

УДК 634.8+631.52+581.167

UDK 634.8+631.52+581.167

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
АВТОПОЛИПЛОИДИИ У ВИНОГРАДА**

**GENETIC METHODS OF
AUTOPOLYPLOIDY OF GRAPES**

Кулиев Варис Мухтар оглы
к.б.н.

Kuliyev Varis Mikhtar
Cand. Biol. Sci.

*Зав. лаб. генофонда винограда Института
Биоресурсов Нахичеванского Отделения НАН
Азербайджана. г.Нахчыван, Азербайджанская
республика*

*Chief of Lab. of grape genetic fund of Institute
of Bioresources of Nakhchivani Autonomous
Republic, Republic of Azerbaijan*

В статье изложены различные генетические способы исследований: митотические и мейотические автополиплоидии винограда. Указаны основные морфо-диагностические признаки автополиплоидов. У винограда новые формы и сорта достаточно легко могут образоваться с помощью геномных мутаций. Экспериментальная полиплоидия использованная на винограде приводит к функциональным изменениям, которые способствуют повышению жизнеспособности и устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. У винограда существенное повышение таких важных генетических признаков, как высокоустойчивость к неблагоприятным экологическим факторам, болезням и вредителям, сверхраннеспелость, бессемянность, высокоурожайность с куста, усиление сахаронакопления в ягодах и биоактивных веществ в сусле и т.д., возможно решить лишь при переходе на новую ступень пloidности

There are materials about different genetic methods of metotical and meiotic autopolyploid of grapes in the article. Main morphodiagnostical signs of autopolyploids in it are pointed. New forms and varieties of grape may easily form with the help of genomic mutation. The experimental polyploid on grape leads to functional changes, which helps to become aliveness and stable in bad environment. The increasing of such kind of main genetic signs in grape, as high stable to bad ecological facts, illness and insects, high growing, seedless, high productive from bush, becoming sugar gather in fruits and bioactive elements in juice, etc., so it is possible to solve it only in moving to the new level of ploidy

Ключевые слова: ИНДУЦИРОВАННАЯ АВТОПОЛИПЛОИДИЯ, МЕЙОЗ, МИТОЗ, АВТОТЕТРАПЛОИДИЯ, ХРОМОСОМЫ, ГЕНОМ, ГАМЕТЫ, МАКРОМУТАЦИЯ, МУТАЦИЯ, КАРИОТИП, СПОНТАННОСТЬ, СОРТ, ЛИСТ, ГРОЗДЬ, УРОЖАЙНОСТЬ, ЯГОДА, ПОБЕГ

Keywords: INDUCED AUTOPOLYPLOID, AUTOTETROPLOI, SORT, MITOSIS, MEIOSIS, CHROMOSOMES, GAMETS, MACRO MUTATION, GENOME, MUTATION, LEAF, CAREOTIC, SPONTANEOUS. BUNCH, ARM

Автополиплоидия представляет собой многократное повторение одного и того же генома, или основного числа хромосом (x). Вопросы автополиплоидии, как одной из важных проблем теории и практической селекции возделываемых культур, интенсивно разрабатываются в настоящее время, как в плане исследований проблем эволюции, так и в целях управления наследственностью при создании новых комплексно-устойчивых сортов. Изменчивость генома это фундаментальное свойство

живых организмов. До сих пор селекционерами накоплено много экспериментальных данных по изменчивости генома растений, прежде всего число хромосомного набора и установлены основные факторы эволюции их кариотипа. Вопросы эволюции и селекции возделываемых культур на основе полиплоидии были рассмотрены во многих работах ряда авторов (2, 4, 23, 24).

Эволюция внутри семейства *Vitaceae* вероятно, также связана с процессами анеуплоидии и полиплоидизации. В этом семействе происходит длительная и сложная эволюция, что подтверждается наличием многообразия форм и разными уровнями их развития (22). Представители семейства *Vitaceae* по литературным данным, имеют разное число хромосом ($2n = 22; 24; 26; 30; 38; 40; 44; 52; 60; 66; 66; 80; \text{ и } 96$). Кроме того, хромосомы каждого вида, вероятно, имеют специфическое внутреннее строение т.е. отличаются по общему количеству генов и их линейному расположению. Известно, что некоторые естественные и искусственные макромутации - полиплоиды у сельскохозяйственных культур обладают большой устойчивостью к действию неблагоприятных факторов и хорошей урожайностью. Основные продовольственные культуры являются полиплоидами. Использование их в селекции с целью получения новых сортов весьма оправдано (10, 11).

Внимание на полиплоиды у винограда обращено сравнительно недавно, тем не менее, в этой области уже достигнуты определенные успехи. Постоянство кариотипа винограда и соответственно, его геномной формулы поддерживается с помощью точных механизмов митоза и мейоза. Однако в ряде случаев наблюдается изменение кариотипа, которое в большинстве случаев обусловлено нерасхождением хромосом в митозе или мейозе. Спонтанно и экспериментально у винограда новые формы и сорта достаточно легко могут образовываться с помощью генных – микромутаций и геномных – макромутаций. Макромутация как у других

растений играет важную роль в эволюции и селекции *Vitis vinifera* L. Она является одним из источников изменчивости и определенным фоном для реализации генетического материала (6, 8, 12, 21).

Большинство известных полиплоидных форм винограда возникло спонтанно во многих местах. Выделение полиплоидных форм проводилось различными исследователями визуально по морфологическим признакам ягод и гроздей. Спонтанные мутанты, как правило, характеризовались увеличенным размером гроздей, ягод, листьев, утолщенными побегами и укороченными междоузлиями (9, 25, 31). Только небольшая часть из них получена экспериментальным путем (3, 7, 16, 18, 26).

Вопросы экспериментальной полиплоидии у винограда широко разрабатываются в НИИВиВ «Магарач». На различных сортах винограда – Ркацители, Рубиновый Магарач, Бастардо Магарачский, Жемчуг Саба, Халили белый, Мускат белый, Хндогны, Шабаш с использованием различных методик, в частности, обработки колхицином различных органов винограда (распускающиеся почки, семена, проростки, точки роста на разных стадиях развития и др.) получено большое количество полиплоидов и миксоплоидов, которые представляют определенный интерес для селекции. Установлено, что семенное и вегетативное потомство индуцированных колхицином миксоплоидных форм характеризуется измененными признаками, которые наследуются в поколениях. Полученные колхиплоидные формы винограда успешно используются в скрещивании с целью получения триплоидных форм. Так от скрещивания диплоида ($2n=38$) Ката Курган с спонтанным тетраплоидом ($2n=76$) Шасла гро куляр белая получена триплоидная форма ($2n=57$), под названием Поливитис Магарач (14). Получение тетраплоидных форм винограда – многообещающее поле деятельности селекционера. Удвоение числа хромосом у диплоидных форм винограда сопровождается, как правило, различными морфологическими

изменениями, в том числе, увеличением число ягод, гроздей, что является весьма полезным признаком. Кроме того, полиплоидизация является действенным методом преодоления стерильности. Вот почему, наряду с работами по обнаружению спонтанных тетраплоидных мутантов винограда проводится ряд исследований по экспериментальному их получению.

Из применяющихся методов индуцирования полиплоидии у винограда, также как по другим растениям, наибольшее распространение получила обработка колхицином, специфическое действие которого было описано еще в 1937 г. A Blakeslee, A Avery. Среди первых работ, в которых кроме спонтанной описывается и индуцированная полиплоидия у винограда, надо назвать исследования Qustaf de Lattin (28). H Dermen (30), используя свой метод колхицинирования, вызвал полиплоидию у 10 сортов и селекционных линий летнего винограда *V. aestivalis*, 1 сорта *V. vinifera* и 16 сортов мускатного винограда *V. rotundifolia*. P.Lelakis (33), используя метод H.Dermen колхиплоидии с некоторыми изменениями, получил тетраплоиды и миксоплоиды у 9 из 10 сортов *V. Vinifera* L. Работы по индуцированию полиплоидии у винограда были проделаны A. Gargiulo (27), M. Neagu, V. Lepadatu (24), P. Das, S. Mukherjee (29) и др.

Из других методов экспериментальной полиплоидии надо отметить исследования В. Фгу, который проводил индуцирование тетраплоидии у *V. rotundifolia* при помощи гамма-излучения (32). У тетраплоидного винограда наряду с положительными, зачастую возникают и отрицательные признаки. На основе большой селекционной работы H.Olmo пришел к выводу о возможности элиминирования нежелательных свойств, связанных с тетраплоидией, используя методы скрещивания и селекции (34. 35).

Кулиевым В.М. при обработке наклюнувшихся семян 0,1-0,5%-ным водным раствором колхицина при 24; 48; 72 часовой экспозиции были

получены автотетраплоидные и миксоплоидные формы винограда, которые доведены до плодоношения (15, 17, 19, 20). Большую работу по выявлению спонтанных полиплоидов у сортов винограда с последующим их изучением в морфологическом и цитогенетическом аспектах провёл Ш.Г. Топале (22). Разработке теоретических и практических основ экспериментальной полиплоидии у винограда особенно послужили селекционные работы П.Я.Голодрига и Л.К.Киреевой (5, 13)

Многолетние исследования по изучению полиплоидии у винограда позволяют нам обобщить данные по наиболее эффективным способам индуцирования процесса полиплоидизации, методам их выявления и результатам цитологических изменений, наблюдаемых в соматических клетках. В мировой практике основные генетические пути получения колхиплоидных форм у винограда, существующими методами для создания новых сортов с различными биоморфологическими и хозяйственно-технологическими признаками указаны в схеме 1. Из схемы видно, что колхиплоидные формы у винограда, полученные при воздействии колхицина на проростки, почки и семена имеют в основном химерное строение, в связи чем для получения новых сортов над ними требуется провести трудную и длительную селекционную работу. Поскольку работы по изучению полиплоидии являются весьма перспективным, считаем целесообразным остановиться более подробно на различных экспериментальных методиках по автополиплоидии у винограда.

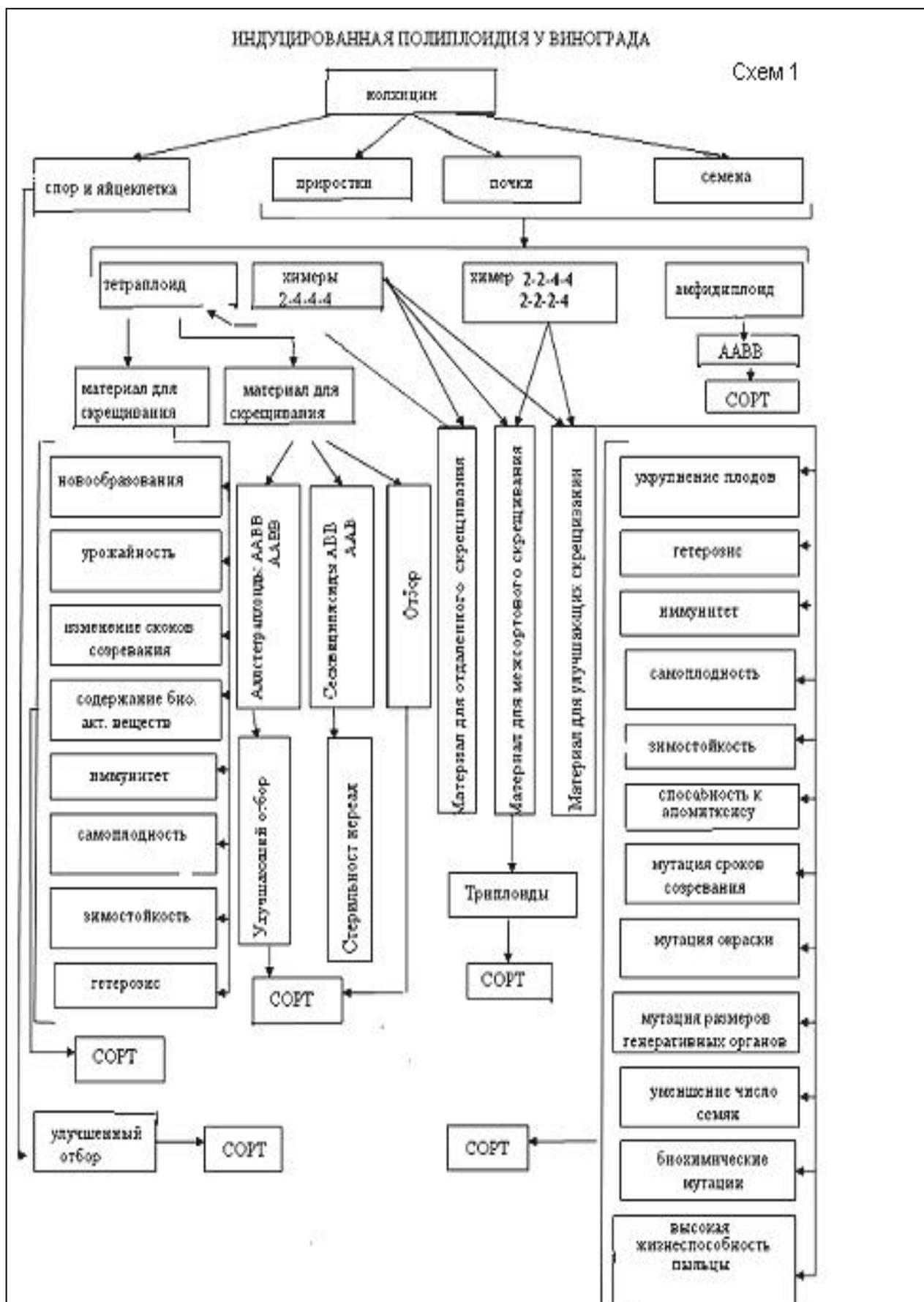


Схема 1. Генетические пути индуцирования полиплоидии у винограда

По экспериментальным данным автополиплоиды у винограда, как у других растений могут образоваться следующим образом; 1) Митотические: а) *спонтанные*; в) *индуцированные*: 2) Мейотические: а) *индуцированные*: 3) Слияния клеток: а) *при геномной инженерии*:

1. Методики митотической автополиплоидии:

В селекции винограда для экспериментального получения полиплоидных форм практически все используемые методы основаны на влиянии мутагенных факторов на активно делящиеся соматические клетки. В опытах у винограда по индуцированию митотических автополиплоидов использовались различные методы, дозы, экспозиции и концентрации колхицина при его воздействии. Ниже проводим описание основных генетических способов автотетраплоидии у винограда.

Обработка по методу Н Дermen (1954): Заготовленные трёхглазковые черенки высаживаются в ящиках, с питательной средой 6:3:1 почва + песок + навоз, две почки над землей, одна в земле в условиях оранжереи. После распускания побегов из выросших двух побегов оставляется самый сильный, а второй удаляется. Когда оставшийся зелёный побег достигает 15 см длины, верхние три почки оставляют, остальные нижние, а также самый кончик побега удаляется. Для лучшего удержания капли на почки устанавливаются ватные тампоны. Капли раствора наносятся на оставшиеся почки 4-кратно, один раз в два дня, ранним утром и ранним вечером. Применяется колхицин концентрации в 0,05 - 0,5 % с добавлением 10 % глицерина для создания условий меньшего высыхания. На 20 мл. раствора колхицина с глицерином добавляется один кристалл тимола (1-2 мм³) в целях предохранения от развития микроорганизмов;

Обработка по методу P Lelakis (1957): Отличается от предыдущего метода некоторой подготовкой саженцев. При достижении побега, выросшего из укорененного черенка, длины 15-20 см верхушка и нижние почки удаляются, оставляя верхние 4. Для облегчения проникновения раствора колхицина верхушки оставшихся почек удаляются тонкими хирургическими ножницами. Спустя 4 дня после подготовки растения на каждую почку наносится одна капля соответствующего раствора. В исследованиях используются концентрации 0,1- 0,5 % водного раствора колхицина. Обработка проводится трёхкратная (вторая через 2 дня после первой, третья через 3 дня после второй). Такая последовательность обуславливается тем, что первые капли колхицина всасываются быстрее, а последующие медленнее. Для лучшего удержания капли также накладываются ватные тампоны, а для усиления развития обработанных почек спустя 2-3 дня после последней обработки удаляются все листья растения. После этого побеги обрезают, укореняют, получают новые саженцы;

Обработка семян: а) Заранее заготовленные, стратифицированные, надтреснувшие семена винограда в чашках Петри погружаются в водный раствор колхицина в концентрациях 0,05 - 0,5 %. Время воздействия при этом 12, 24, 48 и 72 часов. После воздействия семена промываются в проточной воде в течение 30 минут и высаживаются в ящиках и получают новые сеянцы. Всхожесть семян зависит от концентрации и экспозиции колхицина, а также от генотипа растения.

в) На наклюнувшиеся семена в чашках Петри воздействуют 0,1 - 0,5 %-ним водным раствором колхицина при 24, 28 и 72 часовой экспозиции. После этого семена промываются в проточной воде в течение 30 минут и высаживаются в ящики, подготовленные заранее. Полученные сеянцы на следующий год пересаживаются в открытый питомник и в дальнейшем проводятся отборочные работы. Исследования проводятся по 4 варианта, в

4-х повторностях (рис. 1, 2, 3);



Рис. 1. трехлетний сеянец ($2n=76$).

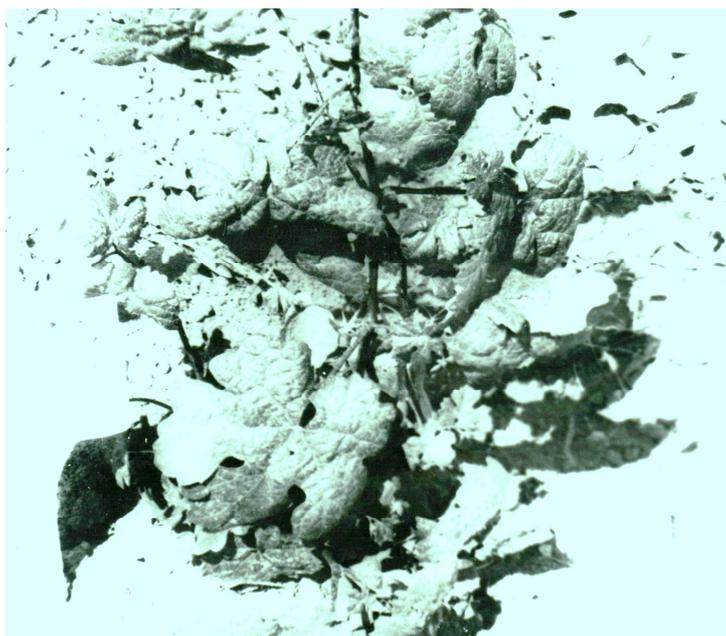


Рис. 2 трехлетний сеянец ($2n=38; 76$).

Обработка сеянцев в семядольном состоянии:

Стратифицированные семена выращиваются в песке. Исследования проводятся с теми сеянцами у которых, семенная кожура не спала с семядолей. Когда длина корешка позволяет складываться их в пучки по 15-20 шт. их заворачивают во влажную марлю для предотвращения подсыхания. Пучки переворачивается (верхняя часть сеянцев должна быть на одном уровне) и погружают семядолями в стаканчик с чистым раствором колхицина, в эксикаторе, в тепличных условиях при температуре +28-30⁰С. Концентрация раствора 0,1 - 0,5 %, время воздействия 12, 24 часа. Затем сеянцы надо промыть в проточной воде и высадить в легкую почву на небольшую глубину. После данной обработки сеянцы особенно чувствительны к условиям выращивания.

В вариантах обработки семян и сеянцев в семядольном состоянии после их высадки в некоторых случаях дополнительно в течение 10 дней (1 раз в два дня) наносятся капли раствора колхицина тех же концентраций, но с добавлением глицерина. При этом эффект полиплоидизации усиливается;

Обработка молодых сеянцев: На точки роста высаженных новых сеянцев накладываются ватные тампоны. На точки роста сеянцев наносят каплю колхицина (ранее утром и вечер) в концентрациях 0,01 - 0,5% водного раствора. Число сеянцев берется по 100 шт. в 4^x повторностях. Обработка проводится через день в семядольном состоянии до возраста образования 2 – 3 листочков. Далее по морфологическим диагностическим признакам проводится отбор и селекционные работы;

Обработка пазушных почек однолетних побегов взрослого растения: На кустах плодоносящих растений в конце июня, в период интенсивного роста, проводится усиленная обрезка с оставлением ограниченного количества зеленых побегов, 5 верхних пазушных почек оставляют, остальные, а также точки роста и все листья удаляются. На

почки накладываются ватные тампоны, В течение 10 дней (один раз в два дня) пипеткой наносят раствор колхицина в 10 %-ном глицерине. В каждом варианте используется 10 кустов. Рабочая концентрация от 0,25 до 1,0 % водного раствора колхицина. В конце вегетации обработанные побеги обрезают и укореняют и среди полученных саженцев проводится отбор для выделения полиплоидов;

Обработка глазков: Весной на кустах проводится усиленная обрезка с оставлением ограниченного количества глазков. Перед их распусканием на каждый глазок накладывается желатиновая капсула, наполненная 0,5 - 0,1% раствором колхицина с добавлением 0,60 - 0,65 % раствора агар-агара, или 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина. Желатиновая капсула прикрепляется к побегу обкручиванием ватой. Капсула оставляется на побеге до подсыхания содержимого. Если прорастание глазка задерживается, тогда капсула обновляется. В связи с тем, что главные и замещающие почки глазка с зачатками разных органов образуются в предыдущем вегетационном сезоне, Данный метод может дать образование большого количества миксоплоидных тканей.

2. Методика мейотической автополиплоидии

Методика индуцированной автополиплоидии на стадии гаметогенеза (Кулиев В.М. 2010): Эксперименты начинаются накануне фазы цветения в период формирования бутонов. Начало деления мейоза. т.е. появление гамет в бутонах можно визуально определить по белым верхушкам бутонов. При белении кончиков бутонов готовятся 0,01- 0,5 % водные растворы колхицина, Соответствующие растворы хранятся в колбах, завернутых в черную бумагу. Каждый плодородный побег виноградных сортов, который подвергается испытанию, режется острым ножом по середине верхней части междоузлия, после почки, где находятся соцветия, до начала фазы цветения (рис.3). На эту часть надевается специальная медицинская резиновая трубка, соответствующая диаметру

отростка. На верхнюю часть резиновой трубки в вертикальном положении присоединяется воронка специальной формы, в объеме 25 мл. В день беления кончиков бутонов в воронки наливаются по вариантам 0,01; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5 % водного, заранее приготовленного раствора колхицина. В контрольных вариантах используется обычная вода. В ходе исследований при необходимости добавляются соответствующие растворы. Для того, чтобы раствор в воронке не выпарился верхний край воронки прикрывается фильтром. Опыты проводятся в 5 вариантах по каждой концентрации по 3-5 соцветиям в каждом варианте. Для хорошего оплодотворения и определения процента завязывания ягод оставляется 400-450 бутонов, а остальные бутоны удаляются пинцетом. Исследования начинаются за 3-5 дней до цветения и останавливаются после раскрытия 100%-ного бутонов. В ходе исследования используется соцветия из среднего яруса виноградной лозы. В процессе исследований, чтобы повысилась всасывание мутагенного вещества, орошение испытываемых сортов целенаправленно задерживается. В ходе исследований установлено, что соответствующие водные растворы колхицина хорошо всасываются соцветиями. Для каждого соцветия расходуется около 25-50 мл раствора колхицина. Морфологические изменения в строениях андроеца и геницея не наблюдается. Механизм первичного влияния колхицина наблюдается с некоторыми нежелательными последствиями (увеличение спада цветков, потемнение в нижней части соцветия). В контрольных вариантах такие последствия не наблюдались. Оплодотворение в соцветиях осуществляется при само и свободном опылении.

После окончательного физиологического созревания ягоды по вариантам собираются, извлекаются семена и высушиваются. В начале весны их высаживают в ящики с питательной средой (почва + песок + навоз = 6:3:1) и обеспечивают нормальный агротехнический уход. На следующий год новые сеянцы пересаживаются в открытый селекционный

питомник и проводится отбор автотетраплоидов по морфологическим диагностическим признакам, цитологическим и гисто-анатомическим анализом.



Рис. 3. Способ влияния различных концентраций водного раствора колхицина на соцветия винограда

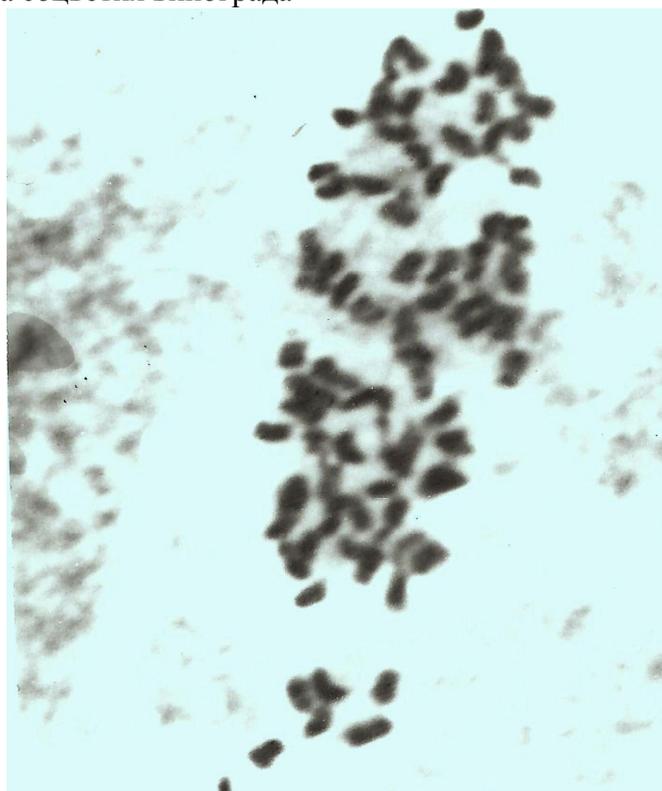


Рис. 4. Метафазная пластинка автотетраплоидов Н. 81-18/15 ($2n=76$)



Рис.5. Гроздь автотетраплоидов Н. 81-18/15 ($2n=76$)

3. Геномная инженерия в среде *in vitro*

Слияние клеток: Развитие ряда новых методических приемов привело к расширению возможностей генетической инженерии на клеточном уровне. Определяющую роль сыграл метод гибридизации соматических клеток. Эксперименты по слиянию клеток коснулись и селекции винограда. Оказалось возможным получать протопласты клеток винограда, обрабатывая в гипертонической среде клетки мезофилла ферментами пектиназой и целлюлазой, действующими на

соединительные части клеточных оболочек. При слиянии клеток разных видов и сортов получают соматические автополиплоидные гибриды. Для генетической инженерии виноградных клеток этот путь открывает большие теоретические и практические перспективы.

Для определения числа хромосом у мутантов винограда была разработана специальная методика проф. Ю. М. Агаевым (1).

Некоторые морфо-диагностические признаки автополиплоидов:

Постоянство кариотипа винограда и соответственно, его геномной формулы поддерживается с помощью точных механизмов митоза и мейоза. Однако в ряде случаев наблюдается изменение кариотипа, которое в большинстве случаев обусловлено нерасхождением хромосом в митозе или мейозе. Это вызывает, как правило, морфологические изменения, выражающиеся в увеличении отдельных органов и общего габитуса виноградной лозы. Наблюдается также качественные или специфические морфологические изменения формы, имеющиеся для диагностики автополиплоидии:

- *По морфологическим признакам листа* - увеличение параметров, окраска поверхности более темно-зеленая, листовая пластинка менее рассеченная, иногда целая, закрытая черешковой выемкой, более толстые пластинки и жилки. Отмечено увеличение числа устьиц и размер их;

- *По размерам генеративных органах* - увеличение размеров бутонов, частей цветка, пыльников, тычиночной нити, завязи и пыльцевых зерен, снижение их фертильности;

- *По размерам гроздей, ягод и семян* – укрупнение и утолщение размеров гроздей, гребней, ягод и семян, грозди более плотные.

Однако, эти морфологические признаки служат только для выявления и предварительного отбора индуцированных автополиплоидов. Единственный достоверный критерий – это цитологический анализ мутантов.

Заключение: При выборе того или иного метода необходимо учитывать, что полиплоидизирующее действие колхицина зависит от концентрации колхицина, продолжительности обработки, генотипа, а также всхожести и выживаемости семян;

Полиплоидия возникает только в тканях с активным делением. Поэтому условия до, во время и после обработки должны быть оптимальными, при температуре + 27-30⁰С, влажности 75-90 %, необходимо хорошее освещение и питательная среда. Это усиливает жизнедеятельность организма;

Полиплоидизация у винограда возникает только в тканях с активным делением. При митотическом методе формы винограда, полученные воздействием колхицина на проростки, почки и семена имеют, в основном, химерное строение, что усложняет работу при получении новых сортов, при этом требуется провести трудную и длительную селекционную работу в течение нескольких лет;

Расхимеривание мутантов является неотъемлемой частью в селекционной работе по индуцированию митотической автополиплоидии у винограда;

Истинные автотетраплоидные формы у винограда можно получить, только из семян. Поэтому, мейотический метод автополиплоидии более выгоден для проведения селекционных работ на полиплоидном уровне. В ходе исследования проявление новых качественных и количественных хозяйственно ценных показателей, обладающих положительными трансгрессивными признаками с полигенной наследственностью на полиплоидном уровне, актуализирует проведение селекционных работ на этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаев Ю.М. Способ окрашивания хромосом растений. Авт. свидет. 812240 [СССР]. Бюлл. Изобр., № 10, 1981.
2. Ахундова Э.М., Джавадова Л.Г., Кулиев В.М. Изучение количественных и структурных изменений генома у индуцированных диплоидных, миксоплоидных и тетраплоидных форм винограда / Тез. докл. IV респ. научно-техн. конференции: Химия в сельское хозяйство. Баку, 1989, с. 276-277.
3. Волюнкин В.А., Зленко В.А., Лиховской В.В. Селекция винограда на бессемянность, крупногодность и раннеспелость на полиплоидном уровне / Виноградарство и виноделие. Сб. научных трудов. Ялта, 2009, с. 9 – 13.
4. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия растений. К., 1984. - 160 с.
5. Голодрига П.Я. Топале Ш.Г. Экспериментальное получение тетраплоидных форм у некоторых сортов винограда. / Мат.3-й Всес. совещ. по полиплоидии 15 – 16 декабря 1970, тез. докл. Минск, с. 162 – 163.
6. Голодрига П.Я., Киреева Л.К. Методы получения и идентификация полиплоидных форм у винограда / Мат. 4-й Всес. совещ. по полиплоидии. Киев, 1976, с. 35 – 36.
7. Голодрига П.Я. Топале Ш.Г. Экспериментальное получение тетраплоидных форм у некоторых сортов винограда. // Мат.3-й Всес. совещ. по полиплоидии 15 – 16 декабря 1970, тез. докл. Минск, с. 162 – 163.
8. Голодрига П.Я., Киреева Л.К. Некоторые количественные и качественные изменения при полиплоидизации сортов вида *V. Vinifera* L. / Генетика и селек. Колич. Признаков, Наукова Думка, Киев, 1976, с. 151-157.
9. Голодрига П.Я. Коробец П.В., Топале С.Г. Спонтанные тетраплоидные мутанты винограда // Цитология и генетика. Том IV, № 1, Киев, 1970, с. 24-30.
10. Дубинин Н.П. Генетика. Кишинев: Штиинца, 1985, с. 272 - 288.
11. Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: Наука, 1986, с. 33 – 49.
12. Коробец П.В. Крупногодные разновидности Рислинга и Шабаша в Крыму // Виноделие и виноградарство СССР, 4, 1968, с. 55-56.
13. Киреева Л.К., Голодрига П.Я. Генетические методы и пути создания полиплоидов винограда. / Мат. 4-й Съезд генетиков и селекционеров Украины, ч., с. 42-44.
14. Киреева Л.К., Новикова В.М. Полиплоидия и искусственный мутагенез – действенные методы обогащения генофонда вида *Vitis vinifera* L. Повышение урожайности винограда и улучшение качества винограда – виноделической продукции / Труды ВНИИВиВ «Магарач», т. XV111, Киев, 1976, с. 76 – 84.
15. Кулиев В.М. Ахмедова Ш.М. Шириева Л. А. Цито-анатомические особенности тетраплоидных форм винограда // Известия АН Азербайджанской ССР, сер. биол. наук. 1986, №1, с. 54 – 58.
16. Кулиев В.М. Индуцированная мейотическая автополиплоидия у винограда / Материалы XVIII международного симпозиума. Симферополь, 2009, с. 340-345.
17. Кулиев В.М. Использование индуцированных тетраплоидных форм в селекции винограда // Вестник сельскохозяйственной науки М.1991, № 2 [413], с.150-151.
18. Кулиев В.М. Индуцированная мейотическая автополиплоидия винограда на стадии гаметогенеза // Виноделие и виноградарство. М. 2010. № 1, с. 46-47.

19. Кулиев В.М. Использование индуцированных тетраплоидных форм в селекции винограда // Вестник сельскохозяйственной науки М. 1991, № 2 (413), с.150-151.
20. Кулиев В.М. Получение полиплоидных форм винограда путем колхицинирования // Известия АН Азербайджанской ССР, сер. биол. наук. 1985, №4, с. 91 – 97
21. Малтабар Т.В., Якимов Л.М., Гузун Н.И., Прикоп Ю.Г. Дехимеризация сеянцев винограда, выросших из семян, обработанных ионизирующими излучениями и химическими мутагенами / Тез.докл. всес. конф. по исполь.. радиац.. техн. в сельском хозяйстве. Кишинев, 1972 т.1, с. 78-79.
22. Топале Ш.Г. Полиплоидия у винограда. Кишинев: Шитинца, 1983, 214 с.
23. Хесин З.Б. Непостоянство генома. М.:Наука, 1984, 472 с.
24. Эйнсет Дж.,Пратт Ш. Виноград / Селекция плодовых растений (пер. с английского). Москва, «Колос», 1981, с. 184 – 215.
25. Эль-Вард, Хусейн Дейфалла. Цитогенетика и агробиологическая характеристика полиплоидных форм и отдаленных гибридов винограда. Диссертация ... к.с-х.н. Москва, 1984, 185 с.
26. Якимов Л.М., Гузун Н.И., Я.Г.Прикоп., Малтабар Т.В. Некоторые методы экспериментальной полиплоидии у винограда. / Биология, экол. и физиол. культурных и лесных растений. Кишинев, 1977, с. 17 –21.
27. Gargiulo A. Inducionartificial de poliploidia Mediante colchicina en *Vitis vinifera*. / *Vitis*, 1960, p. 181-189.
28. Gustav de L. Spontane und induzierte polyploidie bei Reben. *Der Zuchter*, 12, № 9, 1940, p. 225-231.
29. Das P.K., Muk herjee S.R. Induktion of autotetraploidy in grapes . *Indian J. Genet. And Plant Breed.*, 1967, 27(1), p.107-116.
30. Dermen H. Colchiploidy in grapes. *J.Hered.*,45, 4,1954, p. 159-172.
31. Dermen H. Scott D.H. Potentiale in colchiploid grapes. *V.Economie Botany*, vol. 16, № 2, 1962, p. 77-85.
32. Fry B.O. Production of tetraploid Muscadino (*V.rotundifolia*) grapes by gamma radiation. *Proc. Amer.Soc. Hort. Sci*, 83, 1963, p. 388-394.
33. Lelakis P. Induction de la Polyploidie chez *Vitis vinifera* L par application de la colchicines *Ann.J. Ecole Nat. Agr. Montpellier*. 30, 1957, p. 3-97.
34. Patel G.I., Olmo H.P. Cytogenetics of *Vitis*: I. The hybrid *V. vinifera* x *V. rotundifolia*// *Amer J. Bot.*- 1955. - V. 42. p. 36-42.
35. Patel G.I., Olmo H.P. Induction of polyploidy in sterile F1 hybrid of *Vitis vinifera* L. and *Vitis rotundifolia* Michx-Phyton (B.A.), 1956, 7, 2, 1956, p.63-68.