной (Субботин, 2002), мейоз в пыльниках проходит со значительным количеством нарушений (Мочалова, 2006). Это свидетельствует или о реальной гибридной природе этих сортов, или же, что менее вероятно, об индивидуальных генетических особенностях конкретных генотипов.

Селекция вишни степной на Алтае проводилась как на основе аналитической селекции, так и путем отдаленной гибридизации (Субботин, 2002). Первые отдаленные гибриды были получены от скрещиваний вишни степной с вишней обыкновенной (*P. cerasus* L.). Для интрогрессии генов устойчивости к коккомикозу параллельно были проведены скрещивания вишни степной с вишней Маака (*P. maackii* Rupr.). К настоящему времени выведены уже F₃...F₅ поколения таких гибридов, получивших от И.В. Мичурина название «церападусы» (Бояндина, 2015). В генофонде ФГБНУ ФАНЦА (Отдел НИИСС) имеются также диплоидные, триплоидные, тетраплоидные, пентаплоидные и гексаплоидные гибриды вишни степной с другими видами вишни (*P. maximoviczii* Rupr., *P. pensylvanica* L., *P. incisa* Thunb., *P. canescens* Bois., *P. serrulata* Lindl.). Их репродуктивное поведение (включая мейоз, качество гамет, процессы опыления и оплодотворения) зависит от особенностей конкретного генотипа, но во многом определяется его генетическим происхождением и кратностью генома. Как правило, отдаленные гибриды, особенно с нечетнократным соотношением геномов, имеют большое количество нарушений в мейозе, пониженную фертильность и жизнеспособность пыльцы, что сопровождается отсутствием завязывания плодов или снижением урожайности гибрида (Мочалова, 2013).

Гексаплоидное число хромосом (2n=48) встречается у вишни очень редко и обычно только у гибридов. Перевод на гексаплоидный хромосомный уровень играет особенно положительную роль для стерильных триплоидных гибридов. Это привносит в их геном гомологичные последовательности, определяющие правильный процесс конъюгации хромосом. Первый гексаплоидный гибрид 3-66-9 (вишня степная × вишня обыкновенная) был выделен в генофонде НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко (НИИСС) в 1980 г. (Санкина, Субботин, 1982). В течение долгого времени он не был задействован в селекционных скрещиваниях, так как не имел полового гексаплоидного партнера. Кроме того, он характеризуется средней степенью морозостойкости и поражения листьев коккомикозом. Уже в начале XXI столетия в алтайском генофонде вишни были обнаружены новые спонтанные гексаплоиды – гибриды вишни степной с вишней обыкновенной и с вишней Маака, возникшие в результате функционирования одной редуцированной и одной нередуцированной гаметы. В результате их переопыления между собой получены гексаплоиды условно второго поколения. Также в культуре *in vitro* удалось индуцировать удвоение числа хромосом у гибридных триплоидов и получить константные по числу хромосом гексаплоидные клоновые линии, несущие геномы вишни степной и редких восточно-азиатских видов *P. canescens*, *P. serrulata*, *P. incisa* (Мочалова, Гусев, 2016).

Целью проведенной НИР было выявить цитологические особенности протекания микроспорогенеза и качество пыльцы у трех спонтанных гексаплоидных гибридов вишни степной для определения их репродуктивного и селекционного потенциала.

Материалы и методы исследований

Материалом исследований послужили фиксированные спорогенные ткани бутонов на стадии мейоза в пыльниках и зрелая пыльца, взятые у одного спонтанного гексаплоидного гибрида от скрещивания вишни степной и вишни обыкновенной и двух спонтанных гексаплоидных церападусов, выделенных по комплексу ценных признаков, в том числе на устойчивость к коккомикозу, в гибридном фонде НИИСС.

Ниже даны описания гибридов:

№ 3-66-9 – спонтанный гексаплоидный гибрид от опыления вишни степной смесью пыльцы вишни обыкновенной (Гриот Остергеймский, Любская, Жуковская). Получен Г.И. Субботиным, отобран по числу хромосом А.С. Санкиной (1980 г.). Имеет генетическую способность к самоопылению и к стимулятивному апомиксису.

ВЧ 8-83-46 – спонтанный, устойчивый к коккомикозу гексаплоидный церападус F_3 селекции Г.И. Субботина. Отобран по числу хромосом О.В. Мочаловой (2005 г.). Имеет генетическую способность к самоопылению и к стимулятивному апомиксису.

ВЧ 89-95-48 – элитный зимостойкий и устойчивый к коккомикозу спонтанный гексаплоидный церападус F_3 селекции Г.И. Субботина от свободного опыления ВЧ «Ранняя из защитки». Выделен в элиту В.Н. Левандовским и Н.В. Онищенко в 2005 г. Число хромосом определено О.В. Мочаловой (2005 г.).

Мейоз в пыльниках и споры микроспор исследовали на давленных временных препаратах после фиксации ацеталкоголем (1:3) и затем после окраски уксусным гематоксилином (Цитологические исследования... , 1976). Фертильность (морфологическая полноценность) зрелой пыльцы была определена после окраски ацетокармином. Жизнеспособность (физиологическая полноценность) пыльцевых зерен на третий день после выделения из пыльников изучена путем проращивания на искусственной питательной среде, содержащей 1% агар-агара, 15% сахарозы и 0,001% борной кислоты (Паушева, 1988). Количество многоапертурной пыльцы выявлено после окрашивания основным фуксином (Цитологическая и цитозембриологическая техника... , 1981). Исследования по мейозу и пыльце выполнены с использованием микроскопа Jenaval (Zeiss) и цифровой камеры TC-500 (ЛОМО). При обработке результатов исследований использованы общепринятые методы биологической статистики (Зайцев, 1990; Рокицкий, 1973) и пакет прикладных программ *Microsoft Office Excel 2007*.

Результаты и их обсуждение

Мейоз в пыльниках у видов и гибридов вишни проходит весной, когда цветочные почки имеют вид «зеленого конуса». Раньше по времени в деление вступает археспорий в нижних цветках соцветия. Тип мейоза – симультанный. Обычно мейоз проходит асинхронно в разных пыльниках и даже среди мейоцитов одного пыльника.

Процентная доля нарушений, как и других цитологических характеристик, на разных фазах микроспорогенеза зависит от происхождения и индивидуальных особенностей конкретного генотипа, а также от погодных условий года цветения. У всех изученных гексаплоидов не обнаружено больших различий для среднего общего количества мейоцитов с нарушениями. Оно оказалось в рамках 50...60%, но в отдельные годы выявлено колебание показателей от 49 до 72%. Возможно, что погодные условия конкретного года оказывают более значительное влияние на прохождение стадий

микроспорогенеза у генетически нестабильных генотипов, в частности, это верно для гибрида 3-66-9 (таблица 1).

Таблица 1 – Цитологические характеристики микроспорогенеза (%) у гексаплоидных гибридов вишни

Генотип	Год	Количество аномалий		Хромосом в четно-кратных ассоциациях	Эуплоидных пластинок в метафазе II	Правильных тетрад микроспор	Диад + триад микроспор
		всего	из них с цитомиксисом				
3-66-9	2003	51,0±1,1	14,1±0,8	77,5	46,7	57,1	0,3
	2004	71,6±1,5	13,4±1,1	76,8	35,8	28,2	8,1
	2007	54,4±1,4	11,1±0,8	83,9	54,5	45,4	9,5
	среднее	59,0±1,3	12,9±0,9	79,4	45,7	43,6	6,0
ВЧ 89-95-48	2006	49,2±1,1	7,8±0,6	82,5	36,8	38,6	20,6
	2007	51,7±1,2	6,0±0,1	86,7	36,4	40,8	11,3
	среднее	50,5±1,4	6,9±1,4	84,6	36,6	39,7	16,0
ВЧ 8-83-46	2005	52,5±1,0	23,0±0,9	83,1	46,2	68,4	0,2

Все выявленные аномалии мейоза можно разделить на две большие группы: универсального характера, связанные в основном с формированием поливалентов и унивалентов и с нарушением функционирования веретена деления, и цитомиксис. У каждого конкретного гибрида количественное соотношение этих двух типов нарушений было индивидуальным (таблица 1).

К нарушениям универсального типа относятся наблюдаемые у гексаплоидов «забегания» и «отставания» хромосом при движении к полюсам, выбросы части хромосом за пределы веретена, хромосомные и хроматидные мосты, дополнительные группы хромосом вместе с дополнительным веретеном, неравномерное распределение хромосом по дочерним ядрам. Они во многом определяются формированием разных типов хромосомных ассоциаций на стадии конъюгации гомологичных участков хромосом у филогенетически отдаленных геномов. Так у всех изученных гексаплоидов обнаружено образование поливалентных ассоциаций (гексавалентов, тетравалентов и тривалентов), а также бивалентов и унивалентов (таблица 2).

Таблица 2 – Среднее количество хромосомных ассоциаций разного типа у гексаплоидных гибридов вишни (шт./ клетку)

Генотип	Год	Типы хромосомных ассоциаций				
		гексаваленты	тетраваленты	триваленты	биваленты	униваленты
3-66-9	2003	0,73	1,80	2,14	12,80	4,40
	2004	1,25	2,06	1,13	10,56	7,75
	2007	1,50	2,0	0,69	11,50	5,69
	среднее	1,17	1,95	1,32	11,62	5,94
ВЧ 89-95-48	2006	1,37	2,88	0,94	9,94	5,56
	2007	1,80	2,30	0,60	10,80	4,60
	среднее	1,58	2,59	0,78	10,37	5,08
ВЧ 8-83-46	2005	1,55	2,55	0,90	10,18	5,44

В некоторых метафазных пластинках у гексаплоида 3-66-9 формировалось до 8 унивалентов, что может косвенно свидетельствовать об обособлении одного из геномов. В среднем выявлено около 5...6 унивалентов на клетку, оставшиеся 2...3 хромосомы за счет перестроек гомологичными участками, вероятно, принимают участие в формировании тривалентов и тетравалентов.

Общепринято, что чем большее количество хромосом участвует в образовании четно-

валентных ассоциаций хромосом, тем численно равномернее происходит распределение хромосом по ядрам диад и тетрад микроспор, тем больше образуется эуплоидных гамет, и в конечном итоге, тем выше качество образующейся пыльцы у гибридов. У всех гексаплоидов в прометафазе первого деления преобладающим является формирование бивалентов и тетравалентов. Кроме того, в меньшей степени отмечено образование гексавалентов разной конфигурации. Это свидетельствует о значительной гомологии хромосом, происходящих от разных видов вишни и об участии нередуцированных гамет в образовании новых видов.

В совокупности в среднем в четнократных ассоциациях было занято от 73,3 до 89,8% хромосом (от целостного 48-ми хромосомного генома). Это очень высокий показатель, но как показывают данные о среднем количестве нарушений мейоза, формирование четнократных ассоциаций еще не является гарантией равного количественного распределения хромосомных групп по полюсам. Прямой подсчет числа хромосом в метафазных пластинках второго деления показал, что количество эуплоидных (с полным преобладанием триплоидных $n=3x=24$) хромосомных наборов было обнаружено в среднем лишь в 36,6...46,2% метафазных пластинок. Эуплоидные наборы хромосом ($n=8$ и $n=16$) были найдены только у ВЧ 8-83-46 в одинаковом количестве – 0,75%. Обычный размах в наборе хромосом находился в пределах от 19 до 29 их на метафазную пластинку, то есть был равен $3x \pm 5$ хромосом.

Значительное снижение числа эуплоидных наборов хромосом в мейоцитах на стадии метафазы II может быть обусловлено таким распространенным у розоцветных растений явлением, как цитомиксис. Цитомиксис представляет собой еще недостаточно изученный процесс хаотичного перемещения хроматидного материала по цитомиктическим каналам между мейоцитами, начиная со стадии профазы. Он может привести к полной дестабилизации процесса деления, к дегенерации и уничтожению больших площадей спорогенных клеток. Скорее всего, основной причиной этого цитологического феномена является генетическая несбалансированность генома (Soodan, Wafai, 1987). Число клеток с цитомиксисом у изученных гексаплоидов вишни в среднем составило 6,9...23,0% от общего числа клеток с нарушениями мейоза. В большем количестве мейоцитов среди гексаплоидов цитомиксис был выражен у гибрида ВЧ 8-83-46, в меньшем количестве – у ВЧ 89-95-48 (таблица 1).

Наряду с полным выпадением второго деления и слиянием дочерних наборов хромосом при косом наклоне веретен, цитомиксис может принимать активное участие в формировании диад и триад микроспор. Больше всего их отмечено у церападуса ВЧ 89-95-48 – в среднем 16,0% от всех спорад (таблица 1). За счет этого часть таких спорад микроспор может иметь несбалансированный анеуплоидный набор хромосом. Но, тем не менее, некоторое количество эуплоидных наборов в таких спорадах формируют впоследствии нередуцированные пыльцевые зерна ($n=48$), что увеличивает генную и фенотипическую изменчивость в семенном потомстве при участии полиплоидов в селекционных скрещиваниях (Crespel et al., 2006).

Правильных по морфологии тетрад микроспор у гексаплоидов оказалось немногим больше, чем число эуплоидных хромосомных наборов в метафазе II – в среднем от 39,7 до 68,4% (таблица 1). Вероятно, часть анеуплоидных хромосомных наборов также могут формировать внешне правильно сформированные тетрады микроспор и внешне фертильную пыльцу.

Многолетние данные по исследованию качества пыльцы у гексаплоидов подтвердили, что физиологическая полноценность пыльцевых зерен (жизнеспособность) всегда бывает ниже, чем их морфологическая полноценность (фертильность). Вариабельность данных

показателей зависит как от конкретного генотипа, так и от года, в который осуществляется половая репродукция (таблица 3).

Таблица 3 – Морфофизиологические характеристики пыльцевых зерен (%) у гексаплоидных гибридов вишни, 2003...2017 гг.

Генотип	Фертильность		Жизнеспособность		Количество многоапертурной пыльцы	
	в годы НИР	многолетняя	в годы НИР	многолетняя	в годы НИР	многолетняя
3-66-9	78,7±1,2	72,4±0,7	25,2±1,3	39,3±0,8	51,3±1,5	47,9±0,9
	74,1...82,0	65,9...84,8	12,2...30,5	7,6...53,0	33,1...74,6	24,1...74,6
ВЧ 89-95-48	72,4±1,4	65,3±1,0	23,9±1,5	26,7±0,7	76,9±1,5	72,2±0,9
	69,5...75,2	55,4...75,2	12,6...35,1	10,3...41,5	75,1...78,7	50,9...87,8
ВЧ 8-83-46	58,1±2,8	63,0±0,9	10,7±1,8	18,2±0,8	22,0±2,4	12,6±0,7
		41,2...77,6		10,2...27,9		7,2...29,2

Примечание – в числителе дано среднее значение ($M \pm m$), в знаменателе указаны минимальное и максимальное значения

По показателям качества пыльцы церападус ВЧ 8-83-46 уступает двум другим гибридам, вероятно, за счет более выраженного процесса цитомиксиса. В целом высокая степень фертильности пыльцы (в среднем 58,1...78,7% в годы изучения мейоза) и достаточная для опыления степень жизнеспособности пыльцевых зерен (в среднем 10,7...25,2%) позволяют успешное участие всех изученных гексаплоидов в процессах опыления и оплодотворения.

У всех гексаплоидов отмечено формирование многоапертурных пыльцевых зерен (норма – трехапертурные) в среднем количестве в годы изучения мейоза от 22,0 до 76,9% от общего числа изученных. Многолетние данные показывают больший размах варибельности этого признака – от 12,6 до 72,2%. Такие пыльцевые зерна имеют более крупный размер, чем трех-апертурные, в экзине их оболочки может формироваться от четырёх до восьми ростовых пор. Этот феномен может быть использован для предварительного выделения полиплоидов в генофонде без прямого подсчета числа хромосом.

Заключение

Изучение особенностей прохождения мейоза в пыльниках, морфо-физиологических показателей качества пыльцы у трех гексаплоидных гибридов вишни степной разного генетического происхождения показало, что все они обладают достаточным цитогенетическим потенциалом для привлечения их в селекционные скрещивания. Предполагается формирование семенного потомства гетерогенного как по числу хромосом, так и по фенотипическим показателям (устойчивости к коккомикозу, зимостойкости, продуктивности). Наличие поливалентных ассоциаций хромосом, предлагающих большие возможности для обмена генетическим материалом, чем у тетраплоидов, расширение хромосомного спектра гамет, хорошее качество пыльцы дают выгодный прогноз для выведения зимостойких сортов вишни нового поколения на гексаплоидном уровне.

Литература

1. Бояндина Т.Е. Использование вишни Маака в селекции на устойчивость к коккомикозу на Алтае: Северная вишня // Сборник статей III Всероссийского симпозиума косточковедов. Челябинск, 2015. С. 44-47.

2. Еремин Г.В. Отдаленная гибридизация косточковых плодовых растений. М.: Агропромиздат, 1985. 280 с.
3. Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. М., 1990. 296 с.
4. Колесникова А.Ф. Селекция вишни обыкновенной в прошлом и в настоящем. Орел, 2014. 352 с.
5. Мочалова О.В. Особенности микроспорогенеза у сортов и гибридов в роде *Cerasus* Mill. Селекция сельскохозяйственных растений на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды // Материалы научно-методической конференции (г. Красноярск, 12-13 июля 2005 г.). Новосибирск, 2006. С. 213-219.
6. Мочалова О.В. Особенности мужской половой репродукции у гибридов вишни степной с восточноазиатскими видами вишни // Состояние и перспективы развития сибирского садоводства: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию ГНУ НИИСС Россельхозакадемии (г. Барнаул, 20-22 августа 2013 г.). Барнаул, 2013. С. 221-229.
7. Мочалова О.В. Особенности репродукции мужских гамет у дикорастущих видов вишни (*Prunus* L.) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сборник научных статей по материалам XVII международной научно-практической конференции (24-26 мая 2018 г., г. Барнаул). Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2018. С. 212-216.
8. 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.
9. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
10. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск, 1973. 319 с.
11. Санкина А.С., Субботин Г.И. Спонтанный гексаплоид вишни // Бюллетень ВИР. 1982. Вып. 123. С. 60.
12. Субботин Г.И. Вишня в южной Сибири. Барнаул: АГАУ, 2002. 149 с.
13. Цитологические исследования плодовых и ягодных культур: методические рекомендации. / Под ред. Г.А. Курсакова. Мичуринск: ЦГЛ, 1976. 104 с.
14. Цитологическая и цитоэмбриологическая техника (для исследования культурных растений): методические указания. / Под ред. Л.И. Орел. Л.: ВИР, 1981. С. 63.
15. Soodan AS, Wafai BA. Spontaneous occurrence of cytomixis during microsporogenesis in almond (*Prunus amygdalus* Batsch) and peach (*P. persica* Batsch) // Cytologia. 1987. N 52. P. 361-364. DOI:10.1508/cytologia.52.361
16. Crespel L, Ricci SC, Gudin S. The production of 2n pollen in rose. // Euphytica. 2006. N 151, P. 155–164. DOI:10.1007/s10681-006-9136-1

References

1. Boyandina, T.E. (2015). Application of Maaka cherry in breeding on resistance to coccomycosis for Altai region. In Northern Cherry. In *Proc. Sci. III Russian Symp. of cherry breeders* (pp 44-47). Cheljabinsk. (In Russian).
2. Eremin, G.A. (1985). *Remote hybridization of stone fruit plants*. Moscow: Agropromizdat. (In Russian).
3. Zaitsev, G.N. (1990). *Mathematics in experimental biology*. Moscow. (In Russian).
4. Kolesnikova, A.F. (2014). *Breeding of sour cherry in the last and in the future*. Orel. (In Russian).
5. Mochalova, O.V. (2006). Peculiarities of microsporogenesis in varieties and hybrids of *Cerasus* Mill. In *Breeding of agricultural plants on resistance to biotic and abiotic environmental factors: Proc.Sci. Conf.* (pp. 213-219).Novosibirsk. (In Russian).

6. Mochalova, O.V. (2013). Peculiarities of male reproduction in hybrids of steppe cherry with East-Asia cherry species. In *State and outlook of Siberian horticulture: Proc. Sci. Conf.* (pp. 221-229). Barnaul. (In Russian).
7. Mochalova, O.V. (2018). Peculiarities of male gametes reproduction in wild cherry species (*Prunus* L.) In *Problems of botany for Southern Siberia and Mongolia: Proc. Sci. Conf.* (pp. 212-216). Barnaul: AltSU. (In Russian, English abstract).
8. Mochalova, O.V., & Gusev, D.A. (2016). Induction of polyploidy for Frutescent Cherry and Bessey Cherry by in vitro culture. *Achievements of Science and Technology of AICis*, 30(9), 36-39. (In Russian, English abstract).
9. Pausheva, Z.P. (1988). *Practical works on plant cytology*. Moscow: Agropromizdat. (In Russian).
10. Pokitskiy, P.F. (1973) *Biological statistics*. Minsk. (In Russian).
11. Sankina, A.S., & Subbotin, G.I. (1982). Spontaneous hexaploid of cherry. *Bulletin of VIR*, 123, 60. (In Russian).
12. Subbotin, G.I. (2002). *Cherry in Southern Siberia*. Barnaul: AltSU. (In Russian).
13. Kursakov, G.A. (Ed.) (1976). *Cytological studies of fruit and berry crops. Methodical recommendations*. Michurinsk: CGL (In Russian).
14. Oryol, L.I. (Ed.) (1981). *Cytological and cytoembryological techniques (for the study of cultivated plants). Methodical instructions* (pp 63). Leningrad: VIR. (In Russian).
15. Soodan, A.S., & Wafai, B.A. (1987). Spontaneous occurrence of cytomixis during microsporogenesis in almond (*Prunus amygdalus* Batsch) and peach (*P. persica* Batsch). *Cytologia*, 52, 361-364. DOI:10.1508/cytologia.52.361
16. Crespel, L., Ricci, S.C., & Gudín, S. (2006). The production of 2n pollen in rose. *Euphytica*, 151, 155-164. DOI:10.1007/s10681-006-9136-1