

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ И КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПЫЛЬЦЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА (*HELIANTHUS* L.) И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЕ

DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-95-104

УДК 581.331.2 58.086 58.087

Поступление/Received: 16.01.2019

Принято/Accepted: 06.03.2019

О. Н. ВОРОНОВА¹, В. А. ГАВРИЛОВА²¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Ботанический институт имени В. Л. Комарова РАН, 197376 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2; ✉ o_voronova@binran.ru

² Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;

✉ v.gavrilova@vir.nw.ru

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE ANALYSIS OF SUNFLOWER POLLEN (*HELIANTHUS* L.) AND ITS USE IN BREEDING WORKO. N. VORONOVA¹, V. A. GAVRILOVA²¹ Komarov Botanical Institute of the RAS, 2 Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376 Russia; ✉ o_voronova@binran.ru² N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42–44 Bolshaya Morskaya St., St. Petersburg 190000, Russia;

✉ v.gavrilova@vir.nw.ru

Актуальность. В селекционной работе необходимо учитывать такой важный признак, как мужская фертильность полученных гибридов. Необходимо проводить не только визуальный анализ, но и цитологическое исследование пыльцы для правильной оценки фертильности. **Материалы и методы.** Исследовались дикie виды, сорта, линии и гибриды подсолнечника из коллекции ВИР, выращенные на полях Кубанской опытной станции ВИР. Пыльцу собирали с изолированных соцветий, фиксировали в растворе FAA, окрашивали ацетокармином. Определяли отношение фертильных пыльцевых зерен к общему числу пыльцевых зерен (в %), измеряли диаметр пыльцевых зерен и строили вариационные кривые. **Результаты.** Зрелые пыльцевые зерна у подсолнечника округлые, трехбороздно-поровые, трехклеточные; средний диаметр пыльцы у культурного подсолнечника 28–32 мкм, от 20–22 у *Helianthus angustifolius* L. и *H. ciliaris* DC. и до 32–34 у *H. tuberosus* L. и *H. maximiliani* Schrad. У *H. giganteus* L. отмечались зерна размером более 40 мкм. Все исследованные образцы по показателям пыльцы разделены на три группы. Фертильные: уровень фертильности – 75–99%, низкая морфологическая гетерогенность пыльцы; вариационная кривая по среднему диаметру характеризовалась одним отчетливым пиком. Группа включает сорта, большинство линий и виды *H. ciliaris*, *H. rigidus* Desf., *H. strumosus* L. Полуфертильные: количество хорошо окрашенных пыльцевых зерен в пробе ниже 75%, наблюдаются различия по степени окрашиваемости и размерам пыльцы; вариационная кривая имела дополнительные пики. Группа включает линии, гибриды, дикie виды и образцы с делянок, где у растений наблюдался разброс по признаку фертильности пыльцы. Наибольшая морфологическая неоднородность наблюдалась у многолетних межвидовых гибридов (ВИР 117 × *H. strumosus*; НА89 × *H. strumosus*). Стерильные образцы: пыльцевые зерна отсутствовали или отмечены в единичном количестве. **Выводы.** Для оценки фертильности растения важным является не только определение степени окрашиваемости пыльцевых зерен, но и ранжирование их по диаметру и построение вариационных кривых: это позволяет выявить морфологическую неоднородность пыльцы, что свидетельствует о нарушениях в микроспорогенезе, следствием которых является плохая завязываемость семян.

Ключевые слова: подсолнечник, ЦМС, фертильность пыльцы, диаметр пыльцы, методы исследования

Background. In breeding work, it is necessary to take into account such an important feature as male sterility of the hybrids obtained. If a plant has visually visible anthers and pollen, the quality of the pollen grains themselves may be low. It is necessary to carry out not only a visual analysis, but also a cytological study of pollen in order to properly assess the reproductive potential of plants. **Materials and methods.** Wild species, some cultivars, lines and hybrids of sunflower from the collection of the N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources were taken as objects of research. The plants were grown on the fields of Kuban Experiment Station. Pollen was collected from pre-insulated inflorescences, fixed in FAA solution and stained with acetocarmine. The ratio of fertile pollen grains to the total number of pollen grains (in %) was calculated, the diameter of the pollen grains was measured, and variability curves were drawn. **Results.** Mature pollen grains in sunflower are rounded, tricolpate-poral, three-celled; the average pollen diameter in cultivated sunflower is 28–32 μm; in wild species, the range is from 20–22 μm to 32–34 μm. All accessions were divided into three groups. *Fertile*: high level of fertility (75–99%) and low morphological heterogeneity of pollen; the variation curve for the average diameter was characterized by one distinct peak. Most of the studied accessions were included here: cultivars, most of the lines and some of the wild species. *Semi-fertile*: the number of well-stained pollen grains is below 75%; there are differences in the degree of staining and size of the pollen; the variation curve had additional peaks. This group included some of the lines, hybrids and wild species. The greatest morphological heterogeneity was observed in the group of perennial interspecific hybrids. *Sterile*: pollen grains were absent or were observed very sporadically. **Conclusion.** To assess the fertility of plants, it is important not only to determine the degree of staining in pollen grains, but also to rank them by diameter and construct variation curves to reveal morphological heterogeneity of pollen.

Key words: sunflower, CMS, pollen fertility, pollen diameter, methods

Введение

Селекционная работа с подсолнечником включает скрещивания, в том числе с использованием линий с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС-линий), и последующую оценку полученных гибридов. В этой оценке необходимо учитывать уровень фертильности. Стерильность пыльцы приводит к плохой завязываемости семян и снижению урожайности линий, сортов и гибридов подсолнечника. В комбинациях, где отцовская форма несет «ген восстановления фертильности пыльцы», ожидается, что потомки должны быть фертильны. В полевых условиях выращивания подсолнечника учет по признаку «фертильный/стерильный» ведется, как правило, только на основании визуального анализа. При наличии пыльников и пыльцы на растении во время цветения оно считается фертильным, при отсутствии пыльцы и видимом недоразвитии пыльников – стерильным.

Проведенные ранее цитологические исследования (Voronova et al., 2011), показали, что у некоторых растений при наличии визуально нормально сформированных пыльников и высыпавшейся из них пыльцы качество самих пыльцевых зерен может быть неоднородным. Среди изученного ранее материала встречались деланки, где у растений до 50% пыльцевых зерен были недоразвитыми, имели неоднородно окрашивающуюся цитоплазму и/или значительно отклонялись по размерам от нормальных (микро- и макропыльцевые зерна). Этого указывает на необходимость проведения не только визуального (морфологического) анализа, но и цитологического исследования для правильной оценки фертильного статуса растений.

Обычно для лучшей визуализации содержимого микроскопических объектов используется или метод окрашивания, или, наоборот, просветления тканей. Оболочка пыльцевого зерна у подсолнечника довольно плотная, и метод просветления для него не подходит.

Из методов окрашивания наиболее простой и давно используемый исследователями на практике – окрашивание ацетокармином (уксусным кармином) (Navashin, 1936; Barykina et al., 2004). Кроме простоты приготовления и использования еще одно из преимуществ ацетокармина – отсутствие необходимости предварительной фиксации, поскольку в раствор красителя входит уксусная кислота.

Помимо ацетокарминового метода довольно популярно окрашивание пыльцы по Александру (Alexander, 1969). Ряд авторов давно и успешно его используют, в том числе и на подсолнечнике, например, J. Atlagić с соавторами (Atlagić et al., 2012). Есть некоторые модификации этого метода (Peterson, Slovin, 2010). Краситель по Александру более трудоемкий в изготовлении, чем ацетокармин, что делает его гораздо менее удобным для использования в условиях полевых стационаров.

Что позволяют оценить эти методы? Форму, размер, состояние цитоплазмы пыльцевого зерна. Конечно, нельзя говорить о том, что все хорошо окрашенные пыльцевые зерна нормального размера фертильны и способны полноценно функционировать (опылить). В любом оценочном методе есть некоторая доля погрешности. По крайней мере, неокрашенные пыльцевые зерна, отнесенные к стерильным, однозначно не способны к опылению. Поэтому методы окрашивания скорее позволяют говорить о жизнеспособных или нежизнеспособных пыльцевых зернах. Так сложилось, что в русской литературе, говоря об анализе пыльцы, обычно используют термины «фертильные пыльцевые зерна» и «стерильные пыльцевые зерна»

(Barykina et al., 2004), хотя оценивают не их оплодотворяющую способность, а скорее потенциальную возможность опыления ими. В англоязычной литературе, наряду с термином “fertility”, используют термины “viability” (Atlagić et al., 2012) или делят пыльцевые зерна на “aborted” и “non-aborted pollen grain” (Peterson, Slovin, 2010).

Для оценки именно фертильности пыльцевых зерен можно использовать метод опыления отдельных рылец исследуемой пыльцой с их последующей фиксацией и анализом давленных препаратов рылец с проросшей на них пыльцой (Barykina et al., 2004; Voronova et al., 2011), но этот метод намного более сложный и не годится для использования в полевых условиях.

Задачей нашего исследования явилась оценка качества пыльцы некоторых видов, сортов, линий и гибридов подсолнечника из коллекции ВИР с использованием цитоморфологического метода.

Кроме степени окрашиваемости пыльцевых зерен перспективным признаком для использования в оценке качества пыльцы является еще диаметр пыльцевых зерен. Ранее в цитологическом анализе этот признак мы не учитывали. Ранжирование по диаметру и построение вариационных кривых позволяет оценить и наглядно представить степень неоднородности пыльцы по размеру, а также сделать выводы о ее фертильности и способности к опылению.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были взяты дикие виды, некоторые культурные сорта и линии, а также гибриды подсолнечника (в том числе межвидовые) из коллекции Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР), произрастающие на интродукционно-карантинном питомнике или на полях Кубанской опытной станции (КОС ВИР) – филиал Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР) (таблица). Исследования охватывают периоды 2003–2008 и 2014, 2015 годы. Пыльцу собирали непосредственно перед фиксацией, как правило, с предварительно заизолированных (с помощью пергаментных изоляторов) соцветий.

Исследовали от 4 до 10 растений с каждой деланки. Для фиксации брали не менее 5 трубчатых цветков с одного соцветия. Предпочтительно собирать не отдельные пыльники, а цветки целиком, так как при этом стенки пыльников меньше повреждаются, и пыльца из них не высыпается в раствор фиксатора. Фиксировали материал не менее 2-х часов. Фиксатором служил раствор FAA (70-градусный этиловый спирт, 40-процентный продажный формалин и ледяная уксусная кислота в соотношении 100 : 7 : 7). В нем материал можно оставить на хранении на длительное время, а при возможности заменить на 70-градусный этанол. Ацетокармин готовили традиционным способом: растворяли в 45-процентной уксусной кислоте до полного насыщения раствора (примерно 4–6 г красителя на 100 мл дистиллированной воды), затем кипятили, охлаждали и фильтровали (Barykina et al., 2004).

Материал окрашивали ацетокармином по разработанной нами методике, изложенной ниже.

С каждой фиксации брали по пять цветков. Из цветка извлекали все пыльники (пыльниковую трубочку целиком), помещали их в лунку пластикового планшета («таблетницы»), маркировали, капали ацетокармин так, чтобы уровень жидкости в лунке полностью закрыл пыльники; накрывали крышкой или чашкой Петри (чтобы избежать

испарения красителя) и помещали в термостат ($t = 60^{\circ}\text{C}$) на 2 часа.

После окрашивания промывали пыльники от красителя несколько раз, капая дистиллированную воду и оттягивая ее излишки пипеткой. Пыльники переносили на предметное стекло и препаровальными иглами раздавливали каждый пыльник так, чтобы из него вышла пыльца. Остатки пыльника убирали со стекла, капали монтировочную среду и накрывали покровным стеклом. Для получения постоянных препаратов в качестве монтировочной среды использовали глицерин-желатину или Mowiol (поливиниловый спирт) (Barykina et al., 2004). Препараты сушили в течение суток.

Кроме ацетокарминового метода была опробована окраска по Александру (Alexander, 1969) в упрощенной прописи красителя – без фенола и хлоралгидрата (Peterson, Slovin, 2010).

Препараты подвергались первичному анализу на месте сбора материала, а затем исследовались в лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии Ботанического института имени В. Л. Комарова РАН (БИН РАН). Подробное цитологическое исследование, фотографирование и измерение осуществлялись с помощью микроскопа Zeiss AxioPlan 2 Imaging с цифровой фотокамерой в программе AxioVision.

Для вычисления процента фертильной пыльцы учитывали окрашенные и неокрашенные пыльцевые зерна. Просматривали и фотографировали не менее 10 полей зрения микроскопа. Оценку вели по степени окрашиваемости (неокрашенные, слабо окрашенные, хорошо окрашенные) и по размеру (мелкие пыльцевые зерна, нормальные, увеличенные).

Фертильными считали пыльцевые зерна нормального и увеличенного размера с равномерно окрашенной цитоплазмой, к стерильным были отнесены неокрашенные и неоднородно окрашенные пыльцевые зерна всех размеров, а также окрашенные зерна значительно меньшего размера (микрорпыльца).

Оценивали отношение фертильных пыльцевых зерен к общему числу учтенных пыльцевых зерен данного препарата (в %), проводили измерение диаметра пыльцевых зерен и математическую обработку полученных данных, включающую построение вариационных кривых по встречаемости пыльцевых зерен определенного диаметра. Пыльцевые зерна у подсолнечника слегка эллипсоидные, но максимальный и минимальный диаметр отличаются незначительно и на уровне светового микроскопа их форма кажется близкой к шарообразной. Поэтому для расчетов мы использовали только один показатель – диаметр в наиболее широкой части пыльцевого зерна.

Ранжирование в группы проводилось с шагом 2 мкм. Расчеты, построение вариационных кривых и представление этих результатов в виде графиков осуществлялись с помощью пакета программ MS Excel.

Результаты и обсуждение

Сравнение разных методов окраски пыльцы показало, что удобнее использовать для окрашивания временных препаратов краситель ацетокармин. Он прост в изготовлении и использовании, окрашивает нормальные (фертильные) пыльцевые зерна в красновато-карминной цветовой гамме, а пустые и поврежденные пыльцевые зерна (стерильные) остаются неокрашенными.

Зрелые пыльцевые зерна у подсолнечника округлые, трехбороздно-поровые, трехклеточные, с крупным вегетативным ядром и двумя ланцетовидными спермиями; оболочка пыльцевого зерна довольно толстая, экзина с крупными шипами. В цитоплазме четко различается вегетативное ядро и два спермия сильно вытянутой (червеобразной) формы, располагающиеся неглубоко под оболочкой пыльцевого зерна и изгибающиеся вдоль нее. Детали внутреннего строения особенно хорошо заметны на препаратах пыльцы полиплоидных видов, например, у топинамбура (рис. 1).

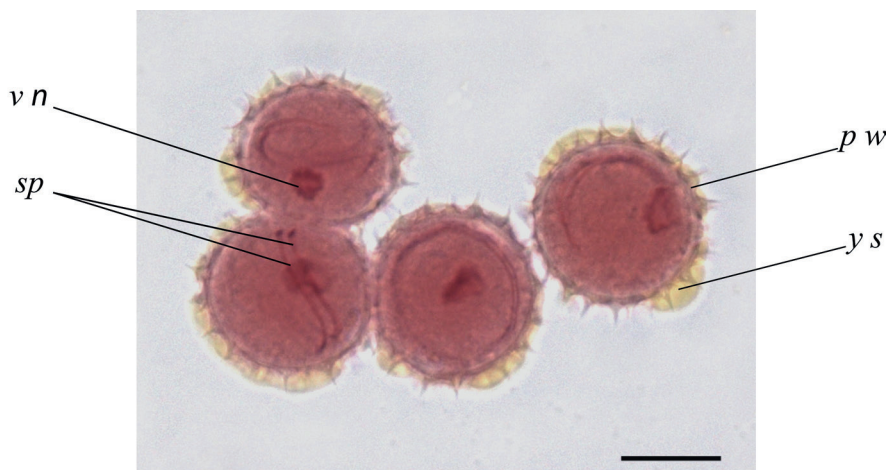


Рис. 1. Зрелые пыльцевые зерна *Helianthus tuberosus* L., окрашенные ацетокармином: *sp* – спермии, *p w* – оболочка пыльцы, *v n* – вегетативное ядро, *y s* – желтое вещество. Масштабная линейка – 20 мкм

Fig. 1. Mature pollen grains of *Helianthus tuberosus* L. stained with acetocarmine: *sp* – sperm cells, *p w* – pollen wall, *v n* – vegetative nucleus, *y s* – yellow substance. Bar – 20 microns

На ряде препаратов вокруг пыльцевых зерен наблюдается значительное количество желтого маслянистого вещества в виде гомогенных сферических тел (рис. 1; 2a, b, c, h). Гистохимические исследования разных авторов показали, что подобные капли дают реакцию на жиры, причем содержание жира в фертильных пыльцевых зернах выше, чем у стерильных, на всех этапах развития (Přev,

1966). Некоторыми авторами обсуждалось, что эти капли могут состоять из вещества спорополлининовой природы (Simonenko, Karpovich, 1978). Спорополлинин – сложный биополимер, который образует внешний слой поверхности пыльцевого зерна (Orel, 1978; Piffanelli et al., 1998), и желтое вещество, наблюдаемое вокруг пыльцевых зерен, вероятнее всего состоит из жиров, а не из спорополлинина.

В нашем исследовании мы также обратили внимание на присутствие на препаратах желтых капелек вокруг пыльцевых зерен, но связи их количества с нарушениями в формировании пыльцы не отметили. Например, у сортов 'Мастер' и 'Передовик' (*Helianthus annuus* L.) пыльца однородная по размерам и окраске, а у *H. occidentalis* Riddell – довольно неоднородная, но у тех и у других наблюдается значительное количество подобного вещества (рис. 2а, б, с, h). Поэтому наличие липидных капелек мы не рассматривали в качестве признака формирования дефектной пыльцы.

Средний размер пыльцевых зерен у культурного подсолнечника находится в диапазоне 28–32 мкм. Дикие виды сильнее различаются друг от друга по этому показателю. Например, у *H. angustifolius* L. и *H. ciliaris* DC. пыльца в среднем 20–22 мкм диаметром, у *H. occidentalis* – 25–27 мкм, у *H. tuberosus* L. и *H. maximiliani* Schrad. – до 32–34 мкм, а у *H. giganteus* L. отмечены зерна размером более 40 мкм. Построение вариационных кривых позволило наглядно продемонстрировать разделение пыльцевых зерен по диаметру и оказалось особенно информативным, когда в пробе кроме пыльцы нормального размера еще выявлялись группы пыльцевых зерен меньшего или большего размера (микро- и макропыльца). Параметр среднего диаметра пыльцевого зерна для сравнения проб пыльцы разных растений в данном случае оказался малоэффективен, поскольку он в любом случае не позволял выявить наличие различных групп по размерам среди пыльцевых зерен в пробе.

Все исследованные растения, по результатам анализа были условно поделены на три группы (см. таблицу):

1. ФЕРТИЛЬНЫЕ – фертильность 75–99% – пыльцевые зерна, практически равные по размерам и равномерно окрашены; к этой группе относится большинство из исследованных образцов. Вариационная кривая по диаметру пыльцы характеризовалась одним высоким пиком.

2. ПОЛУФЕРТИЛЬНЫЕ – с фертильностью ниже 75% – наблюдаются различия по степени окрашиваемости и размерам пыльцы; в эту же группу отнесены образцы, где у разных растений в пределах одного образца наблюдался заметный разброс по признаку фертильности пыльцы. Вариационная кривая по диаметру пыльцы имела выраженные дополнительные пики.

3. СТЕРИЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ – пыльники сформированы, но пыльцевые зерна отсутствовали или отмечались в единичном количестве.

К первой группе (фертильные) были отнесены:

сорта: 'Передовик', 'Мастер', 'ВНИИМК 8883';

линии: RIL 80, RIL 130, ВИР 160, ВИР 210, ВИР 249, ВИР 364, ВИР 365, ВИР 558, ВИР 729, ВИР 740, ВИР 743, ВИР 763;

межлинейные гибриды (F₁): ВИР 109 × ВИР 558, ВИР 116 × RIL 80, ВИР 116 × ВИР 195 (2012г), ВИР 116 × ВИР 210, ВИР 116 × ВИР 365, ВИР 116 × ВИР 558, ВИР 116 × ВИР 729, ВИР 116 × ВИР 763;

многолетний межвидовой гибрид (F₁): *H. maximiliani* × ВИР 151;

многолетние виды: *H. californicus* DC., *H. ciliaris*, *H. eggerti* Small, *H. laetiflorus* Pers., *H. laevigatus* Torr. & A. Gray, *H. rigidus* Desf., *H. salicifolius* A. Dietr. *H. strumosus* L. со стабильно высокой фертильностью пыльцы и виды *H. divaricatus* L., *H. hirsutus* Raf., *H. mollis* Lam., *H. occidentalis*, *H. giganteus*, *H. grosseratus* M. Martens, *H. maximiliani*, *H. nutalli* Torr. & A. Gray, у которых в отдельные годы на некоторых из делянок наблюдалось снижение качества

пыльцы. С оговоркой в эту же группу была включена линия ВИР 366. Цветки из центра корзинки оказались стерильными, но такое явление иногда отмечается и у культурных образцов подсолнечника, хотя и не является обязательным.

Все 10 проб, взятых с растений сорта 'Передовик', были примерно одинаковыми по показателям пыльцы и имели высокую фертильность (рис. 2а). У растений сорта 'Мастер' результаты были несколько хуже – среди 10 растений было обнаружено одно растение со сниженной фертильностью пыльцы. У этого же растения среди пыльцевых зерен выделилось два варианта размеров – для фертильных и для стерильных (неокрашенных, частично окрашенных) пыльцевых зерен (рис. 2а, б, с).

Ко второй группе (полуфертильные) были отнесены:

линии: ВИР 760 (декоративная, махровое соцветие), ВИР 387, ВИР 900;

межлинейные гибриды (F₁): ВИР 116 × RIL 130, ВИР 116 × ВИР 195, ВИР 116 × ВИР 743.

многолетние межвидовые гибриды: НА 89 × *H. occidentalis*, НА 89 × *H. strumosus*, ВИР 117 × *H. strumosus*, ВИР 129 × *H. occidentalis*;

многолетние виды: *H. angustifolius*, *H. floridanus* A. Gray ex Chapm., *H. decapetalus* L., *H. occidentalis*, *H. parishii* A. Gray, *H. tomentosus* Michx, *H. tuberosus*.

Отдельно внимания заслуживает линия ВИР 760 (декоративный, махровый), у которой на делянке из семи исследованных растений одно оказалось полностью стерильным, а у оставшихся шести фертильность колебалась от 70 до 93%. А также *H. occidentalis*, у которого на одной из делянок по годам отмечалось устойчивое снижение показателей качества пыльцы.

У гибрида ВИР 116 × RIL 130 на графике виден один пик на уровне 22–23 мкм и плато на уровне 26–27 мкм, что говорит о разделении образца на две группы по размеру пыльцы (рис. 3д). Более крупные пыльцевые зерна встречаются реже, чем более мелкие, что заметно и по фотографии (рис. 2д). Если сравнить со стандартом (у сорта 'Мастер' средний диаметр 27 мкм), то можно говорить, что более крупные – это нормальные зерна. Мелкие пыльцевые зерна демонстрируют неравномерность окраски и утолщенные оболочки. Все это говорит об их пониженной фертильности, поскольку подобные признаки свойственны дегенерирующей пыльце.

У гибрида ВИР 116 × ВИР 195 на графике видно два пика: 18–19 мкм, 24–25 мкм и плато на уровне 28–29 мкм, а также наличие пыльцевых зерен размером более 32 мкм (рис. 3е). Доля пыльцевых зерен увеличенного диаметра составляет более четверти от всех. В этом образце пыльца по размеру делится на три типа, что хорошо видно и на фотографии (рис. 2е).

У линии ВИР 760 присутствует значительное количество пыльцевых зерен очень маленького размера (менее 14 мкм) – микропыльца, отмечаются пыльцевые зерна уменьшенного и стандартного размера (рис. 2ф). Нет четкого пика, распределение размеров более плавное – от 19 до 24 мкм, и в целом размер меньше, чем у стандартного сорта 'Мастер' (рис. 3г).

Изложенные выше факты свидетельствуют о явных отклонениях в микроспорогенезе, которые, вероятнее всего, связаны с нарушениями в мейозе.

У многолетнего вида *H. tuberosus* на графике пыльцевые зерна поделены на три типа по размерам (рис. 3г). Переход между типами довольно плавный. Крупный размер соответствует фертильным (нормальным) пыльцевым зернам, средний и мелкий – в основном, стерильным (неокрашенным) (рис. 2г).

Не исключено, что разделение на типы связано с нарушениями в мейозе, которые приводят к формированию пыльцы разной плоидности.

У многолетнего вида *H. occidentalis* наблюдается четкое выделение трех типов – нормальные пыльцевые зерна

с размером около 24–32 мкм, микропыльца с размером менее 12 мкм и макропыльцевые зерна с размером более 36 мкм (рис. 2h, 3h). Наличие микро- и макропыльцевых зерен может служить индикатором нарушений в процессе мейоза при микроспорогенезе.

Таблица. Среднее количество фертильных пыльцевых зерен у исследованных образцов подсолнечника (*Helianthus* spp.)

Table. Mean quantity of fertile pollen grains in the studied sunflower (*Helianthus* spp.) accessions

Название	Фертильность пыльцы, отмеченная в разных условиях (мин – макс, в % к общему количеству)	Название	Фертильность пыльцы, отмеченная в разных условиях (мин – макс, в % к общему количеству)
<i>H. ciliaris</i> и-632089	83,07 – 99,14	ВИР 365, к-3326, д. 1107, КОС-2012	94,40 – 96,19
<i>H. angustifolius</i> и-632092	46,18 – 75,07	ВИР 210, к-3292, д. 1113, КОС-2012	76,86 – 86,71
<i>H. floridanus</i> и-632093	70,14 – 72,78	ВИР 364, к-3480, д. 116, КОС-2012	94,14 – 96,44
<i>H. decapetalus</i> и-545682	39,25 – 94,12	ВИР 760, к-3816, д. 1233, КОС-2012	0**; 70,44 – 92,43
<i>H. divaricatus</i> и-545674	50,88 – 92,80	ВИР 760, к-3816, д. 1237, КОС-2012	33,68 – 94,47
<i>H. eggerti</i> и-632102	85,80 – 86,10	ВИР 249, к-3462, д. 1119, КОС-2012	96,61 – 98,71
<i>H. hirsutus</i> и-434331	73,50 – 99,20	ВИР 116 × RIL 130, д. 1470, КОС-2012	70,56
<i>H. mollis</i> и-530453	77,80 – 96,20	ВИР 116 × ВИР 211, д. 1473, КОС-2012	единичные пыльцевые зерна
<i>H. occidentalis</i> и-440675	60,80 – 99,00	ВИР 116 × ВИР 195, д. 1476, КОС-2012	36,05 – 94,68
<i>H. rigidus</i> и-545658	84,71 – 98,80	ВИР 116 × ВИР 743, д. 1477, КОС-2012	58,19 – 96,60
<i>H. lactiflorus</i> к-1886	82,80	ВИР 116 × ВИР 763, д. 1478, КОС-2012	94,64
<i>H. strumosus</i> и-440679	79,27 – 99,42	ВИР 116 × ВИР 365, д. 1479, КОС-2012	89,12 – 95,88
<i>H. californicus</i> и-632116	60,11 – 98,32	ВИР 116 × ВИР 366, д. 1480, КОС-2012	единичные пыльцевые зерна
<i>H. giganteus</i> к-2100	70,27 – 91,37	ВИР 116 × ВИР 210, д. 1481, КОС-2012	88,20 – 91,95
<i>H. grosseserratus</i> и-545698	74,53 – 98,20	ВИР 116 × ВИР 729, д. 1483, КОС-2012	71,17 – 85,26 -
<i>H. maximiliani</i> к-2099	42,99 – 99,27	ВИР 116 × ВИР 371, д. 1486, КОС-2012	единичные пыльцевые зерна
<i>H. nuttalli</i> и-632126	67,24 – 93,22	ВИР 116 × RIL80, д. 1475, КОС-2012	75,56 – 94,55
<i>H. salicifolius</i> и- 440074	85,99 – 94,10	ВИР 160, к-3220, д. 741, КОС-2012	84,05 – 86,65
<i>H. laevigatus</i> и-632132	84,79	ВИР 116 × ВИР 558, д. 1484, КОС-2012	97,54 – 99,49
<i>H. parishi</i> и-632137	71,29	ВИР 109 × ВИР 160, д. 1485, КОС-2012	66,67
<i>H. multiflorus</i> и-632141	90,80	RIL 130, к-3599, д. 1781, КОС-2011	94,48 – 95,93
<i>H. tomentosus=multiflorus</i> и-632151	15,98 – 42,9	ВИР 558, к-3504, д. 1782, КОС-2011	97,03 – 98,29
HA89 × <i>H. occidentalis</i> (д.112)	48,0 – 59,9	ВИР 387, к-3338, д. 1783, КОС-2011	51,42 – 57,97
ВИР 117 × <i>H. strumosus</i> (д.113)	51,32	ВИР 740, к-3528, д. 1786, КОС-2011	88,06 – 98,07
HA89 × <i>H. strumosus</i> (д.114)	2,00 – 9,81	RIL 80, к-3598, д. 1787, КОС-2011	95,38 – 98,01
HA89 × <i>H. strumosus</i> (д.115)	62,28	ВИР 900, к-3534, д. 1788, КОС-2011	75,62
ВИР 129 × <i>H. occidentalis</i> (д.116)	30,0 – 75,10	ВИР 195, к-3285, д. 1789, КОС-2011	14,74 – 90,65
<i>H. maximiliani</i> × ВИР151 (д.118)	99,00	ВИР 743, к-3530, д. 1791, КОС-2011	71,67 – 91,88
ВИР 129 × <i>H. maximiliani</i> F ₁ д.533	97,00	ВИР 763, к-3664, д. 1792, КОС-2011	94,18 – 98,55
<i>H. annuus</i> 'Передовик' к-2051	96,95 – 98,57	ВИР 210, к-3292, д. 1796, КОС-2011	87,35 – 91,52
<i>H. annuus</i> 'Мастер' к-3553	96,33 – 99,34	ВИР 160, к-3220, д. 1797, КОС-2011	82,40 – 97,33
HA232 × <i>H. giganteus</i> (д. 905)	60,00	ВИР 729, к-3533, д. 1798а, КОС-2011	86,44 – 95,77
HA232 × <i>H. grosseserratus</i> (д. 907)	92,00	ВИР 364, к-3480, д. 1794, КОС-2011	96,99 – 97,45
ВИР 114 × <i>H. tomentosus</i> (д. 908)	94,00	ВИР 116А × ВИР 195 д. 4, Пушкин-2012	96,25 – 98,69
ВИР 114 × к-1039 × S21547	41,50	ВИР 116А × ВИР 365 д. 5, Пушкин-2012	93,71 – 95,63
ВИР 745, к-3524	83,90	ВИР 109А × ВИР 558 д. 10, Пушкин-2012	93,59
ВИР 740, к-3528, д. 1051, КОС-2012	97,00 – 98,00		
ВИР 366, к-3327, д. 1053, КОС-2012	0*; 90,72		
ВИР 558, к-3504, д. 1105, КОС 2012	95,51 – 97,14		

Примечание: * в центре корзинок цветки практически стерильны, в пыльниках отмечались единичные пыльцевые зерна.
** одно растение из семи было стерильным

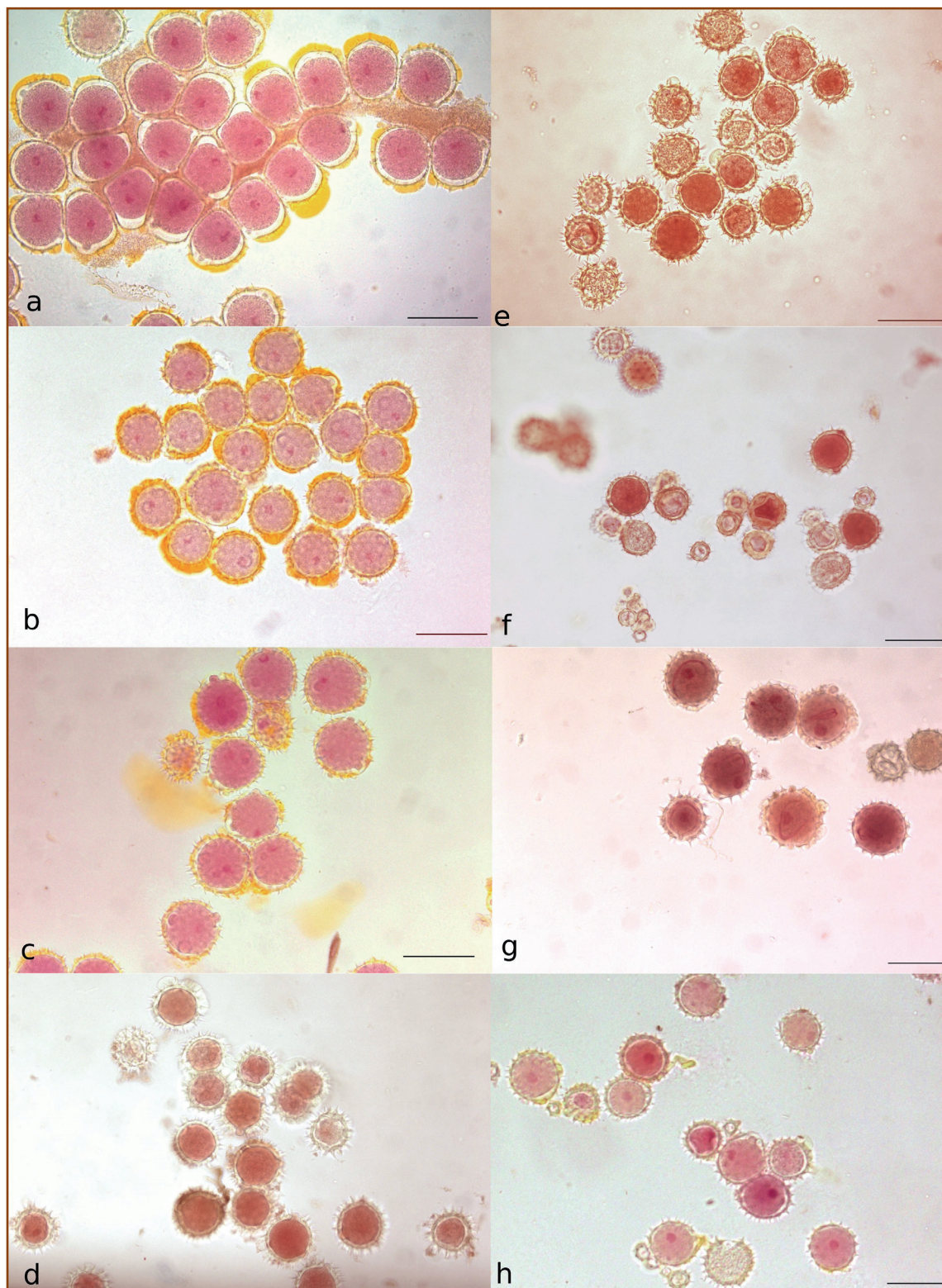


Рис. 2. Микрофотографии пыльцы: *a - c - Helianthus annuus L.*: *a* - сорт 'Передовик' (фертильность 99%); *b* - сорт 'Мастер' (99%); *c* - сорт 'Мастер' (87%); *d* - гибрид ВИР 116 × RIL 130 (85%); *e* - гибрид ВИР 116 × ВИР 195 (44%); *f* - линия ВИР 760 (66%); *g* - многолетний вид *H. tuberosus L.* (78%); *h* - многолетний вид *H. occidentalis Riddell* (60%). Масштабная линейка - 50 мкм

Fig. 2. Microphotographs of pollen: *a - c - Helianthus annuus L.*: *a* - cv. 'Peredovik' (fertility 99%); *b* - cv. 'Master' (99%); *c* - cv. 'Master' (87%); *d* - hybrid VIR 116 × RIL 130 (85%); *e* - hybrid VIR 116 × VIR 195 (44%); *f* - line VIR 760 (66%); *g* - perennial sp. *H. tuberosus L.* (78%); *h* - perennial sp. *H. occidentalis Riddell* (60%). Bar - 50 microns

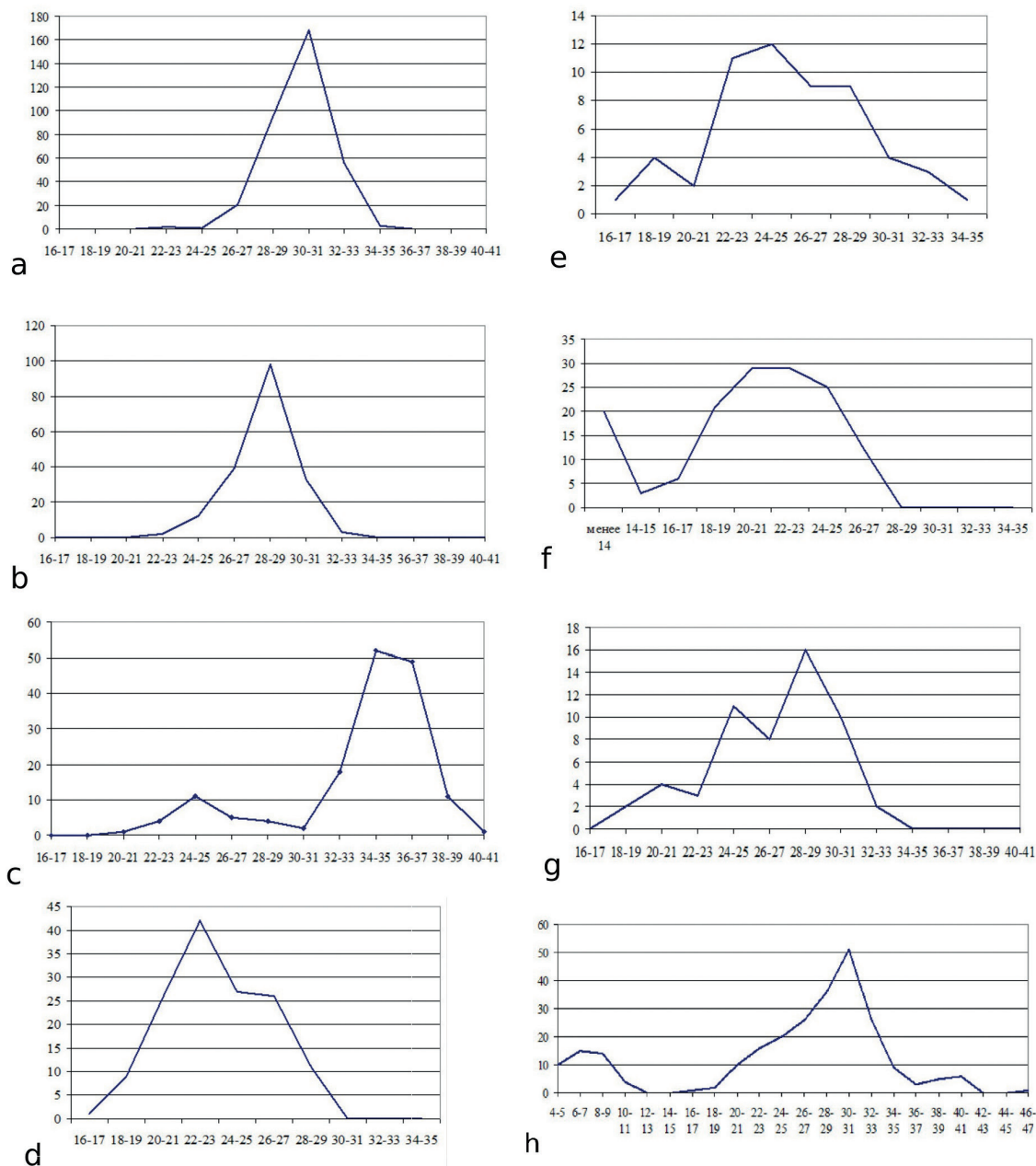


Рис. 3. Вариационная кривая по диаметру пыльцевых зерен: *a* – *c* – *Helianthus annuus* L.: *a* – сорт 'Передовик' (средний диаметр пыльцы 30,5 мкм); *b* – сорт 'Мастер' (28,6 мкм); *c* – сорт 'Мастер' (34,2 мкм); *d* – гибрид ВИР 116 × РИЛ 130 (23,9 мкм); *e* – гибрид ВИР 116 × РИЛ 130 (25,9 мкм); *f* – линия ВИР 760 (20,6 мкм); *g* – многолетний вид *Helianthus tuberosus* L. (27,2 мкм); *h* – многолетний вид *H. occidentalis* Riddell (25,7 мкм)

Fig. 3. Variation curve according to the occurrence of pollen grains of different diameters: *a* – cv. 'Peredovik' (average pollen diameter 30.5 μm); *b* – cv. 'Master' (28.6 μm); *c* – cv. 'Master' (34.2 μm); *d* – hybrid VIR 116 × RIL 130 (23.9 μm); *e* – hybrid VIR 116 × VIR 195 (25.9 μm); *f* – line VIR 760 (20.59 μm); *g* – perennial sp. *H. tuberosus* L. (27.2 μm); *h* – perennial sp. *H. occidentalis* Riddell (25.7 μm)

Наши результаты позволяют предположить гибридное происхождение для образцов *H. floridanus*, *H. decapetalis*, *H. eggerti* и *H. tomentosus*, что для последнего было подтверждено ранее другими методами (Anisimova, 1984).

К третьей группе (полностью стерильные) были отнесены:

гибриды: ВИР 109 × ВИР 160; ВИР 116 × ВИР 211; ВИР 116 × ВИР 366; ВИР 116 × ВИР 371.

Показатели качества пыльцы могут служить для характеристики системы размножения исследуемого вида в целом.

Высокая жизнеспособность пыльцы у диких видов подсолнечника была отмечена многими авторами. Уменьшение жизнеспособности пыльцы описан у полиплоидных видов и у гибридов, например, у тетраплоидных и гексаплоидных видов (Georgieva-Todorova, 1990), у естественных гибридов (Chandler et al, 1986), у F₁ межвидовых гибридов (культурный подсолнечник × дикий вид) (Georgieva-Todorova, 1993) при реципрокных скрещиваниях (дикий вид × культурный подсолнечник) и при беккроссировании (Atlagić, 1996).

Следует отметить, что все многолетние виды размножаются еще и вегетативно. Качество пыльцы может рассматриваться как косвенный признак, указывающий на высокую вероятность апомиксиса у той или иной таксономической формы. В работах С. С. Хохлова с соавторами (Chochlov et al., 1978) указывается, что низкое качество пыльцы отмечается у растений, склонных к апомиксису, то есть у тех, для которых качество пыльцы уже не имеет значения, поскольку для воспроизводства опыление не обязательно. С другой стороны, ухудшение качества пыльцы может быть связано и с преимущественно вегетативным способом размножения.

Было выявлено, что степень дефектности пыльцы (СПД – отношение дефектных пыльцевых зерен к общему числу проанализированных пыльцевых зерен) более 11,7% указывает на возможность апомиксиса (Chochlov et al., 1978; Kurgiyarov, 1989). Например, у пяти видов из рода *Chondrilla* L. СПД 60–90% встречалась у тех видов, у которых при цитозембриологическом исследовании женской генеративной сферы были обнаружены признаки апомиктического развития (Polyakova et al., 2015).

У апомиктических популяций некоторых злаков пыльца могла отличаться и по размеру – она легко визуально разделялась на три группы: крупная, средняя и мелкая, что могло быть следствием ее генетической неоднородности (Chechinskaya, Judakova, 2003).

Присутствие пыльцевых зерен разного диаметра, что проявляется в виде нескольких пиков на графиках вариационных кривых, позволяет косвенно предполагать наличие нарушений в мейозе при микроспорогенезе. А это, в свою очередь, случается при нестабильном геноме (у гибридов, полиплоидов) или же может быть ответом на неблагоприятные условия среды (слишком низкие или высокие температуры, загрязнение или воздействие химических реагентов).

Например, исследование пыльцы у F_1 между *H. annuus* и *H. resinosus* Small выявило гетерогенность пыльцевых зерен по размеру, а на графиках распределения пыльцы по диаметру были обнаружены два четко различимых пика: в районе 19 и 24 мкм, что было связано с нарушениями в мейозе, которые приводят к формированию диплоидной пыльцы (Zanetti et al., 2014).

Корреляция размеров пыльцевых зерен с плоидностью отмечалась не только для подсолнечника, а для целого ряда видов растений. Для тюльпанов, например, этот признак предлагается даже использовать для экспресс-оценки плоидности образцов (Kutlunina et al., 2006).

Кроме разницы в размерах у фертильных (окрашенных) пыльцевых зерен отмечается значимая разница между диаметром стерильных и фертильных пыльцевых зерен как у подсолнечника, так и у других видов. Например, у *Mimulus guttatus* DC. эта разница составляет около 13 мкм, что позволяет использовать размер (диаметр) пыльцевого зерна для автоматического подсчета соотношения фертильных и стерильных пыльцевых зерен (Kelly et al., 2002).

Какое должно быть качество пыльцы, чтоб считать образец фертильным? Этот вопрос не имеет однозначного ответа.

Мы можем проанализировать морфологические признаки самой пыльцы (количество выполненных пыльцевых зерен нужного диаметра), но гораздо сложнее просчитать такой показатель, как «достаточность опыления» (“pollen limitation”), то есть сколько нужно жизнеспособной (фертильной) пыльцы, чтобы количество завязавшихся семян было максимальным для данного вида и в данных условиях. И на этот показатель оказывает влияние множество факторов, таких как удаленность растений друг от друга, наличие специфических опылителей, чувствительность опылителей – то, что является у перекрестноопыляемых растений оборотной стороной предотвращения самоопыления (Wilcock, 2009).

Тем не менее, при оценке фертильности растений для селекционных целей подходит использование предложенного метода, включающего подсчет количества и степени окрашиваемости пыльцевых зерен в пробе, измерение диаметра пыльцевых зерен и анализ их однородности по размеру, которая оценивается и наглядно представляется в виде вариационных кривых, построенных по признаку диаметра пыльцы.

Заключение

Визуальной оценки для определения, фертильный или стерильный образец, недостаточно. Растение может иметь внешне нормальные пыльники, но низкое качество пыльцы.

Цитоморфологический анализ пыльцы важен для селекционной работы, поскольку данные о стадии развития, диаметре, степени окрашиваемости пыльцевых зерен позволяют дать более точную оценку фертильности образца, успеха опыления и завязываемости семян.

Сравнение разных методов определения фертильности (проращивание и окрашивание), методов фиксации и окраски проб пыльцы выявило, что в условиях полевой станции удобнее пользоваться ацетокарминовым методом окраски с предварительной фиксацией материала в растворе FAA.

Высокий уровень фертильности и низкая гетерогенность пыльцы были характерны для сортов, некоторых линий и ряда диких видов, которые по ее качеству сходны с культурными сортами.

Сниженная фертильность отмечалась у межлинейных и межвидовых гибридов, а также ряда диких видов.

Цитоморфологический анализ пыльцы у образцов из коллекции диких многолетних видов *Helianthus* L. Кубанской ОС ВИР позволяет рекомендовать для дальнейшего использования в селекционной работе образцы: *H. ciliaris*, *H. rigidus*, *H. strumosus* – они по качеству пыльцы сходны с культурными сортами ‘Передовик’, ‘Мастер’, ‘ВНИИМК 8883’ – и некоторые образцы *H. decapetalus*, *H. divaricatus*, *H. salicifolius*, *H. californicus*, *H. maximiliani* и *H. nutalli*, для которых отмечается небольшой разброс в размере пыльцевых зерен.

Наши результаты позволяют предположить гибридное происхождение видов *H. floridanus*, *H. decapetalus*, *H. eggerti* и *H. tomentosus*.

Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН по теме АААА-А18-118051590112-8 «Полувариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, естественные и искусственные модели их реализации», а также в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова № 0662-2019-0001 «Коллекция масличных и прядильных культур ВИР: Изучение и расширение генетического разнообразия».

References/Литература

- Alexander M. P. (1969) Differential staining of aborted and nonaborted pollen. *Stain Technology*, vol. 44, no. 3, pp. 117–122. DOI: 10.3109/10520296909063335
- Anisimova I. N. (1984) On the genetic nature of *Helianthus tomentosus* Michx. (O geneticheskoj prirode *Helianthus tomentosus* Michx.). *Reports of the Academy of Agricultural Sciences (Doklady VASKhNIL)*, no. 5, pp. 22–23 [in Russian] (Анисимова И. Н. О генетической природе *Helianthus tomentosus* Michx. // Доклады ВАСХНИЛ. 1984, № 5. С. 22–23).
- Atlagić J. (1996) Cytogenetic studies in hexaploid *Helianthus* species and their F1 hybrids with cultivated sunflower, *H. annuus*. *Plant Breeding*, vol. 115, pp. 257–260. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1996.tb00913.x
- Atlagić J., Terzić S., Marjanović-Jeromela A. (2012) Staining and fluorescent microscopy methods for pollen viability determination in sunflower and other plant species. *Industrial Crops and Products*, vol. 35, no. 1, pp. 88–91. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.06.012
- Barykina R. P., Veselova T. D., Devyatov A. G., Dzhalilova H. H., Ilyina G. M., Chubatova N. V. (2004) Handbook of botanical microtechnology. Bases and methods (Spravochnik po botanicheskoj mikrotekhnike. Osnovy i metody). Moscow, 312 p. [in Russian] (Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятков А. Г., Джалилова Х. Х., Ильина Г. М., Чубатова Н. В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М., 2004, 312 с.).
- Chandler J. M., January C. C., Beard H. (1986) Chromosomal differentiation among the annual *Helianthus* spp. *Systematic Botany*, vol. 11, pp. 354–371. DOI: 10.2307/2419126
- Chechkinskaya N. A., Judakova O. I. (2003) A new approach to the use of the anthromorphological method for the diagnosis of apomixis in cereals (Novyy podkhod k ispolzovaniyu antmorfologicheskogo metoda dlya diagnostiki apomiksisa u zlakov). *Bull. Bot. Garden of Saratov State University (Byull. Bot. sada Saratovskogo GU)*, no. 2, pp. 180–187 [in Russian] (Шушкинская Н. А., Юдакова О. И. Новый подход к использованию антоморфологического метода для диагностики апомиксиса у злаков // Бюлл. Бот. сада Саратовского ГУ. 2003. Вып. 2. С. 180–187).
- Chochlov S. S., Zaitseva M. I., Kupriyanov P. G. (1978) Identification of apomictic plants in the flora of flowering plants of the USSR (Vyavleniye apomiktichnykh rasteniy vo flore tsvetkovykh rasteniy SSSR). Saratov, 224 p. [in Russian] (Хохлов С. С., Зайцева М. И., Куприянов П. Г. Выявление апомиктичных растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.).
- Georgieva-Todorova J. (1990) Genetic and Cytogenetic Investigation of the Genus *Helianthus* L. (Genetichni i tsitogenetichni izsledvaniya na rod *Helianthus* L.). Sofia : Bulgarian Academy of Science (Izd-vo na Blgarska akademiya na naukite), 132 p. [in Bulgarian] (Георгиева-Тодорова Й. Генетични и цитогенетични изследвания на род *Helianthus* L., София : Изд-во на Българска академия на науките, 1990. 132 с.).
- Georgieva-Todorova J. (1993) Interspecific hybridization and its application in sunflower breeding. *Biotechnology and biotechnology equipment*, vol. 7, no. 4, pp. 153–157. DOI: 10.1080/13102818.1993.10818729
- Kelly J. K., Rasch A., Kalisz S. (2002) A method to estimate pollen viability from pollen size variation. *Amer. J. Bot.*, vol. 89, no. 6, pp. 1021–1023.
- Kutlunina N. A., Zhrebtsova M. I., Zymnitskaya S. A. (2006) Size and quality of pollen grains in *Tulipa* (Liliaceae) and *Saxifraga* (Saxifragaceae) of different ploidy level. *Botanical journal (Botan. zhurn.)*, vol. 91, no. 11, pp. 1695–1704 [in Russian] (Кутлунина Н. А., Жеребцова М. И. Зимницкая С. А. Размер и качество пыльцевых зерен видов *Tulipa* (Liliaceae) и *Saxifraga* (Saxifragaceae) разной ploidy // Ботан. журн., 2006, Т. 91, № 11. С. 1695–1704).
- Navashin M. S. (1936) Method of cytological research for breeding purposes (Metodika tsitologicheskogo issledovaniya dlya selektsionnykh tseley), Moscow; Leningrad, 86 p. [in Russian] (Навашин М. С. Методика цитологического исследования для селекционных целей. М.; Л., 1936. 86 с.).
- Orel L. V., Ogorodnikova V. F., Golubeva E. A., Efendieva K. G. (1978) Ultrastructure and ontogenesis of the tapetal film of anthers in some cultivated plants (Ultrastruktura i ontogenez tapetalnoy plenki pyl'nikov nekotorykh kulturnykh rasteniy). *Bulletin VIR (Byulleten VIR)*, iss. 83, p. 72 [in Russian] (Орел Л. И., Огородникова В. Ф., Голубева Е. А., Эфендиева К. Г. Ультраструктура и онтогенез тапетальной пленки пыльников некоторых культурных растений // Бюллетень ВИР, 1978. Вып. 83. С. 72.)
- Peterson R., Slovin J. P. (2010) A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. *International Journal of Plant Biology*, vol. 1, no. 13, pp. 66–69.
- Piffanelli P., Ross J. H. E., Murphy D. J. (1998) Biogenesis and function of the lipidic structures of pollen grains. *Sex. Plant Reprod.*, vol. 11, pp. 65–80. DOI: 10.1007/s004970050122
- Pirev M. N. (1966) Histochemical study of anthers of fertile and sterile sunflower pollen forms. Biology of fertilization and heterosis of cultivated plants. (Gistokhimicheskoye issledovaniye pyl'nikov fertilykh i sterilykh po pyltse form podsolnechnika. Biologiya oplodotvoreniya i heterozis kulturnykh rasteniy). Iss. 4. Kishinev, pp. 98–113 [in Russian] (Пирев М. Н. Гистохимическое исследование пыльников фертильных и стерильных по пыльце форм подсолнечника. Биология оплодотворения и гетерозис культурных растений. Вып. 4. Кишинев, 1966. С. 98–113).
- Polyakova Yu. A., Ugolnikova E. V., Kashin A. S., Popova A. O. (2015) The quality of pollen and cytoembryological signs of gametophytic apomixis in the populations of *Chondrilla* L. species in the Lower Volga region (Kachestvo pyl'tse i tsitoembriologicheskoye priznaki gametofitnogo apomiksisa v populyatsiyakh vidov *Chondrilla* L. Nizhnego Povolzhya). *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University (Byulleten Botanicheskogo sada Saratovskogo gosuniversiteta)*, iss. 13, pp. 161–170 [in Russian] (Полякова Ю. А., Угольникова Е. В., Кашин А. С., Попова А. О. Качество пыльцы и цитоембриологические признаки гаметофитного апомиксиса в популяциях видов *Chondrilla* L. Нижнего Поволжья // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. 2015. Вып. 13. С. 161–170).
- Simonenko V. K., Karpovich E. V. (1978) Cytological manifestation of various types of male sterility in sunflower (Tsitologicheskoye proyavleniye razlichnykh tipov muzhskoy sterilnosti u podsolnechnika) In: *Scientific and technical bulletin of the All-Union Breeding and Genetics Institute (Nauchno-tekhnicheskii byulleten Vsesoyuznogo selektsionno-geneticheskogo instituta)*, iss. 31, pp. 32–38 [in Russian] (Симоненко В. К., Карпович Е. В. Цитологическое проявление различных типов мужской стерильности у подсолнечника // Научно-технический бюллетень Всесоюзного селекционно-генетического института. 1978. Вып. 31. С. 32–38).
- Voronova O. N., Tolstaja T. T., Rozhkova V. T., Gavrilova V. A. (2011) Determination of pollen fertility in a number of wild perennial sunflower species and samples from the collection growing at the Kuban Station of VIR. *Bulletin on applied botany, of genetics and plant breeding*, vol. 167, pp. 14–158 [in Russian] (Воронова О. Н., Толстая Т. Т., Рожкова В. Т., Гаврилова В. А. Определение фертильности пыльцы у ряда диких многолетних видов и образцов подсолнечника из коллекции, произрастающей на Кубанской станции ВИР // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2011. Т. 167. С. 145–158).

Wilcock C. C. (2009) Pollination failure in natural populations: implications for the conservation of rare plants. *Embryology of Flowering Plants. Terminology and Concepts*, vol. 3. (Reproductive Systems) / Ed. Batygina T. B., Enfield, pp. 126–136.

Zanetti J. M., Greizerstein E., Camadro E., Poverene M., Echeverria M., Poggio L., Carrera A. (2014) Genomic relationship between hexaploid *Helianthus resinosus* and diploid *Helianthus annuus* (Asteraceae). *Plant Syst. Evol.*, vol. 300, pp. 1071–1078.

Прозрачность финансовой деятельности/The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования/How to cite this article

Воронова О. Н., Гаврилова В. А. Количественный и качественный анализ пыльцы подсолнечника (*Helianthus L.*) и его использование в селекционной работе. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2019; 180(1): 95-104. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-95-104

Voronova O. N., Gavrilova V. A. Quantitative and qualitative analysis of sunflower pollen (*Helianthus L.*) and its use in breeding work. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2019; 180(1): 95-104. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-95-104

Все авторы одобрили рукопись/All authors approved the manuscript

Благодарности/Acknowledgements

Авторы признательны д. б. н. В. Т. Рожковой, к. б. н. Т. Т. Толстой и всем сотрудникам Интродукционно-карантинного питомника КОС ВИР за помощь в получении материала для исследований.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы/The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Дополнительная информация/Additional information

Полные данные этой статьи доступны/Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы/The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer

Конфликт интересов отсутствует/No conflict of interest
