



La esterilidad masculina en plantas, una perspectiva embriológica

Eduardo Cuevas García

Laboratorio de Ecología de Interacciones Bióticas, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México. C.P. 58060. eduardocuevas5@gmail.com

PALABRAS CLAVE

polen;
microsporogénesis
tapete

RESUMEN

En las angiospermas, el proceso mediante el cual se producen los granos de polen se conoce como gametogénesis masculina o microgametogénesis y estos eventos se desarrollan en las anteras de las flores. Sin embargo, se han identificado algunas especies de angiospermas, en donde no hay producción de granos de polen viables. A éste fenómeno se le conoce como esterilidad masculina y ha sido ampliamente estudiado en áreas como la embriología, la agricultura y en estudios evolutivos. Uno de los usos más importantes de este fenómeno es en la producción de semillas híbridas y para evitar flujo de polen entre distintas variedades. En el presente artículo se describe la formación de los granos de polen, y la composición de la pared de la antera durante su desarrollo. Posteriormente, se aborda el fenómeno de la esterilidad masculina y se hace una revisión de los trabajos desde una perspectiva embriológica.

ABSTRACT

The process by which angiosperms produce the pollen grains is called gametogenesis and these events take place in the anthers of flowers. However, in some species there is no production of viable pollen grains. This phenomenon is called male sterility and has been widely studied in areas such as embryology, agriculture and evolutionary studies. One of the most important uses of this phenomenon is the production of hybrid seeds and to prevent pollen flow among different plant varieties. This study described pollen grain formation and anther wall composition during pollen grains development. After that, the phenomenon of male sterility is described and finally a review of male sterility works in plants from an embryological perspective is presented.

KEYWORDS

pollen;
microsporogenesis;
tapetum

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de los granos de polen es un proceso complejo que requiere de la interacción coordinada entre el esporofito y el gametofito en desarrollo (Chaubal *et al.*, 2000). En el inicio de la formación de los granos de polen, estos comienzan siendo células esporógenas que se dividen por meiosis dando lugar a tétradas de células haploides (Fig. 1). Las células de las tétradas que antes estaban unidas se separan y se les conoce como microsporas libres. Posteriormente, las microsporas uninucleadas se dividen asimétricamente por mitosis, dando como resultado granos de polen

con dos células: una célula grande llamada vegetativa y una pequeña célula generatriz (Fig. 1). Es en esta condición bicelular como se liberan los granos de polen de las anteras maduras en aproximadamente el 70% de las angiospermas McCormick (1993). Es importante mencionar que el destino de estas dos células es muy distinto. La célula vegetativa ya no volverá a dividirse y su papel será proporcionar el material necesario para que el tubo polínico pueda crecer. Mientras que la célula generatriz volverá a dividirse para dar lugar a dos células espermáticas, una de las cuales será la encargada de fusionarse con la célula huevo del óvulo y la otra célula se fusionará con uno de los núcleos

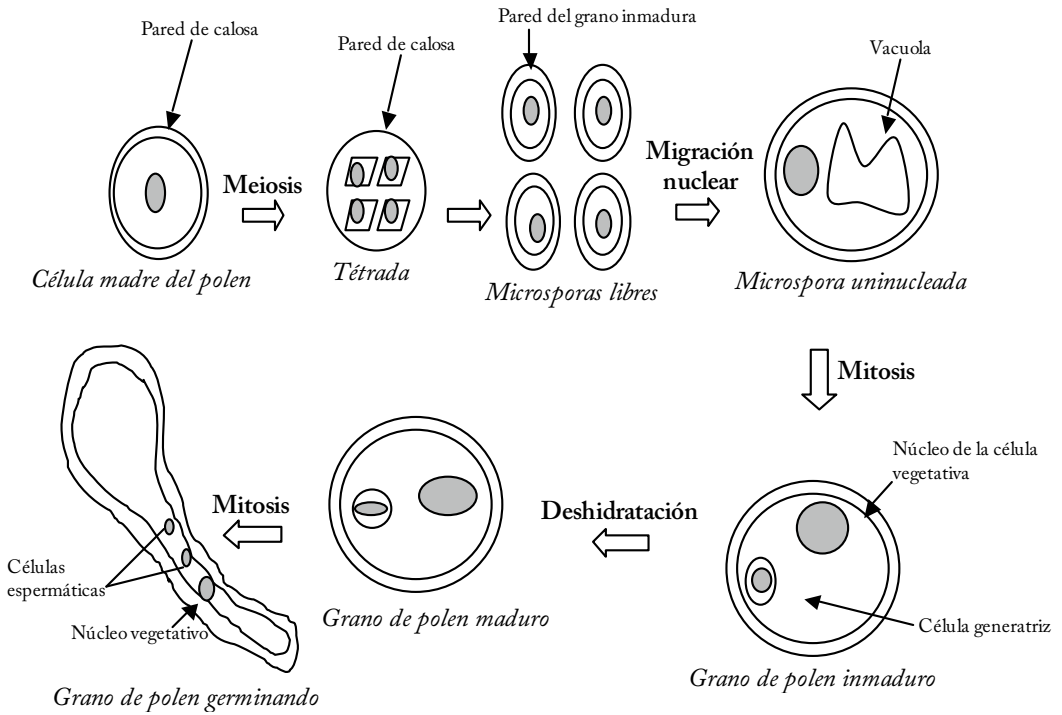


FIGURA 1. Representación esquemática de una microsporogénesis típica de angiospermas. (Modificado de McCormick 1993.)

polares del óvulo y formará el endospermo. Una vez que el grano de polen ha sido liberado de la antera y llega a un estigma receptivo, el tubo polínico inicia su crecimiento a través del estilo. Es en este momento cuando la célula generatriz se divide por segunda vez. Aproximadamente en el 30% de las angiospermas esta división ocurre antes de que el polen sea liberado de las anteras.

Con respecto a la formación de la antera, en lo que generalmente se conoce como la primera etapa de desarrollo, es posible apreciar la epidermis, que permanecerá hasta el momento de la liberación del polen y el tejido esporógeno a partir del cual se formarán los granos de polen (Fig. 2). Después de una serie de divisiones celulares, podemos observar cuatro tejidos estériles en donde la capa de células más externa, constituye la epidermis, seguida por el endotecio, dos o tres capas medias, y el tapete que es la capa más interna en contacto con el tejido esporógeno el cual dará lugar a los granos de polen (Fig. 2) Bhojwani y Bhatnagar (1974). La epidermis consta de una capa de células y

es un tejido básicamente de protección. El endotecio, en la mayoría de las especies consiste de una sola capa de células e interviene en la liberación del polen de la antera, por lo que alcanza su máximo desarrollo hacia la parte final de la maduración de la antera. Con relación a las capas medias, estas generalmente son efímeras y tienden a desaparecer durante la meiosis de las microsporas. Por último, el tapete es un tejido formado generalmente por una sola capa de células, las cuales alcanzan su máximo desarrollo cuando las microsporas están en la etapa de tétradas.

De los cuatro tejidos que conforman la antera, el tapete es el que está en estrecho contacto con las microsporas y tiene la mayor importancia fisiológica durante el desarrollo de los granos de polen (Pacini 1990, Pacini *et al.* 1985, Pacini y Franchi 1993).

Dentro de las funciones en las que interviene el tapete, se pueden mencionar:

- 1) El transporte de nutrientes a las microsporas (Pacini *et al.* 1985).
- 2) Degradación de la calosa que rodea a las

tétradas, (por medio de la síntesis y liberación de la calasa, una enzima nuclear que hidroliza a la calosa para que las microsporas puedan ser liberadas de las tétradas) Pacini (1990).

- 3) Abastecimiento de polenkit y de trifina, sustancias viscosas que unen a los granos de polen en la antera, facilitan su dispersión y los protege contra la radiación solar y la pérdida de agua Pacini y Franchi (1993).

Dada la importancia del tapete en el desarrollo del polen, se considera de manera general que cualquier problema en este tejido está relacionado con las anomalías en el desarrollo de los granos de polen.

ESTERILIDAD MASCULINA

Se estima que entre el 80 y 90 % de las especies de angiospermas son hermafroditas Richards (1986). El hermafroditismo se refiere a que en una misma flor se encuentra la función masculina que interviene en

la producción y exportación de los granos de polen y la femenina que en términos de la aportación reproductiva está dada por la producción de semillas. Sin embargo, se han reportado más de 500 especies de al menos 71 familias de angiospermas en las que coexisten en las poblaciones plantas hermafroditas y plantas hembra, las cuales no producen polen viable Dem'yanova (1985). A estas especies se les da el nombre de ginodioicas y al fenómeno que ocasiona la falta de producción de granos de polen viables se le conoce como esterilidad masculina. Actualmente la esterilidad masculina citoplasmática es la más estudiada y su nombre se debe a que en la mayoría de los casos, los genes responsables de la esterilidad se han encontrado en las mitocondrias Laser y Lersten (1972). Debido a que en la mayoría de las angiospermas las mitocondrias se heredan vía materna, la esterilidad se transmite únicamente por medio de las semillas (Mogensen, 1996). Otro hecho interesante es que en varias especies con esterilidad masculina se han encontrado genes nucleares llamados "restauradores" de la fertilidad que revierten los efectos de los genes de

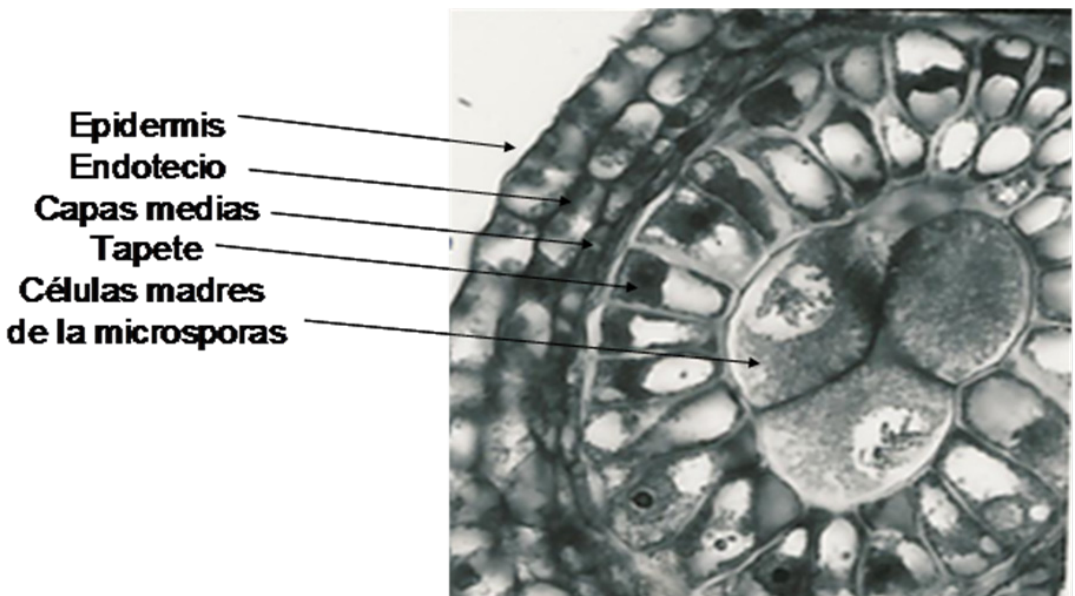


FIGURA 2. Fotografía que muestra el corte transversal de un lóculo de una antera en microsporogénesis, de *Kallstroemia grandiflora* (Zygophyllaceae) donde se muestran los distintos tejidos. (Modificado de Cuevas et al. 2005). La barra equivale a 10 µl.

esterilidad (Snable y Wise 1998), y por ser de origen nuclear se transmiten biparentalmente, es decir, que pueden estar presentes tanto en el polen como en los óvulos.

Además de los casos en donde la esterilidad masculina se ha detectado en poblaciones naturales, esta se ha manifestado en un gran número de cruzas interespecíficas, es decir, cruzas entre distintas especies de un mismo género (Smith et al. 2002) o en cruzas intraespecíficas, entre variedades de una misma especie que inicialmente no eran estériles (Tabla 1) Laser y Lersten (1972). Basándose en este argumento algunos autores proponen que la esterilidad puede ser el resultado de la incompatibilidad entre los genes del núcleo y los del citoplasma Hanson y Conde (1985). Uno de los principales usos de la esterilidad masculina es en la producción de variedades híbridas de semillas. Además, al producir variedades que no producen polen, se evita el riesgo de contaminación por medio del flujo de polen Chase (2006, 2007).

ESTUDIOS DE CASO

Dada la importancia que tiene la esterilidad masculina para la agricultura, al permitir la producción de híbridos de una manera segura y eficiente, no es de extrañar que las especies más estudiadas a nivel embriológico sean especies de interés comercial como el trigo, maíz, sorgo y tabaco entre otras.

Generalmente al estudiar la embriología de especies con esterilidad masculina, se describe el momento del desarrollo en el que los granos de polen presentan las anomalías y/o cambios que se asocian con la aborción de los granos de polen y se compara con el desarrollo del polen de plantas hermafroditas de la misma especie. Podemos decir de manera general, que las anteras de plantas estériles presentan mayor variación en sus patrones de desarrollo en comparación con las anteras de plantas hermafroditas (Hallden, et al. 1991).

Una de las primeras y más extensas revisiones de la microsporogénesis en especies con esterilidad masculina, encontró que la aborción de los granos de polen puede ocurrir prácticamente en cualquier etapa de su desarrollo. Sin embargo en la mayoría

de las especies la aborción ocurrió antes o durante la formación de las tétradas Laser y Lester (1972). Además, en dicho estudio se definieron las principales etapas en la formación de los granos de polen, ya que si bien, éste es un proceso continuo, al separarlo por etapas permite que los estudios sean comparables.

En la Tabla 1 se presenta un resumen de la información que hasta el momento se tiene de los estudios embriológicos de la mayoría de especies con esterilidad masculina. Como se mencionó anteriormente, el tapete es el tejido más importante durante la formación de los granos de polen por lo que no resulta extraño que en la mayoría de las especies con esterilidad masculina se haya encontrado algún problema relacionado con dicho tejido (ver Tabla 1). En ocasiones, no es fácil diferenciar si la proliferación de las células del tapete provoca la aborción de las microsporas ó si estas degeneran primero y posteriormente ocurre la proliferación del tapete, como sucede en *Brasica napus* Grant y Beversdorf (1986). Por otro lado se ha encontrado que la aborción de los granos de polen puede ocurrir en distintas etapas de su desarrollo en una misma especie (ver Tabla 1) lo que nos habla del grado de variación intraespecífica en relación a los factores reponsables de la esterilidad.

Una de las especies más estudiadas es el maíz en donde se han descrito un gran número de mutantes estériles. En algunos mutantes de maíz, la aborción de los granos de polen ocurre en la parte final de su desarrollo y está acompañada de una vacuolización de las células del tapete (Cheng et al. 1979). Mientras que en otros estudios la aborción ocurrió en etapas avanzadas del desarrollo sin que se detectara ningún cambio en los tejidos de las anteras (Loukidies et al. 1995).

Quizá la especie donde se ha descrito un mayor número de mutantes relacionadas con la esterilidad masculina sea *Arabidopsis thaliana* (Sanders et al. 1999). En esta especie se ha inducido un gran número de mutaciones, y se han encontrado alrededor de 600 mutantes con defectos asociados en el desarrollo de las anteras y su función, así como mutantes con problemas en el desarrollo del polen y su liberación. Se calcula que aproximadamente 3500 genes se expresan específicamente durante el desarrollo de las anteras en *Arabidopsis* (Sanders et al. 1999); aunque en la

TABLA 1. Estudios embriológicos realizados en especies con esterilidad masculina.

Género, sp. o nombre común.	Origen de la Esterilidad	Momento de la Aborción	Desarrollo Microsporas	Tapete	Obs. Generales	Autor y año
Sorgo	Intraespecífica	Meiosis	Normales hasta la aborción	No degenera en meiosis		Alam y Sandal 1967*
	Intraespecífica	Microsporas vacuoladas	Granos de polen parcialmente formados			Maunder y Pickett 1959*
	Interepecífica		Granos parcialmente formados sin reservas	Degradación prematura en meiosis e hipertrofia	Alargamiento de células de capas medias	Smith et al. 2002
Trigo	Intergenérico	Meiosis temprana	Microsporas vacías	Persiste después de la degeneración del polen		Chauhan y Singh 1966*
	Intraespecífico	Microsporas bicelulares	Con exina e intina normales sin almidón	Normal, sin diferencias		De Vries e Ie 1970*
	Espontáneo	En meiosis y microsporas vacuolas	Normales hasta la aborción	Persiste después de aborción		Chang 1954*
Maíz	Espontáneo	Meiosis	Mas pequeñas con varios nucelolos		Primeros signos de degeneración después de tétradas	Jones et al. 1959*
	Espontáneo	Meiosis		Presenta 2 capas de células del tapete	Células del tapete indiferenciadas	Chaubal, et al. 2000
Beta	Espontáneo	Tejido esporógeno	Normales hasta salir de tétradas	Plasmoidal y secretor Degeneran núcleos y citoplasma		Artschwager 1947*
	Espontáneo	Microsporas Vacuoladas	Normales hasta salir de tétradas	Hipertrofia	Mucha variación en el desarrollo de anteras	Halldén, et al. 1991
	Espontáneo	Tejido esporógeno	Degeneran en meiosis	Hipertrofia		Novack et al. 1971*
	Espontáneo	Tétradas	Tétradas cenocíticas	Vacuolado no binucleado		Horner y Rogers 1974
Girasol	Espontaneo	Tétradas		Hipertrofiado y degenera antes Desorganización de organelos	Capas medias mas gruesas	Horner 1977
Brasica napus	Espontáneo	Antes de tétradas		Hipertrofiado de 1 a 8 capas	Granos maduros	Grant y Beversdorf 1986
Petunia parodii	Intraespecífico	Tétradas	Tétradas colapasadas	Vacuolado		Conley et al. 1994
Cebada	Espontáneo			Degenera prematuramente		Kaul y Singh 1966
Zanahoria	Espontáneo	Microsporas vacuoladas		Persiste por más tiempo		Thompson 1960

*Tomado de Laser y Kerster 1971

actualidad se desconoce qué proteínas codifican así como la función que desempeñan la mayoría de estos genes. Sin embargo se sabe que el gen denominado "33" interviene en la determinación del largo del filamento y la maduración de los granos de polen Fei y Sawhney (2001). El mutante "33" produce aproximadamente la mitad de los granos de polen por antera, en comparación con el genotipo normal, y ninguno de estos granos fue capaz de germinar in vitro. Se encontró que el tamaño de los granos de polen del mutante fue mayor en comparación al genotipo normal. Se piensa que esto es debido a la falta de desecación de los granos de polen la cual es un componente importante durante su maduración y afecta la viabilidad de los mismos en muchas especies Fei y Sawhney (2001).

Otro grupo de mutantes en *Arabidopsis* presenta problemas durante la meiosis, en particular en la etapa de tétradas. En estos mutantes las tétradas no se separan en cuatro microsporas, ya que al momento de la liberación de las microsporas permanece una pared de pectina lo que no permite que sean liberadas Rhee y Somerville (1998). Otros mutantes producen "tétradas" con hasta ocho microsporas, las cuales varían en tamaño y contenido de ADN (Peirson et al. 1996).

Por otro lado, la microscopía electrónica de transmisión ha permitido conocer que pasa con los organelos celulares tanto de los tejidos de las anteras como de las microsporas, en cuanto a su forma y abundancia. Por ejemplo, en *Glicine* se observó que hay una relación entre el momento de la aborción y la degeneración de las mitocondrias de las células del tapete, que se caracteriza por una desorganización en las membranas internas (Smith et al. 2002). Asimismo, la microscopía electrónica ha revelado la presencia de pequeños cuerpos con depósitos de cristales en el citoplasma de las microsporas de plantas estériles en *Brassica napus* Grant y Beversdorf (1986).

Por último, ésta técnica ha permitido comparar la organogénesis de especies estériles y normales y se ha podido determinar en qué momento del desarrollo se detiene el crecimiento de los primordios de los estambres Rosenberg y Bonnett (1983), (Caporali et al. 1994).

POSIBLES CAUSAS DE LA ESTERILIDAD MASCULINA

En la actualidad se conocen algunos de los genes responsables de la esterilidad masculina. En el caso del maíz el gen llamado T-urf13 se sabe que codifica un polipéptido no esencial localizado en la membrana interna de la mitocondria Levings (1993). A pesar de que este gen se expresa en las raíces, tallos y hojas, su efecto sólo se ha detectado en las anteras de las flores. Otra característica es que el resto de los genes de la mitocondria se siguen expresando normalmente sin que se afecten procesos esenciales para las plantas como la producción de energía. Sin embargo a pesar de los avances en la identificación de los genes responsables de la esterilidad, no ha resultado fácil entender el mecanismo por el cual actúan. Una hipótesis al respecto se basa en la evidencia que presentan varias especies con esterilidad en donde se ha encontrado la presencia de un péptido hidrofóbico (asociado a la secuencia del gen de la esterilidad). Este péptido tendría pocas consecuencias en las funciones normales de las mitocondrias, durante la mayoría de los estados de desarrollo de las plantas, pero podría provocar cambios fenotípicos cuando la demanda respiratoria se incrementa de manera brusca. Hay que recordar que durante la producción de polen se presenta una de las mayores demandas energéticas durante todo el ciclo de vida de las plantas. En el maíz se ha registrado un aumento en el número de mitocondrias por célula del tapete de hasta 40 veces, durante el desarrollo del polen Levings (1993). Lo que nos habla de la alta demanda energética durante la formación de los granos de polen.

Por otro lado, hay que considerar que algunas hormonas y sustancias relacionadas con el crecimiento de las plantas, pueden estar directamente relacionadas con la esterilidad masculina o podrían hacer que se expresen o no genes que intervienen con la esterilidad masculina Sawhney y Shukla (1994). Se conoce que las células madres de las microsporas son muy sensibles a la falta de agua especialmente durante la meiosis, lo que puede causar esterilidad masculina. Saini (1997). Se ha propuesto que lo que ocasionaría la falta de agua, podría ser un incremento endógeno en los niveles de ácido abscísico. Otras hormonas del crecimiento de las plantas como las giberelinas, se sabe que afectan el desarrollo normal del polen. En algunos casos la

aplicación exógena de giberelinas puede aumentar la formación de anteras y granos de polen viables en especies estériles como *Licopersicum esculentum* o inducir la esterilidad en plantas hermafroditas como en *Cápsicum annum* Sawhney y Shukla (1994).

CONCLUSIÓN Y DISCUSIÓN

El hecho de que en distintos trabajos en una misma especie se encuentre que la aborción de los granos ocurre en distintas etapas de su desarrollo puede ser explicado de varias maneras. Una posibilidad es que exista más de un gen responsable de la esterilidad, como ha sido descrito en algunas especies como el maíz. Otra posibilidad es que un mismo gen pueda tener distintos efectos dependiendo de la interacción con otros factores como las hormonas u otras sustancias que regulan el crecimiento de las plantas como se mencionó en la introducción. Además, es probable que factores ambientales como las condiciones de luz y temperatura durante el desarrollo de las anteras afecten el desarrollo de los granos de polen, lo que resulta en una gama de posibilidades que pueden estar causando la esterilidad masculina.

Uno de los avances que se ha dado gracias al uso de la microscopía electrónica es el identificar qué organelos celulares son los que presentan los primeros síntomas de degeneración, lo cual hasta la revisión de Laser y Kersten (1972) era desconocido. Otro aspecto que sigue avanzando es la identificación de genes responsables de la esterilidad y de algunos restauradores de la fertilidad.

Como se puede observar el entendimiento de un fenómeno como la esterilidad masculina requiere de estudios multidisciplinarios. Si bien la embriología ha sido de gran utilidad para determinar el momento de la aborción del polen y los cambios asociados en los tejidos de las anteras, se requiere además de disciplinas como la biología molecular y la genética del desarrollo para tener una visión más global del fenómeno.

REFERENCIAS

- Bhojwani, S. y S. Bhatnagar. (1974). The embryology of angiosperms. Vikas Publishing House. New Delhi. 357 p.
- Caporali, E., A. Carboni, M. Galli, G. Rossi, A. Spada y M. Longo (1994). Development of male and female flower in *Asparagus officinalis*, search for point of transition from hermaphroditic to unisexual developmental pathway. *Sexual Plant Reproduction*, 7: 239-249.
- Chase, D. C. (2006). Genetically engineered cytoplasmic male sterility. *Trends in Plant Science*, 11: 7-9.
- Chase, D. C. (2007). Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial-nuclear interactions. *Trends in Genetics* (23): 81-90.
- Chaubal, R., C. Zanella, M. Trimnell, T. Fox y P. Bedinger. (2000). Two male-sterile mutants of *Zea mays* (Poaceae) with and extra cell division in the anther wall. *American Journal of Botany* 87: 1193-1201.
- Cheng, P., R. Greyson y D. Walden. (1979). Comparison of anther development in genic male sterile corn (*Zea mays*) from light microscopy and scanning electron microscopy. *Canadian Journal of Botany* 57: 578-596.
- Cuevas, E., J. Márquez-Guzmán, C. A. Domínguez y F. Molina-Freaner. (2005). Evidence of gynodioecy in *Kallstroemia grandiflora* (Zygophyllaceae): microsporogenesis in hermaphrodite and female plants and lack of reproductive compensation. *Internacional Journal of Plant Sciences* 166: 481-491.
- Dem'yanova, A. E. (1985). Distribution of gynodioecy in flowering plants. *Botanical. Zhyryous*. 70: 1289-1301.
- Fei, H y V. Sawhney. (2001). Ultrastructural characterization of male sterile 33 (m33) mutant in *Arabidopsis thaliana* affected in pollen desiccation and maturation. *Canadian Journal of Botany*. 79: 118-129.
- Grant, I y W. Beversdorf. (1986). A comparative light and electron-microscopic study of microspore and tapetal development in male fertile and cytoplasmic male sterile oilseed rape (*Brassica*

- napus*). *Canadian Journal of Botany* 64: 1055-1068
- Halden, C., G. Karlsson, C. Lind, I. Moller y W. Heneen. (1991). Microsporogenesis and tapetal development in fertile and cytoplasmic male-sterile sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Sexual Plant Reproduction* 4: 215-225.
- Hanson, M. y M. Conde. (1985). Functioning and variation of cytoplasmic genomes: lessons from cytoplasmic-nuclear interactions affecting male fertility in plants. *International Review of Cytology* 94: 213-267.
- Laser, K. y N. Lersten. (1972). Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *The Botanical Review* 38: 425-454.
- Levings, C. (1993). Thoughts on cytoplasmic male sterility in cms-T maize. *The Plant Cell* 5: 1285-1290.
- Loukides, C., A. Broadwater y P. Bedinger. (1995). Two new male-sterile mutants of *Zea mays* (Poaceae) with abnormal tapetal cell morphology. *American Journal of Botany* 82: 1017-1023.
- McCormick, S. (1993). Male Gametophyte Development. *The Plant Cell* 5: 1265-1275.
- Mogensen, H. 1996. The hows and whys of cytoplasmic inheritance in seed plants. *American Journal of Botany* 83: 383-404.
- Pacini, E., G. Franchi y M. Hesse. (1985). The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant Systematics and Evolution* 149: 155-185.
- Pacini, E. (1990). Tapetum and microspore function. En: Blackmore, S. y Knox, R. B. (eds.) *Microspores: evolution and ontogeny*. Academic Press, London. pp. 213-237.
- Pacini, E. y G. Franchi. (1991). Diversification and evolution of the tapetum. En S. Blackmore y S. H. Barnes (Eds). *Pollen and spores: patterns of diversification*. Clarendon Press, Oxford. pp. 301-316.
- Pacini, E. y G. Franchi. (1993). Role of the tapetum in pollen and spore dispersal. *Plant Systematics and Evolution*. En Hesse, M, Pacini, E y Wilemse, M (eds). *The tapetum, cytology, biochemistry and evolution*. Springer Verlag, N.Y. pp 1-11.
- Peirson, B., H. Owen, K. Feldmann y C. Makaroff. (1996). Characterization of three male-sterile mutants of *Arabidopsis thaliana* exhibiting alterations in meiosis. *Sexual Plant Reproduction* 9: 1-16.
- Rhee, S y C. Somerville. (1998). Tetrad pollen formation in quarter mutants of *Arabidopsis thaliana* is associated with persistence of pectic polysaccharides of the pollen mother cell wall. *The Plant Journal* 15: 79-88.
- Richards, A. (1986). *Plant breeding systems*. University Press, Cambridge. 690p.
- Rosenberg, S. y H. Bonnett. (1983). Floral organogenesis in *Nicotiana tabacum*: a comparison of two cytoplasmic male-sterile cultivars with a male-fertile cultivar. *American Journal of Botany* 70: 266-275.
- Saini, H. (1997). Effects of water stress on male gametophyte development in plants. *Sexual Plant Reproduction* 10: 67-73.
- Sanders, P y H. Saini. (1999). Anther development defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants. *Sexual Plant Reproduction* 11: 297-322.
- Sawhney, V. y a. Shukla. (1994). Male sterility in flowering plants: are plant growth substances involved?. *American Journal of Botany* 81: 1640-1647.
- Schnable, P. y R. Wise. (1998). The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends in Plant Evolution* 3: 175-180.
- Smith M., R. Palmer y H. Horner. (2002). Microscopy of a cytoplasmic male-sterile soybean from an interspecific cross between *Glycine max* and *G. soja* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 89: 417-426.