

УДК 576.354.4 634.11

ОСОБЕННОСТИ РЕДУКЦИОННОГО ДЕЛЕНИЯ ТЕТРАПЛОИДА *MALUS DOMESTICA*

Н.Г. Лаврусевич , А.Г. Бородкина

ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, 302530, Россия, Орловская область, Орловский район, д. Жилина, ВНИИСПК, info@vniispk.ru

Аннотация

Перспективным направлением в садоводстве считается селекция яблони на полиплоидном уровне, обеспечивающая получение триплоидных, более адаптивных к условиям современной экосистемы, высококачественных сортов, необходимых для выращивания в интенсивных садах. Для создания триплоидов необходим широкий набор исходных тетраплоидных форм. При использовании тетраплоидов в качестве опылителей следует учитывать особенности формирования мужских гамет, что позволяет правильно подобрать исходные формы для скрещивания и наметить необходимый объем гибридизации. В работе изложены результаты по исследованию мейотического деления тетраплоидной формы яблони 34-21-39 [30-47-88 [Либерти × 13-6-106 (с.с. Суворовец)] (4x) × Краса Свердловска (2x)]. Деления у основной массы клеток на всех стадиях мейоза правильные. Количество отклонений небольшое. Процент аномалий на всех стадиях деления составил от 11,3 до 22,5 %. Отмечены забегания и отставания хромосом, выбросы отдельных хромосом в цитоплазму микроспороцита, мосты между анафазными группами. На стадии тетрад присутствуют полиады: пентады, гексады, гептады. На заключительной стадии мейоза формируется 77,7 % правильных тетрад. Тетраплоид 34-21-39 (4x), несмотря на наличие аномальных картин деления в ходе микроспорогенеза, имеет высокий процент визуальной нормальной жизнеспособной пыльцы, что подтверждается скринингом числа хромосом у гибридных растений, полученных с участием этой формы в качестве опылителя. В результате скрещивания диплоидного сорта Гирлянда с тетраплоидом 34-21-39 (4x) выявлено, что 80,0 % гибридного потомства имеют тройной набор хромосом ($2n = 3x = 51$). Следовательно, тетраплоидную форму яблони 34-21-39 (4x) целесообразно использовать в качестве опылителя в селекционных программах с применением полиплоидов.

Ключевые слова: полиплоид, цитология, яблоня, микроспорогенез, мейоз, гаметы

FEATURES OF THE REDUCTION DIVISION OF THE *MALUS DOMESTICA* TETRAPLOID

N.G. Lavrusevich , A.G. Borodkina

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Zhilina, VNIISP, Orel district, Orel region, Russia, info@vniispk.ru

Abstract

A promising trend in agronomy is considered to be apple breeding at the polyploid level, which ensures the production of triploid high-quality varieties necessary for growing in intensive orchards and more adaptive to the conditions of the modern ecological environment. A wide range of initial tetraploid forms is necessary for obtaining triploids. When using tetraploids as pollinators it is necessary to consider the features of formation of male gametes. It allows to select correctly the initial forms for crossing and identify the necessary amount of hybridization. Data on the study of meiosis in microsporogenesis in the tetraploid apple form 34-21-39 [30-47-88 [Liberty × 13-6-106 (s.s. Suvorovetz)] (4x) × Krasa Sverdlovsk (2x)] are given in this paper. In most microsporocytes the pictures of meiotic division were correct. The spectrum of violations was small. The percentage

of violations at all stages of division ranged from 11.3 % to 22.5 %. Chromosome runs and lags, emissions of individual chromosomes into the cytoplasm of the microsporocyte and bridges between anaphase groups were noted. Tetrad stage was characterized by the presence of polyads (pentads, hexads and heptads). At the final stage of meiosis, 77.7 % of correct tetrads were formed. Despite of the presence of abnormal pictures of division in microsporogenesis, the tetraploid apple form 34-21-39 (4x) had a high percentage of visually normal viable pollen, as evidenced by the results of the analysis of ploidy of hybrid progeny involving this form as a pollinator. In the crossing combination *Girlianda*(2x) × 34-21-39(4x), 80,0 % of hybrid progeny turned out to be a triploid set of chromosomes. It is concluded that there is a possibility of using the tetraploid apple form 34-21-39 (4x) as a pollinator in the breeding programs using polyploids.

Key words: polyploids, cytology, apple, microsporogenesis, meiosis, gametes

Введение

Яблоня – одна из самых распространенных плодовых культур в России. Триплоидные сорта (3x) яблони, полученные в последние годы, уверенно занимают нишу старых диплоидных сортов, так как имеют целый ряд преимуществ: более регулярное плодоношение, высокую товарность плодов, повышенное содержание витаминов (Седов и др., 2019; Седов и др., 2020; Седов и др., 2022).

Основным селекционным путем получения триплоидов являются скрещивания между собой тетраплоидов (4x) и диплоидов (2x). В качестве генетического ресурса 4x могут использоваться для получения 3x сортов путем межплоидного скрещивания (Liu et al., 2017). При этом гибриды получают от тетраплоидного родителя два генома и от диплоидного – один геном, что позволяет селекционеру в определенной степени управлять доминированием.

Для успешной работы по селекции яблони на полиплоидном уровне необходим широкий набор доноров диплоидных гамет, обладающих рядом селекционно значимых признаков.

Состояние генеративной сферы у исходных форм необходимо знать для определения их селекционной ценности, особенно важно в этом отношении цитоэмбриологическое изучение полиплоидных исходных форм, так как благодаря высокому числу хромосом, процесс мейоза у них может проходить с отклонениями от нормы. Поэтому от особенностей формирования гамет зависит качество последних, в конечном счете результаты гибридизации и плоидность гибридного потомства.

Можно отметить, что вопросы морфологии мейоза при микроспорогенезе у диплоидных сортов яблони исследованы достаточно полно (Константинов, 1971; Крылова, 1981; Singh et al., 1985; Гревцова, 1974; Седышева, 2012; Dar et al., 2015; Седышева, Горбачева, 2016). В значительной мере изучена генеративная сфера и у триплоидных сортов (Радионенко, 1972; Singh, Wafai, 1984; Singh et al., 1985; Седышева, 2013). Тетраплоидные формы в этом отношении малоизучены (Zakharova et al., 2013; Седышева и др., 2015). Объяснить этот пробел можно, по всей вероятности, тем, что диплоидные сорта являются преобладающими в мировом сортименте яблони, триплоидные также имеют достаточно широкое промышленное распространение. В связи с этим как те, так и другие не могли не заинтересовать биологов, как предмет всестороннего изучения. Тетраплоидные сорта и формы, менее изучены из-за их невысокой хозяйственной ценности. Но использование тетраплоидных форм в селекции как промежуточное звено в создании триплоидных сортов яблони привлекло исследователей (Седышева, Седов, 1994; Седышева, Горбачева, 2007; Седов и др., 2008; Горбачева, 2011; Седов и др., 2015).

В процессе работы по направлению селекции на полиплоидном уровне во ВНИИСПК были получены ряд тетраплоидных форм (Седов и др., 2020).

В лаборатории цитозембриологии ВНИИСПК был изучен и по настоящее время изучается ход мейоза при микроспорогенезе и формирование микроспор у тетраплоидных форм яблони (Седов и др., 2008; Горбачева, 2011; Седов и др., 2015; Горбачева, 2019). Отмечается, что процент аномальных картин деления может варьировать в широких пределах в зависимости от стадии мейоза и формы: от 1,7 % [стадия тетрад у формы Папировка (2-4-4-4x)] до 96,7 % [(стадия тетрад у формы Мекинтош (4x)]. Наиболее правильным ходом микроспорогенеза характеризуются формы 25-37-45 (4x) и 20-9-27 (4x). Наиболее нарушенным – тетраплоидная форма сорта Мекинтош (4x). Данные по выходу триплоидных растений в разных комбинациях скрещивания, в основном, согласуются с данными характера аномалий в ходе микроспорогенеза. Формы, характеризующиеся сравнительно правильным ходом микроспорогенеза, формируют большую часть нормальных гамет и обеспечивают и более высокий выход триплоидных растений при скрещивании 2x × 4x. Приводятся данные, что тетраплоидные формы с наиболее правильным ходом мейоза, среднее число нарушений у которых составляет от 10,7 до 20,0 %, при опылении ими диплоидных сортов дают выход триплоидных гибридных семян от 63,3 до 84,6 %, а тетраплоидная форма сорта Мекинтош с высоким количеством аномальных картин деления на завершающих стадиях мейоза (телофаза-I – 72,0 %, стадия тетрад – 96,2 %) дает невысокий выход триплоидов 31,3 % (Седов и др., 2015).

Изучение особенностей генеративных структур у тетраплоидных форм дает возможность оценить их в качестве доноров диплоидных гамет для использования в селекции на полиплоидном уровне, а селекционеру – подбирать наиболее рациональные комбинации скрещивания (Горбачева, Клименко, 2019).

Цель работы – изучить процесс образования микроспор в микроспорангиях пыльников (микроспорогенез) у тетраплоида яблони 34-21-39 для определения качества формируемых гамет и использования его в селекции.

Материалы и методики исследований

Биологическим объектом исследования служила тетраплоидная форма 34-21-39, полученная в отделе селекции яблони ВНИИСПК в 2007 от скрещивания тетраплоида 30-47-88 (4x) и диплоидного сорта Краса Свердловска (2x). Объектом изучения являлся процесс образования микроспор в микроспорангиях пыльников (микроспорогенез) у тетраплоида яблони.

Для изучения хода мейоза при микроспорогенезе генеративные почки фиксировали в уксусном спирте. Фиксацию почек проводили в саду с момента появления стадии зеленого конуса до окончания мейоза в пыльниках. Из фиксированного материала готовили временные давленные препараты ацетогематоксилиновым методом. Для определения соматического числа хромосом окраску объектов проводили смесью из лакмоида и 50 % пропионовой кислоты, делали временные препараты (Седышева, Соловьева, 1999).

Визуализацию мейоза проводили методом световой микроскопии на микроскопе Nikon ECLIPSE при увеличении 10 × 1,5 × 40, 10 × 1,5 × 100.

Результаты и их обсуждение

Проанализировав данные, характеризующие последовательные стадии мейоза у тетраплоида 34-21-39 (4x), следует отметить, что мейоз протекает достаточно правильно.

На разных стадиях деления при формировании микроспор отмечено от 11,3 % (метафаза-I) до 22,5 % (анафаза-II) нарушений (таблица 1). Спектр отклонений небольшой, количество отклонений составило от одного до трех.

Таблица 1 – Стадии мейоза

| Стадия мейоза | Всего изучено микроспоцитов шт. | в том числе: | | | | ± m |
|---------------|---------------------------------------|--------------|------|---------------|------|-------|
| | | нормальных | | с нарушениями | | |
| | | шт. | % | шт. | % | |
| метафаза-I | 100 | 78 | 78,0 | 22 | 22,0 | ± 4,2 |
| анафаза-I | 167 | 140 | 83,8 | 27 | 16,2 | ± 2,9 |
| телофаза-I | 157 | 133 | 84,7 | 24 | 15,3 | ± 2,9 |
| метафаза-II | 169 | 131 | 77,5 | 38 | 22,5 | ± 3,2 |
| анафаза-II | 177 | 157 | 88,7 | 20 | 11,3 | ± 2,4 |
| телофаза-II | 418 | 363 | 86,8 | 55 | 13,2 | ± 1,7 |
| тетрады | 658 | 511 | 77,7 | 147 | 22,3 | ± 1,6 |

Морфологические типы мейотических аномалий у гибрида 34-21-39 характерны, как и для других 4х форм яблони, ранее проанализированных (Седов и др., 2008; Горбачева, Клименко, 2019; Горбачева, 2019). Типы отклонений тетраплоида 34-21-39 представлены в таблице 2 и на рисунке 1.

Таблица 2 – Количество и морфология отклонений в мейозе

| Стадия мейоза | Число типов нарушений | Тип отклонения | Количество отклонений, шт. | % от общего числа отклонений |
|---------------|--------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| метафаза-I | 2 | забегание 1-2 | 20 | 90,9 |
| | | выброс | 2 | 9,1 |
| анафаза-I | 3 | отставание 1-3 | 25 | 92,6 |
| | | выброс | 1 | 3,7 |
| | | мост | 1 | 3,7 |
| телофаза-I | 1 | микроядра 1-3 | 24 | 100,0 |
| метафаза-II | 3 | забегание 1-4 | 22 | 57,9 |
| | | выброс | 15 | 39,5 |
| | | забегание + выброс | 1 | 2,6 |
| анафаза-II | 3 | отставание 1-3 | 14 | 70,0 |
| | | выброс | 4 | 20,0 |
| | | мост | 2 | 10,0 |
| телофаза-II | 2 | микроядра, сверхчисленные ядра 1-3 | 54 | 98,2 |
| | | 3 ядра + микроядрышко | 1 | 1,8 |
| тетрады | 3 | пентада | 85 | 57,8 |
| | | гексада | 59 | 40,2 |
| | | гептада | 3 | 2,0 |

На стадии метафаза-I и II преобладает преждевременное отхождение хромосом к полюсам веретена деления и составляет в первом гетеротипическом делении от общего числа нарушений 90,9 %, во втором гомеотипическом – 57,9 %. В значительно меньшем количестве клеток наблюдали выброс хромосом за пределы ахроматинового веретена (9,1 и 39,5 %) и два типа нарушений в одном микроспороците (рисунок 1б). Ассоциации хромосом на стадии метафазы размещались очень плотно в результате этого детальный анализ провести не удалось.

На стадии анафаза-I и анафаза-II число нарушений по сравнению с предыдущей стадией снижается. В большинстве случаев здесь наблюдается запоздалое деление бивалентов или хромосом в центре веретена (92,6 % – анафаза-I, 70,0 % – анафаза-II от общего числа нарушений) (рисунок 1а), реже встречались выбросы хромосом или хроматид в цитоплазму за пределы ахроматинового веретена, мосты.

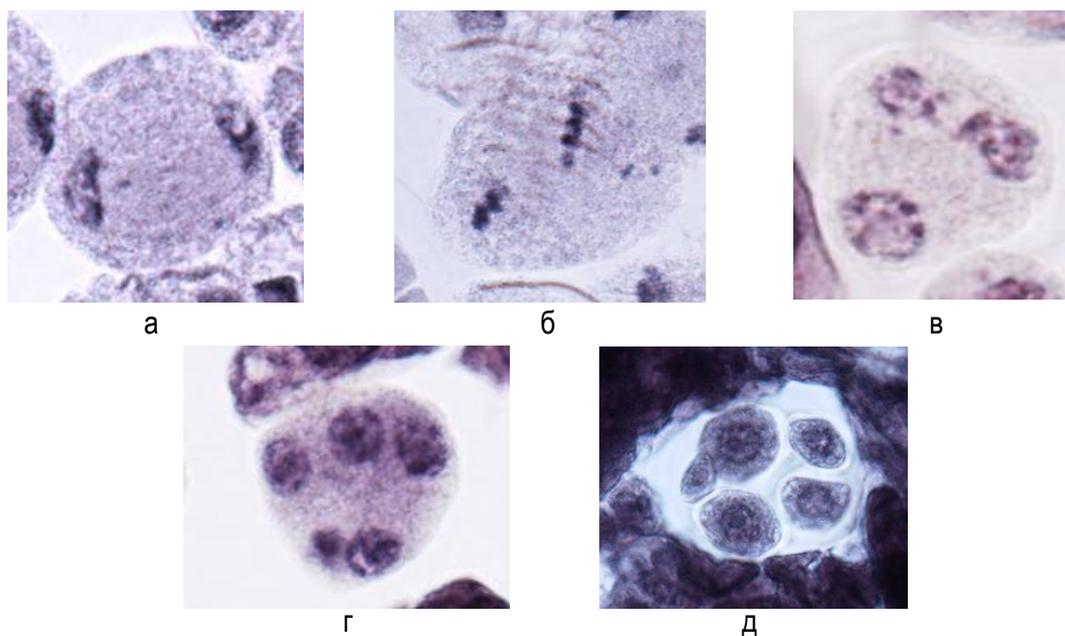


Рисунок 1 – Нарушения в микроспорогенезе: а – анафаза-I отставание; б – метафаза-II выбросы; в – телофаза-II три ядра; г – телофаза-II сверхчисленные ядра; д – пентада

Наименьшее разнообразие типов нарушений отмечено на стадии телофаза-I (15,3 %) и телофаза-II (13,2 %). В основном на этих стадиях наблюдается микроядра и сверхчисленные ядра в цитоплазме микроспороцита (рисунок 1г). Единичный случай отмечен в телофазе-II, когда в клетке было три ядра, по размеру крупнее обычных и одно микроядрышко (рисунок 1в).

На заключительной стадии деления 22,0 % клеток образуют полиады. От общего количества полиад пентады составляют – 57,8 %, гексады – 40,2 %, изредка встречаются гептады – 2,0 % (рисунок 1д). В полиадах формируются микроспоры разной величины, соответственно такие гаметы будут не сбалансированные по количеству хромосом. Тетрагенез у 34-21-39 (4х) заканчивается образованием правильных тетрад в 77,7 % случаев. Одномерная пыльца составляет 89,0 %, доля разнокалиберной (мелкой и крупной) пыльцы составила 11,0 %.

Таким образом, несмотря на наличие аномальных картин деления в ходе микроспорогенеза, форма яблони 34-21-39 (4х) имеет высокий процент визуальной нормальной жизнеспособной пыльцы. Это подтверждается и результатами скрининга ploidy гибридных растений, полученных с участием тетраплоида 34-21-39 (4х) в качестве опылителя (таблица 3).

Таблица 3 – Пloidность гибридного потомства

| Материнская форма | Отцовская форма | Число изученных растений, шт. | диплоиды, шт./% | триплоиды, шт./% |
|-------------------|-----------------|-------------------------------|-----------------|------------------|
| Гирлянда (2х) | 34-21-39 (4х) | 160 | 128/80,0 | 32/20,0 |

В комбинации скрещивания Гирлянда (2х) × 34-21-39 (4х) 80 % гибридного потомства оказалось с триплоидным набором хромосом.

Выводы

Установлено, что тетраплоидная форма яблони 34-21-39(4х) имеет незначительное число отклонений на последовательных этапах мейоза при микроспорогенезе, формирует

более 80,0 % полноценной пыльцы и рекомендуется для применения в селекции на полиплоидном уровне в качестве опылителя.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Горбачева Н.Г. Оценка полиплоидов яблони и отдаленных гибридов вишни как исходных форм в селекции: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Орел, 2011. 22 с. EDN: QHKJXT
2. Горбачева Н.Г. Цитозембриологическая оценка тетраплоидных форм яблони для селекции // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2019. Т. 6, № 1. С. 31-35. EDN: FEWGBU
3. Горбачева Н.Г., Клименко М.А. Цитологический контроль гибридных сеянцев, исходных форм яблони в селекции на полиплоидном уровне // Современное садоводство. 2019. № 1. С. 25-31. <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10103>. EDN: SDZLPG
4. Гревцова Н.А. Сравнительно-эмбриологическое исследование некоторых представителей родов *Malus* Mill. и *Pyrus* L.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва, 1974. 23 с.
5. Константинов А.В. Мейоз. Минск: БГУ, 1971. 179 с.
6. Крылова В.В. Эмбриология яблони. Кишинев: Штиинца, 1981. 148 с.
7. Радионенко А.Я. Мейоз при микроспорогенезе и развитие пыльцы у триплоидных сортов яблони // Генетика. 1972. Т. 8, № 4. С. 21-32.
8. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Серова З.М. Селекция яблони на полиплоидном уровне. Орел: ВНИИСПК, 2008. 368 с. EDN: YFLBBR
9. Седов Е.Н., Серова З.М., Янчук Т.В., Корнеева С.А. Триплоидные сорта яблони селекции ВНИИСПК для совершенствования сортимента (популяризация селекционных достижений). Орел: ВНИИСПК, 2019. 28 с. EDN: ENMEHF
10. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Макаркина М.А., Левгерова Н.С., Серова З.М., Корнеева С.А., Горбачева Н.Г., Салина Е.С., Янчук Т.В., Пикунова А.В., Ожерельева З.Е. Инновации в изменении генома яблони. Новые перспективы в селекции. Орел: ВНИИСПК, 2015. 336 с. EDN: XXPBED
11. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Серова З.М., Янчук Т.В. Новые триплоидные сорта яблони, иммунные к парше // Наше сельское хозяйство. 2020. № 1. С. 110-113. EDN: QPYKBZ
12. Седов Е.Н., Янчук Т.В., Корнеева С.А. Ценные доноры диплоидных гамет для создания триплоидных сортов яблони // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2020. № 3. С. 13-17. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/3/13-17>. EDN: PJMTPM
13. Седов Е.Н., Янчук Т.В., Корнеева С.А. Новые Диплоидные, триплоидные, иммунные к парше и колонновидные сорта яблони в совершенствовании сортимента // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2022. № 1. С. 25-31. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2022/1/25-31>. EDN: LNMPZP
14. Седышева Г.А. Особенности редукционного деления у триплоидной формы яблони 25-37-46 // Современное садоводство. 2013. № 1. С. 1-7. EDN: SEILRV
15. Седышева Г.А. Сравнительная характеристика микроспорогенеза у двух диплоидных сортов яблони // Адаптивный потенциал и качество продукции сортов и сорто-подвойных комбинаций плодовых культур: материалы международной научно-практической конференции. Орел: ВНИИСПК, 2012. С. 225-230. EDN: YHARBZ
16. Седышева Г.А., Горбачева Н.Г. Особенности формирования мужского гаметофита у новой полиплоидной формы яблони // Селекция и сорторазведение садовых культур. Орел: ВНИИСПК, 2007. С. 183-188. EDN: YHALHF

17. Седышева Г.А., Горбачева Н.Г., Мельник С.А. Цитозембриологическая оценка тетраплоидов яблони для гетероплоидных скрещиваний // Вестник Орловского государственного аграрного университета. 2015. № 6. С. 55-60. EDN: [VSKHNF](#)
18. Седышева Г.А., Горбачева Н.Г. Микроспорогенез и развитие мужского гаметофита у колонновидной формы яблони Орловская Есения // Современное садоводство. 2016. № 2. С. 77-81. EDN: [WEFKWB](#)
19. Седышева Г.А., Седов Е.Н. Полиплоидия в селекции яблони. Орел: ВНИИСПК, 1994. 272 с.
20. Седышева Г.А., Соловьева М.В. Цитологическое, эмбриологическое изучение, исследования особенностей морфогенеза // Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под ред. Седова Е.Н., Огольцовой Т.П. Орел: ВНИИСПК, 1999. С. 203-218. EDN: [YHAPNZ](#)
21. Dar J.A., Wani A.A., Dhar M.K. Morphological, biochemical and male-meiotic characterization of apple (*Malus × domestica* Borkh.) germplasm of Kashmir Valley // Chromosome Botany. 2015. Vol. 10, № 2. P. 39-49. <https://doi.org/10.3199/iscb.10>
22. Liu Z., Seiler G.J., Gulya T.J., Feng J., Rashid K.Y., Cai X., Jan C.-C. Triploid Production from Interspecific Crosses of Two Diploid Perennial Helianthus with Diploid Cultivated Sunflower (*Helianthus annuus* L.) // G3 Genes/Genomes/Genetics. 2017. Vol. 7, № 4. P. 1097-1108. <https://doi.org/10.1534/g3.116.036327>
23. Singh R., Wafai B.A. Intravarietal polyploidy in the apple (*Malus pumila* Mill.) cultivar Hazratbali // Euphytica. 1984. Vol. 33. P. 209-214. <https://doi.org/10.1007/BF00022767>. EDN: [XUJOZS](#)
24. Singh R., Wafai B.A., Koul A.K. Assessment of apple (*Malus pumila* Mill.) germplasm in Kashmir. III. Cytology of Lal-farashi, Double-Kaseri, Hindwand-rakam, Kichhama-trail, Sabe-alif and Tursh-nawabi // Cytologia. 1985. Vol. 50, № 4. P. 811-823. <https://doi.org/10.1508/cytologia.50.811>
25. Zakharova V.A., Zakharov M.V., Khil'ko V.T. Selection of apple-tree on poliploid levels // Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv. 2013. Vol. 13. P. 181-184.

References

1. Gorbacheva, N.G. (2011). *Evaluation of apple polyploids and distant cherry hybrids as initial forms in breeding (Agri. Sci. Cand. Thesis)*. Orel State Agrarian University, Orel, Russia. EDN: [QHKJXT](#) (In Russian).
2. Gorbacheva, N.G. (2019). Cytoembryological evaluation of tetraploid apple forms for breeding. *Breeding and variety cultivation of fruit and berry crops*, 6(1), 31-35. EDN: [FEWGBU](#) (In Russian, English abstract).
3. Gorbacheva, N.G., & Klimenko, M.A. (2019). Cytological control of hybrid seedlings and origin genotypes of apple in breeding with polyploidy using. *Contemporary horticulture*, 1, 25-31. <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10103>. EDN: [SDZLPG](#) (In Russian, English abstract)
4. Grevtsova, N.A. (1974). *Comparative embryological study of some representatives of genera Malus Mill. u Pyrus L. (Bio. Sci. Cand. Thesis)*. Moscow. (In Russian).
5. Konstantinov, A.V. (1971). *Meiosis*. Minsk, BSU. (In Russian)
6. Krylova, V.V. (1981). *Apple embryology*. Kishinev: Shtiintsa (In Russian).
7. Radionenko, A.Ya. (1972). Meiosis during microsporogenesis and pollen development in triploid apple cultivars. *Genetics*, 8(4), 21-32. (In Russian)
8. Sedov, E.N., Sedyшева, G.A., & Serova, Z.M. (2008). *Apple breeding at a polyploidy level*. Orel, VNIISPK. EDN: [YFLBBR](#) (In Russian).

9. Sedov, E.N., Serova, Z.M., Yanchuk, T.V., & Korneeva, S.A. (2019). *Triploid apple varieties of VNIISPK selection for the improvement of the assortment (popularization of breeding achievements)*. Orel, VNIISPK. EDN: [ENMEHF](#) (In Russian).
10. Sedov, E.N., Sedysheva, G.A., Makarkina, M.A., Levgerova, N.S., Serova, Z.M., Korneeva, S.A., Gorbacheva, N.G., Salina, E.S., Yanchuk, T.V., Pikunova, A.V., & Ozhereleva, Z.E. (2015). *The innovations in apple genome modification opening new prospects in breeding*. Orel, VNIISPK. EDN: [XXPBED](#) (In Russian, English abstract).
11. Sedov, E.N., Sedysheva, G.A., Serova, Z.M., & Yanchuk, T.V. (2020). New triploid apple cultivars immune to scab. *Our agriculture*, 1, 110-113. EDN: [QPYKBZ](#) (In Russian).
12. Sedov, E.N., Yanchuk, T.V., & Korneeva, S.A. (2020). Valuable donors of diploid gametes for triploid apple tree varieties creation. *Bulletin of the Russian Agricultural Science*, 3, 13-17. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2020/3/13-17>. EDN: [PJMTPM](#) (In Russian, English abstract).
13. Sedov, E.N., Yanchuk, T.V., & Korneeva, S.A. (2022). New diploid, triploid, immunal to scab and column-like apple tree varieties in assortment improvement. *Bulletin of the Russian Agricultural Science*, 1, 25-31. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2022/1/25-31>. EDN: [LNMPZP](#) (In Russian, English abstract)
14. Sedysheva, G.A. (2013). Peculiarities of meiotic division in triploid apple seedling 25-37-46. *Contemporary horticulture*, 2, 1-7. EDN: [SEILRV](#) (In Russian, English abstract).
15. Sedysheva, G.A. (2012). Comparative characteristics of microsporogenesis in two diploid apple varieties. In *Adaptive potential and product quality of varieties and cultivar-rootstock combinations of fruit crops: Proc. Sci. Conf.* (pp.225-230). Orel: VNIISPK. EDN: [YHARBZ](#) (In Russian, English abstract).
16. Sedysheva, G.A., & Gorbacheva, N.G. (2007). The peculiarities of male gametophyte formation in new poliploid apple selection. *Breeding and variety cultivation of fruit and berry crops*, 183-188. EDN: [YHALHF](#) (In Russian, English abstract).
17. Sedysheva, G.A., Gorbacheva, N.G., & Melnik, S.A. (2015). Cytoembryological evaluation of apple tetraploids for heterploid crosses. *Bulletin of OSAU*, 6, 55-60. EDN: [VSKHNF](#) (In Russian).
18. Sedysheva, G.A., & Gorbacheva, N.G. (2016). Microsporogenesis and development of the male gametophyte in the columnar form of the apple Orlovskaya Eseniya. *Contemporary horticulture*, 2, 77-81. EDN: [WEFKWB](#) (In Russian, English abstract).
19. Sedysheva, G.A., & Sedov, E.N. (1994). *Polyploidy and apple tree breeding*. Orel: VNIISPK (In Russian).
20. Sedysheva, G.A., & Solovieva, M.V. (1999). Cytological and embryological studies, morphogenesis features studies. In E.N. Sedov & T.P. Ogoltsova (Eds.), *Program and methods of variety investigathion of fruit, berry and nut crops* (pp. 203-218). VNIISPK. EDN: [YHAPNZ](#) (In Russian).
21. Dar, J.A., Wani, A.A., & Dhar, M.K. (2015). Morphological, biochemical and male-meiotic characterization of apple (*Malus × domestica* Borkh.) germplasm of Kashmir Valley. *Chromosome Botany*, 10(2), 39-49. <https://doi.org/10.3199/iscb.10>
22. Liu, Z., Seiler, G.J., Gulya, T.J., Feng, J., Rashid, K.Y., Cai, X., & Jan, C.-C. (2017). Triploid Production from Interspecific Crosses of Two Diploid Perennial Helianthus with Diploid Cultivated Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *G3 Genes/Genomes/Genetics*, 7(4), 1097-1108. <https://doi.org/10.1534/g3.116.036327>
23. Singh, R., & Wafai, B.A. (1984). Intravarietal polyploidy in the apple (*Malus pumila* Mill.) cultivar Hazratbali. *Euphytica*, 33, 209-214. <https://doi.org/10.1007/BF00022767>. EDN: [XUJOZS](#)
24. Singh, R., Wafai, B.A., & Koul, A.K. (1985). Assessment of apple (*Malus pumila* Mill.) germplasm in Kashmir. III. Cytology of Lal-farashi, Double-Kaseri, Hindwand-rakam, Kichhama-

- trail, Sabe-alif and Tursh-nawabi. *Cytologia*, 50(4), 811-823.
<https://doi.org/10.1508/cytologia.50.811>
25. Zakharova, V.A., Zakharov, M.V., & Khil'ko, V.T. (2013). Selection of apple-tree on poliploid levels. *Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv*, 13, 181-184.

Авторы:

Наталья Геннадьевна Лавруевич, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории цитозембриологии, ФГБНУ ВНИИСПК, lavrusevich@orel.vniispk.ru
SPIN: 3205-4188 ORCID: 0000-0001-8985-8967

Анастасия Геннадьевна Бородкина, младший научный сотрудник лаборатории цитозембриологии, ФГБНУ ВНИИСПК, borodkina@orel.vniispk.ru
SPIN: 6335-4964

Authors details:

Natalya Lavrusevich, PhD in Agriculture, senior researcher, Head of laboratory of cytoembryology of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК), lavrusevich@orel.vniispk.ru
SPIN: 3205-4188 ORCID: 0000-0001-8985-8967

Anastasiya Borodkina, junior researcher in the laboratory of cytoembryology of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК), borodkina@orel.vniispk.ru
SPIN: 6335-4964

Отказ от ответственности: заявления, мнения и данные, содержащиеся в публикации, принадлежат исключительно авторам и соавторам. ФГБНУ ВНИИСПК и редакция журнала снимают с себя ответственность за любой ущерб людям и/или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или продуктов, упомянутых в публикации.