

УДК 634.8:581.143.6/.817:576.356

ПАТОЛОГИЯ МИТОЗА И МИКСОПЛОИДИЯ В МЕРИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ТКАНИ ВИНОГРАДА

© 2019 г. В. П. Клименко*

Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия “Магарач”
Россия, 298600, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, д. 31

*E-mail: vikpaulklim@mail.ru

Поступила в редакцию 26.10.2018 г.

После доработки 19.11.2018 г.

Принята к публикации 26.11.2018 г.

Целью данной работы является оценка встречаемости клеток с патологией митоза и отклонением от диплоидности в меристематической ткани экспериментальных растений рода *Vitis* (Tournef.) Linn., полученных из стenosпермокарпических семян. Материалом для цитогенетического исследования являлись растения винограда, полученные от скрещивания бессемянных сортов с бессемянными и семенными опылителями. Всего было осуществлено 11 скрещиваний. Цитогенетический анализ проводили по рекомендуемому для плодовых культур и винограда методикам. Всего исследовали 11039 клеток. В клетках растений винограда *in vitro* наблюдали патологию митоза, в частности, полую метафазу, трехгрупповую метафазу и метафазу с полярными хромосомами, а также гаплоидные, триплоидные и тетраплоидные клетки. Суммарная частота аномальных клеток составила 0.15. Патология митоза наблюдается и в меристематической ткани сортов винограда. Оценивали встречаемость аномалий митоза в меристематической ткани растений. Определяли соответствие фактического распределения аномалий по экспериментальным популяциям теоретическому распределению, степень относительной приуроченности их к популяциям, показатели абсолютного, относительного и внутривидового разнообразия. В результате исследования полиэмбрионного гибридного потомства винограда выявлена дифференциация в равномерности распределения и приуроченности 5 аномалий митоза к 11 популяциям, обнаружены отличия экспериментальных популяций по разнообразию. Максимальная степень относительного разнообразия популяций достигала величины 0.503. В целом невысокая величина относительного разнообразия свидетельствует об отсутствии полной выравненности аномалий по наличию в популяциях.

Ключевые слова: *Vitis*, стenosпермокарпия, *in vitro*, цитогенетический анализ, митоз, полая метафаза, трехгрупповая метафаза, метафаза с полярными хромосомами, миксоплоидия, разнообразие

DOI: 10.1134/S0475145019020022

ВВЕДЕНИЕ

Любая из фаз процесса митотического деления подвергается риску возникновения и развития патологических изменений. Цитогенетические нарушения в клетках меристемы растений используются как показатели генотоксичности в экологической генетике при оценке качества среды обитания (Kalaev, Butogina, 2006; Korshikov, Lapteva, 2013; Медведева, Болсуновский, 2016). Установлено, что в условиях действия стрессовых факторов возрастает уровень патологий митоза и расширяется их спектр в основном за счет увеличения частоты нарушений на стадии метафазы (Калаев, 2009).

В виноградарстве цитогенетические методы применяют для изучения кариотипов видов и сортов, идентификации мутаций, создания полиплоидных форм, исследования пыльцы (Jásek,

Hrudák, 1989; Viljoen, Spies, 1995; Клименко и др., 2008; Pierozzi, 2011; Топале, 2015; Pierozzi, Moura, 2016). Исследователи провели цитогенетический анализ более 1000 сортов, гибридов и видов винограда. Следует отметить, что митоз у винограда имеет некоторые особенности. В частности, ядрышко в конце профазы не исчезает, а остается в течение всего митотического цикла.

Цитогенетический анализ растений, полученных из эмбриоидов в культуре ткани винограда, показал, что большинство из них имеет диплоидные наборы хромосом, но обнаружены и миксоплоидные популяции клеток (Марченко и др., 1987). Подсчет хромосом показал, что часть растений винограда, полученных путем соматического эмбриогенеза, была идентифицирована как полиплоиды, остальные были диплоидными (Kuksova et al., 1997). Сообщается об индукции

in vitro тетраплоидов путем обработки колхицином соматических эмбриоидов диплоидного винограда (Yang et al., 2006). Установлено, что полиэмбрионное потомство винограда неоднородное и может отличаться по пloidности (Клименко, 2010).

Хромосомы винограда очень мелкие, часто слипаются концами, лежат плотно друг к другу, поскольку большое их количество расположено на небольшой площади и в разных оптических плоскостях, это значительно затрудняет подсчет и детальное изучение (Топале, 2011). Поэтому виноград принадлежит к трудным для кариологических исследований объектам. В клетках корневой меристематической ткани винограда на стадии метафазы идентифицированы метацентрические, субметацентрические, акроцентрические и спутничные хромосомы (Клименко, 2014).

Целью данной работы является оценка встречаемости клеток с патологией митоза и отклонением от диплоидности в меристематической ткани экспериментальных растений винограда, полученных из стenosпермокарпических семян.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для цитогенетического исследования являлись экспериментальные растения винограда, полученные из стenosпермокарпических семян растений рода *Vitis* (Tournef.) Linn. от скрещивания бессемянных сортов селекции института “Магарач” с бессемянными и семенными опылителями отечественной и зарубежной селекции в 2005–2012 гг. Всего было осуществлено 11 скрещиваний.

Лабораторные исследования проведены в институте “Магарач”, г. Ялта, в 2007–2015 гг. В основу экспериментов по исследованию расширения генетического разнообразия и повышения жизнеспособности генеративного потомства винограда положен разработанный способ получения растений от исходных форм с низкой фертильностью (Павлова, Клименко, 2006).

Цитогенетический анализ проводили по рекомендуемым для плодовых культур и винограда методикам (Рыбин, 1962). По каждому варианту делали 3–5 препаратов. Для цитогенетического анализа применяли биологический микроскоп XSP-146TP, видеокамеру Granum DC 1300 и цифровую фотокамеру Canon Powershoot A620. Всего исследовали 11039 клеток корневой меристематической ткани винограда *in vitro*.

Митотический индекс рассчитывали как долю делящихся в митозе клеток от общего числа проанализированных клеток. Суммарная частота аномальных клеток вычислялась как сумма частот встречаемости отдельных типов патологий и отклонений от диплоидности. Долю клеток с от-

дельным типом аномалий рассчитывали как отношение количества клеток с данным типом аномалии к суммарному количеству клеток в метафазе и выражали в процентах. Патологии митоза были разделены на группы в соответствии с существующей классификацией (Алов, 1972).

С помощью программы RAREVENT проводили анализ редких событий (Клименко, 1998), при этом в качестве событий рассмотрены аномалии митоза. В результате расчета определяли соответствие фактического распределения аномалий по экспериментальным популяциям теоретическому распределению, степень относительной приуроченности их к популяциям, показатели абсолютного, относительного и внутривидового разнообразия.

Общую статистическую обработку данных осуществляли по общепринятым методикам (Лаккин, 1990) с помощью однофакторного дисперсионного анализа (пакет прикладных программ STATISTICA и приложение Microsoft Excel). Опыты проводили в 3-х кратной повторности. Достоверность разницы между вариантами оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента. Принимали во внимание эффекты с уровнем достоверности $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе цитогенетических экспериментов наблюдали все стадии митоза. Митотический индекс оказался очень высоким, от 18.2 до 67.0%, в зависимости от популяции, что объясняется интенсивным делением клеток в меристематической ткани винограда (табл. 1). Среднее значение митотического индекса 46.6%. Всего оказалось 426 клеток в состоянии деления. Принято считать, что митоз у растений винограда *in vivo* в целом происходит без особенных нарушений (Топалэ, 2011). В ходе данного исследования наблюдали единичные случаи асимметричного митоза, многополюсного митоза, К-митоза и отставания хромосом при расхождении, которые в дальнейшем анализе не учитывали. Формы патологии митоза, связанные с повреждением хромосом, такие, как хроматидные мосты, не наблюдали совершенно.

В меристематической ткани экспериментальных растений встречали и учитывали такие формы патологии митоза, связанные с повреждением митотического аппарата, как полая метафаза, трехгрупповая метафаза и метафаза с полярными хромосомами (далее – трехгрупповая метафаза), а также гаплоидные, триплоидные и тетраплоидные клетки (рис. 1).

Трехгрупповая метафаза характеризуется тем, что метафазная клетка содержит, кроме обычной

Таблица 1. Экспериментальные популяции винограда, использованные для анализа патологии митоза

Популяция	Комбинация скрещивания		Количество клеток, шт.	Митотический индекс, %
	материнская форма	отцовская форма		
21YI	Южнобережный	Италия	1252	58.3 ± 0.4
524LC	Ялтинский бессемянный	М. № 25-82-1	444	58.5 ± 0.7
13YA	Ялтинский бессемянный	М. № 25-82-1	495	18.2 ± 0.7
1YR2.1.1.1	Ялтинский бессемянный	Русбол	4030	22.1 ± 0.2
1YR1	Ялтинский бессемянный	Русбол	343	67.0 ± 0.8
1YR3.3	Ялтинский бессемянный	Русбол	152	39.6 ± 1.2
1YR3.1.1	Ялтинский бессемянный	Русбол	535	50.4 ± 0.7
1YR3.2	Ялтинский бессемянный	Русбол	515	52.4 ± 0.7
1YR3.4.2.3	Ялтинский бессемянный	Русбол	172	58.2 ± 1.2
3LN1	Ялтинский бессемянный	R-73	1697	40.7 ± 0.4
31LN	Ялтинский бессемянный	R-73	1404	47.7 ± 0.4

экваториальной пластинки, две дополнительные группы или одиночные хромосомы (“полярные” хромосомы), расположенные у полюсов (Курило, 1969; Козак, Марченко, 2008). Трехгрупповая метафаза приводит к возникновению дочерних клеток с неравным числом хромосом или к образованию многоядерной клетки. Полая метафаза имеет вид широкого кольца хромосом, которые, собираясь в метафазную пластинку, располагаются по периферии клетки.

Соматическое расщепление приводит к появлению в тканях клеток с неодинаковым числом хромосом. Это явление может быть вызвано разными причинами, в том числе эндомитозом. Тетраплоидные клетки в тканях винограда, скорее всего, образуются путем эндомитоза (Топале, 1983). У растений с вегетативным способом воспроизведения эктопическая геномная дупликация в тканях, предназначенных для бесполого размножения, может привести к созданию стабильных полиплоидных клонов (De Storme, Mason, 2014).

Во всех популяциях, полученных в результате скрещивания сорта Ялтинский бессемянный, с достаточно высокой частотой обнаружена полиэмбриония, отмечено образование двух и больше проростков из одного семени. Предполагается, что полиэмбриония — один из возможных путей получения гаплоидов (Tsolova, Atanassov, 1994). Вероятно, гаплоидные клетки возникают в результате соматической конъюгации хромосом, сопровождаемой “выпадением” их репликации в отдельных клеточных циклах (Кунах, 1995). Для растений миксоплоидия скорее правило, чем исключение. Предполагается, что варибельность

количества хромосом и ядрышек влияет на параметры продуктивности культур клеток винограда (Kiselev et al., 2013). Количественные и структурные изменения в хромосомах являются распространенным явлением в каллюсах, полученных в культуре клетки и ткани, и их регенерантах (Singh, 2003; Тимофеева, Румянцева, 2012). Эти изменения могут быть вызваны генетической основой эксплантов, составом и видом среды, возрастом и характером каллюса, длительностью субкультивирования.

Всего наблюдали 64 случая патологии митоза и миксоплоидии, частота которых варьировала в зависимости от популяции (табл. 2). Более всего аномальных митозов (55.5%) наблюдали в популяции 1YR3.1.1.

При исследовании особенностей развития растений винограда, полученных с помощью культуры изолированных зародышей *in vitro*, ранее использовали анализ редких событий, что позволило выявить дифференциацию в равномерности распределения аномальных растительных объектов, обнаружить различие экспериментальных популяций по разнообразию ювенильных свойств и предположить специфичность участия исходных форм в появлении таких событий (Клименко, Павлова, 2002; Klymenko, Pavlova, 2007).

Судя по полученным результатам оценки распределения аномалий митоза по популяциям, гипотеза о том, что расхождение между эмпирическими и теоретическими частотами имеет случайный характер, опровергалась для соответствующих достоверных вероятностей; аномалии распределены по экспериментальным популяциям не-

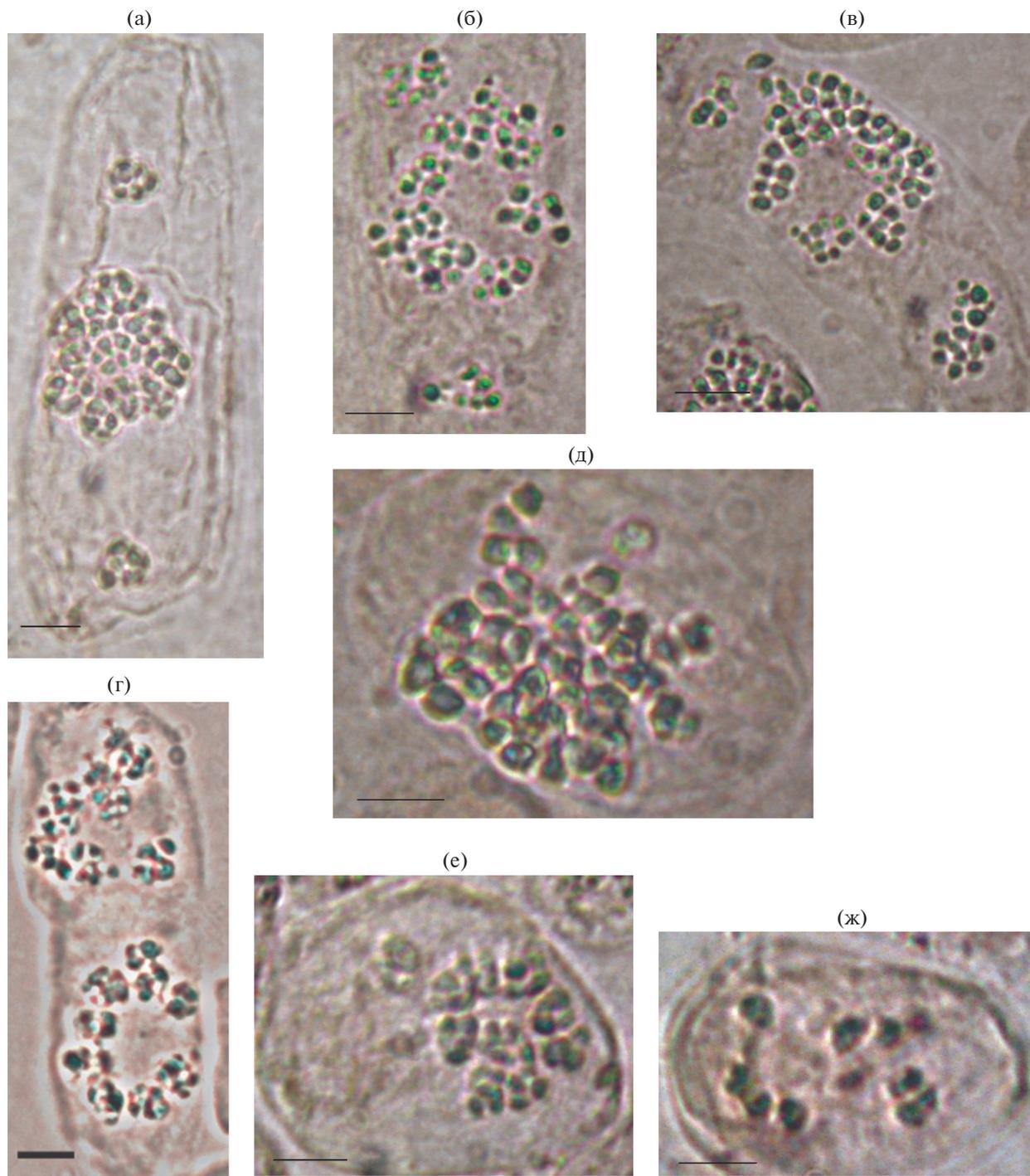


Рис. 1. Патологии митоза и миксоплоидия в меристематической ткани растений винограда: а, б, в – трехгрупповая метафаза; г – полая метафаза; д – нормальная метафаза ($2n = 38$); е, ж, з – гаплоидия ($n = 19$); и – триплоидия ($3n = 57$); к, л, м, н, о, п, р – тетраплоидия ($4n = 76$). Шкала – 5 мкм.

равномерно, демонстрируя неравноценное участие групп экспериментальных растений в этом распределении (табл. 3).

Трехгрупповая метафаза положительно приурочена к популяциям 1YR3.1.1 и 31LN, отрица-

тельно приурочена к популяциям 524LC, 1YR3.2 и 3LN1. Полая метафаза полностью отсутствует в большинстве экспериментальных популяций, положительно приурочена к популяциям 524LC, 1YR3.2, 3LN1 и 31LN. Гаплоидные клетки полностью отсутствуют в большинстве эксперимен-

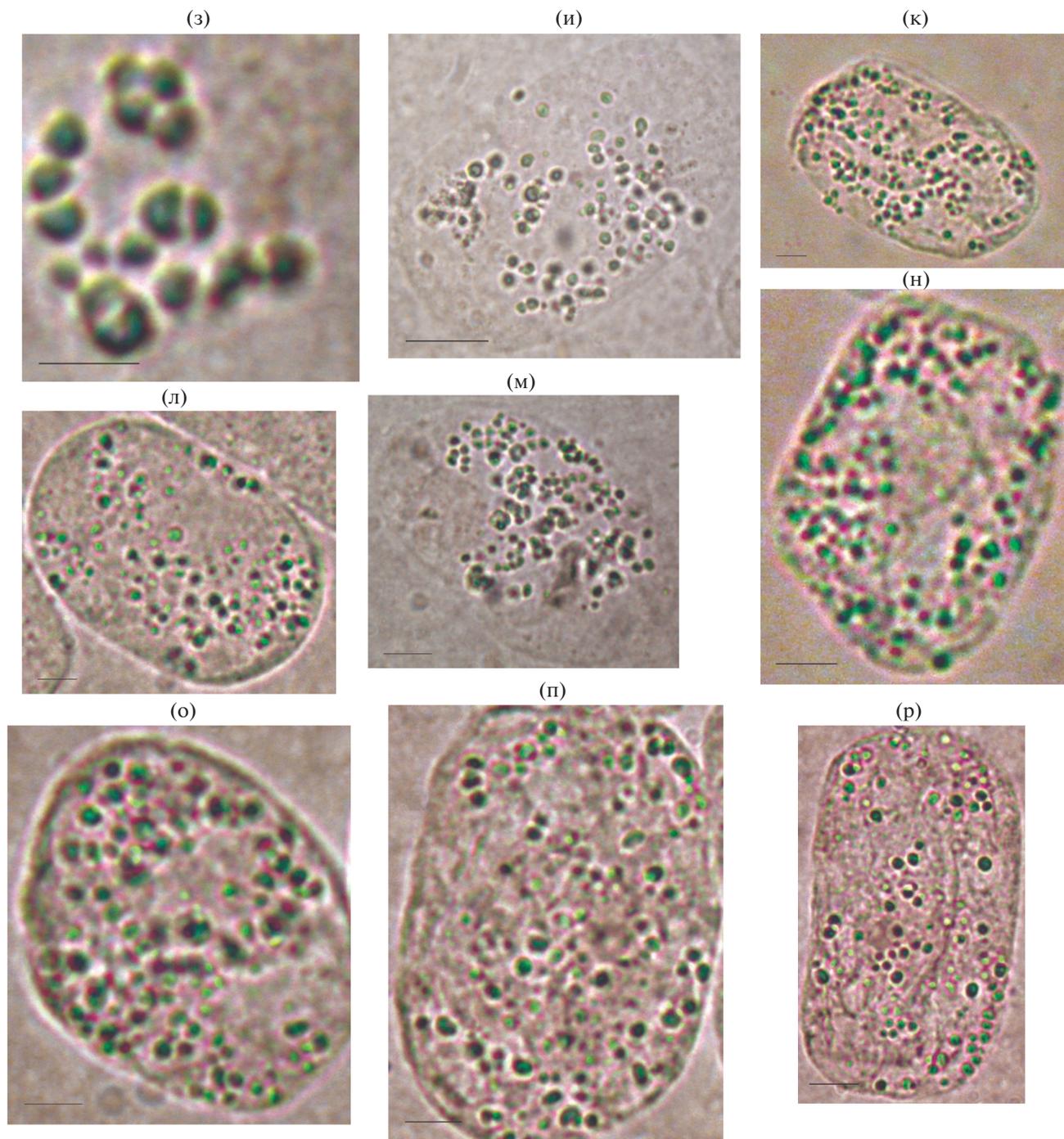


Рис. 1. Окончание.

тальных популяций, положительно приурочены к популяциям 524LC, 13YA, 1YR3.2 и 31LN. Триплоидные клетки встречаются исключительно в популяции 1YR311. Тетраплоидные клетки положительно приурочены к целому ряду популяций: 1YR1, 1YR3.1.1, 1YR3.2, 1YR3.4.2.3 и 31LN1. Следовательно, степень участия популяций 524LC, 13YA и 1YR3.2 наиболее высока в появлении гап-

лоидных клеток, популяции 3LN1 – в появлении тетраплоидных клеток, популяции 31LN – в появлении полых метафаз, популяции 1YR3.1.1 – в появлении трехгрупповых метафаз и триплоидных клеток.

Наибольшее абсолютное разнообразие по аномалиям митоза наблюдали в популяции 3LN1 (табл. 4).

Таблица 2. Распределение по популяциям форм патологии митоза и отклонения от диплоидности в меристематической ткани винограда

Популяция	Трехгрупповая метафаза, %	Полая метафаза, %	Гаплоидные клетки, %	Триплоидные клетки, %	Тетраплоидные клетки, %
21YI	0	0	0	0	0
524LC	3.8 ± 2.2	3.8 ± 0.5	23.1 ± 1.5	0	0
13YA	0	0	11.1 ± 2.6	0	0
1YR2.1.1.1	0	0	0	0	0
1YR1	0	0	0	0	4.3 ± 1.0
1YR3.3	0	0	0	0	0
1YR3.1.1	37.0 ± 2.1	0	0	11.1 ± 1.0	7.4 ± 0.9
1YR3.2	3.7 ± 2.1	3.7 ± 0.5	11.1 ± 1.5	0	3.7 ± 0.9
1YR3.4.2.3	0	0	0	0	10.0 ± 1.5
3LN1	4.3 ± 1.3	7.2 ± 0.3	0	0	13.0 ± 0.6
31LN	10.4 ± 1.3	0	0	0	0

Таблица 3. Оценка распределения по популяциям и приуроченности форм патологии митоза и отклонения от диплоидности в меристематической ткани винограда

Популяция	Степень относительной приуроченности аномалий				
	трехгрупповая метафаза	полая метафаза	гаплоидные клетки	триплоидные клетки	тетраплоидные клетки
21YI	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000
524LC	-0.154	0.124	0.878	-1.000	-1.000
13YA	-1.000	-1.000	0.616	-1.000	-1.000
1YR2.1.1.1	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000
1YR1	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	0.148
1YR3.3	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000
1YR3.1.1	0.850	-1.000	-1.000	1.000	0.422
1YR3.2	-0.174	0.104	0.662	-1.000	0.064
1YR3.4.2.3	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	0.524
3LN1	-0.101	0.528	-1.000	-1.000	0.806
31LN	0.429	0.642	0.035	-1.000	-1.000
χ^2 для распределения патологий	67.866	18.954	55.051	44.333	31.721
Доверительная вероятность	0.001	0.041	0.001	0.001	0.001

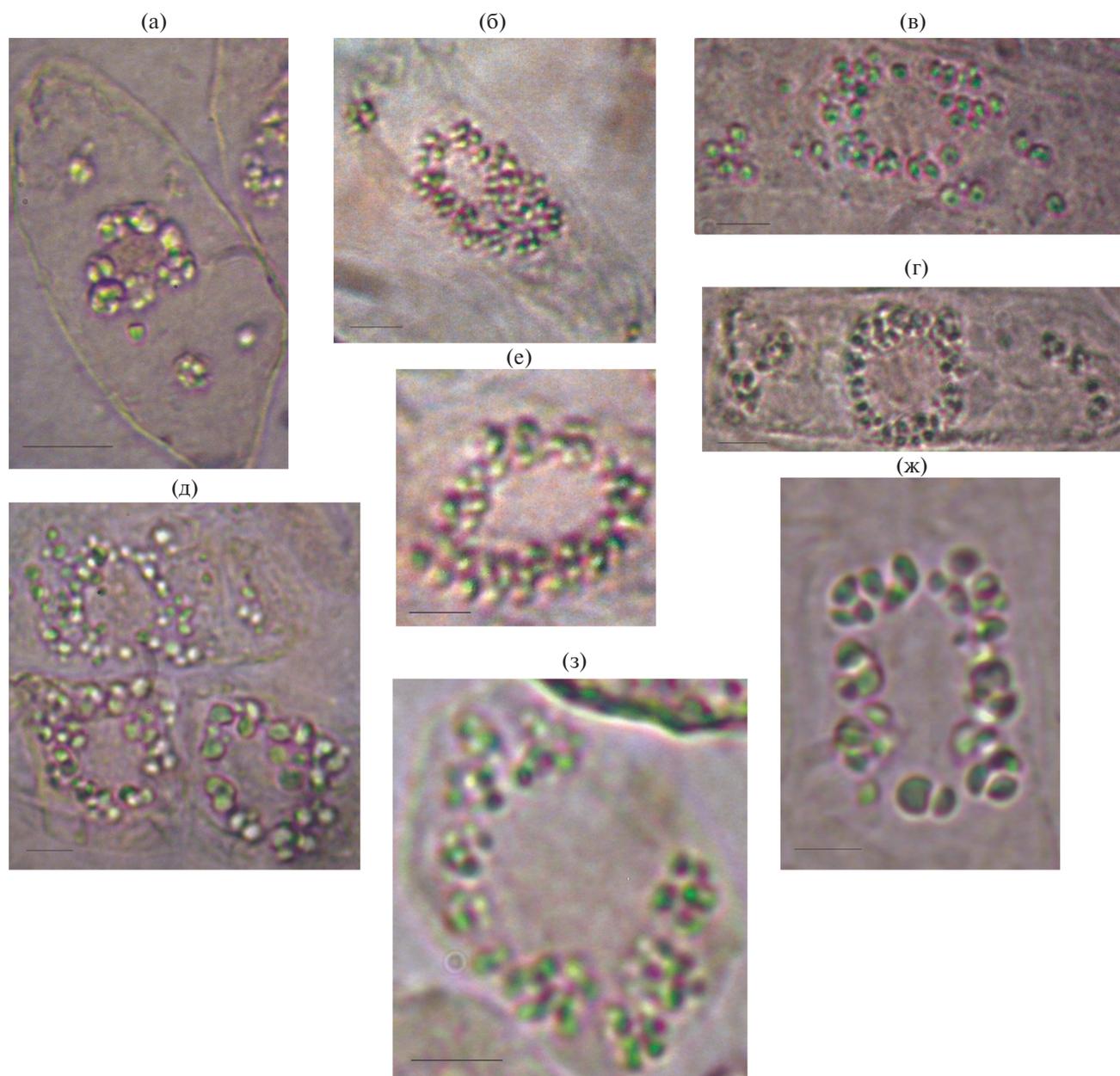


Рис. 2. Патологии митоза в меристематической ткани сортов винограда: а – трехгрупповая метафаза у сорта Интервitis Магарача; б – трехгрупповая метафаза у сорта Цитронный Магарача; в, г – трехгрупповая метафаза у сорта Красень; д, е, ж – поляя метафаза у сорта Красень; з – поляя метафаза у сорта Аврора Магарача. Шкала – 5 мкм.

Установлено, что степень относительного разнообразия по патологическим митозам наиболее высокая в популяции 1YR3.1.1, где проявлялась большая выравненность и наблюдался самый широкий спектр аномалий. В целом невысокая величина показателя свидетельствует об отсутствии полной выравненности аномалий по наличию в популяциях. Величина показателя внутрипопуляционного разнообразия по аномалиям митоза во многом соответствовала степени относительного разнообразия и не достигала максимума, что свиде-

тельствует об отсутствии одинаковых частот событий. Показатели разнообразия свидетельствуют о том, что популяции 524LC, 1YR3.1.1, 1YR3.2, 3LN1 и 31LN являлись наиболее разнообразными и выравненными по аномалиям митоза.

Следует отметить, что патология митоза наблюдается в меристематической ткани и сортов винограда (рис. 2).

Таким образом, в меристематической ткани экспериментальных растений винограда, полученных из стenosпермокарпических семян *in vi-*

Таблица 4. Разнообразие групп экспериментальных растений винограда, полученных из стеноспермокарпических зародышей, по формам патологии митоза и отклонению от диплоидности

Популяция	Разнообразие абсолютное	Мера относительного разнообразия	Показатель внутривидового разнообразия
21YI	0	0	1.00 ± 0.26
524LC	7.0 ± 1.2	0.334 ± 0.032	2.91 ± 0.59
13YA	0.9 ± 2.0	0.156 ± 0.054	1.63 ± 0.89
1YR2.1.1.1	0	0	1.00 ± 0.24
1YR1	1.0 ± 1.3	0.054 ± 0.034	1.41 ± 0.53
1YR3.3	0	0	1.00 ± 0.91
1YR3.1.1	11.0 ± 1.2	0.503 ± 0.031	3.54 ± 0.57
1YR3.2	5.7 ± 1.2	0.262 ± 0.031	3.21 ± 0.58
1YR3.4.2.3	0.9 ± 1.9	0.138 ± 0.051	1.60 ± 0.84
3LN1	15.9 ± 0.7	0.262 ± 0.019	2.91 ± 0.36
31LN	14.2 ± 0.7	0.241 ± 0.020	2.81 ± 0.37

tro, может наблюдаться значительная патология митоза, в частности, полая метафаза, трехгрупповая метафаза, а также гаплоидные, триплоидные и тетраплоидные клетки. Суммарная частота аномалий составила 0.15. В результате исследования полиэмбрионного гибридного потомства винограда выявлена дифференциация в равномерности распределения и приуроченности аномалий митоза к популяциям, обнаружены отличия экспериментальных популяций по разнообразию спектру и выравниванию патологии в митозе. Максимальная степень относительного разнообразия популяций достигала величины 0.503.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю признательность к. б. н. И.А. Павловой за предоставленный растительный материал, О.В. Адибекову – за программное обеспечение, к. б. н. О.Г. Гавришу – за инспирацию данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. М.: Медицина, 1972. 264 с.

Деклар. пат. на полезную модель 14365 Украина, МПК⁷ А01Н 4/00, А01Н 1/00. Способ получения растений винограда от исходных форм с низкой фертильностью (укр.) / Павлова И.А., Клименко В.П. № 10662; заявл. 11.11.05; опубл. 15.05.06, Бюл. № 5.

Калаев В.Н. Цитогенетические реакции листовых древесных растений на стрессовые условия и перспективы их использования для оценки генотоксичности окружающей среды: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Воронеж: Воронежский гос. ун-т, 2009. 46 с.

Клименко В.П. Методические рекомендации по количественной генетике винограда. Ялта: ИВиВ “Магарач”, 1998. 24 с.

Клименко В.П. Научные основы создания исходного материала и выведения новых высокопродуктивных сортов винограда: Автореф. дис. ... доктора сельскохозяйств. наук. Ялта: ИВиВ “Магарач”, 2014. 45 с.

Клименко В.П. Отклонение от диплоидности в клетках меристематической ткани экспериментальных растений винограда, полученных из полиэмбрионных семян // Modern biotechnology of agricultural plants and biosafety: Abstracts of International Scientific Conference. Odessa, Ukraine, Sept. 7–10, 2010. Odessa, 2010. P. 46.

Клименко В.П., Павлова И.А. Распределение редких морф в популяциях *in vitro* экспериментальных растений винограда, полученных из стеноспермокарпических зародышей // Физиология и биохимия культурных растений. 2002. Т. 34. № 5. С. 406–412.

Клименко В.П., Павлова И.А., Студенникова Н.Л. Использование цифровой микроскопии в селекции винограда // Виноградарство и виноделие. 2008. Т. XXXVIII. С. 12–14.

Козак М.Ф. Марченко Н.В. Цитогенетические эффекты воздействия антропогенного загрязнения вод нижней Волги: Монография. Астрахань: Издательский дом “Астраханский университет”, 2008. 116 с.

Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений // Биополимеры и клетка. 1995. Т. 11. № 6. С. 5–40.

Курило Л.Ф. О некоторых механизмах индукции патологических митозов эстрадиолом // Цитология. 1969. № 11(12). С. 1576–1580.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

Марченко А.О., Голодрига П.Я., Клименко В.П., Пивень Н.М. Соматический эмбриоидогенез в культуре ткани винограда // Физиология и биохимия культурных растений. 1987. Т. 19. № 4. С. 408–411.

Медведева М.Ю., Болсуновский А.Я. Спектр хромосомных aberrаций в корневой меристеме *E. canadensis* из районов реки Енисей с разными типами техногенного загрязнения // Экологическая генетика. 2016. Т. XIV. № 2. С. 57–66.

- Рыбин В.А. Применение цитологического метода при селекционной работе с плодовыми. Кишинев: Штиинца, 1962. 168 с.
- Тимофеева О.А., Румянцева Н.И. Культура клеток и тканей растений: Учебное пособие. Казань: изд-во КФУ, 2012. 91 с.
- Топалэ Ш.Г. Полиплоидия у винограда. Кишинев: Штиинца, 1983. 216 с.
- Топалэ Ш. Кариология, полиплоидия и отдаленная гибридизация винограда. Кишинев: Ботанический сад АНМ, НИВиВ, 2011. 560 с.
- Топалэ Ш.Г. Цитологические исследования местных сортов и спонтанно возникших тетраплоидных форм винограда Крыма // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2015. № 3. С. 58–59.
- De Storme N., Mason A. Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance // Current Plant Biology. 2014. № 1. P. 10–33.
- Jásek J., Hrudák J. The electronmicroscopical study of the division of highly vacuolised grapevine callus cells // Biologia Plantarum. 1989. V. 31. № 5. P. 321–326.
- Kalaev V.N., Butorina A.K. Cytogenetic effect of radiation in seed of oak (*Quercus robur* L.) trees growing on sites contaminated by Chernobyl fallout // Silvae Genetica. 2006. V. 55. № 3. P. 93–101.
- Kiselev K.V., Lauve L.S., Tyunin A.P. Chromosome variability in grape (*Vitis amurensis* Rupr.) cells transformed with plant oncogene *rolB* // Russian J. Genetics. 2013. V. 49. № 6. P. 617–622.
- Klymenko V., Pavlova I. Rare morphs into population *in vitro* plants developed from the wild grape embryos // Plant Genetic Resources and Their Exploitation in the Plant Breeding for Food and Agriculture: Book of Abstracts 18th EUCARPIA Genetic Resources Section Meeting. Piešťany, Slovak Republik, 23–26 May 2007. Piešťany, 2007. P. 91–92.
- Korshikov I.I., Lapteva O.V. Cytogenetic abnormalities of the *Pinus pallasiana* D. Don. (Pinaceae) seed germination on iron-ore dump in Kryvyi Rih region // Ukr. Bot. J. 2013. V. 70. № 5. P. 683–688.
- Kuksova V.B., Piven N.M., Gleba Yu. Yu. Somaclonal variation and *in vitro* induced mutagenesis in grapevine // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1997. V. 49. № 1. P. 17–27.
- Pierozzi N.I., Moura M.F. Karyotype analysis in grapevines // Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal – SP. 2016. V. 38. № 1. P. 213–221.
- Pierozzi N.I. Karyotype and nor-banding of mitotic chromosomes of some *Vitis* L. species // Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. 2011. V. Especial. P. 564–570.
- Singh Ram J. Plant cytogenetics / Ram J. Singh. Washington: CRC Press LLC, 2003. 463 p.
- Kopytchuk T.E., Sechnyak A.L. Regularity of mitosis in different varieties of winter bread wheat under the action of herbicides // Analele Universității din Oradea – Fascicula Biologie. 2012. V. XIX. № 1. P. 80–83.
- Tsolova B., Atanassov A. Induction of polyembryony and secondary embryogenesis in culture for embryo rescue of stenospermocarpic genotypes of *Vitis vinifera* L. // Vitis. 1994. V. 33. P. 55–56.
- Viljoen T.A., Spies J.J. Cytogenetical studies of three *Vitis* species // Vitis. 1995. V. 34. № 4. P. 221–224.
- Yang X.M., Cao Z.Y., An L.Z. et al. *In vitro* tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.) // Euphytica. 2006. № 152: 217. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9203-7>.

Pathological Mitosis and Mixoploidy in Meristematic Tissue of Grape

V. P. Klimenko*

The All-Russian National Research Institute for Viticulture and Winemaking “Magarach”
Kirov Str., 31, Yalta, Republic of Crimea, 298600 Russia

*E-mail: vikpaulklim@mail.ru

Received October 26, 2018; revised November 19, 2018; accepted November 26, 2018

The evaluation of the emergence of cells with pathological mitosis and the deviation from diploidy in the meristematic tissue of experimental plants of the genus *Vitis* (Tournef.) Linn. obtained from stenospermocarpic seeds is the aim of this work. The grape plants obtained from crossing seedless varieties with seedless and seed pollinators were the material for cytogenetic research. A total of 11 crosses were made. The cytogenetic analysis was carried out according to the recommended methods for fruit crops and grape. A total of 11039 cells were examined. The pathology of mitosis in the cells of grape plants *in vitro* was observed, in particular, a hollow metaphase, a three-group metaphase and a metaphase with polar chromosomes, as well as haploid, triploid and tetraploid cells. The total frequency of abnormal cells was 0.15. The pathology of mitosis is observed in meristematic tissue of grape varieties as well. The evaluation of emergence of mitotic anomalies in the meristematic tissue of plants was carried out. The correspondence between the actual distribution of the anomalies in experimental populations and the theoretical distribution was determined, as well as the degree of their relative habit to populations, the indices of absolute, relative and intrapopulation diversity. As a result of the study of the polyembryonic hybrid offspring of grapes, differentiation in the equitability of distribution and habit of 5 mitotic anomalies to 11 populations was revealed, differences between experimental populations by diversity were detected. The maximum degree of relative diversity of populations reached a value of 0.503. In general the low relative diversity indicates a lack of complete equalization of anomalies by the presence in the populations.

Keywords: *Vitis*, stenospermocarpy, *in vitro*, cytogenetic analysis, mitosis, hollow metaphase, three-group metaphase, metaphase with polar chromosomes, mixoploidy, diversity