

УКРАИНСКАЯ АКАДЕМИЯ АГРАРНЫХ НАУК
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НИКИТСКИЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД

На правах рукописи

СИМОНЕНКО
Владимир Константинович

ЦИТОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ ПЫЛЬНИКА
В НОРМЕ И ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ МУЖСКОЙ
СТЕРИЛЬНОСТИ, ИСПОЛЪЗУЕМОЙ В СЕЛЕКЦИИ

Специальность: 03.00.05 - ботаника

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
доктора биологических наук



Ялта 1994

110

Работа выполнена в Селекционно-генетическом институте УАН
в 1967-1994 г.г.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Здруйковская-Рихтер А.И.

доктор биологических наук, профессор Кордюм Е.Л.

доктор биологических наук Силаева А.М.

Ведущее учреждение: Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины.

Защита диссертации состоится "9" декабря 1994 г.

в 10 часов на заседании Специализированного совета Д020.76.01. при Государственном Никитском ботаническом саду по адресу: 334287, г. Ялта, Автономной Республики Крым, Государственный Никитский ботанический сад.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНБС.

Автореферат разослан "5" ноября 1994 г.

Ученый секретарь

Специализированного совета

кандидат биологических наук

Т. П. Кучерова Т.П. Кучерова

ЛННБ України ім.В.Стефаника



00777261 (U)

В. Стефаника
АН України

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Репродуктивная биология цветковых растений, как в настоящее время принято называть весь комплекс знаний о строении и функциях репродуктивных органов и процессов, ответственных за образование плодов и семян - активно развивающееся направление исследований, благодаря взаимодействию традиционной эмбриологии растений с цитологией, генетикой, физиологией растений и молекулярной биологией, а также в связи с высокими запросами практики - прежде всего, при разработке новых методов селекции и семеноводства сельскохозяйственных растений (Банникова В.П., 1975, 1986; Батыгина Т.Б., 1974, 1987; Кордюм Е.Л., 1976; Орел Л.И., 1972; Палилова А.Н., 1968, 1981; Чеботарь А.А., 1972; Heslop-Harrison J., 1972; Knox R.V., 1978 и др.). Один из разделов репродуктивной биологии - изучение закономерностей развития микроспорангия - пыльника, микроспор и мужского гаметофита на клеточном и ультраструктурном уровнях имеет неоднозначную важность как для выяснения закономерностей морфогенеза, так и для разработки многих вопросов биологии и селекции сельскохозяйственных растений и даже для медицинской практики, пользующейся данными по строению и развитию пыльцы в связи с формированием ее аллергенных свойств и разработки мер профилактики аллергических заболеваний. Помимо развития общей репродуктивной биологии принципиально важное значение приобретает частная репродуктивная биология конкретных культур, данные по которой необходимы для разработки приемов и методов биотехнологии, получения гаплоидов, осуществления программ гаметной селекции, методов и приемов создания исходного материала на основе отдаленной гибридизации. В селекции на гетерозис для получения гибридных семян F_1 широко используется ядерно-цитоплазматическая (ЦМС) и генная мужская стерильность (ГМС). Многие приемы их использования, как природа, закономерности и диагностика того или иного типа стерильности, основываются на данных по развитию пыльника и пыльцы, аномалиях развития, возникающих в результате экспрессии генетических факторов стерильности. Собственно, исследованию этих вопросов и посвящена настоящая диссертационная работа.

Цель и задачи работы. Цель исследования - методами электронной и световой микроскопии изучить преобразование клеток и тканей, ультраструктуры их протопластов в процессе развития пыльника и мужского гаметофита у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) и кукурузы (*Zea mays* L.).

Исследовать цитологическое проявление разных типов ген-цито-

плазматической (ЦМС) мужской стерильности, используемой в практической селекции для получения гибридных семян F_1 у подсолнечника, кукурузы, а также сорго, и генной или ядерной (ГМС) мужской стерильности подсолнечника.

В этой связи были поставлены задачи:

1. Изучить в ходе развития изменения ультраструктуры протопластов клеток стенки пыльника и спорогенного комплекса.
2. Изучить функциональные изменения ультраструктуры протопластов и взаимодействия ядра и цитоплазмы микроспороцитов и микроспор в процессе перехода от гаметофита к спорофиту, и в ходе развития и созревания пыльцевых зерен.
3. Выявить функциональное значение ультраструктур протопласта тапетума для построения вторичных спорополлениновых оболочек - тапетальных пленок.
4. Определить функциональную роль спорофитных и гаметофитных протопластов в построении и окончательном созревании спородермы пыльцевых зерен подсолнечника и кукурузы.
5. Изучить цитологическое проявление цитоплазматических и ядерных генетических факторов, обуславливающих мужскую стерильность у подсолнечника и кукурузы в процессе развития пыльника и пыльцы у подсолнечника.
6. Изучить цитологическое проявление фенотипической мужской стерильности, индуцированной гаметоцидами.
7. Выявить характерные цитологические признаки каждого типа стерильности подсолнечника и кукурузы, как основы для диагностических признаков при определении типа стерильности.

Научная новизна исследований.

1. Изучено преобразование ультраструктуры клеток стенки пыльника и спорогенного комплекса в ходе развития пыльника и пыльцы у фертильных и стерильных (ЦМС, ГМС и с индуцированной мужской стерильностью) линий подсолнечника и кукурузы.
2. Показана специфическая реорганизация ультраструктуры протопластов микроспороцитов в процессе подготовки перехода от спорофита к гаметофиту, упрощение структуры пластид и митохондрий, образование компартаментов с запасами информационных рибонуклеопротеидов.
3. Выявлены особенности ультраструктуры ядерной оболочки микроспороцитов и микроспор кукурузы и подсолнечника как доказательство специфического структурно оформленного обмена морфогенными веществами в процессе перехода от спорофитного поколения к гаметофиту.

4. На ультраструктурном уровне показано, что значительная часть морфогенных веществ, обеспечивающих развитие мужского гаметофита на ранних этапах его развития, заготавливается на спорофитном уровне, начиная с профазы мейоза и затем передается в протопласты тетрад и пыльцевых зерен для использования на ранних этапах развития гаметофита.

5. Исследована ультраструктура органелл протопластов тапетума при амебоидном, переходящем в ложный периплазмодий типе тапетума у подсолнечника и типичном секреторном типе тапетума у кукурузы, роль отдельных ультраструктур и механизмы участия тапетума в формировании предшественников спорополленина, компонентов тапетальных пленок и экзины пыльцевых зерен.

6. Показаны цитологические и ультраструктурные признаки разных типов мужской стерильности, обусловленные специфичной цитоплазмой (ЦМС) и ядерным геномом (ГМС), позволяющие вести диагностику типа стерильности по цитологическим данным аномалий ультраструктуры органелл, развития пыльника и пыльцевых зерен.

7. Определены особенности ультраструктуры гипертрофированного протопласта тапетума при разных типах ЦМС.

8. При различных типах мужской стерильности подсолнечника и кукурузы наблюдается аномальная полимеризация и, по-видимому, синтез предшественников спорополленина и его ненормальное, избыточное отложение на экзине и тапетальных пленках.

Теоретическое и практическое значение работы. Результаты исследований на конкретных примерах подсолнечника и кукурузы показывают цитологические, ультраструктурные механизмы перехода от диплоидного спорофита к гаплоидному гаметофиту, дают цитологическую характеристику различным типам ген-цитоплазматической (ЦМС) и ядерной (ГМС) мужской стерильности и используются в отделах селекции и семеноводства подсолнечника и кукурузы СГИ, в программах по созданию гетерозисных гибридов на основе ЦМС и ГМС, для предварительной цитологической диагностики типа стерильности.

Фактические данные и их обобщения, изложенные в диссертационной работе, включены в ряд монографий (Палилова А.Н., 1969; Поддубная-Арнольди В.А., 1969, 1976; Чеботарь А.А., 1972; Кордом Е.Л. и др., 1980; Резникова С.А., 1984; Батыгина Т.Б., 1987).

Теоретические результаты диссертационной работы по изучению развития пыльника и пыльцы, формированию мужского гаметофита пыльцевого зерна, ультраструктуре протопласта тапетума и развитию спородермы подсолнечника и кукурузы используются при чтении спецкур-

сов на кафедре генетики ОГУ и курса ботаники ОСХИ.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Каждый слой стенки пыльника несет свою функциональную нагрузку, что соответственно отражается на ультраструктуре протопластов составляющих его клеток и их оболочек. Эта ультраструктура нарушается в зависимости от цитотипа и генотипа растений в случае ген-цитоплазматической (ЦМС) и ядерной мужской стерильности (ГМС).
2. Тапетальный слой клеток, тапетальный протопласт - основная трофическая и индукционная спорофитная ткань для спорозитов и пыльцевых зерен; здесь происходят первичные процессы, индуцирующие мужскую стерильность при ген-цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Специфичность строения, развития и функционирования тапетальных протопластов отражает генетическую природу растения, определяет характер участия тапетума в развитии гаплоидного поколения - гаметофита - пыльцевого зерна.
3. Наблюдаемое преобразование ультраструктуры протопластов микроспорозитов является механизмом заготовки компаундов морфогенной информации спорофита для ее реализации на первых этапах жизни нового гаплоидного поколения - гаметофита. Эта закономерность отражена и в строении ядерной оболочки микроспорозитов, и в особом обмене между ядром и цитоплазмой в результате ядерно-цитоплазматических отношений, что выражается и в контактах органелл с ядерной оболочкой.
4. Механизмы взаимодействия развивающейся спородермы и тапетума специфичны для типа тапетума.
5. Тапетальная ткань пыльника является местом, где первоначально экспрессируются свойства стерилизующей цитоплазмы; аномалии ультраструктуры тапетума первичны и являются причиной дегенерации пыльцы и пыльника в ряде типов ЦМС.
6. Каждый тип ген-цитоплазматической (ЦМС) и ядерной (ГМС) мужской стерильности характеризуется своими специфическими нарушениями развития пыльцы и пыльника, включая время появления первых аномалий, что может служить для диагностики типа стерильности.
7. Ацетолизуостойчивое вещество спорополленин отлагается экстрацеллюлярно, полимеризуясь на соответствующих матрицах; низкополимерные предшественники его синтезируются в тапетуме и протопластах микроспор. Проявление стерильности ведет к нарушению процессов отложения спорополленина.
8. Ядерный тип мужской стерильности подсолнечника, обусловленный рецессивными генами в гомозиготном состоянии, экспрессируется на

гаметофитном уровне и приводит к остановке развития в посттетрадный период, на стадии одноядерного пыльцевого зерна.

9. Нарушение синтеза предшественников спорополленина и их нормальной полимеризации - свидетельство глубоких нарушений в образовании матриц для его отложения и синтетических процессов в органеллах протопластов тапетума и пыльцевых зерен. Характер нарушений и отложения спорополленина специфичен для каждого типа стерильности и может также служить характерным признаком ее типа.

Публикация материалов исследования и апробация работы. Результаты исследований и их обобщения, изложенные в диссертации, докладывались на V, VII, VIII и IX Всесоюзных совещаниях по эмбриологии растений в 1971 (г. Кишинев), 1978 (г. Киев), 1982 (г. Ташкент) и 1986 (г. Кишинев) годах, на Совещаниях, посвященных открытию двойного оплодотворения С.Г. Навашиным в 1968 (г. Киев), 1973 (г. Москва), на Всесоюзных симпозиумах "Развитие мужской генеративной сферы растений" в 1983 (г. Симферополь) и "Цитолого-эмбриологические и генетико-биохимические основы опыления и оплодотворения растений" в 1977 (г. Полтава), 1980 (г. Ялта), 1982 (г. Киев) годах, на IV-VI Всесоюзных симпозиумах по электронной микроскопии в ботанических исследованиях в 1978 (г. Рига), 1986 (г. Кишинев), 1988 (г. Киев) годах, на XI Международном симпозиуме "Эмбриология и семенная продуктивность растений" в 1990 г. (г. Санкт-Петербург), на II и III съездах ВОГиС в 1972 (г. Москва) и 1977 (г. Ленинград), на III-V съездах УОГиС в 1976 (г. Киев), 1981 (г. Одесса), 1986 (г. Умань), на Всесоюзных совещаниях по использованию ЦМС при создании гетерозисных гибридов сельскохозяйственных растений в 1965 (г. Харьков) и 1979 (г. Киев) годах.

По теме диссертации опубликовано 48 печатных работ.

Структура работы. Диссертация изложена на 426 страницах машинописного текста и состоит из введения, 8 глав и выводов. Первая глава "Общие черты и закономерности развития пыльника и пыльцы" написана на основе данных литературы. Список использованной литературы включает 561 наименование, из них 398 иностранных авторов. Приложение состоит из одного тома альбома, приведены 516 электронографий и микрофотографий, выполненных автором.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава I. Общие черты и закономерности развития пыльника и пыльцы

На основе данных, существующих в литературе (Carniel K., 1961; Fagerlind F., 1961; Батыгина Т.Б. и др., 1963; Кордом В.Л.,

1978; Davis J.L., 1966), описывается закладка слоев стенки пыльника и дифференциация спорогенных клеток. Описано и приведена схема изменения компартментализации в пыльнике в мейотический и постмейотический периоды (Heslop-Harrison, 1980), значение смены цитоплазматических связей между клетками и роль смены оболочек клеток в ходе дифференциации клеток тетрады и микроспор. Компартментализация клеток, важность изоляции и обособления в течение репродуктивных процессов, во всех случаях, когда клетка или группа клеток вступает на новый морфогенетический этап - это необходимое условие развития (Heslop-Harrison J., 1980). Значительное место в обзоре уделено преобразованию цитоплазмы микроспороцитов при переходе от гаплоидного поколения к диплоидному (Bal A.K. и De D.N., Maruyama L. 1968; Dickinson H.J., Heslop-Harrison J., 1970-1977).

В литературе описаны ультраструктура развивающегося пыльцевого зерна (Кордюм Е.Л., 1980; Dickinson H., 1987; Li, Dickinson 1987; Dickinson, Sheldon, 1971), своеобразие обмена морфогенной информацией между ядром и цитоплазмой в процессе развития пыльцевого зерна (Aldrich, Vasil, Dickinson, Bell, 1970, 1972; Dickinson, Potter, 1975; Dickinson, 1987). Отмечен феномен постенного расположения пыльцевых зерен злаков в контакте со специальными образованиями тапетума - орбукулами (Banerjee U.C., 1967; Carmiel K., 1961; Романов И.Д., 1970; Батыгина Т.Б., 1974, 1987; Орел Л.И., 1970, 1972, 1974). Ультраструктура вегетативной и генеративной клеток пыльцевого зерна значительно отличаются, отражая различный метаболизм (Чеботарь А.А., 1969; Linskens 1967; Jensen W.A., Fisher D.B., 1968; Jensen W.A., 1969, 1974; Langer R., Jackson W.T., 1971; Van Went, 1974; Кордюм Е.Л., 1980).

Развитие спородермы пыльцевого зерна было предметом исследования во многих работах, и была показана ее двойная функция, как средства предохранения гамет в процессе их транспортировки к месту оплодотворения, и как репозитария для материалов и веществ, производных тапетума, которые задействованы в системе самонесовместимости (Heslop-Harrison J. et al., 1973; Heslop-Harrison J., 1975; Dickinson H.G. & Lewis D., 1975).

Экзина формируется на плазмалемме в недрах примэкзины, которая служит ей шаблоном, синькой (Shivana K.R. & Johri B.M., 1984; Dickinson H.G., 1982), однако, многое в механизмах этого отложения неясно (Dickinson H.G. & Potter U., 1976). В отложении экзины в посттетрадный период у лилии значительную роль играют ламеллярные структуры, на которых, полимеризуясь, откладывается спорополленин

(Hesse M., 1977, 1978; Willemse E., Reznickova S., 1980). Главное отличительное свойство экзины - ацетолизоустойчивость, которая развивается у этой структуры постепенно (Heslop-Harrison J., 1968). Зрелые экзина и интина - каждая содержит свои белки, играющие роль в процессах несовместимости (Dickinson H.G., Lewis D., 1973). Орнаментация экзины, специфичная для каждого вида, развивается под контролем диплоидного спорофитного генома (Rogers, Haggis, 1969; Heslop-Harrison, 1972).

Тапетум - питающая ткань, ubicвитная по своему присутствию, чаще всего монослой клеток специфического строения и функций. Все питательные вещества к спорогенным клеткам и пыльцевым зернам проходят через тапетум, либо синтезируются и преобразуются в тапетуме (Dickinson, 1982). В тапетуме вырабатываются специфические вещества, необходимые для нормального течения микроспорогенеза (Heslop-Harrison J., 1972; Hesse, 1978; Pacini, Franchi, 1983; Резникова С.А., 1984). Приводится классификация типов тапетума секреторного, периплазмодияльного, амебоидного или ложного периплазмодия (Кордум Е.Л., 1978; Камелина О.П., 1977, 1981). Pacini E., Franchi G., Hesse M. (1985) различают париетальный и амебоидный типы тапетума.

Все типы тапетума продуцируют материалы либо в готовом виде ("ready-made"), либо материалы, которые становятся полимеризованными уже после их выделения тапетумом. Стадия тетрад - пик метаболической активности тапетума и полного развития признаков секреторной клетки (Steeg M., 1977). Для целого ряда растений с секреторным типом тапетума хорошо выражена тапетальная пленка, покрывающая протопласты тапетальных клеток по всему периметру клетки (Banerjee U., 1967; Орел Л.И., Огородникова В.Ф., 1978), т.е. вторичная замкнутая спорополлениновая оболочка, покрытая орбикулами с внутренней тангентальной и, на боковых радиальных стенках (Огородникова В.Ф., 1976; Москалева Т.И., Огородникова В.Ф., 1977). Орбикулярная стенка и экзина близки между собой по люминесценции, химическому составу, и их развитие протекает согласовано (Bhandari N.W., Kishori R., 1971; Waterkeyn L., Bienfait A., 1971; Christensen J., Hogner N., Lersten N., 1972). Спорополленин не ремобилизуется метаболически, орбикулы не могут рассматриваться ни как спорополлениновые запасы, ни как транспортное средство, ни как излишки спорополленина (Knox R.V., Heslop-Harrison J., 1969; Knox R.V., 1986). В литературе нет каких-либо веских свидетельств значения и роли тапетальных пленок для развития пыльцевых зерен, за исключением

защиты пыльцевых зерен и образования некоего культурального мешка, в котором развиваются пыльцевые зерна; последнее особенно характерно для растений с периплазмодиальным типом тапетума.

Глава II. Материалы и методы исследования

Материалом для изучения развития пыльников и пыльцы фертильного подсолнечника служили растения районированных сортов: Армавирский 3457, Армавирский 14 и фертильные аналоги стерильных линий.

При исследовании развития пыльников подсолнечника с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) использовали ЦМС-линии к-0775 (из Кении) и АС-2009 (из Румынии). Оба источника оказались идентичными по проявлению признака ЦМС, т.к. имеют одно происхождение от стерильных линий, выведенных П.Леклерком (Leclerque P., 1969), путем перемещения ядра подсолнечника *Helianthus annuus* L. в цитоплазму *H.petiolaris* L.

Линии с ядерной мужской стерильностью подсолнечника используются для массового получения гибридных семян F_1 . Эти линии характеризуются генетическим сцеплением маркерного признака антоцианово-красной окраски кончиков листьев, листочков корзинки и частей околоцветника с признаком мужской фертильности. Исходная мужски стерильная линия поддерживается сестринскими скрещиваниями зеленых мужски стерильных растений (*ttmsms*) с антоцианово-красной дигетерозиготой (*TtMsms*), что в последующем поколении дает 50% зеленых мужски стерильных растений, которые служат материнскими формами для следующего скрещивания с антоциановыми растениями и 50% антоциановых растений. Семена, полученные с зеленых растений высевают и после появления всходов удаляют фертильные антоцианово-красные растения (их 50%). Оставшиеся после прополки мужски стерильные растения используют как материнские формы для получения семян F_1 . Для изучения пыльника и пыльцы подсолнечника мы использовали стерильные зеленые растения с генотипом *ttmsms* и сестринские антоцианово-красные фертильные растения с генотипом *TtMsms*.

Все линии стерильного и фертильного подсолнечника получены из отдела селекции масличных культур СГИ от В.В.Бурлова.

Для исследования развития пыльников и пыльцы у фертильных и стерильных линий кукурузы мы использовали полученные из института кукурузы ААН Украины американскую линию А 357, ее цитоплазматические варианты А357 цит. Т.*rf₁rf₃*, А357 цит. М.*rf₁rf₃* и их фертильные аналоги А357 цит. Н.*rf₁rf₃*, А357 цит. Н.*Rf₁Rf₃*, а также две линии - стерильную и фертильную - с типом цитоплазмы, названным

Боливийским (A357 цит. B.rf₁rf₃ и A357 цит. B.Rf₁Rf₃). Кроме того, использовался набор линий с различными типами стерильности (WF9M, WF9T, WF9C и WF9H), полученный из Краснодарского научно-исследовательского института им П.П. Лукьяненко. Все линии выращивались на полевом участке отдела генетики и цитологии растений СГУ.

Пыльники на разных стадиях развития фиксировали соответственно для световой и электронной микроскопии. Для световой микроскопии кроме применения классических фиксаторов и методов окраски (Ромейс Б., 1954; Дженсен У., 1965) наиболее результативным оказался метод окраски азур-возином по Максиму (Роскин Т.И. и Левинсон Л.Б., 1957, после фиксации по Максиму или Ценкеру). Препараты исследовали в световом микроскопе МББ-1А и МБИ-6, и фотографировали фотонасадкой МФН-12 на пленках микрат-300, микрат-200. Основные исследования были проведены на уровне ультраструктуры клеток пыльников с помощью электронных микроскопов ЭМВЛ-100Л и Hitachi-500.

Фиксацию материала для электронно-микроскопического исследования проводили методом двойной фиксации глутаровым альдегидом и четырехокисью осмия, как это принято для большинства растительных объектов (Пиз Д., 1963; Бирюзова Е.М. и др., 1963; Уикли Б., 1975). Все используемые фиксаторы разводили на фосфатном буфере pH-7,5; глутаровый альдегид фирмы Merck, предварительно очищенный углекислым барием (BaCO_3) разводили буфером до 4%, фиксация 4-6 часов в зависимости от размера частиц материала. По окончании фиксации и двойной промывки буфером с тем же pH, материал фиксировали 2% раствором четырехокси осмия на том же буфере pH-7-7,4, время фиксации 3-3,5 часа. После промывки и обезвоживания серией ацетонов возрастающей концентрации материал заливали в смесь эпонов (эпон 812). Из блоков залитого в эпон материала готовили вначале полутонкие срезы толщиной 1 μ и более, их окрашивали анилиновым синим и основным фуксином по Aragicio S.R., Marsden P. (1968). Ультратонкие срезы толщиной 500-600 А готовили на ультрамикротоме LKB-III-8800. Контрастировали срезы уранилацетатом по Рейнольдсу (Reynolds E.S., 1963) и изучали в электронных микроскопах ЭМВЛ-100Л и Hitachi-500 при напряжении 50 и 70 эв.

Глава III. Развитие стенки пыльника подсолнечника *Helianthus annuus* L., функциональная структура его тапетума.

Дифференциация слоев стенки пыльника подсолнечника проходит по центробежному типу. Тапетум - продукт дифференциации первичного париетального слоя. После дифференциации всех слоев стенки пыльника только тапетум окружает гнездо пыльника со всех сторон, т.е.

непрерывным кольцом. Остальные слои со стороны связника не закладываются, а состоят из губчатой паренхимы с извилистыми складчатыми оболочками.

Вскоре после образования тапетума, цитоплазма его клеток отличается повышенной плотностью по сравнению с микроспорами и окружающими тканями и этот признак сохраняется до конца развития. В плотной цитоплазме одноядерных клеток тапетума доминирующими оргanelлами являются крупные митохондрии со светлым матриксом и четкими кристами. Пластиды редки (5-6) на срезе клетки, тилакоиды в них почти отсутствуют, эндоплазматический ретикулум выражен слабо. Характерна целлюлозная оболочка, отделяющая тапетум от промежуточного слоя по всему периметру гнезда пыльника, радиальные стенки постепенно разрыхляются, а протопласты соединены плазмодесмами и более широкими цитоплазматическими каналами.

В ходе профазы мейоза большинство тапетальных клеток становится двуядерными, эта двуядерность особенно четко заметна на стадии диад.

На стадии тетрад двуядерный тапетум остается пристенным, заметно растворение его оболочек, но клетки лежат индивидуально, наружная тангентальная оболочка их сохраняется. Промежуточный или средний слой состоит из клеток, внутренние радиальные и тангентальные стенки которых увеличиваются в толщину, клетки сильно уплощаются, в цитоплазме видны миелиновые образования самой причудливой формы, концентрические слои мембран, плотно прилегающие друг к другу, часто внутри вакуолей. Эндотелий - единственный слой стенки пыльника, содержащий хлоропласты.

К началу стадии тетрад двуядерные клетки тапетума приобретают все характерные черты секреторных клеток. В их плотной цитоплазме обилие пластид разной формы с электронноплотной стромой и редкими ламеллами, они доминируют в протопласте тапетума. Митохондрии полиморфны - они овальные, удлинённые, гантелевидные. К концу стадии тетрад возрастает количество чашевидных пластид в виде широкого кольца на срезах.

ШЭР образует многослойные образования из попарно, часто концентрически расположенных мембран, в центральной части такого образования располагается пластида. Участки протопласта, заключенные в чашевидную пластиду, подвергаются лизису со всеми находящимися в этом участке оргanelлами.

Начиная со стадии тетрад и дальше, на стадии молодого одноядерного пыльцевого зерна, каждая тапетальная клетка утрачивает ра-

диальные и внутренние тангентальные оболочки, протопласты этих клеток разрастаются радиально, амебоидно проникая между молодыми микроспорами.

На стадии одноядерного пыльцевого зерна, формирующего экзину, этот процесс прогрессирует, выросты протопластов тапетума активно вторгаются между пыльцевыми зернами, четко сохраняя свою плазмалемму, т. е. развивается типичный тапетум амебоидного типа.

На стадии вакуолизированной пыльцы амебоидный тапетум достигает границ пыльцевого зерна и его протопласты, сливаясь, окружают пыльцевые зерна со всех сторон. В это время в тапетальном протопласте идут автолитические процессы, активно происходит вакуолизация, часто вокруг вакуолей концентрируются мембраны ЭПР с участками разного типа, цитоплазма во многих местах становится ячеистой.

Со стадии центральной вакуоли пыльцевого зерна и позднее, после образования двуядерного пыльцевого зерна, амебоидный тапетум полностью окружает развивающиеся пыльцевые зерна. Последние становятся погруженными в тапетум, плазмалемма которого четко видна нарушенной и огибает все выросты экзины пыльцевого зерна, включая шипы. В этот период наблюдается прогрессирующая вакуолизация тапетума за счет автолитических процессов в различных участках его протопласта. Одновременно с дезинтеграцией и лизисом одних участков, другие выглядят весьма жизнеспособно: пластиды преобразуются из электронноплотных темноокрашенных органелл в крупные электронносветлые образования, хромопласты развиваются в каротиноидопласты, показана динамика этого преобразования. Активные участки тапетального протопласта, примыкающие к экзине пыльцевых зерен, имеют специфическое строение. В центре такой структуры находится крупный каротиноидопласт, он окружен мембранами шероховатого ЭПР, состоящего из каналов, которые расширяются в отдельных местах, образуя цистернальные вздутия, и анастомозируют. Со стороны, граничащей с экзиной имеются различные осмиофильные глобулы. Плазмалемма сохраняется, и между ней и поверхностью экзины имеется пространство, в котором видны мембранные пластинки, ламеллятные по форме, лежащие на поверхности экзины или примыкающие к ней под разными углами, они часто многослойны и состоят из светлых и темных полос. В некоторых случаях эти ламеллятные пластинки можно видеть внедрившимися в экзину внутрь ее пещеристых полостей, по-видимому, они играют роль в приращении экзины за счет веществ, вырабатываемых тапетумом. Видимо, созревающее пыльцевое зерно обладает какими-то атрагирующи-

ми свойствами для веществ лизирующегося тапетума. Полностью переродившиеся в липидно-каротиноидную массу, дезинтегрированные остатки тапетума адсорбируются на поверхности экзины, ее шипиках, проникают внутрь полостей экзины подсолнечника, заполняя их. Это, так называемый, полленкитт.

Глава IV. Развитие спорогенного комплекса пыльника и пыльцевых зерен подсолнечника *Helianthus annuus* L.

После образования слоев стенки гнезда пыльника выделяются клетки вторичного археспория. Размножаясь митотическим делением, они превращаются в споргенные клетки, которые дифференцируются в микроспороциты. Для дифференциации микроспороцитов характерна смена цитоплазматических связей между клетками: имеющиеся плазмодесмы между спорогенными клетками и тапетумом прерываются, а между микроспороцитами образуются цитомиктические каналы.

Перед переходом к мейотической профазе наблюдается контракция протопластов тапетума, и в дальнейшем микроспороциты в конце профазы развивают каллозную оболочку, которая прерывает цитоплазматические связи. В процессе отложения каллозы, между плазмалеммой и каллозной оболочкой наблюдаются овальные или удлинённые одномембранные везикулы-ломасомы. Протопласты микроспороцитов подсолнечника отличаются менее электронноплотной консистенцией, что связано с потерей основного количества рибосом. В это же время в цитоплазме мейоцитов подсолнечника наблюдаются небольшие участки инкапсулированной цитоплазмы, где концентрация рибосом остается довольно высокой. Эти участки округлой формы окружены многими слоями концентрических мембран эндоплазматического ретикулума, иногда их несколько в одной клетке. В этих компартаментах происходит запасание рибосом, информационной РНК спорофитного происхождения для использования на первых этапах жизни нового поколения гаметофита.

В ходе мейотической профазы у подсолнечника в микроспороцитах наблюдается дедифференциация пластид и митохондрий. Пластиды почти лишены внутрипластидных мембран, однако, как это характерно для подсолнечника, всегда имеют электронноплотный матрикс. Митохондрии мелкие, более многочисленные, содержат четкие кристы со светлыми внутрикристными пространствами. Помимо этих хорошо различимых органелл, в цитоплазме содержится множество плейоморфных тел, лишенных четкой внутренней структуры и лишь отдаленно напоминающих пластиды и митохондрии.

На поздних этапах мейотической профазы, в цитоплазме микроспороцитов характерно мощное развитие концентрически расположенных

мембран ШЕР, которые часто являются доминирующими структурами на срезах этих клеток, они могут инкапсулировать участок цитоплазмы, где концентрация рибосом явно повышена.

Активность аппарата Гольджи свидетельствует о его непосредственном участии в отложении каллозной оболочки вокруг микроспороцитов. Обнаружено также специфическое строение ядерной оболочки микроспороцитов, в которой наблюдаются инвагинации одной или чаще одновременно двух мембран ядерной оболочки в кариосферу. На срезах это обнаруживается в виде "ядерных вакуолей", ограниченных одной или двумя мембранами и заполненных цитоплазмой микроспороцита с высокой концентрацией рибосом. Иногда такие "ядерные вакуоли" занимают до 1/3 всей площади среза ядра. Предполагается, что подобное явление облегчает передачу транскриптов из ядра в цитоплазму и служит более существенному взаимодействию ядра и цитоплазмы в период заготовки морфогенных веществ для нового поколения и, аналогично явлению, которое наблюдается в ооцитах животных и обозначается термином "ядерный блеббинг" (Айзенштадт Т.Б., 1984).

В конце профазы мейоза микроспороциты изолируются друг от друга и от тапетума каллозной оболочкой.

Расположение микроспор в тетраде тетраэдрическое. Пластиды в протопласте клетки тетрады в виде пропластид с редкими пристенными ламеллами. Митохондрии с четкими кристами и плотным матриксом. Топография митохондрий - отличительная черта клеток тетрад и микроспор подсолнечника. Большинство митохондрий располагается на поверхности наружной мембраны ядерной оболочки, часто в контакте с ней. Эта особенность расположения наблюдается и на стадии одноядерного пыльцевого зерна, вплоть до ее вакуолизации, отражая особенности метаболизма гаплоидного гаметофита на ранних стадиях его развития. В ядрах клеток тетрады подсолнечника наблюдаются "вакуоли" часто с мизелиновозакрученными мембранами, т.е. происходит ядерный блеббинг внутренней или обеих мембран, внутриядерно образуя расширения перинуклеарного пространства.

Примэксина закладывается под каллозной оболочкой тетрады, на плазмалемме. В закладке главную роль играют цистерны ЭПР, располагающиеся непосредственно под плазмалеммой, они же определяют топографию будущих апертур пыльцевого зерна. Экзина закладывается в матриксе примэкзины, на плазмалемме в виде овально-треугольных частиц электронноплотного материала, и в дальнейшем развивается уже на микроспоре, освобожденной от каллозных оболочек. В период закладки экзины в протопласте микроспоры характерно наличие парал-

тельно расположенных мембран ШЭР по типу конденсатора и соединенных своими каналами с липидной каплей. До полного разрушения каллозной оболочки тетрады, в матриксе примэкзины, на плазмалемме формируются зачаточные бакули - столбики экзины, тектум и зачаточный подножный слой.

После освобождения микроспор из тетрад начинает закладываться эндэкзина в виде ламелл спорополления, параллельных плазмалемме. В почти полностью сформированной эндэкзине видна ее ламеллярность, слоистость, что позволяет, по-видимому, пыльцевому зерну увеличиваться в размерах в ходе дальнейшего развития. На одноядерной стадии развития пыльцевого зерна его спородерма состоит из эктэкзины, эндэкзины и находящегося между ними пространственного слоя, мелко волокнистого по консистенции.

В ходе развития эндэкзины в цитоплазме пыльцевого зерна под плазмалеммой наблюдается наибольшая концентрация везикул разного размера на границе с краем экзины. В цитоплазме активен аппарат Гольджи, а короткие каналы ЭПР часто контактируют с липидными каплями. Пластиды малочисленны (1-2 на срезе), с плотной стромой, округлые, с концентрически расположенными ламеллами. Большинство митохондрий обнаруживается вблизи или на поверхности ядерной оболочки. Ветвистые цепочки полирибосом располагаются в цитоплазме неравномерно.

Перед дифференцирующим митозом, когда в пыльцевом зерне полностью развита центральная вакуоль, митохондрии уже не обнаруживаются на поверхности ядерной оболочки или вблизи нее.

Сразу после окончания дифференцирующего митоза на плазмалемме протопласта пыльцевого зерна начинает образовываться интина, она тесно примыкает к внутреннему краю эндэкзины. Протопласт генеративной клетки всегда находится внутри протопласта вегетативной и никогда не примыкает к вакуоле. Ультраструктура протопластов этих клеток четко различается и сохраняется на протяжении всего дальнейшего онтогенеза пыльцевого зерна. Четкие отличия также существуют между ультраструктурой вегетативного и генеративного ядер.

На двуядерной стадии развития пыльцы энд- и эктэкзина тесно примыкают друг к другу, полость между ними ("пространственный слой") отсутствует. Спородерма зрелого пыльцевого зерна подсолнечника состоит из эктэкзины, эндэкзины и интины. Первая ячеистая и пористая, содержит пещеристые полости, а вторая - ламеллярная и более плотная. Зрелая пыльца подсолнечника трехклеточная и помимо вегетативного ядра содержит два удлинённых спермия в перпендикуляр-

рных плоскостях. Протопласт вегетативной клетки заполнен питательными запасными веществами, состоящими из липидно-белковых конкреций и отложений углеводов. Ячейки и каналы эндэкзины заполнены, а ее поверхность покрыта веществом полленкитт, синтезируемым протопластом тапетума, а затем и продуктами его окончательного лизиса. Интина под эндэксиной в виде светлого электронно-прозрачного слоя имеет неодинаковую толщину, ее внутренняя поверхность отражает неровности и выпячивания рельефа протопласта и варьирует по толщине и конфигурации в разных участках, в районе апертуры резко утолщается, выполняя защитные функции.

Развитие спородермы пыльцевого зерна подсолнечника проходит под генетическим контролем спорофита, за счет морфогенных веществ, накопленных в компартаментах протопласта. В реализации этой программы принимают принципиальное участие цистерны эндоплазматического ретикулума и плазмалемма микроспоры.

Глава V. Развитие и строение пыльника кукурузы

Слой стенки пыльника кукурузы дифференцируется по центростремительному типу. Тапетум - конечный продукт дифференциации парietального слоя клеток. Клетки эпидермиса и эндотеция вытянуты во взаимоперпендикулярных направлениях, клетки эпидермиса параллельно длинной оси пыльника, а клетки эндотеция вытянуты вдоль короткой оси пыльника. Этим достигается прочность стенок гнезда пыльника. Эндотений - единственный слой стенки пыльника кукурузы, где имеются настоящие хлоропласты гранального типа, которые остаются жизнеспособными почти до окончательного созревания пыльцевых зерен.

На антиклинальных частях оболочки клеток эндотеция образуются типичные элементы ситовидных пластинок, что, по-видимому, свидетельствует о флoэмных функциях клеток эндотеция пыльника. Вблизи ситовидных пластинок находятся участки цитоплазмы, содержащие трубчатые элементы Ф-белка. Видимо, из клеток эндотеция происходит отток ассимилятов в другие части пыльника.

Промежуточный или средний слой на разных стадиях развития пыльника кукурузы обладает своеобразной ультраструктурой. В сильно уплощенных клетках этого слоя наблюдается специфическое поведение гладкого и шероховатого ЭПР; ШЕР образует цистерны с рибосомами, сидящими на наружной поверхности мембран. Промежуточный слой находится в тесной корреляционной и метаболической связи с тапетальным слоем клеток пыльника.

С момента своего образования и до поздних этапов профазы мейоза клетки тапетума остаются одноядерными. В этот период доминиру-

ющими органеллами клеток тапетума являются пластиды - амилопласты клеток тапетума, разнообразной формы: овальной, округлой, чашевидной с редкими ламеллами и плотной гомогенной стромой. Мембраны ШЕР располагаются параллельно ядерной оболочке, образуя многослойную обкладку ядра, формируя участки эргастоплазмы.

К концу профазы мейоза клетки тапетума становятся двуядерными. Митозы в тапетуме идут волнами, начинаясь у основания пыльцевого гнезда и распространяясь к вершине. В клетках увеличивается количество пластид, которые концентрируются вблизи ядер, в них заметны пластоглобулы. Мелкие митохондрии отличаются просветленным матриксом. Масса мембран ШЕР нарастает, короткие цистерны ЭПР расположены преимущественно на внутренней стороне тапетальных клеток. Активно поведение диктисом Гольджи; контакты ЭПР с пластидами.

На стадии тетрад микроспор ультраструктура тапетальных протопластов, достигает своего максимального развития. Большинство клеток двуядерные, к ядрам примыкают мембраны шероховатого эндоплазматического ретикулума, окружая их многослойно и проникая между ядрами. Также многослойно окружены мембранами ЭПР и пластиды тапетума. Все вместе образует типичный протопласт секреторной клетки, какими и являются клетки тапетума.

Образование и развитие орбикул, орбикулярной пленки

и других спорополленин-содержащих структур тапетума кукурузы

На стадии поздних тетрад на плазмалемме тапетума экстрацеллюлярно появляются проорбикулярные тела, из которых в дальнейшем формируются орбикулы - тела Убиша. В этот период тетрады освобождаются от каллозной оболочки. Судя по ультраструктуре цитоплазмы вблизи плазмалеммы, в образовании проорбикул принимают участие цистерны шероховатого ЭПР и, возможно, диктисомы Гольджи, а также крупные липидные образования средней электронной плотности. Обилие олирибосом и свободных рибосом свидетельствует о высокой метаболической активности этих участков цитоплазмы. Часто полирибосомы линейного типа расположены перпендикулярно к поверхности липидных образований, образуя вокруг них ореол из скопления полирибосом. Концевые части каналов ЭПР отчленяются, образуя округлые везикулы разного диаметра, которые видны в участках протопласта, ближайших к плазмалемме. Проорбикулы выталкиваются в складки плазмалеммы и служат основой и матрицей для образования орбикул.

Предшественники спорополленина вырабатываются тапетумом и полимеризуются в спорополленин, откладываясь на орбикулах вначале в виде осмиофильных отложений по всей окружности проорбикулы, а за-

тем в виде шипообразных утолщений, формируя орбикулу с круглой полостью внутри, на месте проорбикулы.

Одновременно с отложением спорополленина на проорбикулах, на плазмалемме образуется, так называемый, сетчатый слой, четко выраженный на внутренней тангентальной части протопласта клетки тапетума, развивающийся и на радиальных частях этой вторичной оболочки. Этот слой состоит из тонкой спорополлениновой пленки с трабекулярными утолщениями на ее поверхности, образующими сетку, на перекрестиях которой располагаются орбикулы. Выступы спорополленинового тела орбикул тесно примыкают к выступам экзины, и можно наблюдать соединение радиальных каналов, пронизывающих орбикулу, и каналов экзины. Поскольку у злаков, и в частности, у кукурузы пыльцевые зерна в гнезде пыльника располагаются постенно в один слой, каждое пыльцевое зерно имеет тесный контакт с орбикулами и через них, возможно, с другими слоями стенки пыльника. Спорополлениновая вторичная оболочка или пленка тапетальной клетки формируется вокруг каждого протопласта, однако она не одинакова по всему периметру. Четкая орбикулярная пленка располагается на внутренней тангентальной и, частично радиальной, сторонах протопласта, в других частях эта пленка с нерегулярными спорополлениновыми утолщениями неопределенной формы. Синтез предшественников спорополленина в тапетуме осуществляется пластидами в тесном взаимодействии с эндоплазматическим ретикулумом, транспортную роль, вероятно, играют диктиосомы Гольджи, однако, сам спорополленин образуется экстрацеллюлярно в результате полимеризации предшественников на матрицах, образованных плазмалеммой.

Глава VI. Развитие спорогенной ткани, микроспор и пыльцевых зерен кукурузы

В ходе митотических делений археспориальных клеток наблюдаются выбросы хроматинового вещества за пределы веретена, после окончания митозов формируются спорогенные клетки. Непосредственно перед дифференциацией микроспороцитов ядра спорогенных клеток увеличиваются, становятся пузыревидными, формируется карисфера. По мере превращения спорогенной клетки в микроспороцит на периферии ее протопласта увеличивается число мелких везикул - вакуолей, и цитоплазма постепенно отстает от оболочки клеток, происходит некоторая контракция протопластов микроспороцитов. Цитоплазма клеток микроспороцитов менее электронноплотная, чем клеток тапетального слоя, что связано с резким падением количества рибосом на единицу объема цитоплазмы; на снимках видно почти полное отсут-

вие рибосом в цитоплазме.

При упоминавшейся выше бедности рибосомами цитоплазмы микро-спороцитов, имеются участки протопласта, где концентрация рибосом повышена, такие участки изолированы от других частей цитоплазмы несколькими слоями мембран гладкого эндоплазматического ретикулю-люма, что, по-видимому, препятствует их лизису ферментами цитозоля микроспороцитов. Этот цикл рибосом является механизмом удаления и замещения долгоживущих информационных молекул, смены их в связи с новыми задачами и функциями клетки при переходе от спорифита к га-метофиту.

В профазе мейоза органеллы цитоплазмы довольно сильно упроща-ют свою структуру: на стадии пахинемы контуры пластид весьма пле-йоморфны, тилакоиды в пластидах почти отсутствуют, наблюдаются то-лько зачатки ламелл, строма пластиды просветлена, митохондрии ок-руглые, мелкие, с невыраженными четко кристами и просветленным мат-риксом.

Обнаружено специфическое строение ядерной оболочки, ограничи-вающей кариосферу микроспороцита. На ядерной оболочке видны поро-вые поля - участки, на которых концентрация ядерных пор чрезвычай-но высока; здесь поры расположены равномерными рядами. Наличие бо-льшого количества пор в ядерной оболочке - свидетельство высокой метаболической активности ядра и интенсивного обмена между ядром и цитоплазмой мейоцита. Довольно обычным являются выросты наружной мембраны ядра микроспороцита, переходящие в каналы ЭПР. Примерно на 1/3 периметра ядра перинуклеарное пространство ядерной оболочки расширено за счет увеличения наружной мембраны. В расширенных уча-стках перинуклеарного пространства наблюдаются округлые везикулы разного диаметра, ограниченные одинарной мембраной. Величина вези-кул коррелирует со степенью расширения перинуклеарного простран-ства. Везикулы прикреплены к поверхности внутренней мембраны ядерной оболочки, либо находятся вблизи нее. Предполагается механизм обра-зования этих везикул за счет выпячивания участков внутренней мемб-раны и их перешнуровывания с отчленением. Наблюдаются грибовидные везикулы, которые полностью не отделились от внутренней мембраны. Везикулы заполнены фибриллярно-гранулярным материалом, такой же материал, но более плотный, находится внутри ядра, вблизи мест об-разования везикул, и контактирует с ядерной оболочкой в месте при-крепления везикулы, вероятно, он поступает в везикулы перед их от-делением от внутренней мембраны ядра. На микрофотографиях виден выход везикул во внутрицистернальное пространство или непосредст-

венно в цитоплазму. Подобное явление описано в литературе на других растительных и животных объектах; везикулы, продуцируемые ядерной оболочкой и, заключенная в них долгоживущая м-РНК обладают большими информационными свойствами и контролируют последующий морфогенез.

Каллозная оболочка микроспороцитов кукурузы закладывается перед лептонемой и завершается ее образование в пахине, однако, видимо, продолжается на протяжении всего мейоза. Между образовавшимися клетками тетрады закладывается новая каллозная оболочка, причем в отличие от оболочки микроспороцита, не имеющей выраженной структуры, она слоиста и состоит из дифференцированных слоев. У кукурузы также как у подсолнечника на плазмалемме и в пространстве между сократившимися контрактирующими протопластами молодых микроспороцитов и первичными оболочками спорогенных клеток наблюдаются трубчатые выросты плазмалеммы и везикулярные элементы - ломасомы. Каллоза служит диффузионным барьером, окружающим материнские клетки пыльцы, функционирует как молекулярное сито. У кукурузы имевшиеся до образования каллозы плазмодесмы между спорогенными клетками исчезают и на их месте в прелептоне и до конца профазы мейоза возникают массивные цитомиктические каналы, соединяющие протопласты микроспороцитов и, по-видимому, обеспечивающие синхронность прохождения фаз мейоза. В самом конце профазы эти связи прерываются и микроспороциты полностью изолируются один от другого.

Механизм возникновения каллозы заключается в накоплении ее предшественников в цистернах ЭПР, которые подходят к плазмалемме и выводят их за ее пределы, где они полимеризуются в каллозу. Изобилатеральные тетрады микроспор у кукурузы своими широкими сторонами тесно примыкают к тапетуму, образуя однослойную замкнутую трубку. После развития микроспор и образования на них зачаточной примекзины и экзины под каллозой, каллозная оболочка разрушается в результате действия фермента каллазы, секретлируемого тапетальными клетками.

Цитоплазма тетрад микроспор кукурузы отличается упрощенной ультраструктурой и вместе с тем заметно, что ее ультраструктура находится в активном развитии. Пластиды сильно варьируют по величине, форме и плотности стромы: они округлые, серповидные, чашевидные с различными вытянутыми частями, свидетельствуя о плейоморфной структуре пластид.

Митохондрии мелкие, овальные, с четко ограничивающей мембраной и светлыми внутрикристинными пространствами. В матриксе некото-

рых митохондрий наблюдали электронноплотную зернистость, ассоциированную с короткими отрезками извилистых двойных мембран - это мембранно-частичковые ассоциации, перешедшие также как и упоминавшиеся выше плейоморфные структуры из цитоплазмы микроспороцита и, служащие для быстрого пополнения органеллами цитоплазмы микроспоры и пыльцевого зерна.

В клетках тетрады, а затем и молодой микроспоры наблюдается чрезвычайная активность ядрышка. Основное крупное ядрышко с "вакуолью" в центре состоит из плотного осмиофильного вещества, имеет фибриллярную структуру и отпочковывает от себя мелкие ядрышки гранулярно-фибриллярной структуры. Эти ядрышки с четко различимыми гранулярным и фибриллярным компонентами располагаются вблизи ядерной оболочки по ее периметру. Дочерние ядрышки активно образуют рибосомы, а также более мелкие "ядрышки", различимые вблизи них, как сами мелкие компактные ядрышки, так и рибосомоподобные частицы выходят в цитоплазму микроспоры и обнаруживаются в ней. Процесс этот начинается вскоре после вступления ядер в интерфазу после мейоза II и продолжается с той же активностью и после выхода микроспор из тетрад. Эти ядрышкоподобные образования являются компактными рибосом, вышедшими из ядра, для быстрого восстановления популяции рибосом в гаплоидной клетке микроспоры. Ядерные поры расположены по всему периметру оболочки ядра микроспоры, а сама оболочка образует в некоторых местах инвагинации и выпячивания, и в "карманах" этих инвагинаций заметны скопления мелких ядрышкоподобных образований и рибосомоподобных частиц внутри и снаружи ядерной оболочки. Эти участки ядерной оболочки служат тем местом, где выходят в цитоплазму ядрышкоподобные компакты рибосом и сами рибосомы. Цитоплазматические нуклеоллоиды - как источники восстановления популяции рибосом в микроспорах наблюдали на других объектах ряд авторов (Кордюм Е.Л. др., 1980; Dickinson H.G., 1991).

Образование спородермы пыльцевого зерна кукурузы начинается еще в тетрадах микроспор. Примэкзина закладывается на плазмалемме микроспоры под каллозной оболочкой. Материалы примэкзины синтезируются протопластом микроспоры и полимеризуются на плазмалемме. Непосредственно под плазмалеммой крупные везикулы, возникающие из ЭПР и высокая активность диктиосом Гольджи, и пластиды с трубчатыми ламеллами. Примэкзина является матриксом, в котором откладывается настоящая спорополлениновая экзина. Первыми закладываются зачатки столбиков - бакулей экзины - на плазмалемме, в матриксе примэкзины. Несколько позднее между примэкзиной и плазмалеммой

закладываются зачатки подножного слоя экзины в виде ламелл, параллельных плазмалемме. Сама плазмалемма в этот период извилиста, часто образует выпячивания, которые во многих случаях приурочены к местам заложения бакулей. На вышеупомянутых ламеллах полимеризуется спорополленин, обуславливая развитие подножного слоя экзины. Дорастая до края примэкзины, столбики-бакули расширяются, их расширения, смыкаясь, образуют тектум, зачатки бакулей служат ориентиром для развития тектума. В период активного развития экзины одноядерного пыльцевого зерна на ее поверхности обнаруживаются мелкие частицы гранулярно-фибрилярного материала, по-видимому, протоспорополленина, синтезируемого тапетумом и включающегося в строящуюся экзину молодого пыльцевого зерна. Возможно, в данном случае мы наблюдаем появление спорополленина в полости гнезда пыльника в форме мицелл, как это сообщает для ячменя (Анокас Н., 1978). Электронная плотность развивающейся экзины возрастает постепенно, первые этапы заложения столбиков-бакулей и подножного слоя экзины свидетельствуют об их менее плотной начальной консистенции. Каналы видны в экзине на стадии средней вакуолизации микроспоры, наблюдается канальчатость экзины весь период вакуолизации и после него. За счет каналов и некоторой поперечной дискретности экзины имеется возможность растяжения ее при постепенном увеличении объема пыльцевого зерна, в особенности в период его вакуолизации.

Аналогично большинству представителей Poaceae, пыльцевые зерна кукурузы располагаются постенно, в один слой. В гнезде пыльника экзина тесно примыкает к орбикулам тапетодермы. Единственная пора пыльцевого зерна обращена к тапетуму, на стадии центральной вакуоли основная масса протопласта пыльцевого зерна находится на противоположном конце, граничащем с полостью гнезда пыльника, где и происходит дифференцирующий митоз.

По нашим данным процесс образования интины в пыльцевом зерне кукурузы начинается значительно раньше, чем на это указывает Skvargla I. и Larson D. (1966), а именно, на стадии средней и поздней вакуолизации, до начала митоза в пыльцевом зерне. Между плазмалеммой и нижней гранулярной частью эндэкзины появляется тонковолокнистый материал. Затем, после дифференцирующего митоза, интина активно развивается и к моменту образования трехядерной пыльцы интина достигает толщины, равной экзине или даже превышает ее. Формирование и преобразование интины продолжается вплоть до полного созревания пыльцы. Интина развивается одновременно с образованием в ней извитых каналов, обнаруживаемых, как правило, по их более электрон-

ноплотному содержимому. Наружный край интины более ровный, а внутренний извилистый, с большими "языками" внутрь протопласта, отражающий извилистость плазмалеммы. Каналы интины значительно шире каналов экзины, образуются в виде вертикальных полостей перпендикулярно поверхности плазмалеммы и располагаются регулярно. В этих каналах находится осмиофильный материал, состоящий, по-видимому, из липопротеидов и ферментов, обеспечивающих физиологическую активность оболочки пыльцы. Интина пекто-целлюлозная по своей природе.

У кукурузы экзинтина сильно утолщена в районе поры и образует линзообразное утолщение - *opacus*, которое служит для открывания порового отверстия пыльцевого зерна. При прорастании пыльцы экзинтина разрывается, а внутренний слой - эндинтина служит предшественником оболочки пыльцевой трубки - протекторное покрытие к гаметофитному протопласту. По данным Neslor-Harrison (1979) в утолщенной эндинтине, особенно в ее апертурной области, содержатся молекулы самонесовместимости. Зрелое пыльцевое зерно кукурузы перед высypанием покрыто слабо электронноплотным веществом, почти гомогенным, но имеющим в своем составе частицы игольчатой формы - это трифин, характерный для анемофильных растений, в данном случае он не клейкий, обеспечивает пылевидность пыльцы и функционирует в спорофитной системе несовместимости.

Глава VII. Цитологические причины и признаки мужской стерильности, как результат экспрессии генетических детерминант ЦМС.

В начале главы приводятся генетические, молекулярные и цитологические основы детерминации ЦМС по данным литературы. Затем изложены результаты собственных исследований цитологических причин и признаков трех типов ЦМС у кукурузы: Т-типа или тeкacского, С-типа или Charua-типа и S-типа или молдавского, а также, цитологические аномалии развития пыльника при ЦМС у сорго.

7.1 Цитологические признаки развития пыльника и пыльцы при Т-типе ЦМС у кукурузы.

Цветки на метелке растений тeкacского типа ЦМС не раскрываются, пыльники никогда не выбрасываются. Пыльники стерильных растений кукурузы с генотипом $Trf_1rf_1rf_2rf_2$ на окончательной стадии дегенерации имели вид полупрозрачных пленок, в этот период наблюдалось полное цветение растений фертильных аналогов. Первые аномалии развития при Т-типе ЦМС четко заметны в посттетрадный период. Однако на поздних этапах профазы мейоза, в диакинезе, мы наблюдали просветление матрикса митохондрий, типичные кристы и внутрикристные пространства не обнаруживаются. В митохондриях наблюдаются ос-

миофильные, уплотненные, с рыхлым краем гранулы, матрикс митохондрий полностью просветляется, в котором видны везикулоподобные пристенные осмиофильные образования, которые сохраняются и в клетках тетрад. Мейоз протекает без видимых отклонений.

Наиболее четко аномалии развития и ультраструктуры проявляются на стадии одноядерного пыльцевого зерна, в период вакуолизации. Мелкие вакуоли, образующиеся вначале, становятся все более многочисленными, цитоплазма приобретает пенистый характер. ЭПР представлен трудно обнаруживаемыми, очень короткими отрезками канальцев и цистернами ЭПР. Хорошо видны пластиды, строма таких пластид гомогенна, средней электронной плотности. Ламеллы в таких пластидах полностью отсутствуют, в каждой пластиде имеется осмиофильная гранула с нечетким краем. Такие пластиды располагаются компактной группой вблизи ядра. Мелкие митохондрии лишены крист, матрикс их просветлен, они выглядят округлыми образованиями, ограниченными двумя мембранами с гомогенным внутренним содержимым. На конечных стадиях дегенерации и разрушения протопласта пыльцевого зерна видны автолитические вакуоли самых разных размеров и формы, нормальные органеллы отсутствуют, часто на мембранах демаскируются липиды. Экзина двуслойная, еще не развившая каналов.

Самым характерным для тапетума пыльников кукурузы техасского типа ЦМС является локальное преобразование секреторного клеточного тапетума в многоядерный пристенный периплазмодий. Этот процесс можно обнаружить уже на стадии поздних тетрад, происходит лизис радиальных клеточных оболочек тапетума. Со всей же полнотой этот аномальный признак развивается на стадии одноядерного пыльцевого зерна. Пристенный тапетальный плазмодий не одинаков по толщине, в отдельных участках он резко расширяется, заполняя почти весь просвет гнезда пыльника. В негипертрофированных районах тапетума можно еще различать его клеточное строение. В участках гипертрофированного тапетума наблюдаются крупные полиморфные пластиды, набухшие каналы эндоплазматического ретикулума и множество мембранных образований ячеисто-везикулярной конструкции. Эти образования возникают в результате тесного примыкания к наружным мембранам чашевидных пластид мембран гладкого эндоплазматического ретикулума. Строма чашевидной пластиды видна на поперечном срезе в виде замкнутого лентовидного образования, сегрегирующего участок цитоплазмы. В строме имеются участки со сближенными волнистыми мембранами, другие состоят из одного или нескольких рядов одинаковых по диаметру везикул. В гипертрофированных участках тапетума кукурузы Т-ти-

па ЦМС можно наблюдать целые наборы таких структур, несущих литические функции в деградирующем аномальном тапетуме и вслед за Nagl W., (1977) и Nicos M., (1970), наблюдавшими их в других лизирующихся клетках, обозначенных нами как пластолисомы. Подобное преобразование пластид - это следствие ЦМС, сопровождающее гипертрофию тапетума и процессы абортизации пыльцы. Это явление свидетельствует о своеобразии автолитических процессов, происходящих в гипертрофированном тапетальном периплазмодии пыльников кукурузы с Т-типом ЦМС.

Избыточный спорополленин откладывается с наружной тангентальной стороны на перитапетальной пленке, особенно на углах протопласта, граничащих с промежуточным слоем. Орбикулы и орбикулярная пленка не образуются, и лишь на отдельных участках внутреннего края протопласта тапетума образуются аномальные орбикулы и зачаточная спорополлениновая пленка, никогда не достигая нормального развития.

На стадии одноядерного пыльцевого зерна происходит полная остановка развития и дальнейшая дегенерация тапетума и пыльцевых зерен.

7.2. Цитологические особенности аномальных процессов развития пыльника и пыльцы при С-типе ЦМС кукурузы.

Аналогично Т-типу ЦМС пыльники при С-типе на конечных этапах развития полностью сморщенные, не открываются, пыльца в них отсутствует. Окончательная остановка развития происходит в постмейотический период, на стадии вакуолизации одноядерного пыльцевого зерна. Самым характерным при С-типе ЦМС являются аномалии тапетальных клеток. Однако, характер этих аномалий полностью отличается от того, что описано выше, для Т-типа ЦМС.

Каждая клетка тапетума сохраняет свою индивидуальность до окончательной дегенерации всего пыльника. Клетки тапетума радиально вытянуты в сторону полости гнезда пыльника, каждая клетка окружена аномально уплощенной оболочкой. Весь тапетальный слой клеток имеет вид палисадной ткани. Клетки тапетума прогрессивно вакуолизируются, образуется одна большая вакуоль, редко две, занимающие большую часть объема клетки, цитоплазма располагается постенно. Большинство клеток двуядерны, ядра располагаются всегда рядом в постенном участке цитоплазмы, очень редко на разных сторонах протопласта. Пластиды с четкими редкими тиллакоидами или кольцевыми ламеллами, округлы по форме, иногда вытянуты, со стромой средней плотности. Во многих пластидах тапетальных клеток пыльников куку-

рузы С-типа ЦМС образуются крахмальные зерна, что не наблюдалось ранее в тапетуме кукурузы у фертильных и стерильных форм. Для протопласта тапетальных клеток при этом типе ЦМС характерно обилие диктиосом Гольджи, которые находятся в активном состоянии, отчлениают во множестве транспортные пузырьки, несущие материал для построения аномальной, значительно утолщенной, клеточной оболочки. Вакуоль в тапетальных клетках все увеличивается, постенный слой цитоплазмы утоньшается и, наконец, содержимое клеток отмирает. Наблюдается контракция клеточных оболочек, которые постепенно сжимают содержимое гнезда пыльника. Проорбукулы, орбукулы и спорополениновая вторичная оболочка при С-типе ЦМС не образуется.

Полная дегенерация пыльника наступает на одноядерной стадии развития пыльцевого зерна, которое имеет к этому моменту зачаточную двуслойную экзину, мелковакуолизированную пенистую цитоплазму. Митохондрии в пыльцевом зерне круглые или слегка овальные с плотным матриксом. Поведение пластид характерно, они компактно расположены одной группой вблизи ядра пыльцевого зерна, строма их электронноплотная, ламеллы и тиллакоиды отсутствуют, форма часто овально-яйцевидная, редко чашевидная, во многих пластидах осмиофильные глобулы расположены компактными группами.

Во всех изученных растениях линий с ЦМС С-типа наблюдался аналогичный вариант аномальных процессов, приводящих к дегенерации пыльцы.

7.3. Особенности развития пыльника и абортивности пыльцы при S-типе ЦМС кукурузы.

Пыльники при S-типе ЦМС выходят из цветков в период цветения, но никогда не раскрываются, они мелкие, суховатые, и по форме однообразные.

Растения, гетерозиготные по гену Rf с генотипом Rf₃r_f₃ и цитоплазмой S имеют 50% абортированных пыльцевых зерен, что доказывает гаметофитную природу мужской стерильности, экспрессирующуюся на пыльцевых зернах. Такие пыльники уменьшены в размерах, обтекаемой формы. Стерильные и фертильные пыльцевые зерна равномерно распределены в гнезде пыльника.

Характерной особенностью аномального развития пыльника и пыльцы при S-типе является растянутость процесса стерилизации. Микроспорогенез протекает нормально, окончательная остановка развития наступает на стадии двуядерного пыльцевого зерна, в начале заполнения цитоплазмой центральной вакуоли и начала образования крахмала в них.

В отличие от других изучавшихся нами типов ЦМС кукурузы, при S-типе наблюдается почти нормальное развитие и функционирование тапетума, орбикулы и орбикулярная пленка образуются, однако, с разной степенью отклонения от нормального развития, в зависимости от линии. Например, у линии A357 Srf₁rf₃ более аномально развиты орбикулы, чем у WF Srf₁rf₃. Здесь также происходит избыточное накопление предшественников спорополленина, в виде осмиофильных округлых образований средней электронной плотности на краю протопласта, вблизи плазмалеммы. В цитоплазме тапетальных клеток на стадии двуядерной пыльцы характерны автолиз и образование кольцевых цитосегресом, образованных мембранами ЭПР, количество цитосегресом в цитоплазме нарастает.

Пыльцевые зерна при этом типе ЦМС проявляют аномалии развития постепенно. В одноядерных пыльцевых зернах с двуслойной экзиной и началом образования интины активно идут автолитические процессы, наблюдается замедление, а затем остановка образования новых порций цитоплазмы. В постенной цитоплазме образуются огромные вакуоли, активно идут процессы автолиза. Часть одноядерных пыльцевых зерен заканчивает свое развитие на этой стадии, другая же часть, что особенно видно на стерильной линии A357 Srf₁rf₃, продолжает свое развитие до стадии двуядерного пыльцевого зерна. В цитоплазме таких пыльцевых зерен видны кольцевые мембранные структуры, миелиновые образования; при подсыхании, такие пыльцевые зерна сморщиваются. На поперечном срезе гнезда пыльника видна несинхронность дегенерации пыльцевых зерен, их различная величина.

Весь характер стерилизации пыльцы при S-типе свидетельствует о растянутости этого процесса, а характер эмбриологических нарушений показывает гаметофитную детерминацию стерильности пыльцы, проявляющуюся непосредственно на формировании мужского гаметофита.

7.4. Аномалии развития пыльника и пыльцы при ЦМС сорго.

Изучение двух ЦМС-линий сорго методами световой микроскопии показало, что возникающие здесь аномалии развития, аналогичны наблюдавшимся при "Т" и "С"-типах ЦМС кукурузы. Первые отклонения от нормального развития обнаруживаются в развитии тапетума, который, начиная со стадии спорогенных клеток, заметно утолщается, достигая максимума на стадии одноядерных пыльцевых зерен.

В постмейотический период наблюдается резкая гипертрофия отдельных участков тапетума, особенно хорошо заметная после выхода микроспор из тетрад. Группы соседних клеток гипертрофируясь, разрастаются и выпячиваются внутрь полости гнезда пыльника, образуя

вначале "холмистый" тапетум. В этих участках отсутствует клеточное строение, хотя наружная клеточная стенка сильно утоньшаяся, может сохраняться. На более поздних стадиях можно наблюдать перекрывание гипертрофированным тапетумом более половины просвета полости гнезда пыльника, пыльцевые зерна смещаются и изолируются в узком пространстве еще свободной полости.

Второй тип аномального тапетума при ИМС сорго очень сходен с аналогичными процессами при С-типе ИМС кукурузы. Здесь также происходит радиальное увеличение каждой тапетальной клетки. На поперечном срезе весь клеточный тапетум приобретает "палисадную" форму. Каждая клетка сильно вакуолизируется, оболочка ее утолщается, не происходит образования орбикул и орбикулярной пленки. Остановка развития пыльника наступает в период вакуолизации одноядерного пыльцевого зерна, цитоплазма становится мелковакуолизированной и разрушается.

У линии стерильного сорго Белое развесистое 41 S наблюдали недоразвитие многих радиальных стенок спорогенных клеток, перпендикулярных к тапетуму, позднее наблюдается ненормальное заложение каллозной оболочки. Причиной этого явления, несомненно, является нарушение цитокинеза при делении клеток археспория, при образовании спорогенных клеток. Это способствовало объединению протопластов микроспороцитов, степень этого объединения может быть разной. В полостях гнезд пыльников этой стерильной линии сорго наблюдаются многоядерные синцитии, при наступлении деления может происходить объединение метафазных пластинок, возникают полиплоидные ядра. Затем эти крупные многоядерные массы и другие образования с разным количеством ядер образуют экзину. В полостях гнезд пыльников наблюдаются стерильные пыльцевые зерна сорго самых разных размеров (Табл. 1)

Таблица 1

Диаметр пыльцевых зерен у стерильных и фертильных форм сорго Белое развесистое 41S (в микронах)

Фракция пыльцевых зерен	Количество измеренных пыльцевых зерен	$X \pm x$	F	P
Стерильные				
Гигантские	7	168,62±17,85	6,418	0,001
Большие	50	68,69±1,6	18,18	0,001
Средние	50	47,79±0,79	8,57	0,001
Самые малые	50	32,96±0,97	5,86	0,001
Суммарная фракция	157	79,51±3,08	13,06	0,001
Фертильные				
	50	38,97±0,343		0,001

Экзина крупных пыльцевых зерен более толстая, состоит из энд-экзины и эктэкзины, все пыльцевые зерна образуют ростковую пору. Пыльники с такими пыльцевыми зернами не раскрываются, все пыльцевые зерна оказываются стерильными.

У фертильного аналога этой линии пыльца почти одного размера и развивается до трехклеточной стадии.

Глава VIII. Развитие пыльника и пыльцы подсолнечника при различных типах мужской стерильности

8.1. Аномальное развитие при ЦМС у подсолнечника.

Имеющиеся в литературе несколько работ по проявлению признака ЦМС у подсолнечника весьма противоречивы, несмотря на то, что фактически, во всех исследованиях использовали ЦМС, полученную Леклерком П. (Leclercque P., 1969).

Первые признаки аномального развития тапетума у линий подсолнечника с ЦМС на цитоплазме *H. petiolaris* проявляются уже на стадии поздних микроспороцитов, прогрессируя к стадии тетрад.

Количество ядер в клетках тапетума увеличивается до 10-12 и более, такие клетки, разрастаясь, сливаются с другими клетками, утратившими оболочки. Образуется плазмодиеподобная структура, содержащая многочисленные ядра. На продольных срезах этот мощный пристенный периплазмодий занимает 3/4 объема полости гнезда пыльника. С наружной и внутренней сторон развитие плазмодияльного аномального тапетума неодинаково: с наружной стороны всегда более мощное развитие его, с внутренней - иногда сохраняется клеточное строение с крупными гипертрофированными клетками, ядра которых лопастные, амебоидные, содержащие многочисленные ядрышки.

На ультраструктурном уровне для гипертрофированного тапетума ЦМС-линий подсолнечника характерно преобразование органелл: происходит их набухание, каналы ЭПР расширяются в виде замкнутых, удлиненных, округлых цистерн с сидящими на мембранах рибосомами. Характерные для тапетума пыльников фертильных аналогов концентрически расположенные мембраны ЭПР, не наблюдаются. Митохондрии приобретают большие размеры, становятся разветвленными, внутриклеточные пространства резко увеличиваются, они оказываются значительно крупнее свойственных тапетуму подсолнечника пластид с темной стромой и редкими тиллакоидами.

Для протопласта тапетума характерно наличие большого количества цитосегрессом и крупных ромбовидных кристаллов, электронно-прозрачных на срезах.

На стадии тетрад микроспор ядра пристенного тапетального плазмодия резко увеличиваются в объеме, ядрышки становятся огромными и плотными, количество электронноплотных глыбок гетерохроматина нарастает, они заполняют все пространство ядра, по-видимому, происходит увеличение содержания ДНК в ядре без реконструкции ядерной оболочки. Ядра приобретают амебоидную, лопастную неправильную форму, часто охватывая одно другим. Двумембранная оболочка таких ядер очень фрагментированна, состоит из отдельных плоских замкнутых цистерн, и имеются участки, где эта оболочка отсутствует в результате образования широкого канала.

На границе с полостью гнезда пыльника в тапетуме возникает зона лизиса, в которой обильны цитосегресомы, развиваются автолитические вакуоли. Эта зона прогрессивно увеличивается, охватывая новые участки в направлении к перитапетальной мембране, постепенно вовлекая весь тапетальный протопласт, и в результате, он дегенерирует. Лизирующий тапетум отграничен от полости гнезда пыльника остатками первичной целлюлозной оболочки тапетума. На наружной стороне протопласта тапетума формируется перитапетальная спорополлениновая пленка, на ней появляются утолщения в виде "бляшек" полусферической формы, направленных внутрь к тапетальному протопласту.

Окончательная остановка развития пыльников подсолнечника с ЦМС на цитоплазме *H. petiolaris* происходит на стадии поздних тетрад, в редких случаях, одноядерных микроспор, вышедших из тетрад. Однако, уже на стадии микроспороцитов методами стереологии (Груздев А.А., 1974) нами обнаружено, что плотность мембран различных органелл на единицу объема цитоплазмы микроспороцита у ЦМС-линий подсолнечника достоверно выше в более 97% случаев (Табл. 2), при вычислении по методу Стьюдента-Фишера.

Таблица 2.

Плотность мембран в цитоплазме микроспороцитов ЦМС-форм и фертильных аналогов подсолнечника

Объект	Значение плотностей мембран в $\text{мкм}^3/\text{мкм}$	Среднее плотностей
ЦМС-линия	3,459; 4,339; 3,405; 3,132; 3,270	3,520
Фертильный аналог	3,730; 3,200; 2,909; 3,253; 2,776; 2,330; 2,815; 1,454;	2,759

Ошибка разницы $Sd = 0,295$ определялась по формуле для сравнения двух групп с малым неодинаковым "n". Разница средних $d = 0,764$
Критерий Стьюдента $t = \frac{d}{sd} = 2,589$, достоверность разницы средних

> 97% при $t = 2,589$ и количества степеней свободы = 13.

Наблюдавшееся увеличение плотности мембран в единице объема цитоплазмы микроспороцита ЦМС-линий подсолнечника объясняется как компенсационный эффект увеличения количества мембран при их пониженной ферментативной активности по сравнению с фертильными формами.

На стадии тетрад в цитоплазме клеток микроспор наблюдаются прогрессирующие автолитические процессы, участки цитоплазмы изолируются каналами ЭПР и, затем такой участок просветляется. Цитосегресомы такого рода особенно многочисленны на краях протопласта. Ядра клеток тетрады грубо структурированы, на поверхности ядерной оболочки также расположены митохондрии, однако не так строго, как у фертильной формы. Цитоплазма заполняется мелкими вакуолями, большинство органелл набухшие, митохондрии с нечеткими кристами, пластиды с едва заметными ламеллами. Затем происходит липофанероз - жировое перерождение цитоплазмы, в результате которого демаскируются липиды (Поликар А., Бесси Н., 1970), видные на срезах клеток тетрад в виде осмиофильных округлых образований. Зачаточная экзина аномальной формы все же успевает образоваться в клетках тетрады, у некоторых линий этот процесс наступает несколько позднее и окончательный колапс происходит на стадии микроспоры, вышедшей из тетрады с зачаточной экзиной, аномальной толщины и строения.

8.2. Аномальные процессы развития пыльника при ЦМС подсолнечника с цитоплазмой *H. rigidus*.

Поиски новых источников стерилизующих цитоплазм, вызванные опасностью массовых эпифитотий, открывают новые варианты, одним из которых является стерильность на цитоплазме дикого многолетнего подсолнечника *H. rigidus*, полученная в результате скрещивания этого вида с *H. annuus* и последующих многочисленных беккроссов с сортами культурного подсолнечника. К моменту цветения таких стерильных линий, пыльники полностью редуцированы и их трудно обнаружить при полном цветении корзинок.

При этом типе ЦМС закладываются все четыре слоя стенки пыльника - эпидермис, эндотеций, средний слой и тапетум. Однако, уже на стадии спорогенных клеток и микроспороцитов протопласты клеток тапетума содержат большое количество мелких вакуолей с миелиновыми структурами внутри них; на протяжении всей жизни пыльника его клетки остаются одноядерными.

Спорогенные клетки на поперечном срезе клиновидной формы, с утолщенными оболочками пектоцеллюлозной природы. Спорогенные клет-

ки переходят в микроспороциты, цитоплазма их бедна органеллами, пластиды не обнаруживаются, митохондрии в незначительном количестве, ЭПР в зачаточном состоянии в виде коротких каналов. Мембраны ШЭР, концентрически расположенные, встречались в разрушающемся состоянии.

Самая поздняя стадия, до которой развиваются пыльники линии подсолнечника с ПМС на цитоплазме *H. rigidus* - стадия пахиномы профазы мейоза, затем наступает дегенерация ядер и цитоплазмы микроспороцитов. Клетки спорогенного комплекса полностью разрушаются и облитерируются.

8.3. Особенности развития пыльника и пыльцы при ядерном типе мужской стерильности подсолнечника, используемой в селекции на гетерозис.

Ядерный или генный тип мужской стерильности подсолнечника обусловлен рецессивным геном *ms* в гомозиготном состоянии. Этот тип стерильности используется для получения гибридных семян F_1 на основе тесной сцепленности доминантного гена *T*, контролирующего антоциановую окраску с доминантным геном *MS*, контролирующим мужскую фертильность. Все фертильные растения в расщепляющемся потомстве вырабатывают антоциановую окраску, зеленые растения стерильные с генотипом *ttmsms*. Сравнение развития пыльников подсолнечника с ПМС и их фертильных аналогов не обнаружило отклонений от нормального развития в прететрадный период. Тапетум при этом типе мужской стерильности развивается нормально, и сходен с тапетумом фертильных аналогов. Как и у нормальных фертильных линий, тапетум образует цитоплазматические выросты, достигающие микроспор и проникающие между ними.

На стадии поздних тетрад под каллозой начинает образовываться примэкзина, и в этот период наблюдается отмирание части клеток тетрад, соединенных одной общей каллозной оболочкой. Большинство тетрад нормальны, и в их клетках на плазмалемме микроспор закладываются примэкзина.

После выхода микроспор из тетрад, когда у фертильных растений формируется экзина, возникают существенные, легко различимые аномалии отложения спорополленина у всех пыльцевых зерен. В таких пыльниках видно, что тапетум сохраняет активную жизнедеятельность, выросты его протопластов проникают между микроспорами и, по-видимому, активно участвуют в аномальном отложении спорополленина и его предшественников. Вокруг протопласта каждого пыльцевого зерна образуется аномальная эндэкзина, она извилиста, неравномерна по

толщине, в местах, где должны формироваться ростковые борозды, образуются тонкие многослойные ламеллы. Столбики-бакули в виде пунктирно расположенных округлых частиц, и, наконец, большие темные шаровидные или овальные образования по периметру пыльцевого зерна соответствуют тектуму нормальных фертильных пыльцевых зерен.

Дальнейшее развитие процесса дегенерации одноядерных пыльцевых зерен приводит к изменению протопласта пыльцевого зерна, происходит набухание мембран ЭПР, потеря ими рибосом, увеличение межмембранных пространств, уплотнение пластид, в некоторых из них появляются многослойные, спирально закрученные мембраны.

Одноядерные пыльцевые зерна - конечный этап развития пыльцы и пыльника при ГМС. В пыльниках линий подсолнечника с ядерной мужской стерильностью хорошо видны даже в световой микроскоп специфические овальные или округлые наплывы вместо нормальной экзины, и это может служить характерным диагностическим признаком для выявления этого типа стерильности у подсолнечника.

8.4. Особенности аномального развития пыльцы подсолнечника при индуцированной гаметоцидами стерильности.

Обработка 0,005% раствором гиббереллина на стадии закладки археспория и в период перехода спорогенных клеток в микроспороциты индуцировало полную мужскую стерильность подсолнечника. Митотические деления проходили без аномалий, образовывались тетрады микроспор. Дегенерация пыльцевых зерен наблюдалась со стадий поздних тетрад и одноядерных пыльцевых зерен; и при этом аномально развивалась их оболочка - спородерма. В нашем материале не наблюдалось резких аномалий тапетума, развивались двуядерные клетки тапетума и все слои стенки пыльника.

На поздних стадиях образования тетрад, каллозная оболочка постепенно лизируется, на плазмалемме закладывается примэкзина, и на ней откладывается спорополленин будущей экзины. Отложение этого спорополленина происходит аномально, в виде плотных наплывов. В цитоплазме микроспоры наблюдается уплотнение стромы пластид, просветы тиллакоидов не просматриваются, митохондрии не обнаруживают строгой ориентации на поверхности ядерной оболочки, как в фертильных микроспорах. Заметно резкое набухание мембран органелл цитоплазмы пыльцевых зерен. Расширяются расстояния между каналами ЭПР, их мембраны набухают вместе с сидящими на них рибосомами.

Для цитоплазмы стерильных пыльцевых зерен характерно наличие участков, изолированных одинарной мембраной; в таких участках, по сравнению с остальной цитоплазмой, повышена концентрация рибосом.

Эти участки цитоплазмы, по-видимому, представляют изолированные еще в микроспороцитах компартаменты спорофитной цитоплазмы, не преобразуемые в микроспоре из-за нарушений, вызванных действием гаметоцида. Митохондрии утрачивают четкость своих мембран, позднее других различима наружная мембрана органеллы.

Характерной аномалией для пыльцевых зерен подсолнечника при индуцированной гиббереллином мужской стерильности является ненормальное развитие экзины. В ходе исследования обнаружено несколько вариантов аномального отложения спорополленина:

1). Вместо нормальных скульптурных образований экзины возникают гомогенные плотные наплывы спорополленина. Ячеистая часть экзины, состоящая из бакулей, также беспорядочно нарушена.

2). Чрезмерно развитая эндэксина, характерная отложением ламеллярных частиц параллельно поверхности протопласта, образует видное на срезе плотное кольцо, по толщине превышающее в несколько раз нормальную эндэксину. Эктэксина недоразвита, видна в виде отдельных чешуйчатых отложений.

3). Вместо экзины образуется два ряда спорополлениновых частиц равной величины, располагающихся без видимого контакта с плазмалеммой. Наружный ряд составляют крупные, округлой формы частицы спорополленина. Ближе к плазмалемме располагается слой более мелких частиц, по-видимому, аналогов столбиков-бакулей. Эндэксина не образуется.

Воздействие гиббереллина, как гаметоцида, приводит к неспособности протопласта микроспоры формировать соответствующие матрицы для отложения и полимеризации спорополленина. Это выражается в различных вариантах ненормально развитой экзины. При индуцированной гаметоцидом стерильности, также наблюдается отложение избыточного спорополленина на перитапетальной пленке на наружной тангентальной стороне тапетума, между тапетумом и средним слоем.

По Дж. Боннеру (1967) гиббереллин действует на уровне транскрипции, однако, есть сведения, что его действие связано с посттранскрипционным контролем (Гамбург К., 1970). Исходя из того, что реакция разных тканей на воздействие фитогормоном связана с особенностями тканей (Уоринг Ф. и Филлипс И., 1970), а ткани, благодаря существованию механизмов дерепрессии и блокирования активности дерепрессированных генов, оказываются в разной степени подготовленными к действию гормона, мы наблюдаем различные варианты аномального развития экзины и избыточного отложения спорополленина при индуцированной гиббереллином мужской стерильности подсолнечника.

Выводы

1. Стенки пыльника подсолнечника и кукурузы четырехслойные, развиваются по центробежному типу.
2. Каждый слой клеток стенки пыльника несет свою функциональную нагрузку. Клетки двух наружных слоев вытянуты во взаимно перпендикулярных направлениях для создания системы прочности. Клетки эндотеция содержат хлоропласты и, помимо фотосинтетических функций, выполняют на поздних этапах развития некоторые флзёмные функции. Антиклинальные участки оболочек клеток эндотеция развиваются в ситовидные элементы. Средний слой содержит специфические мембраны ЭПР, метаболически активен и находится в тесной коррелятивной зависимости от тапетума пыльника.
3. Тапетум подсолнечника амебоидного типа, его двуядерные клетки утрачивают радиальные и внутренние тангентальные оболочки, и растущие протопласты проникают между пыльцевыми зёрнами, на последующих этапах протопласты сливаются, образуется ложный плазмодий.
4. В ходе резорбции тапетума у подсолнечника, на стадии двуядерного пыльцевого зёрна, когда целостность тапетума нарушена, образуются участки тапетального протопласта, окружающие пыльцевые зёрна и примыкающие к экзине. Они состоят из каротиноидопластов, окруженных расширенными анастомозирующими каналами шероховатого ЭПР, параллельно экзине видны электронноплотные образования. Ламеллярные структуры, расположенные на поверхности экзины, играют важную роль в приращении спорополленина. Такое образование вырабатывает материалы для окончательного созревания экзины и заполнения ее каналов и поверхности веществом полленкитт.
5. Тапетум кукурузы секреторного типа, преимущественно двуядерный, имеют место слияния ядер в одно полиплоидное ядро. Ультраструктура протопластов клеток тапетума аналогична структуре секреторных клеток. Доминирующими органеллами в протопластах клеток тапетума кукурузы являются амилопласты. Интенсивно развитый ЭПР образует характерные округлые тела, часто в центре таких образований находятся пластиды или митохондрии. К стадии тетрад тапетум максимально развит.
6. Проорбикулы у кукурузы формируются экстрацеллюлярно на плазмалемме в результате экструзии липидоподобных материалов, которые вначале видны внутриклеточно вблизи плазмалеммы в виде липидных капель. В этом процессе принимают непосредственное участие плоские цистерны ЭПР, расположенные под плазмалеммой.

7. Полимеризация предшественников спорополленина в спорополлении всегда осуществляется экстрацеллюлярно на конкретных экстраклеточных структурах - проорбикулах, примэкзине и т.д.. Одновременно между проорбикулами на плазмалемме откладывается тонковолокнистый материал.

8. Вторичные спорополлениновые оболочки - тапетальные пленки - вокруг каждой клетки тапетума - тапетодерма полностью формируются. На двуядерной стадии развития пыльцевого зерна кукурузы сетчатый слой и орбикулы располагаются только на внутренних тангентальных сторонах тапетальных клеток и несколько заходят на радиальные стенки. Радиальная и наружная тангентальная части тапетодермы также состоят из спорополленина с неравномерными утолщениями, с редкими, неправильной формы, орбикулами. У кукурузы и других злаков пыльцевые зерна располагаются в гнезде пыльника в один слой, тесно прилегающая к выступам орбикул, через каналы орбикул и экзины, по-видимому, устанавливается связь между созревающими пыльцевыми зернами и еще живыми слоями гнезда пыльника.

9. Микроспороциты - последние клетки спорофитного поколения, в которых осуществляется не только сложный процесс мейоза, но ряд специфических преобразований протопластов и ядер, что обеспечивает переход от спорофита к гаметофиту. У подсолнечника и кукурузы при общем падении концентрации рибосом, вплоть до диакинеза, происходит сегрегация отдельных участков протопласта, инкапсулированных мембранами ЭПР, где сохраняется повышенная концентрация рибосом, свидетельствуя о заготовке компаундов морфогенной информации диплоидными клетками микроспороцитов для использования на ранних этапах развития гаплоидного гаметофита. Пластиды и митохондрии микроспороцитов дедифференцируются в трудноузнаваемые плейоморфные образования, которые затем переходят в клетки тетрады и микроспоры.

10. Специфическое строение ядер микроспороцитов подсолнечника и кукурузы обеспечивает более активное взаимодействие ядра и цитоплазмы в ходе подготовки перехода от спорофитного поколения к гаплоидному - гаметофитному. Это выражается в инвагинациях ядерной оболочки микроспороцита подсолнечника в кариосферу и заполнения этих пальцеобразных впячиваний цитоплазмой, богатой рибосомами. В микроспороцитах кукурузы наблюдаются участки ядерной оболочки с повышенной концентрацией ядерных пор и образование одномембранных везикул из внутренней мембраны ядерной оболочки в расширенном перинуклеарном пространстве и выход этих везикул в цитоплазму микроспороцита.

11. Первые этапы существования нового гаплоидного поколения - гаметофита находятся под контролем генетической информации материнского растения спорофита, которая определяет характер развития.

12. Гаплоидные клетки тетрад микроспор проявляют ряд специфических особенностей, у подсолнечника митохондрии микроспор располагаются строго на поверхности ядерной оболочки. В микроспорах наблюдается образование большого количества производных ядрышка - нуклеолоидов, служащих источником новых рибосом в цитоплазме пыльцевых зерен.

13. Для развития оболочек пыльцевого зерна характерен принцип матричности, каждая следующая в онтогенезе часть спородермы развивается на плазмалемме. Интина пыльцевых зерен кукурузы и подсолнечника развивается на плазмалемме двуядерного пыльцевого зерна, это сложноустроенная пектоцеллюлозная оболочка, пронизанная многочисленными каналами, перпендикулярными плазмалемме, последняя, по-видимому, входит в эти каналы, выстилая их изнутри.

14. Ультраструктура цитоплазмы вегетативной и генеративной клеток резко различаются с момента образования, и эти различия увеличиваются в дальнейшем. Генеративная клетка бедна органеллами и их ультраструктура упрощена. Вегетативное ядро и клетка метаболически активны до последних стадий созревания.

15. В процессе окончательного созревания экзины в пыльнике подсолнечника происходит заполнение ее каналов и полостей веществом тапетального происхождения - полленкитт, которое покрывает и поверхность пыльцевого зерна. Пыльцевые зерна кукурузы покрыты веществом тонко-волокнистой консистенции.

16. Взаимодействие цитоплазматических и ядерных факторов, экспрессия которых приводит к ЦМС в развитии пыльника, обнаруживается в аномальном преобразовании спорофитной ткани тапетума, которое характерно для стерильных линий подсолнечника, кукурузы, сорго и т.д.

В пыльниках ЦМС-линий подсолнечника образуется многоядерный пристенный тапетальный синцитий, занимающий большую часть полости гнезда пыльника.

При ЦМС кукурузы гипертрофия тапетума приобретает свой специфический характер в зависимости от типа цитоплазмы, вызывающей мужскую стерильность. У линий с техасским типом ЦМС наблюдается локальная, обширная гипертрофия тапетального слоя клеток с образованием в этом участке плазмодия, который сжимает микроспоры в гнезде пыльника.

При С-типе ЦМС наблюдается разрастание в сторону полости гнезда пыльника каждой тапетальной клетки, утолщение клеточных оболочек.

чек, образование большой центральной вакуоли в каждой клетке. Спорополениновые структуры тапетума при этом типе цитоплазмы не образуются. В пыльниках ЦМС-линий сорго обнаруживаются оба типа аномального развития.

17. Ультраструктура гипертрофированного протопласта тапетума ЦМС-линий подсолнечника характеризуется резким увеличением количества ядер, их амебоидностью, разрастанием, нарушением целостности ядерной оболочки, расширением цистерн ШЭР, набуханием пластид и митохондрий, потерей ими ламелл и крист, гомогенизацией их стромы. Для тапетума пыльников линий ЦМС-типа кукурузы характерно наличие пластолисом - преобразованных пластид - в соединении с мембранами гладкого ЭПР, участвующих в автолизе протопласта тапетума.

18. Окончательная остановка развития пыльника при ЦМС наблюдается в постмейотический период на стадии тетрад или на стадии молодых микроспор в период вакуолизации, вплоть до двуядерного пыльцевого зерна (S-тип ЦМС кукурузы).

19. В пыльниках растений изучавшихся типов стерильности наблюдается ненормальное отложение спорополленина на перитапетальной пленке, орбикулах и спородерме пыльцевых зерен. При С-типе ЦМС кукурузы предшественники спорополленина в тапетуме не синтезируются, спорополениновые пленки тапетодермы не образуются.

20. Ядерный тип мужской стерильности подсолнечника, обусловленный рецессивными генами в гомозиготном состоянии, экспрессируется на гаметофитном уровне и приводит к остановке развития на стадии одноядерного пыльцевого зерна, и характеризуется резко аномальным, специфическим развитием экзины.

21. При индуцированной гаметоцидами мужской стерильности подсолнечника, окончательная остановка развития происходит в посттетрадный период, и также характеризуется специфически избыточным отложением спорополленина на эндэксине и эктэксине. Различные варианты аномального развития экзины при индуцировании мужской стерильности гиббереллином, по-видимому, объясняются воздействием гиббереллина на разные начальные этапы развития, что влияет на закладку соответствующей морфогенной информации для последующих этапов развития пыльника и пыльцы, что мы и наблюдаем в виде стерильности пыльцы и различных вариантов ненормального развития спородермы одноядерного пыльцевого зерна.

22. Изучение развития характера аномальных процессов, приводящих к абортности пыльцы у кукурузы и подсолнечника, свидетельствует, что каждый тип стерильности на основе генетической обусловленности

имеет свое специфическое проявление в аномальном развитии тапеты, стенки пыльника и развивающейся пыльцы. Эти цитозэмбриологические и ультраструктурно-цитологические признаки типов стерильности могут служить диагностическими признаками для определения типа стерильности конкретного селекционного материала до проведения генетико-селекционных исследований.

Основные положения диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Симоненко В.К. Микроспорогенез кукурузы с цитоплазматической мужской стерильностью // Изучение биологии, селекции, агротехники и использования кукурузы: Сб. науч. тр. - Кишинев: Штиинца, 1964. - С.43-46.

2. Симоненко В.К. Цитоплазматическая мужская стерильность кукурузы // Биологические и сельскохозяйственные науки: Тр. III конф. молодых ученых Молдавии. - Кишинев, 1964. - С.268-270.

3. Симоненко В.К. Исследование микроспорогенеза кукурузы с цитоплазматической мужской стерильностью // Изв. АН Молдавской ССР - 1964. - N 10. - С.51-59.

4. Симоненко В.К., Колесников С.М. Биология развития пыльника и пыльцевого зерна кукурузы // Биология оплодотворения и гетерозис культурных растений: Сб. науч. тр. - Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1965. - Вып. III. - С.97-114.

5. Симоненко В.К. Мужской гаметофит кукурузы и особенности его развития // Изв. АН Молдавской ССР. - 1965. - N 9. - С.32-37.

6. Симоненко В.К. Особенности некоторых клеток и ядер связника и тычиночной нити тычинки кукурузы // Биология оплодотворения и гетерозис культурных растений: Сб. науч. тр. - Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1966. - С.92-97.

7. Симоненко В.К., Колесников С.М. Цитозэмбриологические данные о цитоплазматической мужской стерильности кукурузы // Селекция растений с использованием ЦМС: Сб. науч. тр. - Киев: Урожай, 1966. - С.163-172.

8. Симоненко В.К. Цитозэмбриологические особенности дегенерации пыльцы и пыльника при ЦМС у сорго // Вопросы генетики, селекции и семеноводства: Сб. науч. тр. - Одесса, 1968. - Вып. VIII. - С.313-317.

9. Симоненко В.К. Цитозэмбриологические исследования мужской стерильности у злаков // Материалы Всесоюз. симпозиума по эмбриологии растений, посвященного 70-летию открытия двойного оплодотворения С.Т. Навашиним. - Киев: Наук. думка, 1968. - С.206-207.

10. Симоненко В.К. Цитозэмбриологические данные о развитии пыльника и пыльцы при ЦМС у сорго // I науч. конф. молодых ученых ВСТИ. - Одесса, 1968. - С.40-41.

11. Симоненко В.К. Аномалии развития пыльника и пыльцы при ЦМС у сорго // Сб. работ молодых ученых. - Одесса, 1969. - С.24-27.

12. Симоненко В.К. Развитие пыльцы у форм пшеницы, обладающих ЦМС // Науч.-техн. бюл. ВСТИ. - Одесса, 1969. - Вып. X. - С.51-57.

13. Симоненко В.К. Действие факторов ЦМС на мейоз и микроспорогенез у сорго // Вопросы генетики, селекции и семеноводства. - Одесса, 1970. - Вып. IX. - С.201-206.

14. Симоненко В.К. Блокировка цитогенеза при мейозе и микроспорогенезе у ЦМС форм сорго // Науч.-техн. бюл. ВСТИ. - Одесса, 1971. - Вып. XI. - С.45-46.

15. Симоненко В.К. Аномалии мейоза и образование "гигантской" пыльцы у форм сорго с ЦМС // V Всесоюз. совещ. по эмбриологии раст. - Кишинев, 1971. - С.84.

16. Терещенко Н.М., Симоненко В.К. Мужская стерильность у люцерны // Науч.-техн. бюл. ВСТИ. - 1971. - Вып. XIV. - С.14-18.

17. Симоненко В.К. Цитологическое изучение ЦМС у сорго // Селекция и семеноводство с.х. растений на генетических основах: Тез. работ II съезда Всесоюз. общества генетиков и селекционеров. - Москва, 1972. - Вып. II. - С.214.

18. Симоненко В.К. Об аномальном спермиогенезе у ЦМС форм пшеницы // Науч. труды по с.х. биологии. - Одесса, 1972. - С.57-59.

19. Симоненко В.К. Образование ценоцитов и "гигантской" пыльцы в пыльниках сорго при отдаленной гибридизации и ЦМС // Половой процесс и эмбриогенез растений: Материалы Всесоюз. симпозиума, посвящен. 75-летию открытия академиком С.Т. Навашиним двойного оплодотворения у покрытосеменных растений. - Москва, 1973. - С.211-212.

20. Симоненко В.К. Слияние микроспороцитов и образование "гигантской" пыльцы у ЦМС форм сорго // Науч.-техн. бюл. ВСТИ. - Одесса, 1974. - Вып. XXIII. - С.32-39.

21. Симоненко В.К. Цитозэмбриологические причины мужской стерильности подсолнечника // Науч.-техн. бюл. ВСТИ. - Одесса, 1975. - С.24-30.

22. Симоненко В.К. Индукция полиферации вегетативного и генеративного ядер пыльцевых зерен пшеницы // Материалы совещ. по апомиксису и гаплоидии. - Саратов, 1975. - С.60-62.

23. Симоненко В.К. Цитологический эффект зтрепа на развитие пыльника и пыльцевых зерен пшеницы // Науч.-техн. бюл. ВСГИ. - 1976. - Вып. XXVI. - С.37-40.

24. Лукьянюк С.Ф., Симоненко В.К. Исследование развития пыльников, культивируемых *in vitro* // Тез. докл. III съезда генетиков и селекционеров Украины, ч. 1. - Киев, 1976. - С.109-110.

25. Симоненко В.К., Карпович Е.В. Цитологические особенности развития пыльника и пыльцы при различных типах мужской стерильности подсолнечника // Общая генетика: III съезд генетиков и селекционеров Украины, ч. 1. - Киев: Наук. думка, 1976. - С.146.

26. Симоненко В.К. Ультраструктура клеток пыльника и пыльцы при цитоплазматической и генной мужской стерильности растений разных генотипов // Генетика и селекция растений: Тез. докл. III съезда Всесоюз. общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова, ч. 1(3). - Ленинград, 1977. - С.483-484.

27. Симоненко В.К. Ультраструктура развивающейся микроспоры подсолнечника // Цитология и генетика. - 1978. - т. XI, N 5. - С.395-398.

28. Симоненко В.К., Карпович Е.В. Цитологическое проявление различных типов мужской стерильности у подсолнечника // Науч.-техн. бюл. ВСГИ. - 1978. - Вып. XXXI. - С.32-36.

29. Симоненко В.К. Динамика ультраструктуры клеток тапетума в процессе развития пыльника кукурузы // Электронная микроскопия в ботанических исследованиях: Тез. докл. IV Всесоюз. симпозиум. - Рига: Зинатне, 1978. - С.245-248.

30. Симоненко В.К. Некоторые аспекты ультраструктуры клеток пыльника и микроспор у подсолнечника // Проблемы гаметогенеза, оплодотворения и эмбриогенеза: Тез. докл. VII Всесоюз. симпозиум. по эмбриологии растений, ч. 3. - Киев: Наук. думка, 1978. - С.83-94.

31. Симоненко В.К. Цитологическое проявление различных типов генетически обусловленной и фенотипической мужской стерильности // Цитоплазматическая мужская стерильность и селекция растений: Сб. науч. тр. - Киев: Наук. думка, 1979. - С.170-172.

32. Симоненко В.К. Функциональная ультраструктура тапетальных клеток ЦМС-форм кукурузы и их фертильных аналогов // Цитология и генетика. - 1980. - N 5. - С.35-42.

33. Симоненко В.К. Об особенностях ядерной оболочки некоторых клеток кукурузы // Цитология. - 1980. - N 9. - С. 1104-1106.

34. Симоненко В.К. Аномальное развитие ультраструктуры клеток пыльников при ЦМС и ГМС кукурузы и подсолнечника // Общая и молекулярная генетика: IV съезд генетиков и селекционеров Украины, ч. 1. - Киев: Наук. думка, 1981. - С.181-182.

35. Симоненко В.К. Особенности развития пыльника и микроспор у фертильных форм и ЦМС-линий подсолнечника // Репродуктивный процесс и урожайность полевых культур: Сб. науч. тр. - Одесса, 1981. - С.83-90.

36. Симоненко В.К. Особенности ультраструктуры клеток тапетума кукурузы с цитоплазматической мужской стерильностью // Цитологоэмбриологические и генетико-биохимические основы опыления и оплодотворения растений: Материалы Всесоюз. совещ. - Киев: Наук. думка, 1982. - С.375-376.

37. Симоненко В.К. Развитие пыльника и микроспор у фертильных и ЦМС-линий подсолнечника // Цитология и генетика. - 1982. - Т.16, N 5. - С.34-51.

38. Симоненко В.К. О характерных чертах ядерной оболочки микроспороцитов и микроспор кукурузы и подсолнечника // Ультраструктурная организация растений: Тез. докл. V Всесоюз. симпозиум по ультраструктуре растений. - Кишинев, 1983. - С.145-146.

39. Симоненко В.К. Аномальный розвиток пилкових зерен у ліній соняшника з ядерною чоловічою стерильністю // Український ботанічний журнал. - 1983. - Т. XL, N 2. - С.53-56.

40. Симоненко В.К. Закономерности процессов аномального развития пыльника и пыльцы при различных типах мужской стерильности растений // Развитие мужской генеративной сферы растений (морфофизиологические аспекты): Сб. науч. тр. - Симферополь, 1983. - С.83-84.

41. Симоненко В.К. Развитие пыльцевого зерна и его спородермы у подсолнечника // Генетико-цитологические аспекты селекции с.х. растений: Сб. науч. тр. - Одесса, 1984. - С.15-23.

42. Симоненко В.К. Особенности развития пыльцы и тканей пыльника при "С"-типе ЦМС кукурузы // Науч.-техн. бюл. ВСТИ. - 1986. - N 1(59). - С.32-36.

43. Симоненко В.К. Развитие ультраструктуры пыльника и пыльцевого зерна подсолнечника в норме и при некоторых типах мужской стерильности // Гаметогенез, оплодотворение и эмбриогенез семенных растений, папоротников и мхов: Сб. науч. тр. - Кишинев: Штиинца, 1986. - С. 114.

44. Симоненко В.К. Динамика развития ультраструктуры пыльцевого зерна и его спородермы у *Helianthus annuus* (Asteraceae) // Ботан. журн. - 1986. - Т. 71, N 9. - С.1222-1229.

45. Симоненко В.К. Динамика ультраструктуры клеток пыльников с амебоидным и секреторным типом тапетума // Ультраструктура растений: Тез. докл. VI Всесоюз. симпоз. - Киев, 1968. - С.111.

46. Simonenko V.K. Specific traits of nuclear envelope ultrastructure in pollen mother cells and microspores at nucleoplasmic interactions // Embryology and seed reproduction: Abstracts XI International Symposium. - Leningrad, 1990. - P.158.

47. Симоненко В.К. Ультраструктурные аспекты ядерно-цитоплазматических взаимодействий при развитии спорогенных клеток от спорофита к гаметофиту // Тез. док. IV Республ. конф. по электронной микроскопии. - Кишинев, 1980. - С.104.

48. Simonenko V.K. Specific traits of nuclear envelope in pollen mother cells and microspores at nucleocytoplasmic interactions // Embryology and seed reproduction: Proceedings XI International Symposium. - St. Peterburg: Nauka, 1992. - P.513-514.

Simonenko V.K. Cytology of normal anther development and with different types of male sterility used in plant breeding.

Thesis for a doctors degree of biological science.

The specialized field - 03.00.05 - Botany. State Nikita Botanical Garden, UAAN, Yalta, 1994.

Development of cells and tissues of sunflower, maize and sorghum anthers was studied by electronic microscopy methods in fertile lines and their sterile analogues which are used for plant breeding. The process of transformation from sporophyte to gametophyte is accompanied by complicated changes in microsporocytes protoplast structure, by structure simplification, and in the same time by preparing of the morphogenic information compounds for the early stages of the gametophyte development. Each type of the male sterility is characterized by its own cytological traits. Lines of maize with T, C and S of GMS are characterized by specific anomalies in tapetum development which are typical for each type. Those cytological characters are used for a diagnosis of the sterility type among the plant breeding materials.

Симоненко В.К. Цитологія розвитку пиляка в нормі та при різних типах чоловічої стерильності, яка використовується в селекції. Дисертація на здобуття вченого ступеня доктора біологічних наук по спеціальності 03.00.05 - ботаніка. Державний Никитський ботанічний сад УААН, Ялта, 1994 р.

Методами електронної мікроскопії та цитології вивчено розвиток клітин та тканин пиляків соняшника, кукурудзи та сорго фертильних ліній та їх стерильних аналогів, що використовуються в селекції.

Процес переходу від спорофіту до гаметофіту супроводжується складною перебудовою ультраструктури протопластів мікроспороцитів, її спрощенням і одночасно заготівлею компаундів морфогенної інформації для раних етапів розвитку гаметофітів.

Кожний тип чоловічої стерильності характеризується власними характерними ознаками. Лінії кукурудзи T, C та S типів ЦЧС мають свої специфічні аномалії розвитку тапетума для кожного з типів ЦЧС. Ці цитологічні ознаки використовуються для діагностики типу стерильності.

Ключові слова: розвиток пиляка, ультраструктурні переутворення протопластів, розвиток пилку, чоловіча стерильність рослин, аномалії тапетума, цитологія типів ЦЧС і ЯЧС, діагностика чоловічої стерильності, соняшник, кукурудза, сорго.

Цитология развития пыльника в норме и при различных
типах мужской стерильности, используемой в селекции

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Подписано к печати 2.11. 1994. Формат бумаги 84 x 108 1/32
Бумага офсетная. Объем 1,0 физ.п.л. Тираж 100 экз.
Заказ № 3152

Печатный цех Никитского ботанического сада

145566

AB 31.436

AB 31.436