

УДК 581.331:582.5

DOI: 10.25684/0513-1634-2023-149-139-148

ГЕНЕЗИС ПЫЛЬНИКОВ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА *QUERCUS PUBESCENS* WILLD. (FAGACEAE)

Светлана Васильевна Шевченко,
Татьяна Николаевна Кузьмина, Плугатарь Юрий Владимирович,
Светлана Павловна Корсакова

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, спуск Никитский, 52
E-mail: tnkuzmina@rambler.ru

Представлены результаты анализа развития пыльников и мужского гаметофита тычиночных цветков *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae). Премейотический период генезиса пыльников *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) происходит во внутрипочечном состоянии. В сформированном состоянии стенка микроспорангия образована эпидермисом, эндотецием, двумя рядами клеток среднего слоя и тапетумом. Тапетум – секреторного типа, его клетки двуядерные. Спорогенная ткань образована 3-4 рядами клеток. Между микроспороцитами были выявлены случаи цитомиксиса. Мейотический период развития пыльников отмечался в III декаде марта – I декаде апреля. Микроспорогенез у *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) проходит по симультанный типу, с образованием тетрад микроспор, которые имеют различное пространственное расположение (тетраэдральное, изобилатеральное, крестообразное и линейное) микроспор. Переход к постмейотическому периоду, связанному с созреванием гаметофита, проходил, начиная со II декады апреля, и завершился созреванием зрелых пыльцевых зерен и пылением. Стенка зрелого микроспорангия образована эпидермисом, покрытым кутикулой, и эндотецием с фиброзными утолщениями клеточных стенок. Зрелые пыльцевые зерна двуклеточные, сферической формы, с тремя апертурями. В средних образцах пыльцы преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна, однако их доля варьирует в зависимости от высотного уровня произрастания и формы цветения. Установлено, что с увеличением высоты понижается доля морфологически нормальных пыльцевых зерен, при увеличении в процентном соотношении количества аномальной пыльцы. При этом доля стерильных пыльцевых зерен находится в пределах 3-6%. У поздней формы *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae), цветение которой происходило в конце I декады мая, отмечен более высокий потенциал фертильности пыльцевых зерен, по сравнению с ранней формой. В статье обсуждаются риски снижения репродуктивного потенциала мужской генеративной сферы.

Ключевые слова: мужская генеративная сфера; пыльник; генезис; микроспорогенез; пыльцевое зерно; дуб пушистый

Введение

Известно, что дубовые формации составляют 55% общей площади лесов Крыма, что соответствует площади около 142 тыс. га [12]. Одним из доминирующих видов в крымских лесах является дуб пушистый *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae Dumort.) [4, 12]. Дуб пушистый образует преимущественно порослевые насаждения в виде дубняков и низкорослых лесов (шибляка) [12]. Характерно, что ареал дуба пушистого в Крыму не имеет нижней границы, но определены его верхние пределы, которые соответствуют высоте 560 м н.у.м. на северных склонах Крымских гор и до 725 м. н.у.м. – на южных склонах. Оценка современного состояния произрастания дуба пушистого в Крыму показала разбалансированность возрастной структуры, отсутствие в древостое молодых и средневозрастных деревьев, доминирование порослевых лесов, что является признаками тенденции выпадения вида из состава лесов, как главной лесообразующей породы [12, 17].

Трудности возобновления *Q. pubescens*, а также негативное влияние интенсивных антропогенных изменений на состояние и численность дубовых лесов отмечаются и в странах Европы [23]. Данный факт служит основанием комплексного анализа биологических особенностей вида, в том числе и оценки состояния его генеративной системы.

В представленных в литературных источниках результатах исследования видов рода *Quercus*, главным образом, приводится анализ фенологических данных, акцентируя внимание на фенофазе цветения, как стадии, определяющей репродуктивных успех вида [3, 19, 24, 26]. Важным фактором успешности семенного возобновления является состояние гаметофитов [15]. При этом сведения о генезисе генеративных структур дубов ограничиваются общими признаками [2, 10].

Цель данной работы заключалась в цито-морфологической характеристике формирования пыльников и пыльцевых зерен *Q. pubescens*, а также в определении влияния высотного распределения растений на состояние мужского гаметофита.

Объекты и методы исследования

Для проведения анализа формирования и развития пыльников *Q. pubescens* использовали общепринятые в цитоэмбриологии растений методы фиксации, пробоподготовки и приготовления постоянных препаратов [11]. Материал для исследования брали с растений, произрастающих на территории арборетума Никитского ботанического сада, а также прилегающих к нему территорий (Республика Крым, Ялта; 44°30'34" с.ш. 34°13'58" в.д.) с I декады марта по II декаду мая. Почки и соцветия фиксировали в смеси FAA (formalin: acetic acid: alcohol 70% – 7:7:100). Для обезвоживания материала использовали изопропиловый спирт и ксилол. Инфильтрация объектов парафином проходила в течение 3 суток. Для получения серии парафиновых срезов использовали ротационный микротом RMD-3000 (MtPoint, Россия). Постоянные препараты окрашивали гематоксилином по Гейденгайну и алциановым синим.

Для оценки состояния пыльцы *Q. pubescens* в зависимости от высоты его произрастания материал брали в период массового цветения с контрольных деревьев, произрастающих на высоте 50, 150, 200 и 400 м н.у.м. Средние образцы пыльцы получены в результате смешивания пыльцы, взятой с тычиночных цветков 30–50 соцветий. Постоянные препараты средних образцов пыльцевых зерен приготовлены в соответствии с модифицированной методикой и окрашены метилгрюнпиронином с подкраской алциановым синим [16]. Материал анализировали в 100 полях зрения для каждого варианта. Пыльцевые зерна, имеющие однородную окраску цитоплазмы окраску цитоплазмы с ярко окрашенными ядрами вегетативной и генеративной клеток, оценивались как морфологически нормальные. В случае вакуолизации цитоплазмы, изменении ее структуры или слабой выраженности ядер пыльцевые зерна характеризовались как аномальные, а при дегенерации содержимого пыльцевые зерна расценивались как стерильные [6].

В работе использовали световой микроскоп AxioScope A.1 (Carl Zeiss, Германия) с цифровой камерой AxioCamERc5s (Carl Zeiss, Германия). Цифровые изображения анализировали с помощью программных приложений AxioVision Rel. 4.8.2. (Carl Zeiss, Германия) и ImageJ 1.48v (<http://imagej.nih.gov/ij>). При описании генезиса мужских генеративных структур ориентировались на классификацию периодов и стадий развития пыльников, предложенную Т.Б. Батыгиной и В. Е. Васильевой [18].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного приложения Statistica 10.0 (StatSoft. Ins., USA). Морфометрические данные представлены в виде $X \pm S_x$, где X – среднее арифметическое, S_x – стандартная ошибка среднего. Определения 95% доверительных интервалов (95% ДИ) выборочных долей

морфологически нормальных, аномальных и стерильных пыльцевых зерен проводили с помощью онлайн-калькулятора (<http://vassarstats.net/prop1.html>) по методу Уилсона. Для сравнения выборочных долей различных групп пыльцевых зерен использовали критерий χ^2 Пирсона. Доверительная вероятность $P=0,95$.

Результаты и обсуждение

Дуб пушистый является однодомным растением, у которого однополые цветки (тычиночные и пестичные) формируются на одном растении. Пыльники у *Q. pubescens* имеют четыре гнезда (микроспорангия). Их закладка и ранние стадии генезиса генеративных структур проходят в период внутрипочечного развития. На стадии набухания почек у микроспорангиев сформирована стенка, которая представлена эпидермисом, эндотецием, средним слоем, образованным двумя или тремя слоями клеток, и тапетумом. Тапетум секреторного типа, его клетки двудерные. Спорогенная ткань состоит из 3-4 слоев крупных клеток (рис. 1, а).

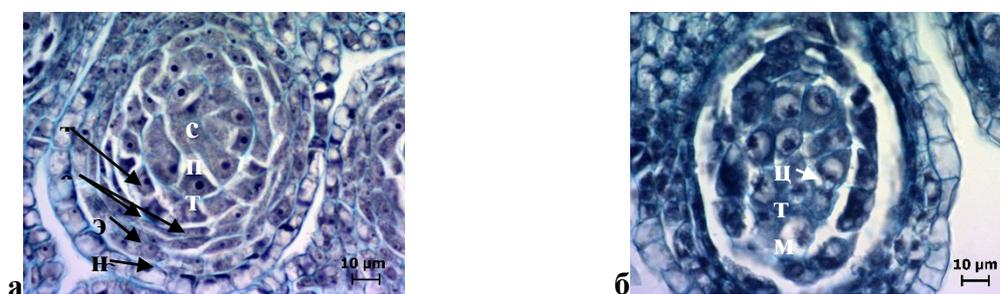


Рис. 1 Поперечные срезы микроспорангиев *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae): а – на стадии сформированной стенки; б – цитомиксис между микроспороцитами (спт – спорогенная ткань; сс – средний слой; т – тапетум; цтм – цитоплазматические тяжи между микроспороцитами (цитомиксис); э – эпидермис; эн – эндотеций). Масштабная линейка – 10 мкм

В период микроспорогенеза клетки эпидермиса увеличиваются в размерах, слой клеток среднего слоя и эндотеция уплощаются. Клетки тапетальной ткани дезинтегрируются, что приводит к распаду слоя на отдельные клетки, а в постмейотический период происходит окончательная облитерация тапетума (рис. 2).

В постмейотический период, начиная со стадии вакуолизованных микроспор, отмечается начало кутинизации внешних стенок эпидермальных клеток. В это время клетки эндотеция вакуолизованы, а на их стенках образуются фиброзные утолщения. Средние слои уплощаются и облитерируются. В период дифференцирующего митоза стенка микроспорангия состоит из эпидермиса, крупных клеток эндотеция, двух рядов клеток среднего слоя и сплюснутых клеток тапетума. В зрелом состоянии стенка микроспорангия *Q. pubescens* представлена двумя слоями: крупными клетками эпидермиса, покрытыми кутикулой, и эндотецем с фиброзными утолщениями клеточных стенок (рис. 3).

Микроспорогенез у *Q. pubescens* проходит в период набухания генеративных почек (III декаде марта – I декаде апреля). Для дуба пушистого характерен симультанный, или одновременный, тип микроспорогенеза. В мужских соцветиях *Q. pubescens* он протекает асинхронно, что позволяет наблюдать различные стадии мейотического деления (см. рис. 2). В формирующихся тетрадах было отмечено тетрадральное, изобилатеральное, крестообразное и линейное расположение микроспор. В период профазы первого деления мейоза между микроспороцитами были выявлены случаи цитомиксиса (рис. 1, б).

Постмейотический период генезиса мужской генеративной сферы *Q. pubescens* начинается в I декаде апреля и заканчивается в III декаде апреля с переходом к пылению. В постмейотический период в микроспорах образуется вакуоль, смещающая цитоплазму к периферии, после чего в них проходит дифференцирующий митоз. Дифференцирующий митоз соответствует стадии бутонизации. В результате деления формируются вегетативная и генеративная клетки пыльцевого зерна, что свидетельствует об определенном этапе развития мужского гаметофита (рис. 3).

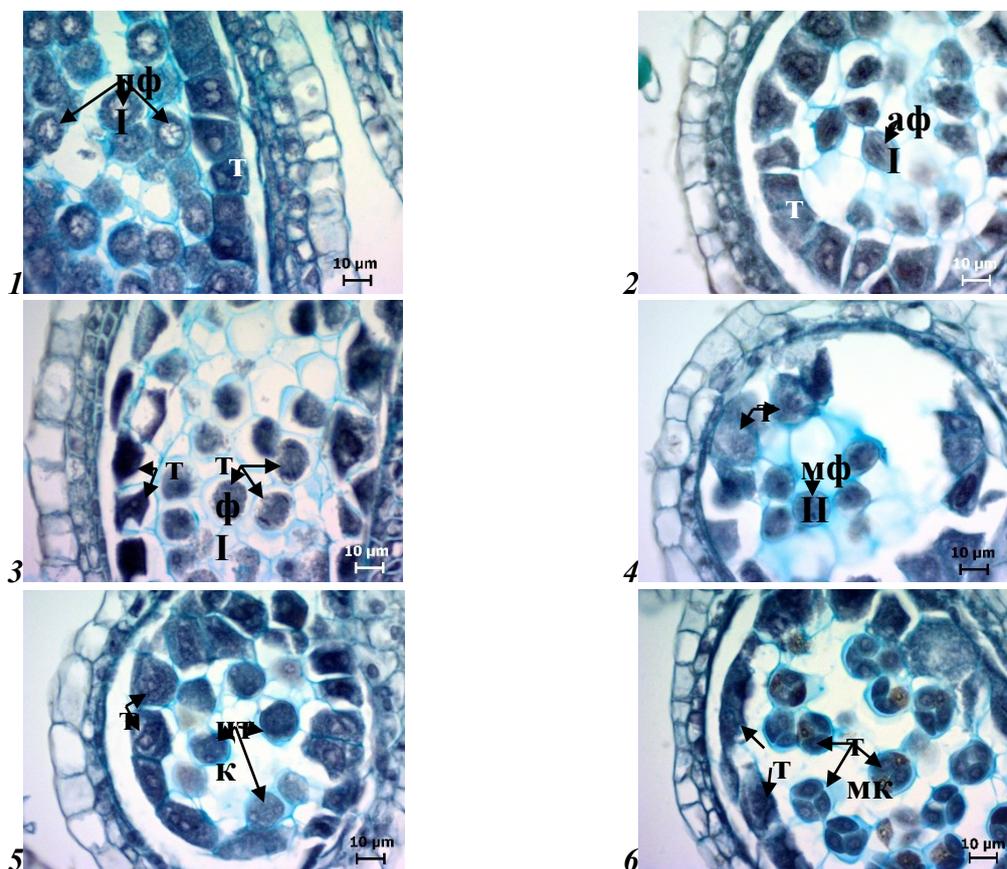


Рис. 2 Фрагменты микроспорангиев *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) на разных стадиях микроспорогенеза (1 – 5) и на стадии тетрад микроспор (6) (т – тапетум; пф I – профаза; аф I – анафаза первого (редукционного) деления микроспороцитов; тф I – телофаза первого деления; МФ II – метафаза второго (эквационного) деления; цтк – цитокinesis; т мк – тетрада микроспор). Масштабная линейка – 10 мкм

Зрелые пыльцевые зерна у *Q. pubescens* двуклеточные, средних размеров, радиально-симметричные, с тремя апертурями (рис. 4). Их экваториальный диаметр (E) – $26,37 \pm 0,08$ мкм; полярная ось (P) пыльцевого зерна в среднем составляет $24,52 \pm 0,08$ мкм. Отношение полярной оси к экваториальному диаметру (P/E) равно $0,93 \pm 0,002$ (0,73-1,00), что указывает на их сплюсненно-сфероидальную и сфероидальную форму [1], типичную для представителей рода *Quercus* L. [9].

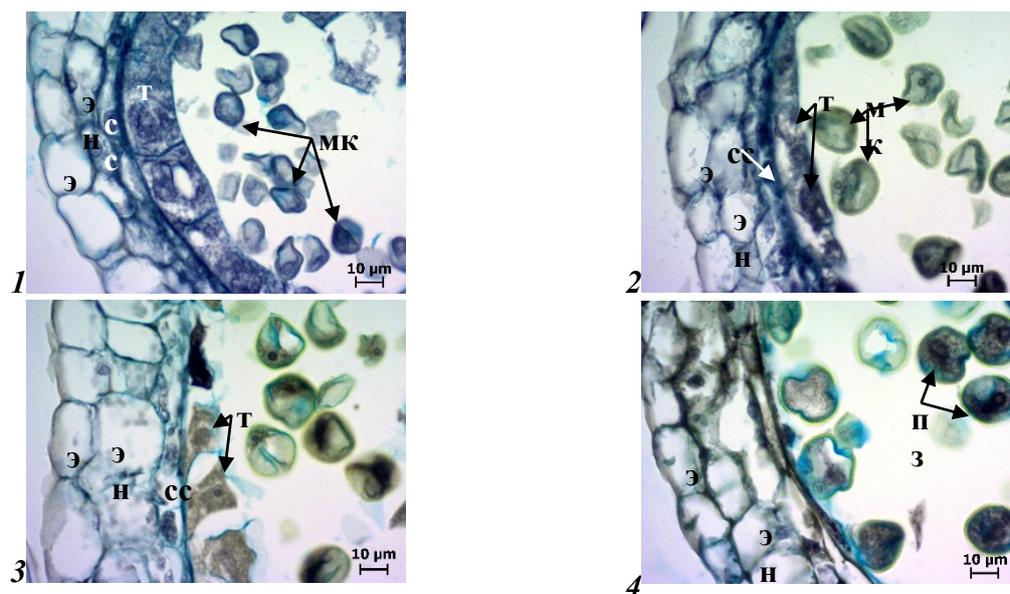


Рис. 3 Поперечные срезы микроспорангиев *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) на различных стадиях постмейотического периода: 1 – молодые микроспоры; 2 – вакуолизованные микроспоры; 3 – дифференцирующий митоз; 4 – стадия двухклеточных пыльцевых зерен (мк – микроспоры; сс – средний слой; т – тапетум; пз – пыльцевые зерна; э – эпидермис; эн – эндотеций) Масштабная линейка – 10 мкм

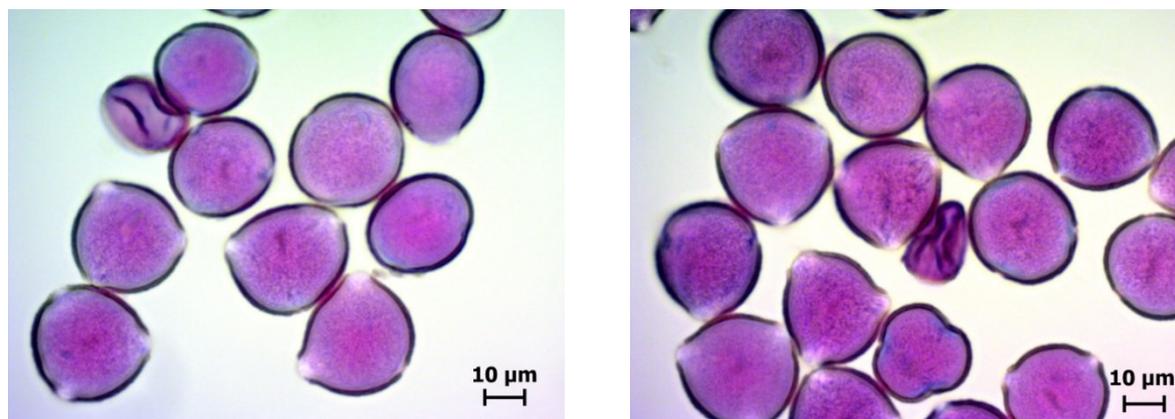


Рис. 4 Пыльцевые зерна *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae)

Цито-морфологический анализ средних образцов пыльцевых зерен *Q. pubescens* ранней формы цветения в зависимости от высоты места произрастания выявил тенденцию снижения репродуктивного потенциала мужских гаметофитов по мере увеличения высоты произрастания от 87% (50 м н.у.м) до 58% (400 м н.у.м) ($r = -0,97$). Это связано с увеличением количества аномальных пыльцевых зерен с 9 до 37%, при этом доля стерильных пыльцевых зерен сохраняется в пределах 3-6%. (табл. 1).

Таблица 1

Цито-морфологическая характеристика пыльцевых зерен (пз) *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) в зависимости от высоты произрастания растения (м н.у.м)

Высота, м н.у.м.	Количество проанализированных пз, ед.	Морфологически нормальные пз, %		Аномальные пз, %		Стерильные пз, %	
		Среднее значение	95% ДИ	Среднее значение	95% ДИ	Среднее значение	95% ДИ
50	4366	86,97	85,94–87,94	9,55	8,71–10,46	3,48	2,98–4,07
150	4491	79,07	77,86–80,23	16,9	15,83–18,02	4,03	3,49–4,65
200	3111	68,27	66,61–69,88	26,04	24,53–27,61	5,69	4,93–6,56
400	2313	58,06	56,04–60,06	37,44	35,49–39,43	4,50	3,73–5,42

Примечание: пз – пыльцевые зерна; 95% ДИ – 95% доверительный интервал

Анализ средних образцов пыльцы *Q. pubescens* поздней формы цветения растений, произрастающих на высоте 200 м и 400 м н.у.м, не выявил статистически значимой разницы по долям морфологически нормальных пыльцевых зерен ($\chi^2=2,17$; $p=0,1406$) и стерильных ($\chi^2=1,85$; $p=0,1735$) пыльцевых зерен.

Сравнение пыльцы ранней и поздней форм *Q. pubescens* показало увеличение доли морфологически нормальных пыльцевых зерен на 5-10% у поздноцветущей формы у растений, произрастающих как на высоте 200 м н.у.м, так и на высоте 400 м н.у.м. При этом доли стерильных пыльцевых зерен сохраняются в пределах 4-6% (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная цито-морфологическая характеристика средних образцов пыльцевых зерен (пз) *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) ранней и поздней форм цветения различного высоты произрастания

Форма	Высота, м н.у.м.	Морфологически и нормальные пз, %		χ^2	Аномальные пз, %		χ^2	Стерильные пз, %		χ^2
		Среднее значение	95% ДИ		Среднее значение	95% ДИ		Среднее значение	95% ДИ	
Ранняя	200	68,27	66,61–69,88	2,27 $p=0,132$	26,04	24,53–27,61	5,41* $p=0,0201$	5,69	4,93–6,56	2,42 $p=0,120$
Поздняя		73,31	71,12–75,39		22,12	20,18–24,19		4,57	3,66–5,69	
Ранняя	400	58,06	56,04–60,06	8,13* $p=0,004$	37,44	35,49–39,43	24,01* $p=0,001$	4,5	3,73–5,42	2,51 $p=0,113$
Поздняя		67,55	65,15–69,86		26,75	24,58–29,04		5,7	4,64–6,99	

Примечание. χ^2 – хи-квадрат Пирсона и уровень его статистической значимости (p); * – различия статистически значимы при $P=0,95$.

Остальные условные обозначения соответствуют таблице 1.

В целом, анализ статуса мужского гаметофита *Q. pubescens* показал преобладание в средних образцах морфологически нормальных пыльцевых зерен (58-87%), при стабильном уровне стерильных пыльцевых зерен, доля которых не превышает 6%. Снижение фертильности пыльцы в зависимости от высоты произрастания и периода цветения обусловлено количеством аномальной пыльцы.

Известно, что снижение качества гаметофитов может быть вызвано генетическими или хромосомными нарушениями, а также физиологическими и экологическими факторами [7, 13, 14]. Для пыльников критическими стадиями являются мейотический период, в ходе которого формируются гаплоидные микроспоры, и постмейотический период, а именно стадия дифференцирующего деления микроспоры [18]. Именно в эти моменты они наиболее чувствительны к дефициту или избытку влаги и колебаниям температур. Гидротермический стресс в период развития пыльников приводит к возникновению аномалий микроспор/пыльцевых зерен, которые могут привести к стерильности мужской генеративной сферы, снижая репродуктивный потенциал растения [20-27]. Абиотические стрессы влияют на все процессы развития пыльников, включая развитие и деградацию тапетума, микроспорогенез и развитие пыльцы, расхождение пыльников и удлинение нитей. Кроме того, абиотические стрессы значительно нарушают обмен фитогормонов, липидов и углеводов, изменяют гомеостаз активных форм кислорода в пыльниках, которые в значительной степени ответственны за потерю фертильности пыльцы [28].

Известно, что в период микроспорогенеза находят проявления случаи летальных мутаций и аномалий микроспорогенеза, связанные с отставанием или нерасхождением хромосом. На ранних стадиях микроспорогенеза не редки случаи цитомиксиса, при котором отмечают перемещение хроматина по цитоплазматическим каналам, соединяющим микроспороциты. При генетической нестабильности и нарушении гомеостаза, что проявляется в стрессовом состоянии, цитомиксис приобретает четкие признаки цитологической патологии [5]. У *Q. pubescens* случаи цитомиксиса не имеют массового деструктивного характера, которые можно рассматривать как вариант премейотического клеточного отбора, активизирующегося при превышении порогового уровня повреждений микроспороцитов и позволяющего в ходе мейоза избавляться от генетической неоднородности и мутационного груза [5]. Однако, сохраняются риски деструкции микроспороцитов в случае превышения пороговых значений действия стрессовых факторов.

В естественной среде произрастания у растений можно проследить зависимость между этапами генеративных циклов и определенными сезонами года, направленную на нивелирование очевидных рисков негативных метео-климатических факторов [8]. Для *Q. pubescens* можно выделить приуроченность ранних стадий генезиса тычиночных цветков во внутривидовом состоянии к зимним месяцам и ранней весне. Прохождение микроспорогенеза в период, когда тычиночные цветки защищены почечными чешуями, снижает риски воздействия низких температур, которые могут отмечаться на Южном берегу Крыма в III декаду марта – I декаду апреля. Отсутствие или нивелирование стрессовых факторов в мейотический период, независимо от высотного уровня произрастания растения, подтверждают стабильные низкие значения стерильных пыльцевых зерен, отмеченные у *Q. pubescens*. В то же время в постмейотический период, когда растение находится на стадии бутонизации и почечные чешуи уже не закрывают цветки, пыльники слабо защищены. К тому же в постмейотический период снижается интеграция тканей стенки гнезда пыльника, что ослабляет защиту мужского гаметофита. Поэтому в случае стрессовых абиотических факторов увеличиваются риски повреждения пыльцевых зерен, снижающих репродуктивный потенциал

мужской генеративной сферы. С этим, вероятно, связано понижение фертильности пыльцы при повышении высоты уровня произрастания. Таким образом, постмейотический период можно рассматривать как критический в развитии мужского гаметофита *Q. pubescens*.

Выводы

Премейотический период генезиса пыльников *Q. pubescens* проходит во внутриспоровом состоянии. В условиях Южного берега Крыма у дуба пушистого переход к микроспорогенезу в 2023 г. отмечался в III декаде марта – I декаде апреля. Начиная с I декады апреля пыльники *Q. pubescens* вступают в постмейотический период, в ходе которого происходит созревание мужского гаметофита.

Стенка гнезда пыльника *Q. pubescens* в сформированном состоянии образована эпидермисом, эндотецием, двумя – тремя слоями клеток среднего слоя и тапетумом. Тапетум у *Q. pubescens* секреторного типа, его клетки двуядерные. Стенка зрелого микроспорангия образована эпидермисом, покрытым кутикулой, и эндотецием. Спорогенная ткань образована 3-4 рядами клеток. Микроспорогенез у *Q. pubescens* проходит по симультанному типу, с образованием тетрад микроспор, которые имеют различное пространственное расположение (тетраэдральное, изобилатеральное, крестообразное и линейное) микроспор. На стадии микроспороцитов были выявлены случаи цитомиксиса.

Зрелые пыльцевые зерна двуклеточные, сферической формы, с тремя апертурами. В средних образцах пыльцы преобладают морфологически нормальные пыльцевые зерна, однако их доля варьирует в зависимости от высотного уровня произрастания растения и формы цветения. Установлено, что с увеличением высоты произрастания понижается доля морфологически нормальных пыльцевых зерен при повышении в процентном соотношении количества аномальной пыльцы. При этом доля стерильных пыльцевых зерен не более 6%. У поздней формы *Q. pubescens*, цветение которой приходится на конец I декады мая, отмечен более высокий потенциал фертильности пыльцевых зерен, по сравнению с ранней формой.

Список литературы

1. Методические аспекты палинологии / под ред. И.И. Нестерова – М.: Недра, 1987. – 223 с. – [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.geokniga.org/bookfiles/geokniga-metodicheskieosnovypalinologii.pdf>
2. Камелина О.П. Систематическая эмбриология цветковых растений. Двудольные. – Барнаул: Изд-во «АРИКА», 2009. – 501 с.
3. Корсакова С. П. Фенологическая реакция *Quercus pubescens* Willd. на климатические изменения в условиях сухих субтропиков // Труды Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского – Природного заповедника РАН. – 2018, № 2 (6). – С. 30-46.
4. Кочкин М.А. Леса Крыма. – Симферополь: Крымиздат, 1952. – 99 с.
5. Кравец Е.А. Цитомиксис и его роль в регуляции фертильности растений // Онтогенез. – 2013. – Т. 44, № 3. – С. 147-165.
6. Круглова Н.Н. Оценка качества пыльцевых зерен цветковых растений (обзор) // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2020. – Вып. 135. – С. 50-56. DOI: 10.36305/0513-1634-2020-135-50-56
7. Круглова Н.Н. Системный подход к морфогенезу пыльника цветковых растений // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. – 2023. – № 1 (166). – С.7-15. DOI: 10.36305/2712-7788-2023-1-166-7-15

8. Кузьмина Т.Н. Сезонная динамика роста и развития пыльников *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) в условиях Южного берега Крыма // Экосистемы. – 2022. – Т. 32. – С. 42-52.
9. Нарышкина Н.Н. Морфология пыльцы восточноазиатских представителей рода *Quercus* (Fagaceae) // Ботанический журнал. – 2015. – Т. 100, № 9. – С. 873-885.
10. Наумова Т.Н. Семейство Fagaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Winteraceae – Juglandaceae. – Ленинград: Наука, 1981. – 197-201.
11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1990. – 283 с.
12. Плугатарь Ю.В. Леса Крыма – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2015. – 385 с.
13. Шамров И.И. Факторы снижения семенной продуктивности у цветковых растений // Растительные ресурсы. – 2020. – Т. 56, вып. 1. – С. 4-15. DOI:10.31857/S0033994620010057
14. Шамров И.И., Анисимова Г.М. Нарушения в морфогенезе семязачатка семени и возможные причины, приводящие к гетероспермии // Биологическое разнообразие. Интродукция растений: IV Международная научная конференция (Санкт-Петербург, 5-8 июня 2007 г.): материалы конференции. – СПб., 2007. – С. 637-639.
15. Шевченко С.В., Плугатарь Ю.В. Репродуктивная биология цветковых растений и задачи рационального природопользования // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. – 2019. – №3 (152). – С. 15-25. DOI: 10.36305/2019-3-152-15-25
16. Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 1986. – Вып. 60. – С. 99-101.
17. Ярыш В.Л., Ярыш Г.Е. Анализ естественного возобновления в насаждениях дуба пушистого и дуба скального в Судакском лесохозяйственном хозяйстве // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. – 2019. – № 3. – С. 62-71. DOI: 10.21178/2079-6080.2019.3.62
18. Batygina T.B., Vasilyeva V.E. Periodization in the development of flowering plant reproductive structures: critical periods // Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica. – 2003. – Vol. 45, №1. – P. 27-36.
19. Gómez Casero M.T., Dominguez-Vilches E., Galán C. Flowering phenology of Mediterranean "Quercus" species in different locations (Córdoba, SW Iberian Peninsula) // Acta Botanica Malacitana. – 2007. – Vol.32. – P. 127-146. DOI:10.24310/abm.v32i0.7033
20. Gothandam K.M., Kim E.S., Chung Y.Y. Ultrastructural study of rice tapetum under low-temperature stress // Journal of Plant Biology. – 2007. – Vol. 50 (4). – P. 396-402. DOI:10.1007/BF03030674
21. Iwata-Higuchi M., Sakagami J.-I., Maruyama S. Effect of soil moisture stress at booting and flowering stages on pollen development, pollination and fertilization in upland NERICA cultivars // Australian Journal of Crop Science. – 2020. – Vol. 14 (12). – P. 1935-1941. DOI: 10.21475/ajcs.20.14.12.2774
22. Oshino T., Abiko M., Saito R., Ichiishi E., Endo M., Kawagishi-Kobayashi M., Higashitani A. Premature progression of anther early developmental programs accompanied by comprehensive alterations in transcription during high-temperature injury in barley plants // Molecular Genetics and Genomics. – 2007. – Vol. 278. – P. 31-42. DOI: 10.1007/s00438-007-0229-x
23. Pasta S., de Rigo D., Caudullo G. *Quercus pubescens* in Europe: distribution, habitat, usage and threats // European Atlas of Forest Tree. – Luxembourg: Species Publisher: Publication Office of the European Union. – 2016. – P. 156-157. DOI: 10.2788/038466
24. Rajo F. J. R., Mendez J., Jato V. Factors affecting pollination ecology of *Quercus anemophilous* species in north-west Spain // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2005. – Vol. 149 (3). – P.283-297. DOI:10.1111/j.1095-8339.2005.00460.x

25. Suzuki K., Takeda H., Tsukaguchi T., Egawa Y. Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. // Sex Plant Reproduction. – 2001. – Vol.13. – P. 293-299. DOI: 10.1007/s004970100071
26. Varela M.C., Valdivieso T. Phenological phases of *Quercus suber* L. flowering // January Forest Genetics. – 1996. – Vol. 3 (2). – P. 93-102.
27. Yadav D. K., Meena Yogendra K., Bairwa L.N., Singh U., Bairwa S.K., Choudhary M.R., Singh A. Morphological, Physiological and Biochemical Response to Low Temperature Stress in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) // A Review. International Journal of Bio-resource and Stress Management – 2021. – Vol.12 (6). – P. 706-712. DOI: 10.23910/1.2021.2480
28. Zhang Z., Hu M., Xu W., Wang Y., Huang K, Zhang Ch., Wen J. Understanding the molecular mechanism of anther development under abiotic stresses // Plant Molecular Biology. – 2021. – Vol. 105. – P. 1-10. DOI: 10.1007/s11103-020-01074-z

Статья поступила в редакцию 28.08.2023 г.

Shevchenko S.V., Kuzmina T.N., Plugatar Yu.V., Korsakova S.P. Genesis of anthers and assessment of the quality of male gametophyte of *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) // Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens. – 2023. – № 149. – P. 139-148

The results of the analysis of the development of anthers and male gametophyte of staminate flowers of *Quercus pubescens* Willd. (Fagaceae) are presented. The premeiotic period of the genesis of *Q. pubescens* anthers occurs inside the bud state. The wall of formed microsporangium is formed the epidermis, endothecium, two rows of cells of the middle layer and tapetum. Tapetum is a secretory type. Its cells are binucleated. The sporogenic tissue is formed by 3–4 rows of cells. Cases of cytotoxicity have been identified between microsporocytes. The meiotic period of anther development was observed in the III decade of March – I decade of April. Microsporogenesis in *Q. pubescens* proceeds according to a simultaneous type. Microspores in tetrads have different spatial arrangement (tetrahedral, isobilateral, cruciform and linear). The transition to the postmeiotic period associated with the maturation of the gametophyte took place starting from the second decade of April. The wall of a mature microsporangium is formed by epidermis covered with a cuticle and an endothecium. The cells of endothecium are with fibrous thickenings of the cell walls. Pollen grains of *Q. pubescens* are bicellular, spherical in shape with three apertures. Morphologically normal pollen grains predominate in the average pollen samples. Their proportion varies from the altitude level of growth and the form of flowering. It was found that increasing the height decreases the proportion of morphologically normal pollen grains, with an increase in the percentage of abnormal pollen. The proportion of sterile pollen grains is in the range of 3–6%. The late-flowering form of *Q. pubescens*, which blooms at the end of the first decade of May, has a higher fertility potential of pollen grains compared to the early-flowering form. The article discusses the risks of reducing the generative potential of the male generative sphere.

Key words: generative sphere; anther; genesis; microsporogenesis; pollen grain; *Quercus pubescens*