



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЁРЕН В ЗРЕЛЫХ ПЫЛЬНИКАХ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ *IN PLANTA* (НА ПРИМЕРЕ СОРТА ЖНИЦА)

**Зинатуллина А.Е.**

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа (Россия)

E-mail: [aneta@ufaras.ru](mailto:aneta@ufaras.ru)

Биотехнологические и селекционные разработки, направленные на создание высокопродуктивных устойчивых сортов пшеницы, требуют значительного количества зрелой качественной пыльцы. Важно дать оценку качества пыльцевых зёрен в зрелых пыльниках *in planta* генотипов пшеницы, включенных в эксперименты. В ходе исследований проведен анализ гистологического статуса зрелых пыльников и дана цитологическая качественная оценка расположенных в них пыльцевых зерен у яровой мягкой пшеницы сорта Жница в условиях *in planta*. Показано, что структура стенки гнезда пыльника, представленной экзотецием и эндотецием, типична для злаков. Установлено, что трехклеточные зрелые пыльцевые зерна в целом фертильны (87–92%) и жизнеспособны (75–80%). В то же время в каждом зрелом пыльнике отмечены аномальные пыльцевые зерна, при этом выявлены клеточные, ядерные, цитоплазматические и архитектурные отклонения от нормы. Со ссылкой на литературные сведения дан анализ причин формирования аномальных пыльцевых зерен *in planta*, обсуждены классификация аномалий пыльцевых зерен растений и терминология, используемая в этой области исследований.

**Ключевые слова:** пыльник ♦ пыльцевое зерно ♦ пшеница ♦ *Triticum aestivum* L.

## THE QUALITY OF POLLEN GRAINS IN WHEAT MATURE ANTHERS OF ZHNITSA CULTIVAR *IN PLANTA* CONDITIONS

**Zinatullina A.E.**

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa (Russia)

E-mail: [aneta@ufaras.ru](mailto:aneta@ufaras.ru)

Biotechnological and selection investigations for making of wheat high-yielding resistant varieties require a significant amount of high-quality mature pollen. It is important to assess the quality of pollen grains in mature anthers *in planta* of the wheat genotypes included in the experiments. In the course of research the analysis of the histological status of mature anthers was carried out and qualitative cytological evaluation inside them pollen grain of spring soft wheat Zhnitsa cultivar was done in *in planta* conditions. It was shown that the structure of the wall locule anther presented by exothecium and endothecium is typical for cereals. It was established that 3-cell mature pollen grains are fertile (87–92%) and viable (75–80%) in general. At the same time in every mature anther abnormal pollen grains were observed and the cellular, nuclear, cytoplasmic and architectonic deviations from the norm were revealed. On the base of literature date the analysis of the reasons for the formation of abnormal pollen grains *in planta* was done and the classification of anomalies of plant pollen grains and the terminology used in this field of research were discussed.

**Keywords:** anther ♦ pollen grain ♦ wheat ♦ *Triticum aestivum* L.

Поступила в редакцию: 05.03.2021

DOI: [10.31163/2618-964X-2021-4-1-24-32](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2021-4-1-24-32)

## ВВЕДЕНИЕ

Биотехнологические разработки с использованием культуры *in vitro* изолированных пыльников, направленные на создание высокопродуктивных устойчивых сортов (Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдиминова, 2011; Круглова, Никонов, 2012; Основы биотехнологии..., 2017; Ren et al., 2017; Сельдиминова и др., 2018; Круглова, 2019а,б; Dziurka et al., 2019), а также генетико-селекционные исследования хлебных злаков (Цаценко, Синельникова, 2012; Seldimirova et al., 2019; Impe et al., 2020) требуют значительного

количества зрелой качественной пыльцы. Поэтому так важно дать предварительную оценку качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках *in planta* генотипов хлебных злаков, и в частности пшеницы, включенных в эксперименты.

Наличие качественных пыльцевых зерен во многом определяется статусом пыльника как целостной интегрированной системы, к структурным элементам которой относятся спорофитные соматические ткани стенки и спорогенная ткань, дающая начало мужским гаметофитам – пыльцевым зернам (Батыгина, 2000; Батыгина, Васильева, 2002; Gomes et al., 2015; Hafidh et al., 2016; Illustrated Pollen Terminology, 2018; Lei, Liu, 2019). В связи с этим цель исследования состояла в оценке цито-гистологического статуса зрелых пыльников и качества зрелых пыльцевых зерен у яровой мягкой пшеницы в условиях *in planta*.

## ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования послужил сорт яровой мягкой пшеницы Жница, используемый в селекционно-генетических программах Башкирского НИИ сельского хозяйства УФИЦ РАН и в биотехнологических программах УИБ УФИЦ РАН. Семена любезно предоставлены автором сорта Е.А. Малокостовой (Воронежский НИИ СХ им. В.В. Докучаева РАСХН).

Растения выращивали в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии УФИЦ РАН (Уфимский район) в вегетационный сезон 2020 г. Фенологические наблюдения за развитием растений вели согласно общепринятому методу (Челак, 1991). В фазу массового цветения отобрали 30 растений. Из средней трети колоса каждого растения отобрали по 10 зрелых пыльников, всего 300 пыльников.

Постоянные и временные давленные препараты пыльников готовили по (Световой микроскоп..., 2013). Препараты анализировали при различном увеличении объектива и фотографировали с применением светового микроскопа Axio Imager 1 (Carl Zeiss, Jena).

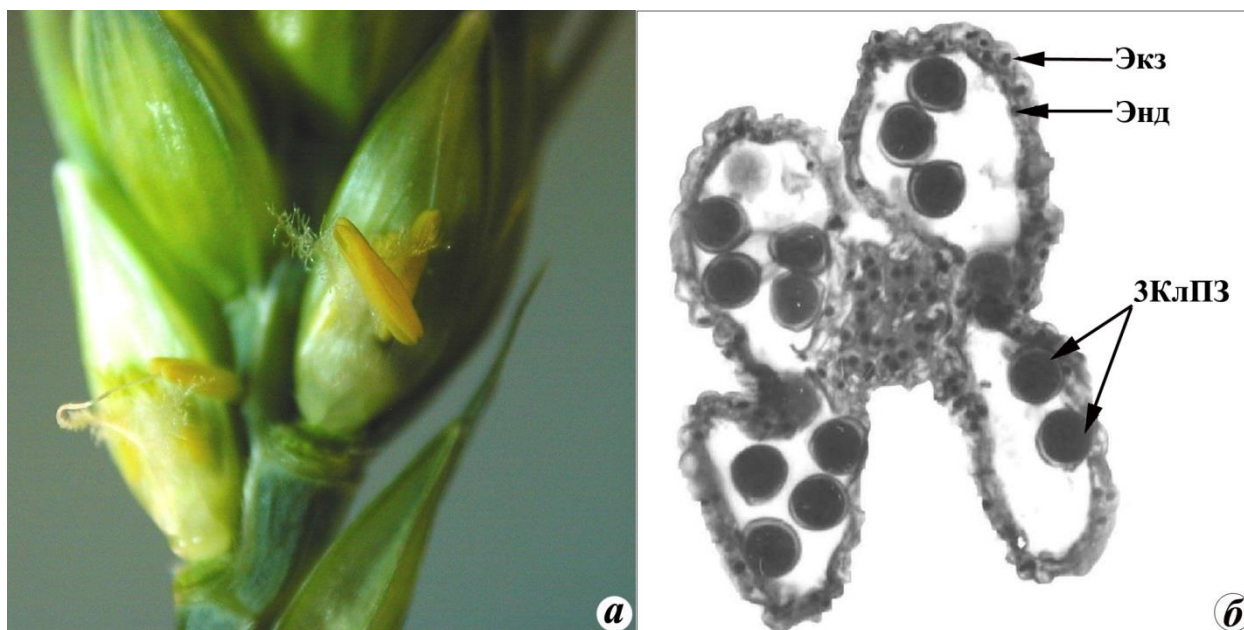
Жизнеспособность пыльцы оценивали методом Д.А. Транковского (Паушева, 1980) в авторской модификации (Зинатуллина, 2016).

Использовали периодизацию развития пыльника пшеницы в естественных условиях (Круглова, 1999, 2002).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Внешняя морфология и внутреннее строение зрелых пыльников и пыльцевых зерен во многом определяются способом опыления растений (Фегри, Пэйл, 1982). Известно, что пшеница, как правило, относится к самоопыляющимся растениям с такими типами цветения, как хазмогамный и клейстогамный (Челак, 1991), и нормальные зрелые пыльцевые зерна пшеницы готовы к оплодотворению уже в пыльнике.

Стенка зрелого пыльника пшеницы (рис. 1) представлена узкоспециализированными тканями – экзотецием и эндотецием. Клетки эндотеция, служащего для вскрывания пыльника, вытянуты в радиальном направлении и имеют мощные фиброзные утолщения оболочек. Защитная ткань – экзотеций представлен гипертрофированным слоем, основную часть уплощенных клеток которого занимает ядро; оболочка клеток сильно развита и покрыта шипиками.



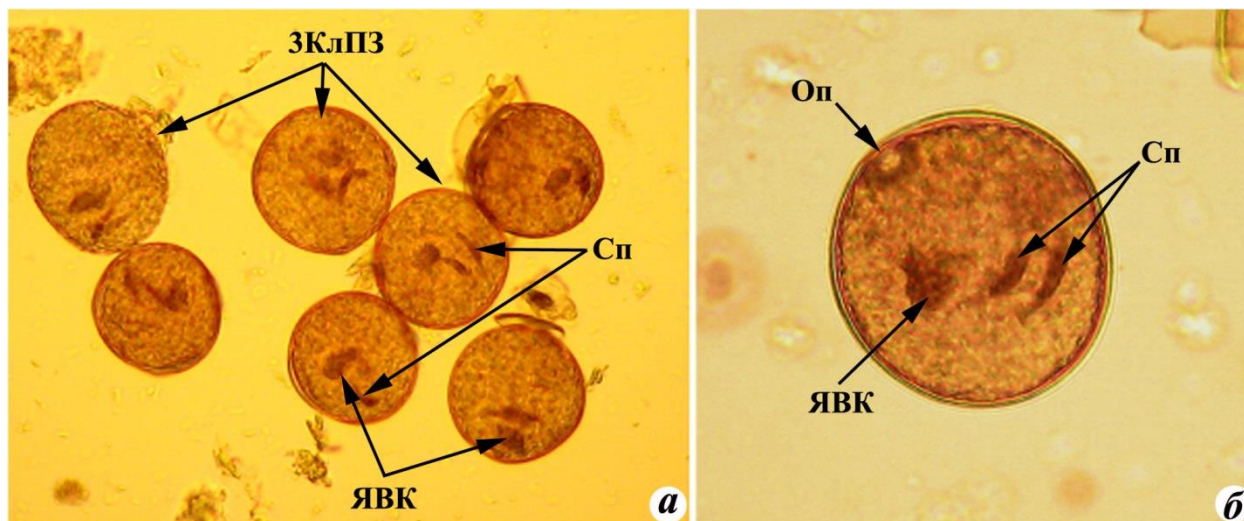
**Рис. 1. Зрелый пыльник пшеницы, содержащий зрелые пыльцевые зерна.**

*a*: общий вид, x 20; *б* – поперечный срез, постоянный препарат, x120.

Условные обозначения: ЗКлПЗ – трехклеточное пыльцевое зерно,

Экз – экзотеций, Энд – эндотеций

Нормальное зрелое пыльцевое зерно пшеницы – трехклеточное, представлено двумя клетками-спермиями, располагающимися в цитоплазме вегетативной клетки. Спермии имеют вытянутую веретенообразную форму, основную часть клетки занимает ядро. С формированием спермиев совпадает интенсивное образование крахмала в цитоплазме вегетативной клетки, контуры ее ядра становятся «амебоидными», постепенно исчезают ядрышки, а само ядро дегенерирует. Полностью сформированы оболочка пыльцевого зерна и единственная пора прорастания – оперкулум (рис. 2).



**Рис. 2. Фертильные зрелые трехклеточные пыльцевые зерна пшеницы.**

*a* – временный давленный препарат. x 200; *б* – временный давленный препарат. x 500.

Условные обозначения: Сп – спермии, Оп – оперкулум, ЯВК – ядро вегетативной клетки; ЗКлПЗ – трехклеточное пыльцевое зерно

В целом, нормальное зрелое пыльцевое зерно, как и стенка зрелого пыльника, у пшеницы изученного сорта имеют строение, типичное для злаков (по: Батыгина, 2014). Зрелое пыльцевое зерно пшеницы такой морфологии, готовое к процессам опыления, следует отнести к категории фертильных (способных к оплодотворению) пыльцевых зерен

(по Impe et al., 2020). Таких фертильных пыльцевых зерен в каждом зрелом пыльнике изученного сорта пшеницы – абсолютное большинство (87–92% от просмотренных).

Фертильные зрелые пыльцевые зерна, способные к прорастанию в пыльцевые трубки на оптимизированной питательной среде в условиях *in vitro*, относятся к жизнеспособным (Impe et al., 2020). Нами (Зинатуллина, 2016) предложен вариант этого критерия: к категории жизнеспособных следует отнести только пыльцевые зерна, прорастающие в пыльцевые трубки не короче расстояния от рыльца пестика до яйцеклетки (для изученного сорта пшеницы – не короче  $720,8 \pm 12,3$  мкм). Количество жизнеспособных пыльцевых зерен среди фертильных пыльцевых зерен изученного сорта пшеницы достигает 75–80% от просмотренных.

Качество пыльцевых зерен тесно связано с таким понятием репродуктивной биологии, как «достаточность опыления» (Френкель, Галун, 1982). Высказано мнение (Круглова, 2020), что при характеристике этого понятия важны две стороны – количество и качество пыльцы, и «достаточность опыления» – это достаточное количество качественных (жизнеспособных) пыльцевых зерен. Количественный показатель жизнеспособных пыльцевых зерен в зрелом пыльнике, достаточный для успешного завязывания семян, у каждого вида растений будет своим, в зависимости от биологии развития растения, системы его размножения, способа опыления и приспособлений к нему. Подсчитано, например, при площади поверхности рыльца в  $1 \text{ мм}^2$  для успешного опыления ветром одиночной семязачки требуется 1 миллион пыльцевых зерен, равномерно распространенных на площади в  $1 \text{ м}^2$  (Френкель, Галун, 1982). Для количественной оценки достаточности опыления у пшеницы необходимы специальные корректные эксперименты.

По мнению ряда авторов (Куприянов, 1989; Круглова, 2020), практически в каждом зрелом пыльнике, даже у растений с высокой репродуктивной способностью, помимо нормальной пыльцы имеется определенное количество аномальных пыльцевых зерен. Это мнение подтверждается данными по изученному сорту пшеницы. В каждом зрелом пыльнике при нормальном строении гнезда отмечены аномальные пыльцевые зерна, морфологически отличающиеся от нормальных фертильных пыльцевых зерен. Количество аномальных пыльцевых зерен в одном зрелом пыльнике составляет 8-13% от просмотренных пыльцевых зерен.

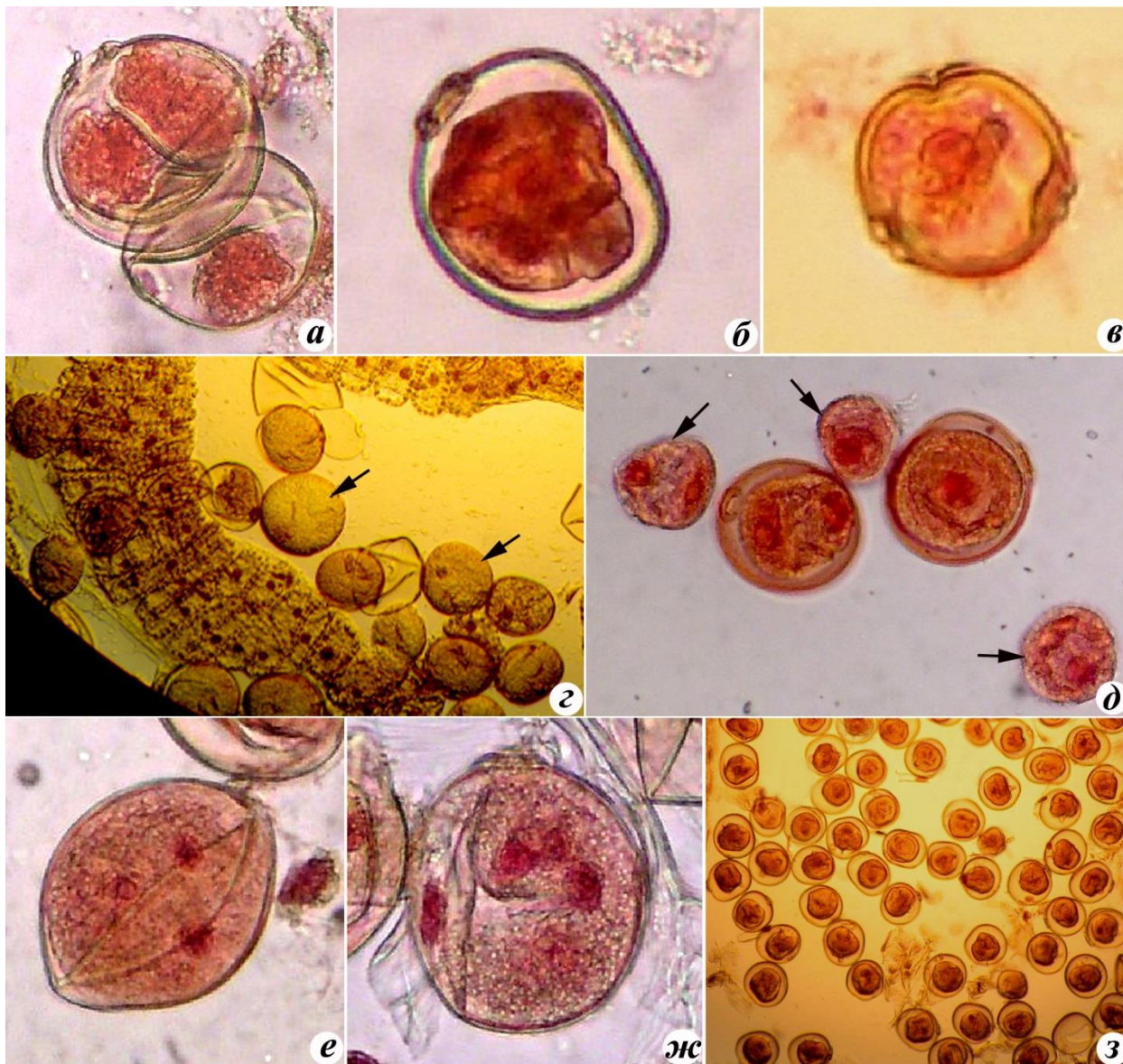
Детальный анализ полученных данных позволил, с использованием работы (Круглова, 2020), выявить следующие аномалии как зрелых пыльцевых зерен, так и клеток на предшествующих стадиях развития пыльцевого зерна (археспорий, спорогенная клетка, микроспороцит, микроспора):

1) клеточные (дополнительные деления археспориальных клеток; нарушения при образовании диад и тетрад микроспор; нарушения полярности микроспор/пыльцевых зерен; нарушения митоза микроспор; формирование дополнительных пор прорастания; образование двуклеточных пыльцевых зерен с равными клетками; образование многоклеточных пыльцевых зерен; образование более крупных/более мелких пыльцевых зерен; линзовидная форма);

2) ядерные (незавершенность образования синаптонемного комплекса, как следствие – выбросы хроматина и образование микроядер; нарушения в распределении хроматина в ядре микроспор; образование многоядерных структур);

3) цитоплазматические (нарушение вакуолизации микроспор в виде образования множества мелких вакуолей, «пузырчатость» цитоплазмы; сжатие цитоплазмы);

4) архитектурные (нарушение ориентации микроспоры/ пыльцевого зерна в гнезде пыльника, как следствие – нарушение корреляционных связей между микроспорами/пыльцевыми зёрнами и гнездом пыльника). Отмечены различные типы аномалий в одном пыльцевом зерне. Отдельные случаи аномалий пыльцевых зёрен в зрелых пыльниках пшеницы изученного сорта приведены на рис. 3.



**Рис. 3. Аномалии пыльцевых зёрен в зрелых пыльниках пшеницы.**  
 а: пыльцевое зерно с 2 равными клетками, временный давленный препарат, x200; б: многоклеточное пыльцевое зерно, временный давленный препарат, x250; в: пыльцевое зерно с 3 порами прорастания, временный давленный препарат, x200; г: крупные пыльцевые зёрна (отмечены стрелками) среди пыльцевых зёрен нормального размера, временный давленный препарат, x50; д: мелкие пыльцевые зёрна (отмечены стрелками) среди пыльцевых зёрен нормального размера, временный давленный препарат, x80; е: линзовидное пыльцевое зерно с 3 ядрами, временный давленный препарат, x200; ж: 5-ядерное пыльцевое зерно, временный давленный препарат, x200; з: массовый случай сжатия цитоплазмы, временный давленный препарат, x20

Аналогичные аномалии пыльцевых зёрен отмечены нами и при исследовании зрелых пыльников остролодочника сходного – представителя семейства бобовых, с иной структурой стенки гнезда зрелого пыльника и зрелыми пыльцевыми зёрнами двуклеточного строения (Круглова А.Е., 2009, 2011). В литературе имеются данные о схожих аномалиях пыльцевых зёрен у представителей многих иных семейств цветковых растений (Borg et al., 2009; Whittle,

2010; Chen, Liu, 2014; Zhu et al., 2015; Tchorzewska et al., 2017; Chaban et al., 2020). Такие наблюдения дают основание предположить универсальность аномалий пыльцевых зерен растений.

Классификация отклоняющихся от нормы пыльцевых зерен дана в аналитическом обзоре (Круглова, 2020). Автор по отношению к пыльцевым зернам помимо термина «аномальность» как нарушение нормальной морфологии пыльцы анализирует также термины «дегенерация», «стерильность» и «дефектность». Рассмотрим предложенную автором трактовку этих терминов применительно к зрелым пыльникам изучаемого сорта пшеницы Жница. Понятие «дегенерация» как остановка в развитии и последующая деструкция, по мнению автора, характеризует процесс нарушения развития пыльцевых зерен. Дегенерация может произойти на любой из стадий их морфогенеза, поэтому следует выделять дегенерации археспориальных и спорогенных клеток, микроспороцитов, микроспор и пыльцевых зерен. Поскольку нами проведен анализ качества пыльцевых зерен только в зрелых пыльниках пшеницы, вопрос о дегенерации пыльцевых зерен на более ранних стадиях развития пыльника требует специального исследования.

Итогом процесса дегенерации пыльцевых зерен следует считать их стерильность. Исходя из того, что термин «стерильность» является антонимом термина «фертильность», к стерильной пыльце в зрелых пыльниках изученного сорта пшеницы следует отнести и все аномальные пыльцевые зерна, и все нежизнеспособные пыльцевые зерна нормальной морфологии, прорастающие на питательной среде *in vitro* в пыльцевые трубки длиной менее  $720,8 \pm 12,3$  мкм. Тем самым понятие «стерильность» шире, чем понятие «аномальность». Понятие «дефектность пыльцы» (Куприянов, 1989) относится к тем зрелым пыльцевым зернам, которые отличаются от нормальных формой, величиной, слабым окрашиванием/отсутствием окрашивания ацетокармином. Понятия «дефектность» и «аномальность» по отношению к зрелым пыльцевым зернам пшеницы совпадают.

В литературе на примере представителей различных семейств цветковых растений обсуждается проблема формирования аномалий пыльцевых зерен. Многими авторами подчеркивается, что нарушения процесса нормального развития пыльцевых зерен – это ответные реакции растения на воздействие неблагоприятных внешних факторов, главным образом стрессовых, особенно ярко выраженные в критические периоды развития пыльника (по: Батыгина, 2014). Предлагается использовать показатель аномальности пыльцевых зерен для оценки экологической пластичности и толерантности репродуктивных механизмов растений (Солнцева, Глазунова, 2010).

В то же время в литературе высказано мнение об иных, помимо неблагоприятных факторов внешней среды, причинах возникновения аномальных пыльцевых зерен. Так, П.Г. Куприянов (1989) на основании оригинальных и литературных данных проанализировал роль различных природных повреждающих факторов: способа размножения (амфимиктичный/апомиктичный), генетических характеристик – наличия хромосомных рас, неустойчивости кариотипа, внутривидовой гибридизации, цитоплазматической и ядерной мужской стерильности.

Т.Б. Батыгина (2014) с позиции теории надежности биологических систем высказала мнение о том, что различные аномалии в развитии и статусе клеток следует рассматривать как проявление их запрограммированной гибели – апоптоза. Этому биологическому феномену у растений придается большое значение с различных позиций, включая стресс-индуцированный апоптоз при культивировании эксплантов *in vitro* (Ванюшин, 2001; Shabala, 2009; Yang et al., 2019). В контексте данной статьи в ряде работ показано, что реализация

программы формировании эмбриоида из микроспор ячменя сопровождается запрограммированной гибелью части клеток на стадии глобулярного эмбрио, во многом связанной с активностью специфических ферментов – протеаз (Maraschin et al., 2005 a,b, 2008).

Полученные данные о качестве пыльцевых зерен в зрелых пыльниках изученного сорта пшеницы Жница *in planta* могут стать основой для разработки экспериментальных способов увеличения количества жизнеспособных пыльцевых зерен этого злака в условиях *in situ* при биотехнологических и селекционных исследованиях *in vitro*.

*В ходе исследований использована приборная база ЦКП «Агидель» УФИЦ РАН.*

*Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190099-6.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б. Воспроизведение, размножение и возобновление растений // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3: Системы репродукции / Ред. Т.Б. Батыгина. СПб.: Мир и семья, 2000. С. 35–39.
2. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2014. 764 с.
3. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2002. 232 с.
4. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. От микроспоры – к сорту: атлас. М.: Наука, 2010. 174 с.
5. Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у растений // Успехи биол. химии. 2001. Т. 41. № 1. С. 3–38.
6. Зинатуллина А.Е. Оптимизация способа оценки жизнеспособности пыльцы // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 2. Ч. 1. С. 130–132.
7. Круглова А.Е. Эмбриология редкого вида Южного Урала остролодочника сходного: морфогенез пыльника // Вестник Оренбургского гос. ун-та. 2009. № 6 (100). С. 172–173.
8. Круглова А.Е. Оценка качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках остролодочника сходного в условиях интродукции // Вестник Удмуртского ун-та. Серия Биология. Наука о Земле. 2011. Вып. 1. С. 67–74.
9. Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Изв. РАН. Серия биол. 1999. № 3. С. 275–281.
10. Круглова Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб.: БИН РАН, 2002. 48 с.
11. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии пшеницы на основе комплекса эмбриологических и цитофизиологических данных // Экобиотех. 2019а. Т. 2. № 3. С. 234–245. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-3-234-245](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-234-245)
12. Круглова Н.Н. Органогенез злаков на ранних этапах онтогенеза *in vivo* как структурная основа экспериментальных исследований *in vitro* // Экобиотех. 2019б. Т. 2. № 1. С. 36–50. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-36-50](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-36-50)
13. Круглова Н.Н. Оценка качества пыльцевых зерен цветковых растений // Бюлл. ГНБС. 2020. Вып. 135. С. 50–56. DOI: [10.36305/0513-1634-2020-135-50-56](https://doi.org/10.36305/0513-1634-2020-135-50-56)
14. Круглова Н.Н., Никонов В.И. Оценка экспланта для биотехнологических разработок в целях адаптационной селекции яровой мягкой пшеницы в засушливых условиях

- Южного Урала // Изв. Уфимского науч. центра РАН. 2012. № 3. С. 15–18.
15. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
  16. Куприянов П.Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1989. 160 с.
  17. Основы биотехнологии растений / Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
  18. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 304 с.
  19. Световой микроскоп как инструмент в биотехнологии растений / Круглова Н.Н., Егорова О.В., Сельдимирова О.А., Зайцев Д.Ю., Зинатуллина А.Е. Уфа: Гилем, 2013. 128 с.
  20. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Никонов В.И. Оценка коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы по отзывчивости эксплантов на условия культуры *in vitro* как биотехнологического приёма // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 2. С. 71-79. DOI: [10.31163/2618-964X-2018-1-2-71-79](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-2-71-79)
  21. Солнцева М.П., Глазунова К.П. Влияние промышленного и транспортного загрязнения среды на репродукцию семенных растений // Журн. общей биол. 2010. Т. 71. № 4. С. 163-175.
  22. Фегри К., Пэйл ван дер Л. Основы экологии опыления. М.: Мир, 1982. 379 с.
  23. Френкель Р., Галун Э. Механизмы опыления, размножения и селекции растений. М.: Колос, 1982. 384 с.
  24. Цаценко Л.В., Синельникова А.С. Пыльцевой анализ в селекции растений // Научный журнал КубГАУ. 2012. № 77 (03). С. 1–11. <http://ej.kubagro.ru/2012/03/pdf/09.pdf>
  25. Челак В.Р. Система размножения пшеницы. Кишинев: Штиинца, 1991. 320 с.
  26. Borg M., Brownfield L., Twell D. Male gametophyte development: a molecular perspective // J. Exp. Bot. 2009. V. 60. P. 1465–1478. DOI: [10.1093/jxb/ern355](https://doi.org/10.1093/jxb/ern355)
  27. Chaban I.A., Kononenko N.V., Gulevich A.A. et al. Morphological Features of the Anther Development in Tomato Plants with Non-Specific Male Sterility // Biology. 2020. DOI: [10.3390/biology9020032](https://doi.org/10.3390/biology9020032)
  28. Chen L., Liu Y.G. Male sterility and fertility restoration in crops // Ann. Rev. Plant Biol. 2014. V. 65. P. 570–606. DOI: [10.1146/annurev-arplant-050213-040119](https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040119)
  29. Ding B., Hao M., Mei D. et al. Transcriptome and hormone comparison of three cytoplasmic male sterile systems in *Brassica napus* // Intern. J. Mol. Sci. 2018. V. 19. DOI: [10.3390/ijms19124022](https://doi.org/10.3390/ijms19124022)
  30. Dziurka K., Dziurka M., Warchol M. et al. Endogenous phytohormone profile during oat (*Avena sativa* L.) haploid embryo development // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2019. V. 55. P. 221–229. DOI: [10.1007/s11627-019-09967-5](https://doi.org/10.1007/s11627-019-09967-5)
  31. Falasca G., D'Angeli S., Biasi R. et al. Tapetum and middle layer control male fertility in *Actinidia deliciosa* // Ann. Bot. 2013. V. 112. P. 1045–1055. DOI: [10.1093/aob/mct173](https://doi.org/10.1093/aob/mct173)
  32. Gomes J.F., Talle B., Wilson Z.A. Anther and pollen development: A conserved developmental pathway // J. Integr. Plant Biol. 2015. V. 57. P. 576–591. DOI: [10.1111/jipb.12425](https://doi.org/10.1111/jipb.12425)
  33. Hafidh S., Fila J., Honys D. Male gametophyte development and function in angiosperms: a general concept // Plant Reprod. 2016. V. 29. P. 31–51. DOI [10.1007/s00497-015-0272-4](https://doi.org/10.1007/s00497-015-0272-4)
  34. Illustrated Pollen Terminology / Halbritter H., Ulrich S., Grimsson F. et al. / 2<sup>nd</sup> ed. Cham: Springer, 2018. 483 p.



35. Impe D., Reitz J., Kopnick C. Assessment of Pollen Viability for Wheat // *Front. Plant Sci.* 2020. DOI: [10.3389/fpls.2019.01588](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01588)
36. Lei X., Liu B. Tapetum-dependent male meiosis progression in plants: Increasing evidence emerges // *Front. Plant Sci.* 2019. V. 10. DOI: [10.3389/fpls.2019.01667](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01667)
37. Maraschin S.F., Gaussand G., Pulido A. et al. Programmed cell death during the transition from multicellular structures to globular embryos in barley androgenesis // *Planta.* 2005a. V. 221. P. 459–470. DOI: [10.1007/s00425-004-1460-x](https://doi.org/10.1007/s00425-004-1460-x)
38. Maraschin S.F., Vennik M., Lamers G.E. et al. Time-lapse tracking of barley androgenesis reveals position determined cell death within pro-embryos // *Planta.* 2005b. V. 220. P. 531–540. DOI: [10.1007/s00425-004-1371-x](https://doi.org/10.1007/s00425-004-1371-x)
39. Maraschin S.F., Bergen S., Vennik M. et al. Culture and time-lapse tracking of barley microspore-derived embryos // *Methods Mol. Biol.* 2008. V. 427. P. 77–89. DOI: [10.1007/978-1-59745-273-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-273-1_6)
40. Ren J., Wu P., Trampe B. et al. Novel technologies in doubled haploid line development // *Plant Biotechn. J.* 2017. V. 15. DOI: [10.1111/pbi.12805](https://doi.org/10.1111/pbi.12805)
41. Seldimirova O.A., Kudoyarova G.R., Katsuhara M. И ДР. Dynamics of the contents and distribution of ABA, auxins and aquaporins in developing caryopses of an ABA-deficient barley mutant and its parental cultivar // *Seed Sci. Res.* 2019. DOI: [10.1017/S0960258519000229](https://doi.org/10.1017/S0960258519000229)
42. Shabala S. Salinity and programmed cell death: unravelling mechanisms for ion specific signaling // *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60. P. 709–712. DOI: [10.1093/jxb/erp013](https://doi.org/10.1093/jxb/erp013)
43. Tchorzewska D., Derylo K., Winiarczyk K. Cytological and biophysical comparative analysis of cell structures at the microsporogenesis stage in sterile and fertile *Allium* species // *Planta.* 2017. V. 245. P. 137–150. DOI: [10.1007/s00425-016-2597-0](https://doi.org/10.1007/s00425-016-2597-0)
44. Whittle C.A. Comparative transcript analyses of the ovule, microspore and mature pollen in *Brassica napus* // *Plant Mol. Biol.* 2010. V. 72. P. 279–299.
45. Yang L., Wei C., Huang C. et al. Role of hydrogen peroxide in stress-induced programmed cell death during somatic embryogenesis in *Fraxinus mandshurica* // *J. For. Res.* 2019. V. 30. P. 767–777.
46. Zhu Z., Zhou C., Yang J. Molecular phenotypes associated with anomalous stamen development in *Alternanthera philoxeroides* // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. DOI: [10.3389/fpls.2015.00242](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00242)