CZU: 635.64
DOI: 10.46727/c.v1.01-02-03-2025.p465-472

ВЛИЯНИЕ МУТАНТНЫХ ГЕНОВ НА ПРИЗНАКИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА И УСТОЙЧИВОСТЬ К ТЕМПЕРАТУРНЫМ СТРЕССАМ ГИБРИДОВ ТОМАТА F_1

THE EFFECT OF MUTANT GENES ON MALE GAMETOPHYTE TRAITS AND RESISTANCE TO TEMPERATURE STRESS OF F_1 TOMATO HYBRIDS

Маковей Миланья, *доктор хабилитат,*
*конференциар исследователь***,**
Государственный Университет Молдовы,
Институт Генетики, Физиологии и Защиты Растений

Makovei Milania, *Doctor of Habilitate,*
Associate Professor, Moldova State University,
Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection,
ORCID: 0009-0009-5039-6270, m_milania@mail.ru

Резюме. *В статье представлены результаты изучения гибридов томата F_1, полученных от прямых и реципрокных скрещиваний полумутантных и культурных линий, по признакам мужского гаметофита, влияющих на репродуктивные функции растений, включая устойчивость к высокой и низкой температурам. Установлено, что мутантные гены ls и br, наследуются от материнских форм по доминантному типу, оказывая отрицательное влияние на морфологические признаки пыльцевых зерен, жизнеспособность и стрессоустойчивость пыльцы. Особенно выражена вариабельность признаков мужского гаметофита в популяциях прямых и реципрокных гибридов F_1 (Л11069 × Л111 и Л111 × Л11069), где обе родительские формы со сложным сочетанием мутантных генов, объединение которых в геноме гибридов F_1, вероятно, и, привело к плейотропному действию тесно сцепленных генных комплексов, усиливших отрицательное действие мутантных генов. Напротив, использование в качестве материнских форм генотипов культурного типа (Л28 и Stefani) приводит к получению гибридов F_1, с высокими показателями и стабильным проявлением признаков мужского гаметофита, с меньшей ответной реакцией пыльцы на действие высоко- и низкотемпературных стресс-факторов. Выявленные особенности могут служить критерием раннего прогнозирования и удачного комбинирования исходных форм для создания гибридов томата F_1, с высоким репродуктивным потенциалом и устойчивых к стрессовым температурам.*
Ключевые слова: *гибриды томата F_1, мутантные гены, признаки, мужской гаметофит, устойчивость, высокая и низкая температуры*

Abstract. *The article presents the results of studying tomato F_1 hybrids obtained from direct and reciprocal crosses of semi-mutant and cultivated lines on the traits of male gametophyte, affecting plant reproductive functions, including resistance to high and low temperatures. It was found that mutant genes ls and br are inherited from maternal forms by dominant type, having a negative effect on morphological traits of pollen grains, pollen viability and stress resistance. The variability of male gametophyte traits is especially pronounced in populations of direct and reciprocal F_1 hybrids (L11069 × L111 and L111 × L11069), where both parental forms have a complex combination of mutant genes, the unification of which in the genome of F_1 hybrids probably led to the pleiotropic effect of closely linked gene complexes that enhanced the negative effect of mutant genes. On the contrary, the use of cultural type genotypes (L28 and Stefani) as maternal forms leads to F_1 hybrids with high indices and stable manifestation of male gametophyte traits, with lower pollen response to the action of high and low temperature stress factors. The established features can serve as a*

criterion for early prediction and successful combination of initial original forms to create F_1 tomato hybrids with high reproductive potential and resistant to temperature stress factors.
Keywords: *F1 tomato hybrids, mutant genes, traits, male gametophyte, resistance, high and low temperatures*

Введение

Экологическая устойчивость относится к числу наиболее дефицитных хозяйственно-ценных признаков в растительном мире [8, 9]. Недостаток генетического разнообразия источников устойчивой зародышевой плазмы, например, к температурным стрессам, стал первопричиной того, что за последние 50 лет не достигнуто значимого повышения уровня толерантности к ним у основных сельскохозяйственных культур [2]. Поэтому, повышение устойчивости сортов и гибридов томата к абиотическим стрессовым факторам за счет селекции, является главным условием реализации их генетического потенциала продуктивности. Приоритетом в этом плане может быть гетерозисная селекция. В гибридах F_1, возможно объединение генов, определяющих устойчивость к основным стрессогеннам для томата, к холоду, жаре, засухе, наиболее распространенным болезням и даже к нарушению режимов питания, а также отвечающих за скороспелость, высокое содержание сухих веществ, массу плода и др. [3]. Согласно существующим теориям [6, 9], гетерозисные гибриды являются и, самым ценным исходным материалом, гарантирующим в будущем отбор генотипов, родоначальников новых линий и сортов. Однако для этого необходимо подбирать формы с высокой рекомбинационной способностью и имеющих набор ряда желательных рецессивных генов [3]. Особый интерес в этом плане представляют мутантные формы томата с генетически выраженным разным набором рецессивных генов, что повышает вероятность выявления и отбора ценных генотипов с необходимым сочетанием признаков [6]. Генетическая разнокачественность родительских форм томата по некоторым мутантным генам при их комплементарном действии в F_1 способствуют появлению эффекта гетерозиса [4]. Важно здесь, и понимание роли мутантных форм в процессе создании гетерозисных гибридов F_1 с высоким адаптивным потенциалом к стрессовым абиотическим факторам. В отличие от обычных селекционных схем, отборы в этом плане должны проводиться на селективных фонах в стрессовых условиях. Необходимо, чтобы действие стресс-фактора (высокие, низкие температуры, засуха, засоленность почвы, поражение растений болезнями и др.) проявилось достаточно жестко именно в тот период развития растений, когда они к нему наиболее чувствительны. Одним из таких этапов онтогенеза является мужской гаметофит растений [11]. Негативное влияние разных стресс-факторов на качество пыльцы, как на этапе формирования, так и её функционирования показано многими авторами [2, 5, 7, 10, 12]. Метод пыльцевого анализа позволяет получить первичную информацию о реакции генотипов на действие тех или иных стресс-факторов. Быстро и эффективно идентифицировать генотипы по типу и степени их устойчивости, выделить самые ценные для последующего использования в качестве доноров для создания новых устойчивых форм томата [5]. Подтверждением являются положительные результаты, полученные при оценке на искусственно созданных стрессовых фонах – жара, холод, засуха, большого числа одно- и многомаркерных мутантных форм томата (125 генотипов) [5].

Исходя из этого, целью данной работы было разработать подходы для создания высоко адаптивных к температурным стресс-факторам гибридов томата F_1 по признакам мужского гаметофита с использованием в качестве исходного материала генотипов, носителей разного набора мутантных маркерных генов.

Материал и методы

Объектом исследований служили гибриды томата F_1 от прямых (Л11069 × Л111, Л11069 × Л28, Л11069 × Stefani) и реципрокных (Л111 × Л11069, Л28 × Л11069, Stefani × Л11069) скрещиваний полумутантных линий Л11069 (*sp*$^{+}$*, nor, Tm-2*^{a}*, ls, br, j-2*) и Л111 (*sp*$^{\pm}$*, nor, u, ls, hp-1*) с разным набором мутантных маркерных генов с генотипами культурного типа (Л28 и сорт Stefani). Растения гибридов F_1 выращивали в грунтовой теплице экспериментальной базы Института генетики, физиологии и защиты растений в три разных года (2020-2022 гг.) по общепринятым для томата методикам [13]. Изучали проявление признаков репродуктивной системы (параметры морфологических признаков соцветий, цветков и пыльцы) [14]. В условиях лаборатории, на искусственно созданных стрессовых фонах (высокая, низкая температуры), оценивали устойчивость гибридов F_1 по комплексу признаков мужского гаметофита (пыльцы) [5]. От каждого гибрида использовали по 15 учетных растений из цветков, которых выделяли пыльцу. Свежесобранную пыльцу делили на три части: Одну высевали на искусственную питательную среду, состоящую из 15% сахарозы и 0,006% борной кислоты и проращивали в условиях *in vitro* при температуре 25°C в течение 3-х часов, определяли жизнеспособность и длину пыльцевых трубок (это служило контролем); Вторую часть использовали для оценки жаростойкости, путем обработки её температурой 45°C в течение 8 часов с последующей оценкой способности термообработанной пыльцы прорастать и формировать длинные пыльцевые трубки (опыт 1); Третью высевали на питательную среду и проращивали в условиях *in vitro* при температуре 6°C в течение 24 часов (опыт 2). По каждому генотипу в каждом варианте исследований оценивали не менее 500 пыльцевых зерен. По разнице между показателями свежесобранной пыльцы (контроль) и термобработанной (опыты) судили об устойчивости гибридов F_1 высокой и низкой температурам. Размеры пыльцевых зерен (μm) и длину трубок (д.о.м.), вычисляли путем измерения их с помощью шкалы окуляр-микрометра. Все препараты с пыльцой просматривали под световым микроскопом типа Zeiss. Статистическую обработку проводили по общепринятым методикам [1] и программе Excel.

Результаты и их обсуждение

Экспериментальные гибриды F_1, характеризуются оптимальным соотношением хозяйственно-ценных признаков, влияющих на габитус и архитектонику их растений. Использованные в скрещиваниях линии 11069 и 111, являются носителями генов *ls* и *br,* которые одновременно оказывают как полезное, так и вредное влияние на ряд селекционно-ценных признаков. Положительно они влияют на получение гибридов с короткими междоузлиями, слабой пасынкообразующей способностью и более частым расположением соцветий на главном стебле растения, но при этом отрицательно на некоторые признаки репродуктивной системы (морфологические нарушения в строении цветков или отдельных их элементов, частичная стерильность, мелкие плоды). Это требует более глубокого изучения гибридов F_1 с их участием для поиска возможности раннего прогнозирования и правильного подбора пар с целью ослабления или полного устранения их отрицательного влияния на проявление селекционно-ценных признаков. Изучение и анализ прямых и реципрокных гибридов F_1, показало выраженные различия по характеру проявления признаков репродуктивной системы (размер, форма и степень нарушений в строении цветков,

морфологические отклонения в строении пыльцевых зерен и качество пыльцы), как в зависимости от генотипа их родительских форм, так и направления скрещиваний (табл. 1). Выявлено, что в популяциях гибридов F_1, где линия 11069 используется в качестве материнской формы, на соцветиях растений встречается больше цветков с морфологическими нарушениями строения цветков или отдельных их элементов (44,7%; 26,3% и 33,3% соответственно). Выше в популяциях этих гибридов F_1, и доля пыльцевых зерен (28,2%; 11,7% и 26,4%) с аномалиями разной степени выраженности (мелкие, разной формы и с нарушенной целостностью), тогда как в популяциях от реципрокных скрещиваний, где материнская форма представлена генотипом культурного типа, показатели в разы ниже (табл. 1).

Вариабельность морфологических признаков цветка выше и в комбинациях скрещивания (прямые, реципрокные), где обе родительские формы (Л11069, Л111 и Stefani) имеют промежуточный тип соцветия (с одним или двумя ветвлениями). Средний коэффициент вариации, как в пределах их популяций, так и по годам исследований в обоих вариантах достаточно высокий (от прямого скрещивания C_V= 21-24,3% и 22,3-21,7% и от реципрокного C_V= 20,6-21,3% и 15,2-11,1% соответственно) (табл. 1). Высокая морфологическая гетерогенность по строению цветков и пыльцевых зерен в их популяциях указывает на то, что мутантные гены наследуются по доминантному типу от материнских форм (Л11069 и Л111).

Более однородной по характеру проявления признаков была популяция от комбинации Л11069 × Л28 (C_V= 16,1-9,4%). У гибрида F_1 от реципрокного скрещивания, где Л28 используется в качестве материнского компонента установлен самый низкий коэффициент вариации по обоим признакам как в пределах популяции (C_V=7,2% и 6,3%0), так и по годам исследований (C_V=9,1% и 8,6) (табл. 1). Это подтверждает предположение, что гетерогенность популяций по изученным признакам сопряжена с доминантной передачей мутантных генов *ls* и *br* от материнских форм.

Таблица 1. Вариабельность показателей признаков репродуктивной системы у гибридов томата F_1 от прямых и реципрокных скрещиваний, 2020-2022 гг.

Комбинации гибридов F_1	Доля цветков с наруше-ниями в строении, %	Коэффициент вариации (C_V, %)		Доля пыльцевых зерен с анома-лиями, %	Коэффициент вариации (C_V, %)	
		в пределах популяции	по годам		в пределах популяции	по годам
Л11069×Л111	44,7 ± 1,6	21,0	24,3	28,2 ± 0,7	20,4	24,3
Л111×Л11069	28,7 ± 1,4	20,6	21,3	20,3 ± 0,4	11,6	15,2
Л11069 × Л28	26,3 ± 1,2	16,1	9,4	11,7 ± 0,4	10,5	11,8
Л28 × Л11069	11,4 ± 0,8	7,2	9,1	6,8 ±0,6	6,3	8,6
Л11069×Stefani	33,2 ±1,7	22,3	21,7	26,4 ± 1,1	31,2	28,4
Stefani×Л11069	21,3 ± 1,1	15,2	11,1	8,1 ± 0,4	12,8	16,1

Наличие такой информации на начальных этапах селекционного процесса и, особенно при создании гибридов F_1, может служить критерием для раннего прогнозирования и удачного комбинирования родительских форм.

Следующий этап исследований, это оценка признаков пыльцы, характеризующих её оплодотворяющую способность: фертильность, прорастание-жизнеспособность пыльцы,

длина пыльцевых трубок и число семян в плодах (рис. 1). Анализ полученных результатов, также показал выраженные различия как между гибридами F_1, так и в зависимости от направления скрещиваний. Средние значения признаков за три года исследований, были выше у всех гибридов томата F_1 в вариантах от реципрокного скрещивания (рис. 1). Наиболее длинные пыльцевые трубки формировали проросшие на искусственной питательной среде в условиях *in vitro* пыльцевые зерна гибридов в вариантах от реципрокных скрещиваний в комбинациях Л28 × Л11069 и с. Stefani × Л11069. В плодах этих гибридов формировалось и больше семян. Это указывает на то, что в данном случае процессы прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок у свежесобранной пыльцы, и как следствие образование большего числа семян в плодах, контролируются (детерминируются) материнскими формами.

Одновременно следует отметить, что самые низкие значения изученных признаков наблюдаются у гибридов F_1 от прямых и реципрокных скрещиваний с полумутантными линиями 11069 и 111 (рис. 1). Однако, при сравнительном анализе видим, что показатели признаков у гибрида F_1 в варианте от реципрокного скрещивания выше, чем от прямого (рис. 1). Можно предположить, что мутантные гены Л111 оказывает менее выраженное отрицательное влияние на характер проявления изученных признаков, чем Л11069, которая является носителем большего числа мутантных генов.

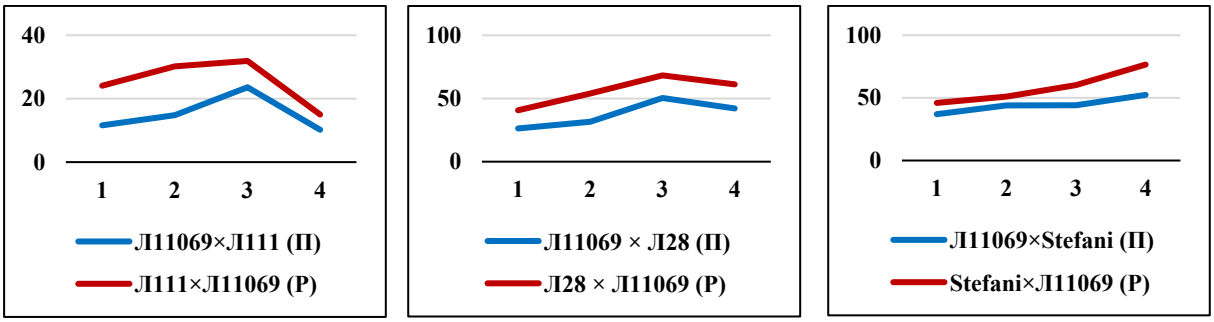

Рисунок 1. Средние значения показателей признаков: фертильность, жизнеспособность, длина пыльцевых трубок и число семян в плодах у гибридов томата F_1 от прямых и реципрокных скрещиваний

Тестирование гибридов томата F_1 (прямые, реципрокные) на устойчивость к температурным стресс-факторам, показал сложный характер проявления признаков. Установлена генотипоспецифическая реакция пыльцы гибридов F_1 на действие высокой и низкой температур, в том числе, и в зависимости от направления скрещивания, как по прорастанию, так и способности проросших под воздействием стрессовых факторов пыльцевых зерен, формировать достаточной для оплодотворения длины пыльцевые трубки (рис. 2).

Обработка пыльцы гибридов F_1 температурой 45°С в течение 8 часов и последующее её проращивание в условиях *in vitro* на искусственной питательной среде, состоящей из 15% сахарозы и 0,006% борной кислоты, выявила индивидуальную реакцию пыльцы каждого гибрида F_1 на высокотемпературное воздействие. Меньше реагировала на высокую температуру пыльца гибридов F_1 от реципрокного скрещивания Л28 х Л11069 и Stefani х Л11069 (рис. 2). Пыльцевые зерна в популяциях этих гибридов были более однородными, быстро и активно прорастали в условиях *in vitro*, одновременно формируя и длинные

пыльцевые трубки в отличие от гибридов F_1 от прямых скрещиваний. Аналогичная закономерность по реакции пыльцы этих гибридов F_1, сохраняется и при проращивании её на фоне низкой положительной температуры 6°С в течение 24 часов (рис. 2). Можно предположить, что за счет высокой комбинационной способности Л28 и сорта Stefani удалось ослабить негативное влияние мутантных генов и получить гибриды F_1 с более высокими показателями и оригинальным сочетанием морфо-биологических признаков с устойчивостью к температурным стресс-факторам.

Сравнительный анализ информации представленной на рисунке 2, показывает, что пыльца гибридов F_1 как от прямого (Л11069 × Л111), так и обратного (Л111 × Л11069) скрещиваний, отличается высокой ответной реакцией на действие высокой и низкой температур, как по прорастанию, так длине пыльцевых трубок. Это информация корелирует с данными представленными в таблице 1 и на рисунке 1, и указывает на то, что в геномах этих гибридов присутствует большее число мутантных генов, которые усиливают отрицательное влияние на качество и стрессоустойчивость пыльцы.

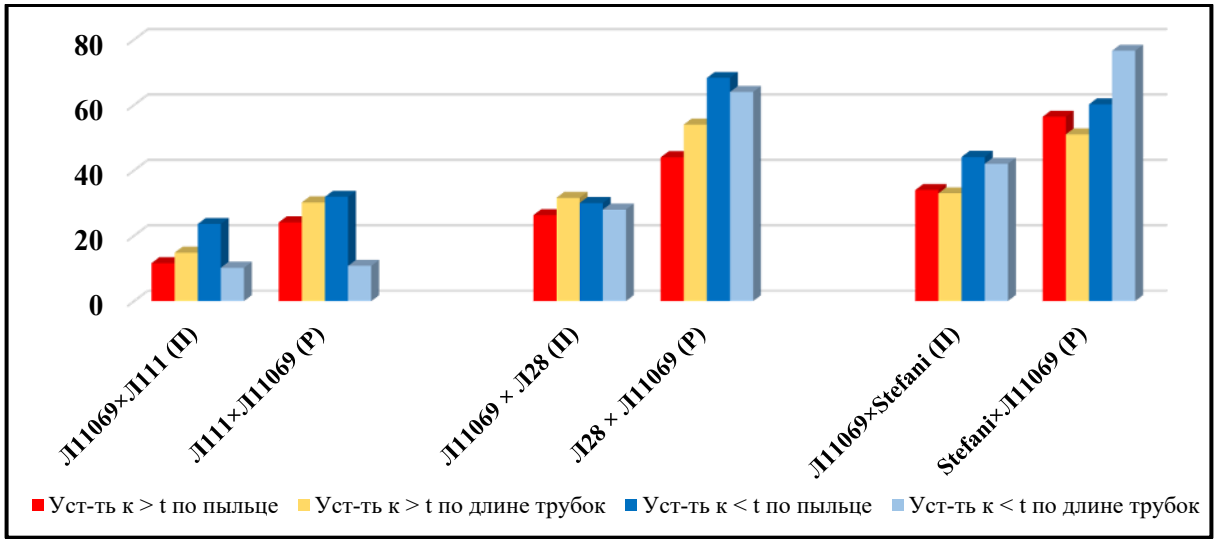

Рисунок 2. Характер проявления устойчивости к высокой и низкой температурам у прямых и реципрокных гибридов томата F_1 по прорастанию пыльцы и способности проросших пыльцевых зерен, формировать длинные пыльцевые трубки

Высокую степень изменчивости признаков мужского гаметофита в том числе под влиянием высоко- и низкотемпературного стрессовых факторов у всех гибридов F_1 от прямых скрещиваний с линией 11069 подтверждает средний коэффициент вариации признаков, вычисленный по результатам трех разных лет исследований (2020-2022 гг.) (табл. 2). Объяснением этому может быть высокая степень вариабельности признаков у самой Л11069. Коэффициент вариации по размеру, форме и разного типа нарушениям целостности пыльцевых зерен составил Cv=51,1%, по фертильности пыльцы 40,6% и аналогично высокие по жизнеспособности пыльцы (Cv=44,5%) и длине пыльцевых трубок (Cv=43,8%). Можно предположить, что низкие показатели изученных признаков и высокий коэффициент их вариации в популяциях как от прямого, так и реципрокного скрещиваний в том числе, и с Л111 являются следствием отрицательного действия содержащихся в геномах обоих линий мутантных генов, которые даже в присутствии достаточного набора положительно

действующих на эти признаки полигенов приводят к слабой реализации изученных признаков. Другой причиной может быть их слабая окультуренность, что требует более активного вовлечения их в селекционный процесс.

В комбинациях гибридов F_1, где Л11069 используется в качестве отцовской формы, степень вариабельности признаков, как в пределах их популяций, так и по годам исследований значительно ниже (табл. 2).

Стабильный характер проявления признаков мужского гаметофита наблюдается в вариантах от реципрокного скрещивания у гибридов F_1 Л28 × Л11069 (Cv=7,4-11,4%) и Stefani × Л11069 (Cv=10,4-15,1%) (табл. 2). Это характеризует их как устойчивые к обоим стрессовым температурным факторам. Тогда как размах изменчивости по всем признакам в вариантах от прямых скрещиваний значительно выше и соответственно составляет Cv=22,1-29,7% и Cv=24,3-30,4% (табл. 2).

Таблица 2. Средние коэффициенты вариации признаков пыльцы у гибридов томата F_1 от прямых и реципрокных скрещиваний под влиянием высокой и низкой температур, 2020- 2022 гг.

Комбинации гибридов F_1	**Контроль (свежесобранная пыльца)**		**Устойчивость к высокой температуре (45°С/8 часов)**		**Устойчивость к низкой температуре (6°С/24 часа)**	
	Коэффициенты вариабельности признаков (Cv,%)					
	жизнеспо-собность	**длина трубок**	**по пыльце**	**по длине трубок**	**по пыльце**	**по длине трубок**
Л11069 × Л111	29,4	28,7	32,7	30,4	36,3	43,8
Л 111 × Л 11069	**17,8**	**25,2**	**34,2**	**25,7**	**19,4**	**29,1**
Л 11069 × Л 28	29,7	28,3	27,6	22,4	23,2	22,1
Л28 × Л 11069	**10,6**	**11,4**	**10,1**	**8,4**	**7,4**	**9,3**
Л 11069 × Stefani	30,4	24,7	26,3	24,3	29,7	25,9
Stefani×Л11069	**15,1**	**11,2**	**14,3**	**13,6**	**12,2**	**10,4**
Примечание:	**Значение коэффициента вариации** признаков – слабо варьирующие (V<10%), средне (V=10-20%) и сильно варьирующие (V>20%) [1]					

Для эффективного использования показателей признаков мужского гаметофита в качестве критерия для получения гетерозисных гибридов томата F_1 с высоким репродуктивным потенциалом необходима индивидуальная оценка каждой гибридной комбинации в паре с потенциальными родительскими компонентами.

Выводы

Дана характеристика гибридам томата F_1, полученных от прямых и реципрокных скрещиваний линий полумутантного и культурного типа по характеру проявления признаков мужского гаметофита, влияющих на репродуктивные, воспроизводительные и другие функции растений в том числе под действием высоко- и низкотемпературных стресс-факторов, что может служить предпосылкой для быстрой оценки и правильного подбора родительских пар с высоким генетическим потенциалом по качеству пыльцы и её функциональности в процессе создания гетерозисных гибридов.

Показано, что мутантные гены *ls* и *br,* наследуются от материнских форм по доминантному типу, оказывая отрицательное влияние на морфологические признаки пыльцевых зерен, жизнеспособность и стрессоустойчивость пыльцы.

Наиболее высокая вариабельность признаков мужского гаметофита, установлена в популяциях прямых и реципрокных гибридов F_1 (Л11069 × Л111 и Л111 × Л11069), где обе родительские формы со сложным сочетанием мутантных генов, объединение которых в геномах гибридов F_1, вероятно, и, привело к плейотропному действию тесно сцепленных генных комплексов, усиливших отрицательное действие мутантных генов.

Выявлен положительный эффект от использования в качестве материнских форм, генотипов культурного типа (Л28 и Stefani) с высокой комбинационной способностью по основным хозяйственно-ценным признакам, что привело к получению гибридов томата F_1 с высокими и стабильными показателями признаков репродуктивной системы и толерантных к температурным стресс-факторам по признакам мужского гаметофита.

Исследования проводились в рамках Субпрограммы ***011102 «Повышение и сохранение генетического разнообразия, селекция сельскохозяйственных культур в условиях изменения климата»,*** *финансируемой Министерством Образования и Науки.*

Библиография

1. ДОСПЕХОВ Б.А. *Методика опытного дела*. М.: Агромпромиздат, 1985. 416 с. ISBN 978-5-458-23540-2
2. ЖУЧЕНКО А. А. *Мобилизация генетических ресурсов цветковых растений на основе их идентификации и систематизации.* Москва. 2012. 581 с. ISBN 978-5-85941-452-9
3. КРАВЧЕНКО В.А. Использование рецессивных генов при селекции томата на гетерозис. *Научные труды по селекции и семеноводству*. Москва. 1995. Т.II, с. 142-143
4. КУЗЕМИНСКИЙ, А.В. *Селекционно-генетические исследования мутантных форм томата.* Харьков. 2004. 391 с. ISBN 966-8431-00-6.
5. МАКОВЕЙ, М.Д. *Селекция томата на устойчивость к стрессовым абиотическим факторам с использованием гаметных технологий.* Кишинев."Print-Caro". 2018. 473 с. ISBN 978-9975-56-565-3
6. МАКОВЕЙ, М.Д**.** *Потенциал мутантных форм томата для селекционно-генетических исследований.* Кишинев. "Print-Caro". 2022. 208 с. ISBN 978-9975-165-22-8
7. ALONI B., PEET M., PHARR M., KARNI L. The effect of high temperature and high atmospheric CO_2 on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination. J. *Physiologia Plantarum.* 2001. No. 112, pp. 505-512. ISSN 0031-9317
8. KANG, M.S. Breeding: Genotype-by-environment interaction. *Encyclopedia of Plant and Crop Science.* New York: Marcel-Dekker; 2004. pp. 218-221. ISBN 0491334386
9. KHOTYLEVA L.V., KILCHEVSKY A.V., SHAPTURENKO M.N. Theoretical aspects of heterosis. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018. №. 20 (4), pp. 482-492. ISSN 2500-0462
10. MAKOVEI M. Pollen reaction of mutant tomato forms to abiotic stress factors. *Journal Plant Breeding and Seed Production*. 2023, 124, p. 6-20. ISSN 1026-9959
11. PFAHLER P.L. Comparative effectiveness of pollen genotype selection in Higher plants. In: *Polen: Biology and Implications for Plant Breeding*. N.Y. 1982. pp. 361-366. ISBN 978-0444007384
12. SINGH SK., KAKANI VG., BRAND D., BALDWIN B., REDDY KR. Assessment of cold and heat tolerance of winter-grown canola (*Brassica napus* L.) cultivars by pollen-based parameters. In: *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2018, No 194, pp. 225-236. ISSN 0931-2250
13. ORZAN V., IONESCU C. *Metodica şi Tehnica Experimentala pentru incercarea soiurilor de legume de câmp.* Bucureşti, 1989. 268 p.
14. TOMATO - UPOV (*Solanum lycopersicum* L.) V 2017 0007 TG/44/11 Rev. Geneva.