



DOI 10.21178/2079-6080.2022.3.59
УДК 58.085; 634.739.2; 634.738; 634.737

Сравнительный анализ некоторых морфометрических показателей устычного аппарата и содержания хлорофилла у *Rubus chamaemorus* L. с различным уровнем пloidности

© Д.Н. Зонтиков, С.А. Зонтикова, К.В. Малахова

Comparative analysis of some morphometric parameters of the state apparatus and chlorophyll content in *Rubus chamaemorus* L. with different level of ploidy

D.N. Zontikov, S.A. Zontikova, K.V. Malakhova (Kostroma State University)

Studies of the influence of the level of ploidy on the formation of economically valuable traits in agricultural plants have shown that many adaptive abilities are determined by the characteristics of the photosynthetic apparatus. At the same time, at the moment there are no unambiguous characteristics for the correlation between the level of ploidy, in particular, for the content of chlorophyll; this is largely determined by taxon-specific features. Often conclusions are made by researchers on the basis of comparison of plants at different levels of ploidy, while plants belong to different species. In this regard, we set a goal: to analyze some parameters of the photosynthetic apparatus within the same species. The paper presents the results of morphometric indicators of the stomatal apparatus, such as the number of guard cells of stomata and the number of their chloroplasts, as well as the number of photosynthetic pigments in the leaves of haploid, diploid and tetraploid plants *Rubus chamaemorus* L. The results of the study of the number of guard cells of stomata showed that the average values for plants *R. chamaemorus* with a haploid and tetraploid set of chromosomes significantly differ from the control variant: the average number of chloroplasts in the guard cells of stomata in haploid regenerant plants obtained in microspore culture varied from $11,3 \pm 0,80$ to $15,9 \pm 0,20$ pcs, for diploid plants from $19,3 \pm 0,80$ to $23,1 \pm 0,90$ pcs, for tetraploid $25,3 \pm 0,60$ and $28,6 \pm 0,60$ pcs, respectively. The content of photosynthetic pigments (chlorophylls a and b, carotenoids) in haploid plants was consistently

lower than in the control variant and in diploid plants cultivated under laboratory conditions, while in tetraploids it was consistently higher.

Key words: haploid, diploid, stomatal guard cells, tetraploid, chlorophyll, *Rubus chamaemorus*

Сравнительный анализ некоторых морфометрических показателей устьичного аппарата и содержания хлорофилла у *Rubus chamaemorus* L. с различным уровнем пloidности

Д.Н. Зонтиков, С.А. Зонтикова, К.В. Малахова

Исследования влияния уровня пloidности на формирование хозяйственно-ценных признаков у сельскохозяйственных растений показали, что многие адаптивные способности определяются особенностями фотосинтетического аппарата. При этом на данный момент отсутствуют однозначные характеристики по корреляции между уровнем пloidности, в частности, по содержанию хлорофилла; что во многом определяется таксоноспецифичными чертами. Часто выводы делаются исследователями на основе сравнения растений на разных уровнях пloidности, при этом растения относятся к разным видам. В этой связи нами ставилась цель: проанализировать некоторые параметры фотосинтетического аппарата в пределах одного вида. В работе представлены результаты определения морфометрических показателей устьичного аппарата, таких как количество замыкающих клеток устьиц и количество хлоропластов в них, а также количество фотосинтетических пигментов в листьях гаплоидных, диплоидных и тетраплоидных растений *Rubus chamaemorus* L. Результаты исследования количества замыкающих клеток устьиц показали, что средние значения для растений *R. chamaemorus* с гаплоидным и тетраплоидным набором хромосом достоверно отличаются от контрольного варианта: среднее количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у гаплоидных растений-регенерантов, полученных в культуре микроспор, варьировало от $11,3 \pm 0,80$ до $15,9 \pm 0,20$ шт, для диплоидных растений от $19,3 \pm 0,80$ до $23,1 \pm 0,90$ шт, для тетраплоидных $25,3 \pm 0,60$ и $28,6 \pm 0,60$ шт соответственно. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов а и b, каротиноидов) у гаплоидных растений было стабильно ниже контрольного варианта и диплоидных растений, культивируемых в лабораторных условиях, а у тетраплоидов стабильно выше.

Ключевые слова: гаплоид, диплоид, замыкающие клетки устьиц, тетраплоид, хлорофилл, *Rubus chamaemorus*

Зонтиков Дмитрий Николаевич – старший научный сотрудник, доцент каф. биологии и экологии, канд. с-х. наук

E-mail: zontikovdn@mail.ru

Зонтикова Светлана Анатольевна – доцент кафедры биологии и экологии, канд.с-х. наук

E-mail:antennaria@mail.ru

Малахова Ксения Вячеславовна – аспирант кафедры биологии и экологии

E-mail: malakhova.kv1@gmail.com

ФГБОУ ВО «Костромской государственной университет»

156005, Костромская обл., г. Кострома, ул. Дзержинского, 17

Телефон: 8 (494) 231–79–60

Введение

В настоящее время значение растений с измененным уровнем ploидности, которые активно используются в сельском хозяйстве, сложно переоценить. Невозможно представить селекционный процесс без использования гаплоидных растений для таких культур как кукуруза [6], ячмень [11], перец [10]. Практически вся история достижений в сельском хозяйстве — это история полиплоидии. Полиплоидия — главная сила в эволюции диких и селекции культурных растений [21]. Полиплоидные организмы часто проявляют повышенную жизнеспособность и в некоторых случаях превосходят своих диплоидных родственников по различным хозяйственно ценным параметрам.

Морошка приземистая (*Rubus chamaemorus* L.) — ценное ягодное растение, с которым в настоящее время проводится селекционная работа для активного использования новых сортов в качестве плантационной культуры. В её селекции находят применение полиплоидные формы [5], на основе диплоидных форм проводилось формирование гермафродитных и раздельнополюх сортов [17, 20], впервые получены гаплоидные растения данного вида [29]. В настоящее время принято считать, что полиплоидные растения обычно превосходят диплоидные растения с точки зрения морфологии, содержания метаболитов и устойчивости к биотическим или абиотическим стрессам [21], тоже самое можно сказать о фотосинтетической активности, что является доминирующей характеристикой полиплоидных растений [2]. Вместе с тем отмечается, что не всегда высокая интенсивность фотосинтеза в листьях полиплоидных растений объясняется увеличением генетического материала, зачастую это связано с приспособлением и адаптацией в процессе стабилизации генома [25, 26]. Исследования показали, что полиплоидные растения могут иметь более крупные листья, чем диплоиды [23], увеличенный размер устьиц [28], а также содержат больше хлорофилла, чем диплоидные растения [8]. Однако результаты других работ [9, 10, 27] свидетельствуют, что корреляция интен-

сивности фотосинтеза, количества хлорофилла и устьичного аппарата с уровнем ploидности либо не прослеживается, либо зависит от вида растения. Кроме того, на содержание хлорофилла и особенности работы устьичного аппарата влияет множество химических, физиологических и физических факторов [4, 14].

Исходя из описанного выше, нами ставилась цель — сравнить особенности устьичного аппарата и содержания хлорофилла для растений *Rubus chamaemorus* L. разного уровня $1n-2n-4n$ ploидности при одинаковых условиях культивирования.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в 2020–2021 гг. В качестве объектов в экспериментах использовали диплоидные мужские растения *R. chamaemorus* из природных популяций ($2n$), полученные на их основе гаплоидные растения ($1n$), а также тетраплоидный сорт Nubu [24] ($4n$). В работе применялось по 5 экземпляров каждого объекта изучения.

Объекты исследования культивировались в лабораторных условиях. Относительное спектральное распределение и энергетическую освещённость измеряли прибором “Спектрофотометр ТКА” (“ООО Научно-техническое предприятие ТКА”, Россия). Световые стеллажи были оснащены люминесцентными лампами OSRAM L 36W/765 (“OSRAM”, Россия) с интенсивностью излучения 49 мкмоль/с/м^2 .

Гаплоидные растения-регенеранты получали согласно разработанной методике [29]. Подтверждение их гаплоидности проводили прямым подсчетом хромосом в меристемной зоне корня растений-регенерантов. Корни помещали в фиксатор Карнуа [1] и выдерживали в течение суток. После этого промывали в течение 20 мин под проточной водой, помещали в смесь ферментов (0,3 % пектиназы, 0,3 % мацеразы, 0,3 % целлюлазы + цитратный буфер) и инкубировали в течение 2 ч при температуре 37°C . После этого растительный материал на 3 мин помещали в 60 % уксусную кислоту, где материал измельчали препара-

вальной иглой, обводили фиксатором 3:1, встряхивали, промывали в абсолютном спирте, подсушивали, окрашивали метиленовым синим, промывали в дистиллированной воде и подсчитывали число хромосом [1] при помощи светового микроскопа Биомед-3 («Биомед», Россия).

Для подсчета числа замыкающих клеток устьиц и хлоропластов использовали высечки из листьев диаметром 5 мм (5 шт. с каждого растения). Фотоснимки осуществляли фотонасадкой Samsung NX-10 («Samsung», Южная Корея). Экспериментальные данные обработаны при помощи статистического пакета программы «Microsoft Excel 2010» и представлены в виде средних арифметических значений (M) с указанием ошибки среднего ($\pm SEM$) и коэффициента вариации (Cv). Отсутствие достоверности различий средних значений при $P \leq 0,05$ с использованием t -критерия Стьюдента обозначено в таблицах звездочкой.

Пигменты экстрагировали 80 % ацетоном из гомогената листьев весом 200 мг. Содержа-

ние хлорофиллов a, b и каротиноидов определяли спектрофотометрически при помощи прибора Genesys 10 UV-Vis («Termo Electron Corporation», США) используя метод, предложенный Н.К. Lichtenthaler et al. [15], выражали в мг/г сухой массы. Все проводимые эксперименты имели 3-кратную повторяемость. Каждую серию экспериментов выполняли ежемесячно, на протяжении 3-х месяцев. В качестве контроля использовали диплоидные растения, произрастающие в природных условиях.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования количества замыкающих клеток устьиц показали, что средние значения для растений *R. chamaemorus* с гаплоидным и тетраплоидным набором хромосом достоверно отличаются от контрольного варианта (табл. 1). При этом у диплоидных растений, культивируемых как в лабораторных условиях, так и при солнечном освещении, показатели одинаковые.

Таблица 1

Среднее число устьиц в поле зрения микроскопа при увеличении $600\times$ у гаплоидных, диплоидных и тетраплоидных растений *Rubus chamaemorus*

Номер растения	Гаплоидные растения		Диплоидные растения		Тетраплоидные растения	
	$M \pm SEM_{1,2}$	$Cv, \%$	$M \pm SEM_{1,2}$	$Cv, \%$	$M \pm SEM_{1,2}$	$Cv, \%$
Контроль	$14,7 \pm 0,40$	11,3	$15,1 \pm 0,60$	8,1	$15,5 \pm 0,50$	5,4
1	$9,1 \pm 0,50$	12,8	$15,2 \pm 0,30^*$	7,3	$20,1 \pm 0,30$	10,6
2	$10,4 \pm 0,40$	12,3	$13,5 \pm 0,50^*$	8,2	$19,3 \pm 0,70$	13,3
3	$7,9 \pm 0,20$	6,4	$15,4 \pm 0,70^*$	6,3	$17,4 \pm 0,40$	15,1
4	$8,6 \pm 0,50$	7,2	$14,9 \pm 0,20^*$	9,2	$19,6 \pm 0,40$	11,6
5	$8,1 \pm 0,20$	3,3	$16,0 \pm 0,60^*$	10,2	$21,4 \pm 0,30$	12,5

При анализе количества хлоропластов в замыкающих клетках устьиц было установле-

но соответствие между плоидностью и их количеством (табл. 2).

Таблица 2

Среднее число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у гаплоидных, диплоидных и тетраплоидных растений *Rubus chamaemorus*

Номер растения	Гаплоидные растения		Диплоидные растения		Тетраплоидные растения	
	$M \pm SEM_{1,2}$	$Cv, \%$	$M \pm SEM_{1,2}$	$Cv, \%$	$M \pm SEM_{1,2}$	$Cv, \%$
Контроль	$21,6 \pm 0,50$	8,5	$22,2 \pm 0,70$	5,9	$22,1 \pm 0,40$	12,7

Номер растения	Гаплоидные растения		Диплоидные растения		Тетраплоидные растения	
	M ± SEM _{1,2}	Cv, %	M ± SEM _{1,2}	Cv, %	M ± SEM _{1,2}	Cv, %
1	11,3 ± 0,80	9,8	21,2 ± 0,60a	12,4	25,5 ± 0,50	13,2
2	13,4 ± 0,50	14,4	23,1 ± 0,90a	10,2	28,6 ± 0,60	14,5
3	15,9 ± 0,20	15,7	19,3 ± 0,80a	7,8	27,4 ± 0,50	14,3
4	14,6 ± 0,90	7,6	22,6 ± 0,70a	14,0	26,7 ± 0,40	12,1
5	15,1 ± 0,60	8,9	20,7 ± 0,80a	11,4	25,3 ± 0,60	9,0

Было установлено, что среднее количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у гаплоидных растений-регенерантов, полученных в культуре микроспор, варьировало от

11,3 ± 0,80 до 15,9 ± 0,20 шт., для диплоидных растений – от 19,3 ± 0,80 до 23,1 ± 0,90 шт., для тетраплоидных – от 25,3 ± 0,6 до 28,6 ± 0,60 шт. соответственно (рис. 1).

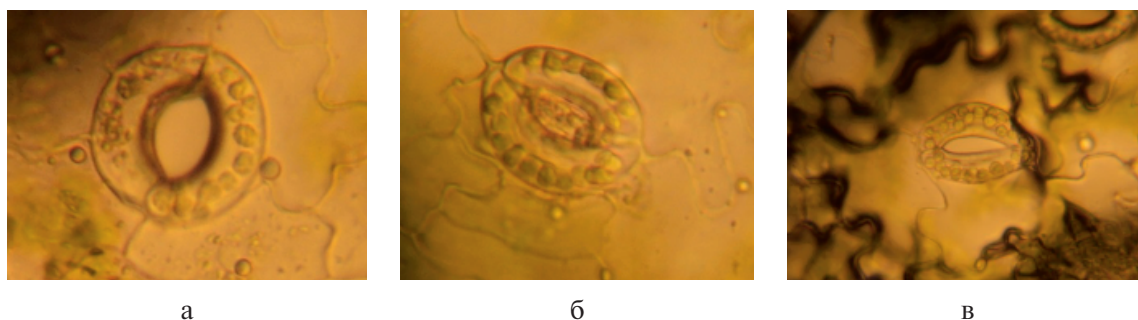


Рис. 1. Хлоропласты в замыкающих клетках устьиц растений *Rubus chamaemorus* разного уровня ploidy: а – гаплоидные, б – диплоидные, в – тетраплоидные

Было установлено соответствие содержания фотосинтетических пигментов в листьях гаплоидных, диплоидных и тетраплоидных растений *R. chamaemorus* уровню ploidy (табл. 3). Большинство показателей гаплоидных и тетраплоидных растений достоверно отличались от

контрольного варианта. При этом содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) у гаплоидных растений было стабильно ниже контрольного варианта и диплоидных растений, культивируемых в лабораторных условиях, а у тетраплоидов стабильно выше.

Таблица 3

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Rubus chamaemorus*

Номер растения	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г	Каротиноиды, мг/г	Отношение Хл <i>a</i> / Хл <i>b</i>	Отношение Хл / Кар
Гаплоидные растения					
Контроль	14,9 ± 1,10	3,8 ± 0,40	4,1 ± 0,20	3,8	4,6
1	9,1 ± 0,80	2,5 ± 0,30	3,2 ± 0,30	3,6	3,6
2	9,7 ± 0,20	3,1 ± 0,20	3,2 ± 0,40*	3,1	4,0
3	10,2 ± 0,40	3,2 ± 0,30*	2,8 ± 0,30	3,2	4,8
4	8,9 ± 0,30	2,4 ± 0,50	2,7 ± 0,10	3,7	4,2
5	9,5 ± 0,20	3,0 ± 0,40	2,9 ± 0,30	3,2	4,3
Диплоидные растения					

Номер растения	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г	Каротиноиды, мг/г	Отношение Хл <i>a</i> / Хл <i>b</i>	Отношение Хл / Кар
Контроль	15,3 ± 0,90	4,0 ± 0,30	3,8 ± 0,40	3,8	5,0
1	14,2 ± 0,80	4,1 ± 0,20*	3,6 ± 0,40	3,4	5,0
2	13,8 ± 0,60	3,8 ± 0,30*	3,8 ± 0,30	3,6	4,6
3	15,0 ± 0,40	3,6 ± 0,20*	4,2 ± 0,50	4,1	4,4
4	14,8 ± 0,30	4,0 ± 0,40*	4,1 ± 0,30	3,7	4,5
5	14,6 ± 0,50	3,9 ± 0,50*	4,2 ± 0,60	3,7	4,4
Тетраплоидные растения					
Контроль	15,7 ± 0,40	3,5 ± 0,50	4,2 ± 0,50	4,4	4,6
1	16,9 ± 0,30	4,2 ± 0,20	5,3 ± 0,40	4,0	3,9
2	17,4 ± 0,60	4,5 ± 0,30	5,2 ± 0,60*	3,8	4,2
3	16,8 ± 0,40	4,3 ± 0,20	4,8 ± 0,40	3,9	4,3
4	16,7 ± 0,30	3,9 ± 0,20*	4,4 ± 0,30	4,2	4,8
5	17,0 ± 0,50	4,4 ± 0,40	4,5 ± 0,60*	3,9	4,7

По результатам одних исследований, проведенных на *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., повышенная ploидность приводит к увеличению размера клеток, их количества и площади листа [16]. По другим данным (на примере *Gossypium hirsutum* L.) – при увеличении размера клеток наблюдается уменьшение их числа [22] (однако в первую очередь это характерно для аллополиплоидов [19]). В нашем исследовании было установлено соответствие ploидности с количеством устьичных клеток, что согласуется с полученными данными для ряда культур.

В настоящее время одним из наиболее простых сравнительных экспресс-методов определения ploидности растений является метод подсчета хлоропластов в замыкающих клетках [3, 18]. Вместе с тем корреляция по количеству хлоропластов и уровнем ploидности не всегда выражена [19]. Для *R. chamaemorus* эта зависимость четко прослеживается.

Исследования, проводившиеся на различных представителях рода *Triticum* и *Secale*, показали, что полиплоиды имеют большее количество фотосинтетических пигментов и обладают большей фотосинтетической способностью [7, 13].

В ходе наших экспериментов наблюдалось сохранение баланса фотосинтетических пигментов, как на гаплоидном, так и тетра-

плоидном уровне. Полученные данные согласуются с результатами Y.E. Chen et al. [7] и M.S. Li et al. [13] относительно увеличения фотосинтетической способности у полиплоидных форм растений.

Заключение

На примере ценного ягодного растения *R. chamaemorus* представлены данные о достоверных различиях фотосинтетической способности, заключающихся в содержании фотосинтетических пигментов и специфике устьичного аппарата растений *1n*, *2n* и *4n* ploидности. Установлена зависимость количества фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов), количества хлоропластов в замыкающих клетках устьиц *R. chamaemorus* и ploидности растений с набором хромосом *1n*, *2n* и *4n*. Среднее количество хлоропластов у гаплоидов составило от 11,3 ± 0,80 до 15,9 ± 0,20 шт., для диплоидных растений – от 19,3 ± 0,80 до 23,1 ± 0,90 шт., для тетраплоидных – 25,3 ± 0,60 и 28,6 ± 0,60 шт. Содержание хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов у гаплоидных растений было достоверно ниже, чем у диплоидных и тетраплоидных растений. Выявленная для вида *R. chamaemorus* зависимость количества хлоропластов и уровня ploидности

позволяет использовать данную видоспецифичную особенность устьичного аппарата в качестве экспресс-метода определения плоидности растений данного вида.

Принципиальная новизна данного исследования заключалась в оценке содержания фотосинтетических пигментов, некоторых морфометрических особенностей устьичного аппарата от гаплоидного до полиплоидного уровня в пределах одного вида, культивируе-

мого в контролируемых условиях. Полученные для исследуемого вида данные могут представлять интерес при селекционном совершенствовании и создании новых сортовых форм *R. chamaemorus*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22–26–20086, (<https://rscf.ru/project/22–26–20086>), и при финансовой поддержке Администрации Костромской области

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Пухальский, В.А. Практикум по цитологии и цитогенетике растений. – М. : КолосС, 2004. – 198 с.
2. Arias, S. Barley / S. Arias, S. K. Bhatia // Medical applications for biomaterials in Bolivia. – 2015. – P. 15–22.
3. Bohanec, B. Ploidy determination using flow cytometry / B. Bohanec, M. Maluszynski, K.J. Kasha, B.P. Forster, I. Szarejko // Doubled haploid production in crop plants: a manual / (eds.). Kluwer, Dordrecht, 2003. – P. 397–403.
4. Borowiak, K. Photosynthetic activity in relation to chlorophylls, carbohydrates, phenolics and growth of a hybrid *Salix purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 at various Zn concentrations / K. Borowiak, M. Gąsecka, M. Mleczeek // Acta Physiologiae Plantarum. – 2015. – № 37. – P. 155. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1904-x>.
5. Carter, K. Target Capture Sequencing Unravels *Rubus* Evolution / K. Carter, A. Liston, V. Bassil, A. Alice, M. Bushakra, L. Sutherland, C. Mockler, W. Bryant, E. Hummer // Frontiers in Plant Science. – 2019. – № 10. – P. 1615. – DOI: 10.3389/fpls.2019.01615.
6. Chaikam, V. Doubled haploid technology for line development in maize: technical advances and prospects / V. Chaikam, W. Molenaar, A.E. Melchinger // Theoretical and Applied Genetics. – 2019. – № 132. – P. 3227–3243. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03433-x>.
7. Chen, Y.E. Comparison of photosynthetic characteristics and antioxidant systems in different wheat strains / Y.E. Chen, Y.Q. Su, C.M. Zhang, J. Ma, H.T. Mao, Z.H. Yang, M. Yuan, Z.W. Zhang, S. Yuan, H.Y. Zhang // Journal of Plant Growth Regulation. – 2017. – № 37. – P. 347–359. – DOI: 10.1007/s00344-017-9731-5.
8. Dong, B. Whole genome duplication enhances the photosynthetic capacity of *Chrysanthemum nankingense* / B. Dong, H. Wang, T. Liu, P. Cheng, Y. Chen, S. Chen // Molecular Genetics and Genomics. – 2017. – № 292. – P. 1247–1256. – DOI: 10.1007/s00438-017-1344-y.
9. Gao, S. Effects of ploidy level and haplotype on variation of photosynthetic traits: novel evidence from two *Fragaria* species / S. Gao, Q. Yan, L. Chen, Y. Song, J. Li, C. Fu // PLoS One. – 2017. – № 12. – P. e0179899. – DOI: 10.1371/journal.pone.0179899.
10. Grozeva, S. Creation of pepper doubled haploids and morphological characterization of androgenic plants / S. Grozeva, V. Todorova, A.N. Nankar // Euphytica. – 2021. – № 217 (113). – P. 1–16. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02840-w>.
11. Jens, W. Barley and Wheat Doubled Haploids in Breeding / W. Jens // Advances in Haploid Production in Higher Plants. – 2008. – P. 179–187. – DOI: 10.1007/978-1-4020-8854-4_15.
12. Ježilová, E. Photosynthetic characteristics of three ploidy levels of *Allium oleraceum* L. (*Amaryllidaceae*) differing in ecological amplitude / E. Ježilová, V. Nožková, M. Duchoslav // Plant Species Biology. – 2015. – № 30. – P. 212–224. – DOI: 10.1111/1442-1984.12053.

13. Li, M.S. Evolutional trends of leaf stomatal and photosynthetic characteristics in wheat evolutions / M.S. Li, C.Y. Wang, J.Q. Song, Y.G. Chi, X.F. Wang, Y.F. Wu // *Acta Ecologica Sinica*. – 2008. – № 28. – P. 5385–5391. – DOI: 10.1016/S1872–2032(09)60010-X.
14. Li, Y. Factors Influencing Leaf Chlorophyll Content in Natural Forests at the Biome Scale / Y. Li, N. He, J. Hou, L. Xu, C. Liu, J. Zhang, Q. Wang, X. Zhang, X. Wu // *Frontiers in Ecology and Evolution*. – 2018. – № 6. – P. 64. – DOI: 10.3389/fevo.2018.00064.
15. Lichtenthaler, H.K. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents / H.K. Lichtenthaler, A.R. Wellburn // *Biochem Soc Trans*. – 1983. – № 11 (5). – P. 591–592. – DOI: <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
16. Marguerat, S. Coordinating genome expression with cell size / S. Marguerat, J. Bähler // *Trends in genetics*. – 2012. – № 28 (11). – P. 560–565. – DOI: 10.1016/j.tig.2012.07.003.
17. Martinussen, I. Development and quality of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) as affected by female parent, male parent and temperature / I. Martinussen, E. Uleberg, G. Mcdougall, D. Stewart, O. Junttila // *Journal of Berry Research*. – 2010. – № 1. – P. 91–101. – DOI: 10.3233/BR-2010–010.
18. Monakhos, S. A relationship between ploidy level and the number of chloroplasts in stomatal guard cells in diploid and amphidiploid *Brassica* species / S. Monakhos, M.L. Nguen, A.V. Bezbozhnaya, G.F. Monakhos // *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*. – 2014. – № 5. – P. 44–54. – DOI: 10.15389/agrobiol.2014.5.44eng.
19. Oberprieler, C. Effects of polyploidy on the coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes in *Leucanthemum* Mill. (*Compositae, Anthemideae*) / C. Oberprieler, M. Talianova, J. Griesenbeck // *Ecology and Evolution*. – 2019. – № 9 (16). – P. 9100–9110. – DOI: 10.1002/ece3.5455.
20. Rapp, K. Breeding cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) for commercial use / K. Rapp, I. Martinussen // *Acta horticulturae*. – 2001. – № 585. – P. 159–160. – DOI: 10.17660/ActaHortic.2002.585.23.
21. Sattler, M.C. The polyploidy and its key role in plant breeding / M.C. Sattler, C.R. Carvalho, W.R. Clarindo // *Planta*. – 2016. – № 243 (2). – P. 281–296. – DOI: 10.1007/s00425–015–2450-x.
22. Snodgrass, S.J. An examination of nucleotypic effects in diploid and polyploid cotton / S.J. Snodgrass, J. Jareczek, J.F. Wendel // *AoB Plants*. – 2017. – № 9 (1). – P. 082. – DOI: 10.1093/aobpla/plw082.
23. Sun, Q. Field performance of vegetative form traits of neopolyploids produced by *in vitro* colchicine treatment in *Pyrus communis* / Q. Sun, H. Sun, R. Bell, L. Li, G. Zhou, L. Xin // *Scientia Horticulturae*. – 2015. – № 193. – P. 182–187. – DOI: 10.1016/j.scienta.2015.06.047.
24. Thiem, B. Flow cytometry analysis of nuclear DNA content in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) *in vitro* cultures / B. Thiem, E. Sliwinska // *Plant Science*. – 2003. – № 164. – P. 129–134. – DOI: 10.1016/S0168–9452(02)00344–8.
25. Vyas, P. Effect of polyploidy on photosynthetic properties and anatomy in leaves of *Phlox drummondii* / P. Vyas, M. Bisht, S.I. Miyazawa, S. Yano, K. Noguchi, I. Terashima, S. Funayama-Noguchi // *Functional Plant Biology*. – 2007. – № 34. – P. 673–682. – DOI: 10.1071/FP07020.
26. Warner, D.A. Effects of polyploidy on photosynthesis / D.A. Warner, G.E. Edwards // *Photosynthesis Research*. – 1993. – № 35. – P. 135–147. – DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00014744>.
27. Xue, H. Comparison of the morphology, growth and development of diploid and autotetraploid 'Hanfu' apple trees / H. Xue, B. Zhang, J. Tian, M. Chen, Y. Zhang, Z. Zhang // *Scientia Horticulturae*. – 2017. – № 225. – P. 277–285. – DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.059.
28. Zhang, X. A protocol for fertility restoration of F1 hybrid derived from *Lilium* × *formolongi* 'Raizan 3' × oriental hybrid 'Sorbonne' / X. Zhang, Q. Cao, G. Jia // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2017. – № 129. – P. 375–386. – DOI: 10.1007/s11240–017–1184–9.

29. Zontikov, D. Influence of growth regulators and nutritional composition on the embryoidogenesis process in *Rubus chamaemorus* L. in micropores *in vitro* culture / D. Zontikov, I. Krinitsyn, S. Zontikova, K. Malakhova, A. Baghizadeh, P. Behroozi, R. Sergeev // BIO Web of Conferences. – 2020. – № 24. – P. 00043. – DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202400100>.

REFERENCES

1. Puhalskij V.A. Praktikum po citologii i citogenetike rastenij. Moskva, 2004, 198 p. (In Russian).
2. Arias S., Bhatia S. K. Barley. *Medical applications for biomaterials in Bolivia*, 2015, pp. 15–22.
3. Bohanec B., Maluszynski M., Kasha K.J., Forster B.P., Szarejko I. Ploidy determination using flow cytometry. *Doubled haploid production in crop plants: a manual* / (eds.). Kluwer, Dordrecht, 2003, pp. 397–403.
4. Borowiak K., Gąsecka M., Mleczek M. Photosynthetic activity in relation to chlorophylls, carbohydrates, phenolics and growth of a hybrid *Salix purpurea* × *triandra* × *viminalis* 2 at various Zn concentrations. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, no. 37, p. 155. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1904-x>
5. Carter K., Liston A., Bassil V., Alice A., Bushakra M., Sutherland L., Mockler C., Bryant W., Hummer E. Target Capture Sequencing Unravels *Rubus* Evolution. *Frontiers in Plant Science*, 2019, no. 10, pp. 1615. DOI: 10.3389/fpls.2019.01615.
6. Chaikam V., Molenaar W., Melchinger A.E. Doubled haploid technology for line development in maize: technical advances and prospects. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, no. 132, pp. 3227–3243. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03433-x>
7. Chen Y.E., Su Y.Q., Zhang C.M., Ma J., Mao H.T., Yang Z.H., Yuan M., Zhang Z.W., Yuan S., Zhang H.Y. Comparison of photosynthetic characteristics and antioxidant systems in different wheat strains. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2017, no. 37, pp. 347–359. DOI: 10.1007/s00344-017-9731-5.
8. Dong B., Wang H., Liu T., Cheng P., Chen Y., Chen S. Whole genome duplication enhances the photosynthetic capacity of *Chrysanthemum nankingense*. *Molecular Genetics and Genomics*, 2017, no. 292, pp. 1247–1256. DOI: 10.1007/s00438-017-1344-y.
9. Gao S., Yan Q., Chen L., Song Y., Li J., Fu C. Effects of ploidy level and haplotype on variation of photosynthetic traits: novel evidence from two *Fragaria* species. *PLoS One*, 2017, no. 12, p. e0179899. DOI: 10.1371/journal.pone.0179899.
10. Grozeva S., Todorova V., Nankar A.N. Creation of pepper doubled haploids and morphological characterization of androgenic plants. *Euphytica*, 2021, no. 217 (113), pp. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02840-w>.
11. Jens W. Barley and Wheat Doubled Haploids in Breeding. *Advances in Haploid Production in Higher Plants*, 2008, pp. 179–187. DOI: 10.1007/978-1-4020-8854-4_15.
12. Ježilová E., Nožková V., Duchoslav M. Photosynthetic characteristics of three ploidy levels of *Allium oleraceum* L. (*Amaryllidaceae*) differing in ecological amplitude. *Plant Species Biology*, 2015, no. 30, pp. 212–224. DOI: 10.1111/1442-1984.12053.
13. Li M.S., Wang C.Y., Song J.Q., Chi Y.G., Wang X.F., Wu Y.F. Evolutional trends of leaf stomatal and photosynthetic characteristics in wheat evolutions. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, no. 28, pp. 5385–5391. DOI: 10.1016/S1872-2032(09)60010-X.
14. Li Y., He N., Hou J., Xu L., Liu C., Zhang J., Wang Q., Zhang X., Wu X. Factors Influencing Leaf Chlorophyll Content in Natural Forests at the Biome Scale. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2018, no. 6, p. 64. DOI: 10.3389/fevo.2018.00064.

15. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. *BiochemSoc Trans*, 1983, no. 11 (5), pp 91–592. DOI: <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
16. Marguerat S., Bähler J. Coordinating genome expression with cell size. *Trends in genetics*, 2012, no. 28 (11), pp. 560–565. DOI: [10.1016/j.tig.2012.07.003](https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.07.003).
17. Martinussen I., Uleberg E., McDougall G., Stewart D., Junttila O. Development and quality of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) as affected by female parent, male parent and temperature. *Journal of Berry Research*, 2010, no. 1, pp. 91–101. DOI: [10.3233/BR-2010-010](https://doi.org/10.3233/BR-2010-010).
18. Monakhos S., Nguen M.L., Bezbozhnaya A.V., Monakhos G.F. A relationship between ploidy level and the number of chloroplasts in stomatal guard cells in diploid and amphidiploid *Brassica* species. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 2014, no. 5, pp. 44–54. DOI: [10.15389/agrobology.2014.5.44eng](https://doi.org/10.15389/agrobology.2014.5.44eng).
19. Oberprieler C., Talianova M., Griesenbeck J. Effects of polyploidy on the coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes in *Leucanthemum* Mill. (*Compositae*, *Anthemideae*). *Ecology and Evolution*, 2019, no. 9 (16), pp. 9100–9110. DOI: [10.1002/ece3.5455](https://doi.org/10.1002/ece3.5455).
20. Rapp K., Martinussen I. Breeding cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) for commercial use. *Acta horticulturae*, 2001, no. 585, pp. 159–160. DOI: [10.17660/ActaHortic.2002.585.23](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.585.23).
21. Sattler M.C., Carvalho C.R., Clarindo W.R. The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta*, 2016, no. 243 (2), pp. 281–296. DOI: [10.1007/s00425-015-2450-x](https://doi.org/10.1007/s00425-015-2450-x).
22. Snodgrass S.J., Jareczek J., Wendel J.F. An examination of nucleotypic effects in diploid and polyploid cotton. *AoB Plants*, 2017, no. 9 (1), pp. 082. DOI: [10.1093/aobpla/plw082](https://doi.org/10.1093/aobpla/plw082).
23. Sun Q., Sun H., Bell R., Li L., Zhou G., Xin L. Field performance of vegetative form traits of neopolyploids produced by *in vitro* colchicine treatment in *Pyrus communis*. *Scientia Horticulturae*, 2015, no. 193, pp. 182–187. DOI: [10.1016/j.scienta.2015.06.047](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.06.047).
24. Thiem B., Sliwinska E. Flow cytometry analysis of nuclear DNA content in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) *in vitro* cultures. *Plant Science*, 2003, no. 164, pp. 129–134. DOI: [10.1016/S0168-9452\(02\)00344-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00344-8).
25. Vyas P., Bisht M., Miyazawa S.I., Yano S., Noguchi K., Terashima I., Funayama-Noguchi S. Effect of polyploidy on photosynthetic properties and anatomy in leaves of *Phlox drummondii*. *Functional Plant Biology*, 2007, no. 34, pp. 673–682. DOI: [10.1071/FP07020](https://doi.org/10.1071/FP07020).
26. Warner D.A., Edwards G.E. Effects of polyploidy on photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 1993, no. 35, pp. 135–147. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00014744>.
27. Xue H., Zhang B., Tian J., Chen M., Zhang Y., Zhang Z. Comparison of the morphology, growth and development of diploid and autotetraploid 'Hanfu' apple trees. *Scientia Horticulturae*, 2017, no. 225, pp. 277–285. DOI: [10.1016/j.scienta.2017.06.059](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.06.059).
28. Zhang X., Cao Q., Jia G. A protocol for fertility restoration of F1 hybrid derived from *Lilium* × *formolongi* 'Raizan 3' × oriental hybrid 'Sorbonne'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2017, no. 129, pp. 375–386. DOI: [10.1007/s11240-017-1184-9](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1184-9).
29. Zontikov D., Krinitsyn I., Zontikova S., Malakhova K., Baghizadeh A., Behroozi P., Sergeev R. Influence of growth regulators and nutritional composition on the embryoidogenesis process in *Rubus chamaemorus* L. in micropores *in vitro* culture. *BIO Web of Conferences*, 2020, no. 24, pp. 00043. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202400100>.

Статья поступила в редакцию 13.07.2022