

ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА И ФОРМИРОВАНИЯ ПЫЛЬЦЕВОГО ЗЕРНА У *HELIANTHUS OCCIDENTALIS* (ASTERACEAE)

© 2024 г. А. А. Бабро¹, *, О. Н. Воронова¹, **

¹Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия

*e-mail: ABabro@binran.ru

**e-mail: o_voronova@binran.ru

Поступила в редакцию 06.08.2024 г.

Получена после доработки 10.08.2024 г.

Принята к публикации 10.09.2024 г.

Изучен микроспорогенез и проведена оценка качества пыльцевых зерен у *Helianthus occidentalis* Riddell. Обнаружены аномалии развития и признаки деструкции репродуктивных структур на протяжении всего микроспорогенеза, начиная с первых этапов мейоза: нарушения в расхождении хромосом в метафазе первого деления, приводящие к появлению отстающих хромосом и образованию микронуклеусов; формирование монад, диад, триад вместо тетрад микроспор; отсутствие деления клеток после мейоза на самостоятельные микроспоры и формирование аномальных дефектных пыльцевых зерен (целиком из диады, тетрады клеток). Выявлена неоднородность пыльцевых зерен по размеру и восприимчивости к красителям. Отмечены деформированные (в том числе серповидные) и стерильные (с неокрашенным содержимым) пыльцевые зерна.

Ключевые слова: *Helianthus*, *Helianthus occidentalis*, микроспорогенез, мейоз, тетрада микроспор, микроспора, пыльцевое зерно

DOI: 10.31857/S0006813624090033 EDN: PAMUCX

Вид *Helianthus occidentalis* рода *Helianthus* L. относится к семейству Asteraceae L., трибе Heliantheae Cass, подтрибе Helianthinae Dumort. (The Families and Genera..., 2007). Указанный вид имеет естественный ареал в центральной и восточной части Северной Америки (*Helianthus occidentalis*..., 2024). В эмбриологическом отношении он изучен недостаточно.

H. occidentalis благодаря содержанию дитерпеновых кислот устойчив к вредителям подсолнечника (Stipanovic et al., 1979); отмечены популяции *H. occidentalis*, имеющие повышенную устойчивость к основным грибковым заболеваниям (Tikhomirov, Chiryaev, 2005) и этот признак передается гибридному потомству (Sujatha, 2006). В связи с этим данный вид включается в селекционную работу, а вещества, обеспечивающие устойчивость, могут

стать базой при создании препаратов для защиты растений.

При цитологической оценке пыльцы, взятой у разных образцов *H. occidentalis*, наблюдались существенные различия по ее качеству, а среди примерно одинаково окрашенных пыльцевых зерен — высокая степень вариабельности по диаметру, что косвенно указывает на нарушения в микроспорогенезе (Voronova, Gavrilova, 2019).

Данная статья является продолжением работ по исследованию эмбриологии многолетних видов подсолнечника (Babro, Voronova, 2018; Voronova, Babro, 2018, 2019, 2021; Voronova, Ryazanov, 2022; Voronova et al., 2023) и посвящена исследованию процессов микроспорогенеза, формирования пыльцевого зерна и выявлению аномалий, влияющих на качество пыльцы у *H. occidentalis*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования является подсолнечник западный *Helianthus occidentalis* Riddell. Данный вид относится к серии *Atrorubentes* секции *Divaricati* в пределах рода *Helianthus* семейства *Asteraceae* (Schilling, Heiser, 1981). Вид относится к группе диких многолетних подсолнечников, по числу хромосом *H. occidentalis* – диплоид с $2n = 34$ (Heiser, Smith, 1954; Markin et al., 2011).

Материал был собран на Кубанской опытной станции (КОС ВИР), расположенной в пос. Ботаника (45°21' с.ш. и 40°80' в.д.), где поддерживается коллекция Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова. Растения произрастали на поле в условиях свободного (перекрестного) опыления, без изоляции.

Целые корзинки на разных стадиях развития были собраны и зафиксированы в растворе FAA (формалин, ледяная уксусная кислота и 70% этанол в отношении 7 : 7 : 100). Материал дегидратировали через серию спиртов, проводили через ряд этанол-хлороформных смесей до чистого хлороформа и заключали в парафин или Histomix® (Биовитрум), постоянные препараты для световой микроскопии окрашивали сафранином или реактивом Шиффа, в обоих случаях с подкраской алциановым синим (более подробно см. Babro, Voronova, 2023).

Для анализа и фотосъемки препаратов использовали универсальный биологический моторизованный флуоресцентный микроскоп Axio Imager.Z1 и программный пакет Zen 3.3 (Carl Zeiss) – оборудование ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В соцветии подсолнечника бутоны развиваются асинхронно, кругами, в центростремительной последовательности – первые раскрывшиеся бутоны и высыпание пыльцы наблюдаются на периферии корзинки.

Пыльники четырехгнездные (тетраспорангиатные), микроспорангии объединены в две теки. С адаксиальной стороны пыльника гнезда имеют несколько меньший диаметр, чем расположенные с абаксиальной стороны.

Нами не было выявлено существенных отклонений от нормального развития пыльников до стадии

начала микроспорогенеза. Стенка микроспорангия развивается по центробежному типу (Teryokhin et al., 1993). Сформированная стенка пыльника 4-слойная: эпидермис, эндотеций, средний слой (эфемерный) и тапетум. Археспориальные клетки пыльника дают начало спорогенным клеткам, число которых увеличивается путем митотических делений. Спорогенные клетки преобразуются в микроспороциты (рис. 1a, b, c).

Начиная с профазы мейоза и вплоть до стадии созревания пыльцевых зерен, были обнаружены различные аномалии.

В метафазе первого деления мейоза были замечены отстающие хромосомы, находящиеся вне веретена деления (рис. 1d). В дальнейшем эти хромосомы так и оставались сгустками генетического материала в цитоплазме.

Помимо нормально формирующихся диад с двумя ядрами на стадии анафазы I (рис. 1e) были обнаружены диады, где одно из ядер начинало дегенерировать – на препаратах оно выглядело интенсивно темноокрашенным, структура его не просматривалась (рис. 1f).

Во втором делении мейоза (рис. 1g) уже в метафазе II наблюдались отклонения, которые приводили к нерегулярному паттерну в расхождении хромосом по клеткам тетрады – образовывались так называемые микро- и макронуклеусы (рис. 1h, i). Также обнаруживались клетки с отдельными дегенерирующими ядрами в формирующихся тетрадах (рис. 2a, b), в дальнейшем в тетрадах наблюдались дегенерирующие микроспоры, отличающиеся значительно более темной окраской ядра или ядра и цитоплазмы по сравнению с окружающими микроспорами (рис. 2c).

Заложение клеточных оболочек вокруг микро- и макроядер в конце анафазы второго деления мейоза приводило к формированию микроспор значительно меньшего или, напротив, увеличенного размера по сравнению с нормальным большинством. Как правило, варьирование отмечалось в пределах одной тетрады (рис. 2b). Также были обнаружены не только тетрады, но и триады, диады и даже монады микроспор, что, по-видимому, также связано с нарушениями в процессе мейоза – неправильном делении ядер или его отсутствии, а также в заложении клеточных оболочек между ядрами до достижения стадии тетрады (рис. 2d).

На стадии перехода от микроспоры к формированию пыльцевого зерна (микрогаметофита) отмечалась значительная их неоднородность по размерам. Кроме того, наблюдались деформированные, сжатые, в том

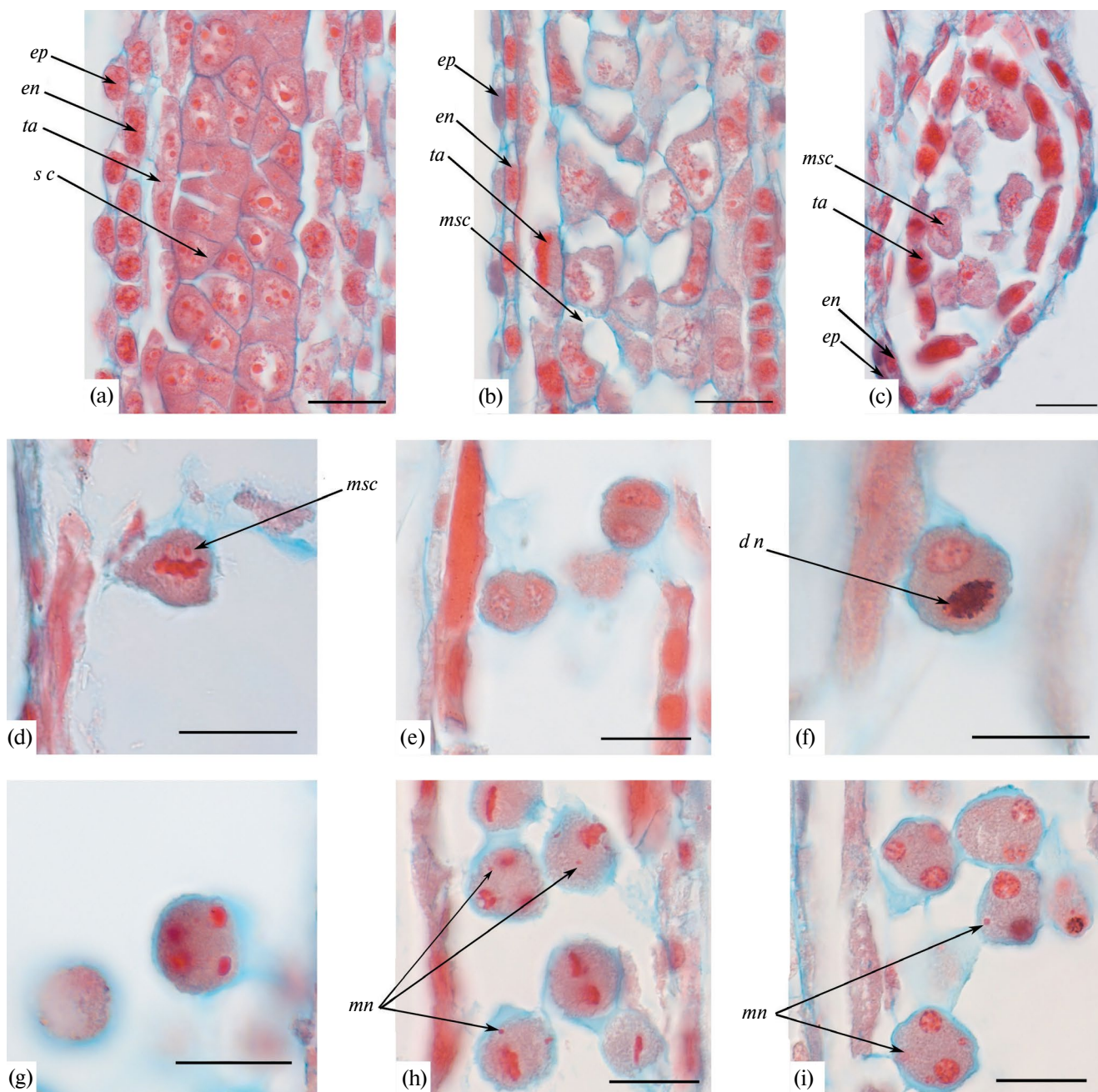


Рис. 1. Формирование микроспороцитов и аномалии в процессе мейоза в пыльниках *Helianthus occidentalis*:

а – продольный срез гнезда пыльника со спорогенными клетками; б – микроспороциты, продольный срез пыльника; с – микроспороциты, поперечный срез пыльника; д – метафаза I, видны отстающие хромосомы вне веретена деления; е – образование диад на стадии анафазы I; ф – диада, одно ядро дегенерирует; г – телофаза II; h, i – формирование микроспор, некоторые ядра значительно меньше других по размеру (микроядра). *dn* – дегенерирующее ядро; *en* – эндотехий; *ep* – эпидермис; *mn* – микроядро; *msc* – микроспороцит; *sc* – спорогенная клетка; *ta* – тапетум. Масштабная линейка: 20 мкм.

Fig. 1. Microsporocytes formation and anomalies in male meiosis in *Helianthus occidentalis*

а – a locule with sporogenous cells, longitudinal section; б – microsporocytes, longitudinal section of anther; с – microsporocytes, transverse section of anther; д – metaphase I, residual chromosomes are seen outside the spindle; е – formation of dyads in anaphase I; ф – dyad, one of the nuclei is degenerating; г – telophase II; h, i – microspores formation, some nuclei (micronuclei) are considerably smaller than the others. *dn* – degenerating nucleus; *en* – endothecium; *ep* – epidermis; *mn* – micronucleus; *msc* – microsporocyte; *sc* – sporogenous cell; *ta* – tapetum. Scale bar: 20 μ m.

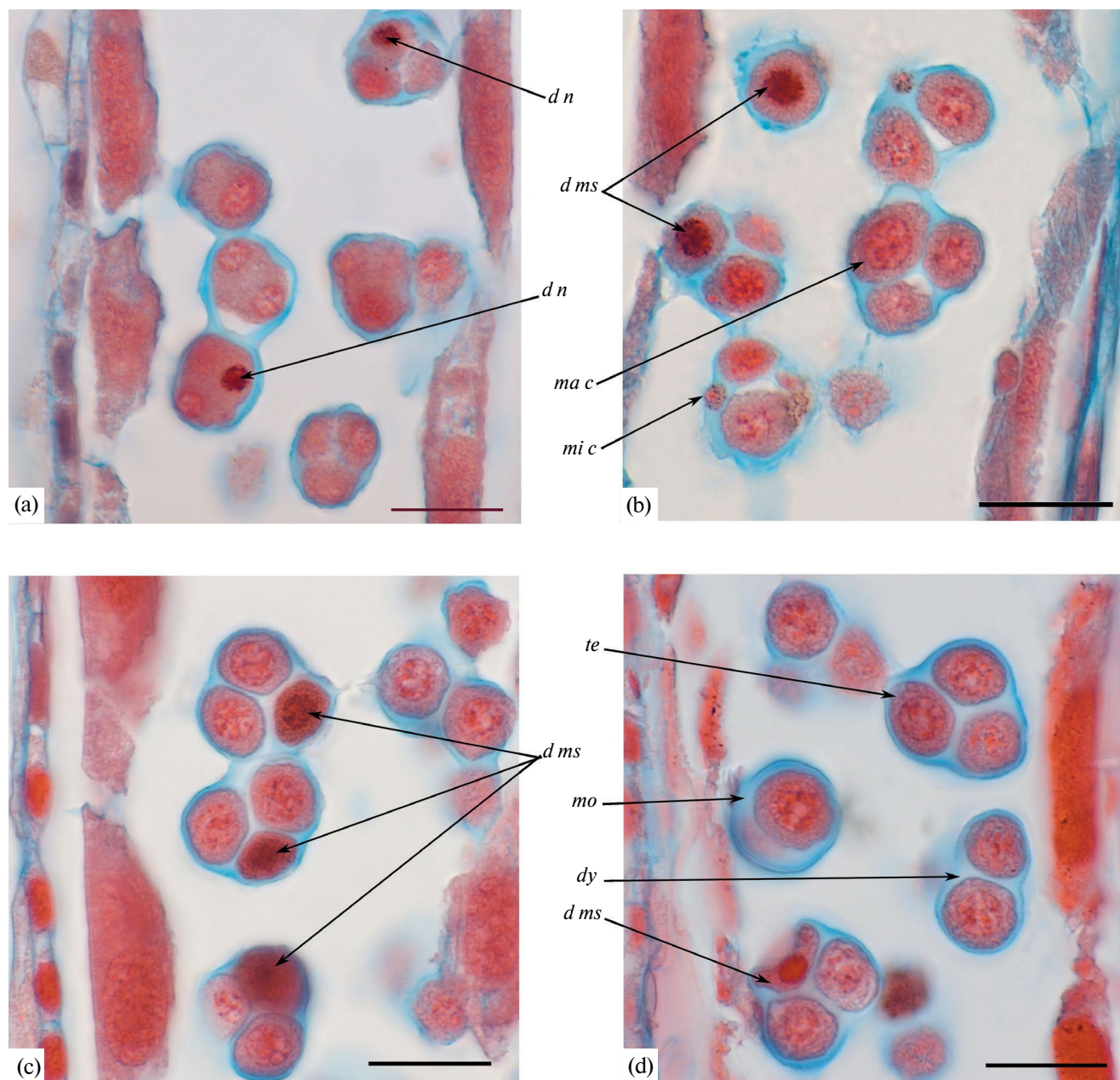


Рис. 2. Микроспорогенез и его аномалии у *Helianthus occidentalis*:

а – тетрады с дегенерирующими ядрами; б – неоднородность микроспор по размеру, микроспоры с дегенерирующими ядрами; с – дегенерирующие микроспоры в составе тетрад; д – диада и монада; серповидно деформированная дегенерирующая микроспора в тетраде. *dn* – дегенерирующее ядро; *dms* – дегенерирующая микроспора; *dy* – диада; *mac* – макро-клетка в тетраде микроспор; *mic* – микро-клетка в тетраде микроспор; *mo* – монада; *te* – тетрада. Масштабная линейка: 20 мкм.

Fig. 2. Microsporogenesis and its anomalies in *Helianthus occidentalis*:

a – tetrads with degenerating nuclei; b – heterogeneity of microspores by size and microspores with degenerating nuclei; c – some degenerating microspores within tetrads; d – dyad and monad; degenerating microspore within the tetrad with crescent-like deformation. *dn* – degenerating nucleus; *dms* – degenerating microspore; *dy* – dyad; *mac* – macro-cell within microspores tetrad; *mic* – micro-cell within microspores tetrad; *mo* – monad; *te* – tetrad. Scale bar: 20 μm.

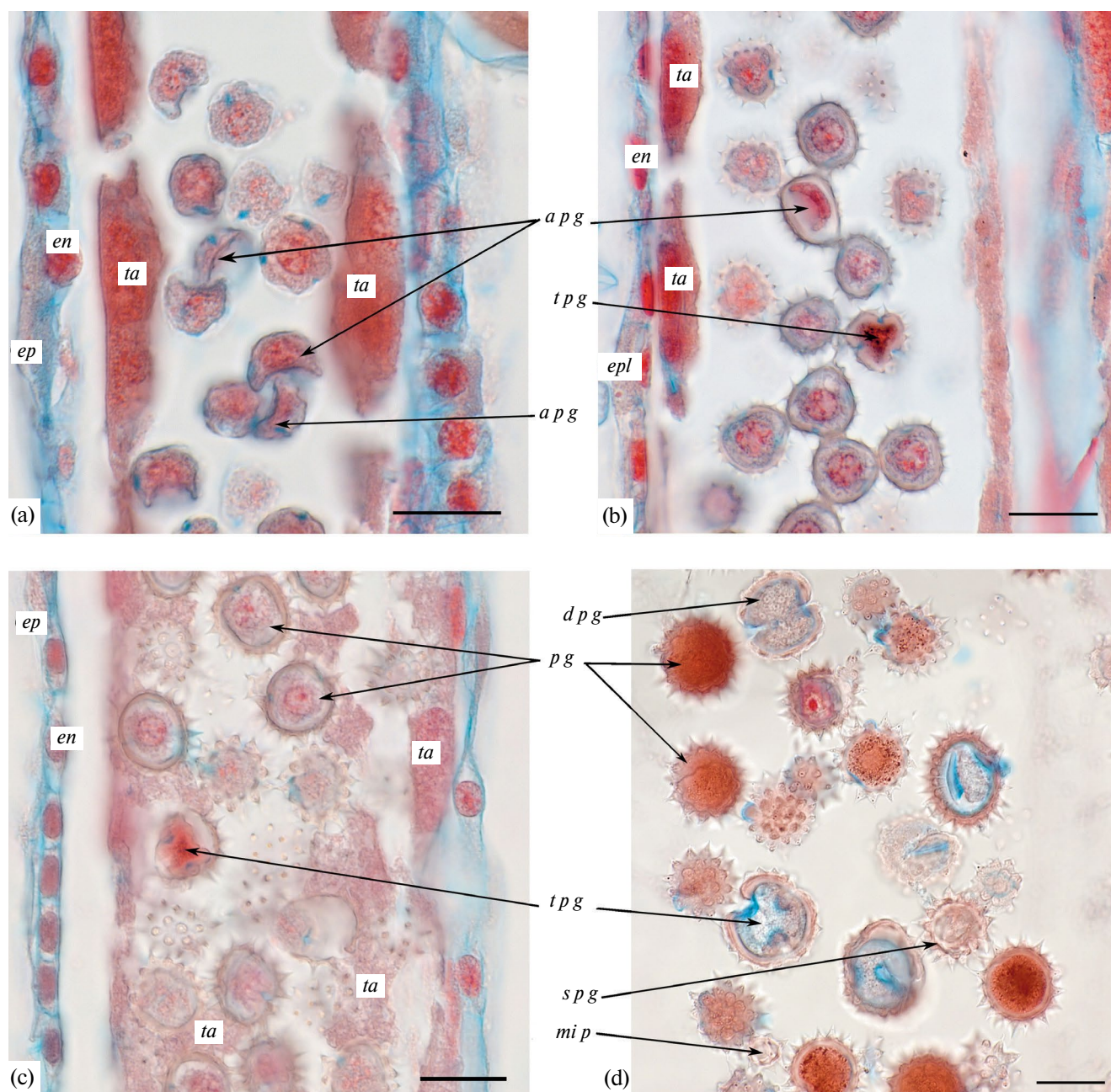


Рис. 3. Аномалии в процессе формирования пыльцевого зерна у *Helianthus occidentalis*:

а — серповидно деформированные пыльцевые зерна; б — пыльцевые зерна серповидной и лопастной (напоминающей тетраду) формы среди пыльцевых зерен нормального строения; в — пыльцевые зерна лопастной формы среди нормальных; д — пыльцевые зерна с различными аномалиями (лопастные, маленького размера, с разрушенным содержимым) среди пыльцевых зерен нормального строения. *a p g* — пыльцевые зерна аномального строения; *d p g* — пыльцевое зерно в форме диады; *en* — эндотеций; *ep* — эпидермис; *mip* — микро-пыльцевое зерно; *p g* — пыльцевое зерно нормального строения; *s p g* — стерильное пыльцевое зерно; *t p g* — пыльцевое зерно в форме нераспавшейся тетрады. Масштабная линейка: 20 мкм.

Fig. 3. Anomalies in pollen grain formation in *Helianthus occidentalis*:

a — pollen grains with crescent-like deformation; b — crescent and lobate (tetrad-like) pollen grains among normal ones; c — lobate pollen grains among normal ones; d — pollen grains with various anomalies (lobate, very small, with disintegrated content) among normal ones. *a p g* — anomal pollen grain; *d p g* — dyad-shaped pollen grain; *en* — endothecim; *ep* — epidermis; *mip* — micro pollen grain; *p g* — normal pollen grain; *s p g* — sterile pollen grain; *t p g* — tetrad-shaped pollen grain. Scale bar: 20 μm.

числе имеющие серповидную форму, микроспоры (рис. 2d) и пыльцевые зерна (рис. 3a). Были выявлены аномальные пыльцевые зерна, имеющие сильно лопастную форму, похожие на неразделенную тетраду (рис. 3b); имеющие под внешней оболочкой структуру из диады или тетрады клеток (рис. 3d), по-видимому, сформированные в результате отсутствия заложения перегородок или неполного заложения перегородок между клетками по завершению мейоза.

Для подсолнечников характерна реорганизация тапетума в периплазмодий, которая у исследуемого вида отмечается в период формирования оболочки пыльцевого зерна (рис. 3c).

Среди зрелых пыльцевых зерен были выявлены экземпляры с неокрашивающимся содержимым или очень темной окраской всей цитоплазмы или ее отдельных элементов. Данные аномалии часто обнаруживались у пыльцевых зерен одновременно с деформацией (рис. 3d).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенная ранее оценка качества пыльцы *Helianthus occidentalis* для использования этого вида в селекционной работе (Voronova, Gavrilova, 2019) выявила существенную неоднородность образцов данного вида по качеству пыльцы и высокую степень вариабельности диаметра пыльцевых зерен — от 4–10 до 46–47 мкм. Следует отметить, что наибольшее число пыльцевых зерен имело размер 28–30 мкм. Подобная неоднородность отмечалась и в настоящем исследовании, причиной которой, как показал анализ материала, являются множественные нарушения в микроспорогенезе и при формировании пыльцевых зерен.

Наблюдаемые нами отклонения во время микроспорогенеза и развития пыльцевого зерна у *H. occidentalis* сходны с аномалиями, выявленными Л.К. Дзюбенко (Dziubenko, 1965) и С.С. Татинцевой (Tatintseva, 1971) у *H. tuberosus*. Как и в работе Татинцевой, нарушения в развитии мужского гаметофита и, как следствие, низкое качество пыльцы, можно объяснить сочетанием генетически обусловленных нарушений в процессе мейоза и развития тапетума и влиянием неблагоприятных погодных условий в период цветения.

Выявлены различные нарушения при расхождении хромосом в процессе мейоза (мосты, отстающие или опережающие хромосомы, в дальнейшем — образование диад, триад и пентад) у растений подсолнечника, в основном, гибридного происхождения (Atlagić, 1996, 2000, 2004; Atlagić et al., 1995, 2003; Atlagić, Skoric, 1999;

Georgieva-Todorova, 1965, 1993). Наличие микроядер на стадии тетрад микроспор отмечали Р.С. Binsfeld et al. (2001). Установлен метаболический механизм воздействия (окислительный стресс) на ход мейоза, приводящий к переключению мейоза на апомейоз и наоборот (de Arias et al., 2020).

У *Arnica montana* (Asteraceae) наблюдались отстающие и расположенные вне веретена хромосомы, монады и диады, а также стерильные пыльцевые зерна, отличающиеся меньшим размером и темной окраской (Yankova-Tsvetkova et al., 2016).

Следует отметить, что сходные аномалии наблюдались в других систематических группах растений. У растений инбредной линии *Zea mays* обнаруживались полиады, слияние клеток, микроядра (Ricci et al., 2007), а у гаплоидных растений этого же вида — полиады, беспорядочное распределение хроматина (Tang Qi-lin et al., 2009); у тетраплоидных растений *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae) — неравномерное распределение хроматина, полиады с неравными по размеру ядрами (Risso-Pascotto et al., 2005).

Образование диад микроспор для исследуемого вида является отклонением от нормального хода микроспорогенеза, так как не соответствует симультанному типу цитокinesis, характерному для подсолнечника (Toderich, 1988; Babro, Voronova, 2018; Voronova, Ryazanova, 2022).

Что же может быть причиной того, что у диплоидного вида обнаруживаются такие разнообразные аномалии?

В литературе имеются данные о самонесовместимости у многих видов подсолнечника и об отсутствии барьеров межвидовой гибридизации у диких многолетних подсолнечников, о частых случаях этого явления, в том числе с участием исследуемого вида (Heiser et al., 1962, 1969). Авторы выяснили, что для *H. occidentalis* известны естественные и искусственно созданные гибриды с другими видами подсолнечника (например, с *H. mollis*, *H. giganteus*, *H. grosseserratus* и др.), при этом все искусственные гибриды имели пониженную окрашиваемость пыльцы (пониженную “фертильность”).

О многочисленных популяциях естественных гибридов между *H. occidentalis* и *H. mollis* писали R.C. Jackson и A.T. Guard (Jackson, Guard, 1957). Ими же был получен искусственный гибрид между этими видами и было обнаружено, что у гибридов показатель окрашенной (фертильной) пыльцы падает ниже 50%. Причиной этого авторы посчитали хромосомные транслокации, случившиеся у одного из родителей. У гибридов

также было выявлено кольцо из четырех хромосом в диакинезе. Анализ гибридных популяций показал, что существуют многие промежуточные типы, возникшие, по-видимому, в результате интрогрессии между *H. mollis* и *H. occidentalis*.

В то же время ранее сообщалось о нормальном прохождении мейоза у *H. occidentalis* и некоторых особенностях организации хромосом у гибридов при мейозе, завязываемость семян при этом у гибридных растений значительно ниже (Jackson, Guard, 1957).

Таким образом, одной из причин множественных аномалий в развитии и снижения качества пыльцы у *H. occidentalis*, вероятнее всего, является интрогрессия хромосом одного из близких диплоидных видов в результате гибридизации, имевшей место в природной популяции.

Проведенное исследование еще раз подтверждает необходимость проведения цитологического анализа для определения потенциальных растений-опылителей, используемых для селекционно-генетической работы с подсолнечником.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованный вид интересен для селекционной работы, особенно, благодаря содержанию веществ, обеспечивающих устойчивость к воздействию вредителей. Однако качество пыльцы растений данного вида нестабильно.

Выявленные у *Helianthus occidentalis* аномалии в ходе микроспорогенеза и формирования пыльцы являются причиной образования дефектных пыльцевых зерен, количество которых сильно варьирует. Подобные аномалии как в процессе микроспорогенеза, так и в строении пыльцевых зерен, выраженные в большей или меньшей степени, отмечались и у других видов подсолнечника.

При использовании в скрещиваниях *H. occidentalis*, а также и других видов подсолнечника, нужно учитывать степень дефектности пыльцы, для чего необходим постоянный цитологический контроль ее качества.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят за помощь в получении материала для исследований д.б.н. В.А. Гаврилову (ВИР) и к.б.н. Т.Т. Толстую, а также сотрудников Интродукционно-карантинного питомника Кубанской опытной станции.

Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН

№ 124013100862-0 “Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, регуляция морфопрцессов *in vivo* и *in vitro*” (2024–2028). Для проведения исследования использовано оборудование ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Arias, de M.M., Gao L., Sherwood D.A., Dwivedi K.K., Price B.J., Jamison M., Kowallis B.M., Carman J.G. 2020. Whether gametophytes are reduced or unreduced in Angiosperms might be determined metabolically. — *Genes* 11(12): 1449.
<https://doi.org/10.3390/genes11121449>
- Atagić J. 1996. Cytogenetic studies in hexaploid *Helianthus* species and their F1 hybrids with cultivated sunflower, *H. annuus*. — *Plant Breeding* 115: 257–260.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00913.x>
- Atagić J. 2000. Cytogenetic study of *Helianthus rigidus* and its F1 and BC1F1 hybrids with the cultivated sunflower, *Helianthus annuus*. — *Genetika*. 32(1): 63–69.
- Atagić J. 2004. Roles of interspecific hybridization and cytogenetic studies in sunflower breeding. — *Helia*. 27(41): 1–24.
<https://doi.org/10.2298/HEL0441001A>
- Atagić J., Dozet B., Skoric D. 1995. Meiosis and pollen grain viability in *Helianthus mollis*, *Helianthus salicifolius*, *Helianthus maximiliani* and their F1 hybrids with cultivated sunflower. — *Euphytica*. 81: 259–263.
<https://doi.org/10.1007/BF00025615>
- Atagić J., Panković D., Pekanović A. 2003. Backcrosses in interspecific hybridization in sunflower. — *Genetika*. 35(3): 187–197.
<https://doi.org/10.2298/GENSR0303187A>
- Atagić J., Škoric D. 1999. Cytogenetic study of *Helianthus laevigatus* and its F1 and BC1F1 hybrids with cultivated sunflower, *Helianthus annuus*. — *Plant Breeding*. 118: 555–559.
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00423.x>
- Binsfeld P.C., Wingender R., Schnabl H. 2001. Cytogenetic analysis of interspecific sunflower hybrids and molecular evaluation of their progeny. — *Theoretical and Applied Genetics*. 102: 1280–1285.
<https://doi.org/10.1007/s001220000517>
- [Babro, Voronova] Бабро А.А., Воронова О.Н. 2018. Развитие мужских репродуктивных структур у *Helianthus ciliaris* и *H. tuberosus* (Asteraceae). — *Бот. журн.* 103 (9): 1093–1108.
<https://doi.org/10.7868/S0006813618090028>
- [Babro, Voronova] Бабро А.А., Воронова О.Н. 2023. Обзор методов подготовки препаратов для световой микроскопии репродуктивных структур видов *Helianthus* (Asteraceae). — *Бот. журн.* 108(10): 917–938.
<https://doi.org/10.31857/S0006813623100022>

- [Dziubenko] Дзюбенко Л.К. 1965. Особливості розвитку чоловічого та жіночого гаметофітів топінамбура (*Helianthus tuberosus* L.). — Укр. бот. журн. 22(1): 43–53.
- The families and genera of vascular plants. Vol. 8. 2007. Berlin. 636 p.
- [Georgieva-Todorova] Георгиева-Тодорова Й. 1965. Результаты гибридизации культурного подсолнечника с некоторыми видами рода *Helianthus* L. — Симпозиум по отдаленной гибридизации растений. София, 10–12 ноября 1964 г. София. 290 с.
- Georgieva-Todorova J. 1993. Interspecific hybridization and its application in sunflower breeding. — *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 7(4): 153–157.
<https://doi.org/10.1080/13102818.1993.10818729>
- Jackson R.C., Guard A.T. 1957. Natural and artificial hybridization between *Helianthus mollis* and *H. occidentalis*. — *Amer. Midland Naturalist*. 58(2): 422–433.
<https://doi.org/10.2307/2422625>
- Heiser C.B., Smith D.M. 1954. New chromosome numbers in *Helianthus* and related genera (Compositae). — *Proc. Ind. Acad. Sci.* 64: 250–253.
- Heiser C.B., Martin W.C., Smith D.M. 1962. Species crosses in *Helianthus*: I. Diploid species. — *Brittonia*. 14(2): 137–147.
<https://doi.org/10.2307/2805218>
- Heiser C.B., Smith D.M., Clevenger S.B., Martin W.C. 1969. The North American Sunflowers (*Helianthus*). — *Memoirs of the Torrey Botanical Club*. 22(3): 1–218.
- Helianthus occidentalis* Riddell. 2024. The International Plant Names Index and World Checklist of Vascular Plants 2024. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:315076-2> (accessed 04.03.2024)
- [Markin et al.] Маркин Н.В., Тихонова М.А., Гаврилова В.А., Усатов А.В. 2011. Полиморфизм геномной ДНК многолетних дикорастущих видов подсолнечника (*Helianthus* L.). — *Известия вузов. Северо-кавказский регион. Естественные науки* (2): 38–41.
- Ricci G.C.L., Silva N., Pagliarini M.S., Scapim C.A. 2007. Microsporogenesis in inbred line of popcorn (*Zea mays* L.). — *Genetics and Molecular Research*. 6 (4): 1013–1018.
- Risso-Pascotto C., Pagliarini M.S., Valle C.B., do. 2005. Multiple spindles and cellularization during microsporogenesis in an artificially induced tetraploid accession of *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae). — *Plant Cell Reports*. 23: 522–527.
<https://doi.org/10.1007/s00299-004-0867-y>
- Schilling E.E., Heiser C.B. 1981. Infrageneric Classification of *Helianthus* (Compositae). — *Taxon*. 30(2): 393–403.
<https://doi.org/10.2307/1220139>
- Stipanovic R.D., O'Brien D.H., Rogers C.E., Thompson T.E. 1979. Diterpene acids, (-)-cis- and (-)-trans-Ozic Acid, in Wild Sunflower, *Helianthus occidentalis*. — *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 27(2): 458–459.
<https://doi.org/10.1021/jf60222a027>
- Sujatha M. 2006. Wild *Helianthus species* used for broadening the genetic base of cultivated sunflower in India. — *Helia*. 29 (44): 77–86.
<https://doi.org/10.2298/HEL0644077S>
- Tang Q., Feng Y., Han X., Zheng M., Rong T. 2009. Study on haploid inducing and its meiotic abnormality in maize. — *Agricultural Sciences in China*. 8(10): 1159–1165.
[https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60325-9](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60325-9)
- [Tatintseva] Татинцева С.С. 1971. Развитие мужского гаметофита топинамбура (*Helianthus tuberosus* L.). — *Известия Академии Наук Туркменской ССР. Серия Биологических Наук*. 1: 14–21.
- [Teryokhin et al.] Терехин Э.С., Батыгина Т.Б., Шамров И.И. 1993. Классификация типов стенки микроспорангия у покрытосеменных. Терминология и концепции. — *Бот. журн.* 78(6): 16–24.
- Tikhomirov V.T., Chiryaev P.V. 2005. Sources of resistance to diseases in original material of sunflower. — *Helia*. 28(42): 101–106.
<https://doi.org/10.2298/HEL0542101T>
- [Toderich] Тодерич К.Н. 1988. Эмбриология подсолнечника (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* и другие): Дис. ... канд. биол. наук. Л. 256 с.
- [Voronova, Babro] Воронова О.Н., Бабро А.А. 2018. Ранние этапы формирования женских репродуктивных структур у *Helianthus ciliaris* и *H. tuberosus* (Asteraceae). — *Бот. журн.* 103(4): 488–504.
<https://doi.org/10.1134/S0006813618040051>
- Voronova O.N., Babro A.A. 2019. Apospory in *Helianthus ciliaris* DC. (Asteraceae). — *Int. J. Plant Repr. Biol.* 11(1): 66–69.
<https://doi.org/10.14787/ijprb.201911.1>
- [Voronova, Babro] Воронова О.Н., Бабро А.А. 2021. Формирование зародышевого мешка, развитие семязачатка и семени у *Helianthus ciliaris* и *H. tuberosus* (Asteraceae). — *Бот. журн.* 106(3): 50–65.
<https://doi.org/10.31857/S0006813621030091>
- [Voronova et al.] Воронова О.Н., Бабро А.А., Любченко А.В. 2023. Сравнительно-эмбриологическое исследование некоторых образцов топинамбура (*Helianthus tuberosus* L.) из коллекции ВИР, различающихся завязываемостью семян. — *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 184(2):190–203.
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-2-190-203>
- [Voronova, Gavrilova] Воронова О.Н., Гаврилова В.А., 2019. Количественный и качественный анализ пыльцы подсолнечника (*Helianthus* L.) и его использование в селекционной работе. — *Труды по прикл. бот., ген. и сел.* 180: 95–104.
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>
- [Voronova, Ryazanova] Воронова О.Н., Рязанова М.К. 2022. Эмбриология *Helianthus maximiliani* (Asteraceae). — *Бот. журн.* 107(11): 1083–1099.
<https://doi.org/10.31857/S0006813622110084>
- Yankova-Tsvetkova E., Yurukova-Grancharova P., Baldjiev G., Vitkova A. 2016. Embryological features, pollen and seed viability of *Arnica montana* (Asteraceae) — a threatened endemic species in Europe. — *Acta Bot. Croatica*. 75(1): 39–44.
<https://doi.org/10.1515/botcro-2016-0014>

PECULIARITIES OF MICROSPOROGENESIS AND POLLEN FORMATION IN *HELIANTHUS OCCIDENTALIS* (ASTERACEAE)

A. A. Babro*, O. N. Voronova**

Kovarov Botanical Institute RAS Prof. Popov Str., 2, Saint-Petersburg, 197022, Russia

*e-mail: ABabro@binran.ru

**e-mail: o_voronova@binran.ru

Helianthus occidentalis is poorly studied embryologically, but it may be very useful in breeding due to its high resistance to pests and diseases. Significant variation in the viability and size of pollen grains in the samples of different origin is characteristic for this species. No essential deviations in the anther development were noticed before microsporogenesis start. Further, the following anomalies were found: late chromosomes outside of the spindle; dyads with one nucleus being degenerating on anaphase I; formation of micro- and macronuclei during the second division of meiosis; degeneration of several nuclei within a tetrad; formation of triads, dyads and monads of microspores instead of tetrads. We have noticed significant heterogeneity of pollen grains by size. Deformed and compressed ones were noticed, as well as those with the structure of dyad or tetrad of cells within their wall. There is some data in literature on similar anomalies both in plants of other taxa and in *Helianthus* plants, mainly of the hybrid origin. One of the supposed reasons of the multiple anomalies in development and deterioration of pollen quality in the sample of *H. occidentalis* under investigation is a possible introgression of chromosomes from one of closely related diploid species as a result of hybridization that took place in the natural population. The conducted study once again confirms the need for cytological analysis to identify potential pollinating plants for sunflower breeding.

Keywords: *Helianthus*, *Helianthus occidentalis*, microsporogenesis, meiosis, tetrad of microspores, microspore, pollen grain

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Doctor of Biological Sciences V.A. Gavrilova (Vavilov Institute of Plant Industry) and Candidate of Biological Sciences T.T. Tolstaya as well as the staff members of the Introduction and Quarantine Nursery of Vavilov Institute of Plant Industry for their help with obtaining the material for this research.

The research was carried out within the framework of the institutional research project of the Komarov Botanical Institute of RAS No. 124013100862-0 "Polyvariation of morphogenetic developmental programs of plant reproductive structures, regulation of morphoprocesses in vivo and in vitro" (2024–2028). The equipment of the Center for Collective Usage "Cell and molecular technologies of plants and fungi research" of Komarov Botanical Institute of RAS (Saint-Petersburg) was operated in the course of our investigation.

REFERENCES

- Arias, de M.M., Gao L., Sherwood D.A., Dwivedi K.K., Price B.J., Jamison M., Kowallis B.M., Carman J.G. 2020. Whether gametophytes are reduced or unreduced in Angiosperms might be determined metabolically. — *Genes* 11(12): 1449. <https://doi.org/10.3390/genes11121449>
- Atlagic J. 1996. Cytogenetic studies in hexaploid *Helianthus* species and their F1 hybrids with cultivated sunflower, *H. annuus*. — *Plant Breeding*. 115: 257–260. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00913.x>
- Atlagic J. 2000. Cytogenetic study of *Helianthus rigidus* and its F1 and BC1F1 hybrids with the cultivated sunflower, *Helianthus annuus*. — *Genetika*. 32(1): 63–69.
- Atlagic J. 2004. Roles of interspecific hybridization and cytogenetic studies in sunflower breeding. — *Helia*. 27(41): 1–24. <https://doi.org/10.2298/HEL0441001A>
- Atlagic J., Dozet B., Skoric D. 1995. Meiosis and pollen grain viability in *Helianthus mollis*, *Helianthus salicifolius*, *Helianthus maximiliani* and their F1 hybrids with cultivated sunflower. — *Euphytica*. 81: 259–263. <https://doi.org/10.1007/BF00025615>
- Atlagic J., Panković D., Pekanović A. 2003. Backcrosses in interspecific hybridization in sunflower. — *Genetika*. 35(3): 187–197. <https://doi.org/10.2298/GENSR0303187A>
- Atlagic J., Škoric D. 1999. Cytogenetic study of *Helianthus laevigatus* and its F1 and BC1F1 hybrids with cultivated sunflower, *Helianthus annuus*. — *Plant Breeding*. 118: 555–559. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00423.x>
- Binsfeld P.C., Wingender R., Schnabl H. 2001. Cytogenetic analysis of interspecific sunflower hybrids and molecular evaluation of their progeny. — *Theoretical and Applied Genetics*. 102: 1280–1285. <https://doi.org/10.1007/s001220000517>
- Babro A.A., Voronova O.N. 2018. Development of male reproductive structures in *Helianthus ciliaris* and *H. tuberosus* (Asteraceae). — *Bot. Zhurn.* 103(9): 1093–1108 (In Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0006813618090028>
- Babro A.A., Voronova O.N. 2023. Overview of techniques to prepare light microscopic mounts of *Helianthus* (Asteraceae) reproductive structures. — *Bot. Zhurn.* 108(10): 917–938 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0006813623100022>

- Dziubenko L.K. 1965. Peculiarities of male and female gametophyte development in *Helianthus tuberosus* L. — Ukr. Bot. Zhurn. 22(1): 43–53 (In Ukr.).
- The families and genera of vascular plants. Vol. 8. 2007. Berlin. 636 p.
- Georgieva-Todorova Y. 1965. Results of the hybridization of the culture sunflower with some species of the genus *Helianthus*. — Symposium on interspecific hybridization in plants. Sofia, November 10th to 21th 1964. P. 239–253 (In Russ.).
- Georgieva-Todorova J. 1993. Interspecific Hybridization and its Application in Sunflower Breeding. — Biotechnology & Biotechnological Equipment. 7(4): 153–157.
<https://doi.org/10.1080/13102818.1993.10818729>
- Jackson R.C., Guard A.T. 1957. Natural and artificial hybridization between *Helianthus mollis* and *H. occidentalis*. — Amer. Midland Naturalist. 58(2): 422–433.
<https://doi.org/10.2307/2422625>
- Heiser C.B., Smith D.M. 1954. New chromosome numbers in *Helianthus* and related genera (Compositae). — Proc. Ind. Acad. Sci. 64: 250–253.
- Heiser C.B., Martin W.C., Smith D.M. 1962. Species crosses in *Helianthus*: I. Diploid species. — Brittonia. 14(2): 137–147.
<https://doi.org/10.2307/2805218>
- Heiser C.B., Smith D.M., Clevenger S.B., Martin W.C. 1969. The North American Sunflowers (*Helianthus*). — Memoirs of the Torrey Botanical Club. 22(3): 1–218.
- Helianthus occidentalis* Riddell. 2024. The International Plant Names Index and World Checklist of Vascular Plants 2024.
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:315076-2> (accessed 04.03.2024)
- Markin N.V., Tikhonova M.A., Gavrilova V.A., Usatov A.V. 2011. Polymorfizm genomnoy DNK mnogoletnikh dikorastushchikh vidov podsolnechnika (*Helianthus* L.). [Polymorphism of genomic DNA in perennial wild species of sunflower (*Helianthus* L.)]. — Bulletin of higher education institutes. North Caucasus region. Natural sciences. 2: 38–41 (In Russ.).
- Ricci G.C.L., Silva N., Pagliarini M.S., Scapim C.A. 2007. Microsporogenesis in inbred line of popcorn (*Zea mays* L.). — Genetics and Molecular Research. 6(4): 1013–1018.
- Risso-Pascotto C., Pagliarini M.S., Valle C.B., do. 2005. Multiple spindles and cellularization during microsporogenesis in an artificially induced tetraploid accession of *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae). — Plant Cell Reports. 23: 522–527.
<https://doi.org/10.1007/s00299-004-0867-y>
- Schilling E.E., Heiser C.B. 1981. Infrageneric Classification of *Helianthus* (Compositae). — Taxon. 30(2): 393–403.
<https://doi.org/10.2307/1220139>
- Stipanovic R.D., O'Brien D.H., Rogers C.E., Thompson T.E. 1979. Diterpene acids, (-)-cis- and (-)-trans-Ozic Acid, in Wild Sunflower, *Helianthus occidentalis*. — Journal of Agricultural and Food Chemistry. 27(2): 458–459.
<https://doi.org/10.1021/jf60222a027>
- Sujatha M. 2006. Wild *Helianthus* species used for broadening the genetic base of cultivated sunflower in India. — Helia. 29 (44): 77–86.
<https://doi.org/10.2298/HEL0644077S>
- Tang Q., Feng Y., Han X., Zheng M., Rong T. 2009. Study on haploid inducing and its meiotic abnormality in maize. — Agricultural Sciences in China. 8(10): 1159–1165.
[https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60325-9](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60325-9)
- Tatintseva S.S. 1971. The development of male gametophyte of *Helianthus tuberosus* L. — Izvestiya Akademii nauk Turkmenskoy SSR. Seriya biologicheskikh nauk. 1: 14–21 (In Russ.).
- Teryokhin E.S., Batygina T.B., Shamrov I.I. 1993. The classification of microsporangium wall types in angiosperms. Terminology and concepts. — Bot. Zhurn. 78(6): 16–24 (In Russ.).
- Tikhomirov V.T., Chiryaev P.V. 2005 Sources of resistance to diseases in original material of sunflower. — Helia. 28(42): 101–106.
<https://doi.org/10.2298/HEL0542101T>
- Toderich K.N. 1988. Embryologiya podsolnechnika (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* i drugiye) [Embryology of sunflower (*Helianthus annuus*, *H. rigidus* and others)]: Diss. ... cand. sci. Leningrad. 256 p. (In Russ.).
- Voronova O.N., Babro A.A. 2018 Early stages of formation of female reproductive structures in *Helianthus ciliaris* and *H. tuberosus* (Asteraceae). — Bot. Zhurn. 103(4): 488–504 (In Russ.).
<https://doi.org/10.1134/S0006813618040051>
- Voronova O.N., Babro A.A. 2019. Apospory in *Helianthus ciliaris* DC. (Asteraceae). — Int. J. Plant Repr. Biol. 11(1): 66–69.
<https://doi.org/10.14787/ijprb.201911.1>
- Voronova O.N., Babro A.A. 2021. Formation of embryo sac, development of ovule and seed *Helianthus ciliaris* and *H. tuberosus* (Asteraceae). — Bot. Zhurn. 106(3): 50–65 (In Russ.).
<https://doi.org/10.31857/S0006813621030091>
- Voronova O.N., Babro A.A., Lyubchenko A.V. 2023. Comparative embryological study of some Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) accessions with different seed-setting ability from the VIR collection. — Proceedings on applied botany, genetics and breeding. 184(2): 190–203 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-2-190-203>
- Voronova O.N., Gavrilova V.A. 2019. Quantitative and qualitative analysis of sunflower pollen (*Helianthus* L.) and its use in breeding work. — Proceedings of applied botany, genetics and breeding. 180(1): 95–104 (In Russ.).
<https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-1-95-104>
- Voronova O.N., Ryazanova M.K. 2022. Embryology of *Helianthus maximiliani* (Asteraceae). — Bot. Zhurn. 107(11): 1083–1099 (In Russ.).
<https://doi.org/10.31857/S0006813622110084>
- Yankova-Tsvetkova E., Yurukova-Grancharova P., Baldjiev G., Vitkova A. 2016. Embryological features, pollen and seed viability of *Arnica montana* (Asteraceae) – a threatened endemic species in Europe. — Acta Botanica Croatica. 75(1): 39–44.
<https://doi.org/10.1515/botcro-2016-0014>