

Д. П. ЧОЛАХЯН, С. А. САРКИСЯН, Л. Х. АБРАМЯН

ИЗУЧЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ФЕРТИЛЬНЫХ И СТЕРИЛЬНЫХ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН У *CYDONIA OBLONGA* MILL

Установлено, что фертильные пыльцевые зерна имеют хорошо развитую цитоплазму и клеточные органеллы: эндоплазматический ретикулум, рибосомы, пластиды, диктиосомы, сферосомы. В ультраструктуре стерильных пыльцевых зерен обнаружен ряд нарушений цитоплазмы и клеточных органелл, что обусловлено нарушениями, происходящими в процессе спорогенеза.

Стерильность пыльцевых зерен в подсемействе *Maloideae* распространенное явление. В литературе имеются данные о генетических свойствах пыльцевых зерен и морфологических изменениях, происходящих в период их формирования, а также о различиях между фертильными и стерильными пыльцевыми зернами [3, 6, 10, 11]. Однако сведения о специфичности ультраструктуры пыльцевых зерен представителей этого подсемейства весьма ограничены, они касаются в основном спородермы рода *Malus* и *Pyrus* [4, 5].

Ультраструктурой спородермы пыльцевых зерен у представителей многочисленных семейств покрытосеменных в условиях АрмССР занимались Агабабян и Заварян [1, 2].

Цель нашего исследования заключалась в выявлении специфичности ультраструктуры фертильной и стерильной пыльцы айвы.

Пыльники айвы специфичны тем, что в них, наряду с фертильными, встречаются также многочисленные стерильные пыльцевые зерна. Между фертильными и стерильными пыльцевыми зернами айвы бывают не только морфологические, но и генетико-физиологические различия. Немало и таких пыльцевых зерен, которые морфологически не отличаются от фертильных, но их неполноценность выявляется впоследствии, при гаметогенезе и превращении в мужской гаметофит. В большинстве случаев у айвы стерильные пыльцевые зерна мелкие, сморщенные, без пор [3, 6, 10, 11].

Относительно ультраструктуры *Cydonia oblonga* Mill в известной нам литературе сведений нет.

Материал и методика. В 1968—1975 гг. нами был проведен ряд работ по выяснению ультраструктуры двух сортов айвы: Арапати 1 и Ереван 12. Материал брали из Паракарской базы НИИВВиП. Уточнены методические вопросы фиксации и заливки в метакриловые смолы, связанные со специфичностью пыльцы данного рода. Для изучения ультраструктуры пыльцевых зерен бутоны разной стадии зрелости фиксировали 6-процентным глютаральдегидом с последующей дофиксацией 2-процентным OsO_4 по методу Чеботаря и Колфилда в нашей модификации. Заливку проводили в смеси бу-

тил и метил метакрилатов с перекисью бензоила в качестве катализатора. Ультратонкие срезы толщиной 250—350 Å были получены на ультратоме УМТП-2. Срезы изучались в электронном микроскопе JEM-T7 при инструментальном увеличении 15—20 тысяч раз.

Результаты и обсуждение. У фертильной и стерильной пыльцы айвы в архитектуре экзины не было особых различий. Различия выявились в размере, форме, в уменьшении количества цитоплазмы, а также в органондах пыльцы. Было установлено, что цитоплазма пыльцевых зерен айвы окружена цитоплазматической мембраной, которая имеет трехслойное строение. Она состоит из двух осмиофильных и одного осмиофобного слоя. В цитоплазме фертильных пыльцевых зерен айвы уже на ранних стадиях развития появляются мелкие вакуоли. Они меньше по количеству и мельче размером в молодых пыльцевых зернах. Со зрелостью пыльцевых зерен размер и количество вакуолей увеличиваются, и они группируются; большей частью они овальные или округлые (рис. 1). А в цитоплазме стерильных пыльцевых зерен вакуоли многочисленны уже на ранней стадии их развития. В зрелых пыльцевых зернах цитоплазма разрушается и остаются скопления вакуолей (рис. 2).

В литературе имеется ряд данных о ядрах пыльцевых зерен кукурузы [8] и у *Clivia miniata* [13] на различных стадиях развития, у которых между генеративным и вегетативным ядрами часто видны плазматические мембраны. Ядерная мембрана и эндоплазматический ретикулум иногда соединены между собой. Тонкая нуклеоплазма имеет хорошо выраженные хромоцентры и ядерную мембрану толщиной 110 Å с порами.

В пыльцевом зерне *Helleborus foetidus* [16] отмечалось постепенное уплотнение хроматина ядра. В вегетативной клетке обнаружено много органелл, в том числе крупные пластиды с зернами крахмала, чего нет в генеративной клетке. У молодых микроспор *Capsicum annuum* L. ядро и ядрышко представляют нормальную структуру [17].

В наших исследованиях в ядрах фертильных пыльцевых зерен айвы видны хромоцентры, но ядрышки не дифференцируются. Ядра окружены оболочкой, которая прерывается в местах ядерных пор (рис. 3). У двух ядерных мужских гаметофитов по ультраструктуре ядра особенно не отличаются друг от друга. Они имеют хорошо развитую оболочку с порами. У стерильных пыльцевых зерен ядра не обнаружены.

Нами установлено, что у фертильных пыльцевых зерен айвы довольно сильно развиты элементы гранулярного эндоплазматического ретикулума и рибосомы, которые часто группируются, образуя полисомы. В пыльцевых зернах айвы рибосомы часто образуют линейно расположенные структуры (рис. 5). В отличие от фертильных, стерильные пыльцевые зерна в цитоплазме не имеют развитого эндоплазматического ретикулума.

Основное вещество цитоплазмы с довольно развитой эндоплазматической сетью было обнаружено также у фертильных пыльцевых зерен *Armeria sibirica*, *Armeria maritima*, *Capsicum annuum* L. [14, 17].

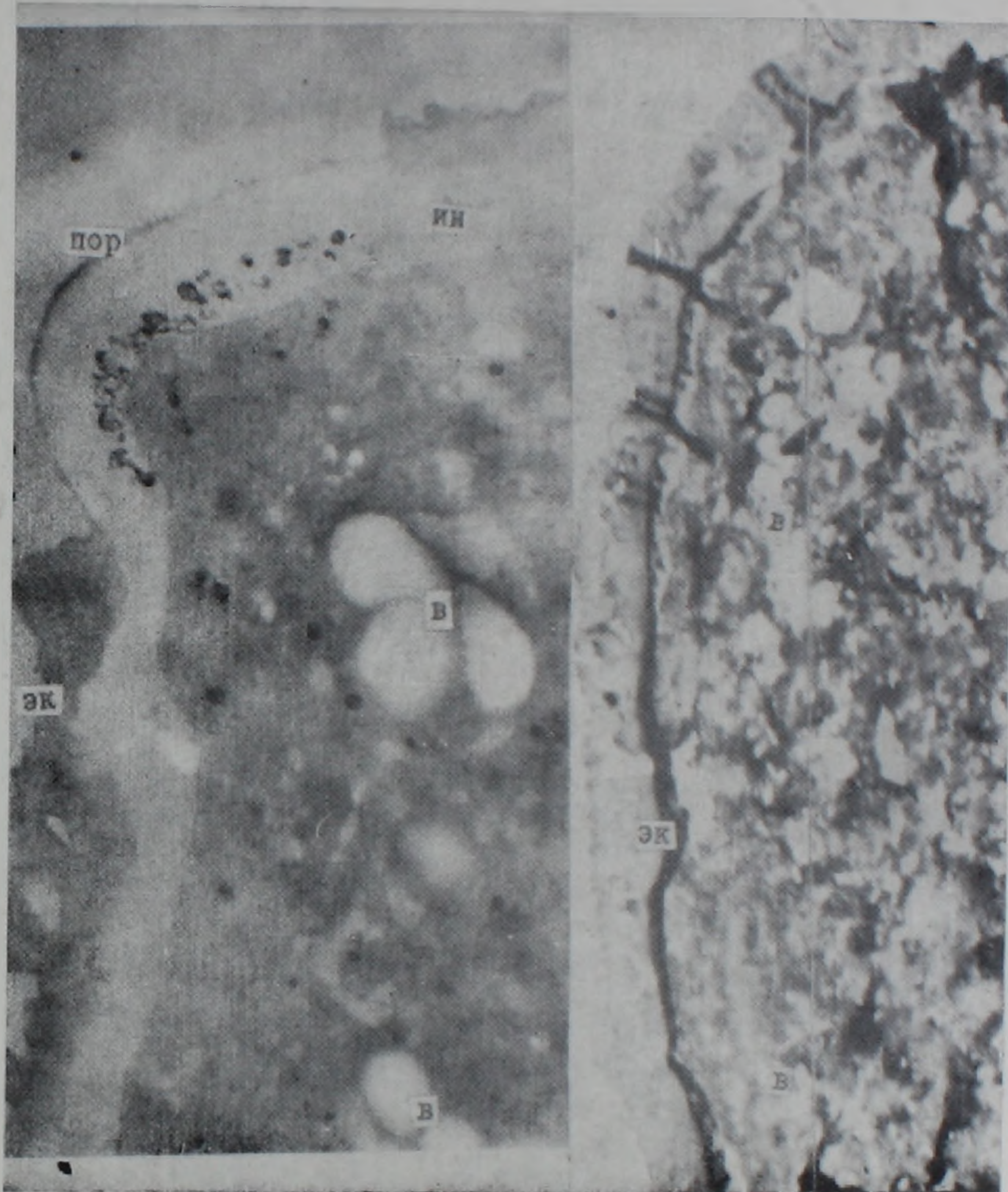


Рис. 1. Часть фертильного пыльцевого зерна сорта Арарати 12. Видны: экзина (эк), интина (ин), пора (пор), группы вакуолей (в). ($\times 50000$).

Рис. 2. Часть стерильного пыльцевого зерна сорта Арарати 12. Видны: экзина (эк), цитоплазма с многочисленными вакуолями (в) ($\times 50000$).

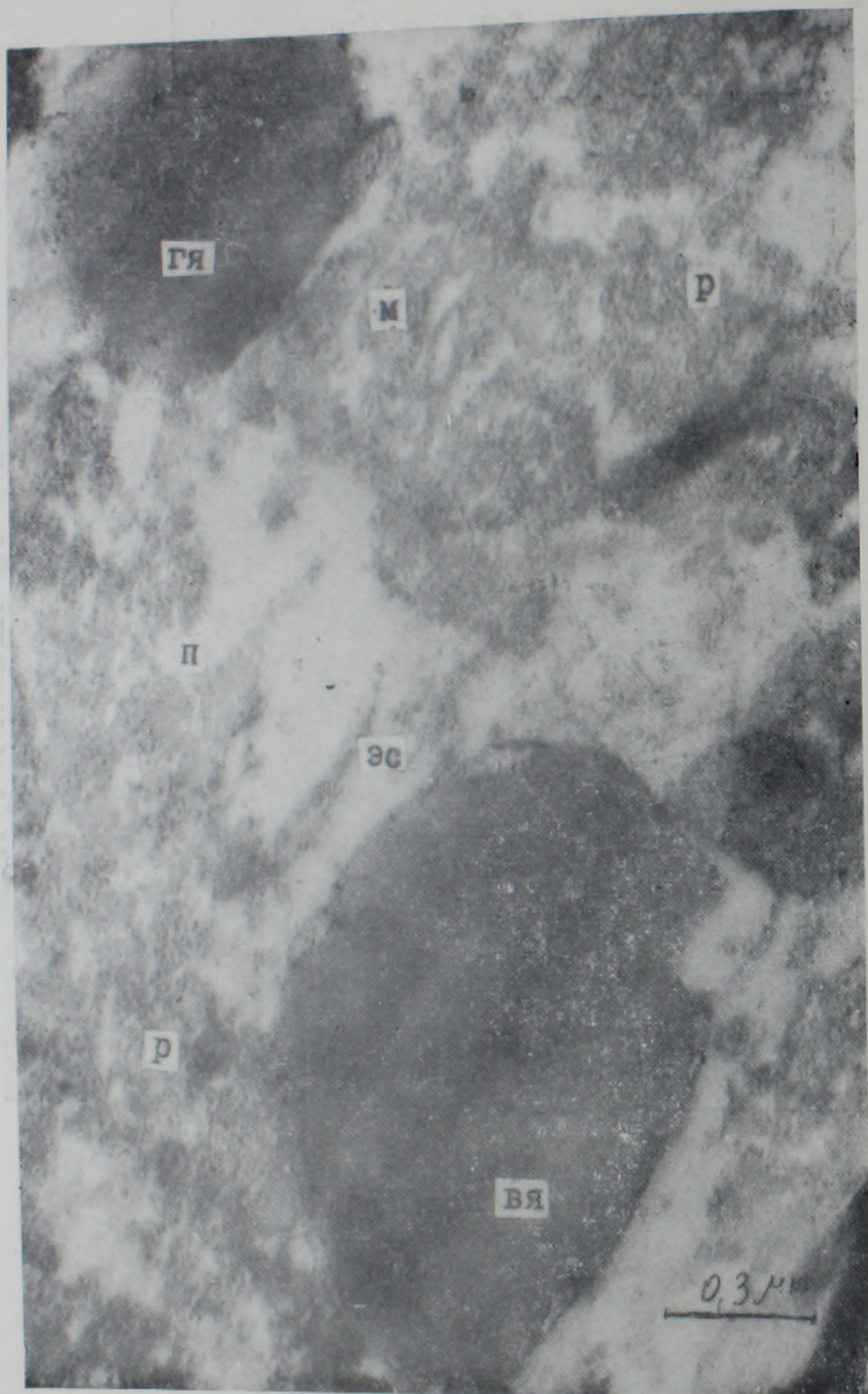


Рис. 3. Часть фертильного пыльцевого зерна сорта Арарати 12. Видны: вегетативное (вя) и генеративное (гя) ядра, развитый эндоплазматический ретикулум (эр), рибосомы (р), митохондрии (м), пластиды (п). ($\times 50000$).

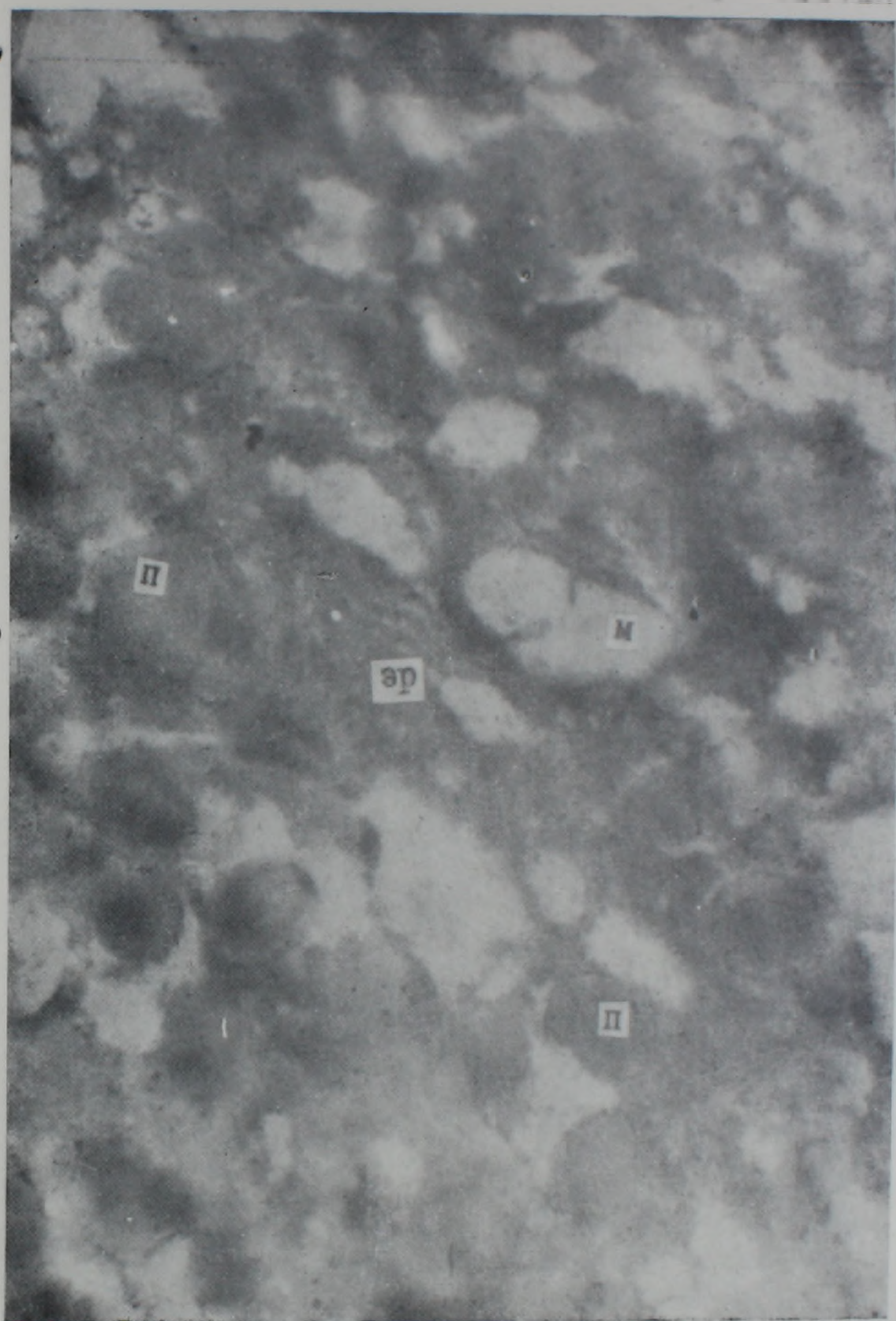


Рис. 4. Часть фертильного пыльцевого зерна сорта Арарати 12. Видны: многочисленные пластиды (п), митохондрии (м), эндоплазматический ретикулум (эр) ($\times 45000$).

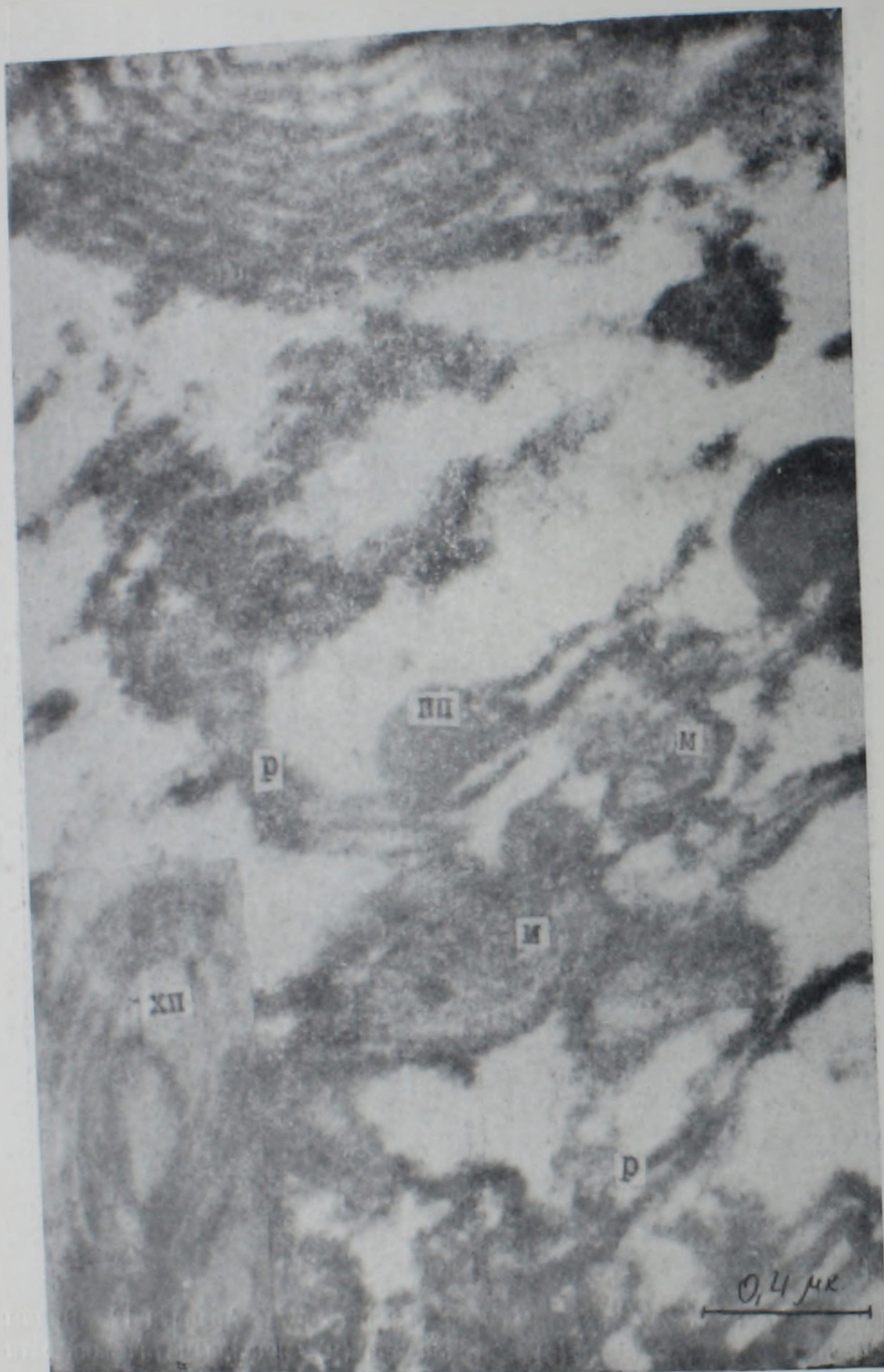


Рис. 5. Часть фертильного пыльцевого зерна сорта Арарати 12. Видны: митохондрии (м), пропластиды (пп), хлоропласты (хп), рибосомы (р), диктиосомы (дс), эндоплазматический ретикулум (эр), (X45000).



Рис. 6. Часть фертильного пыльцевого зерна сорта Арарати 12. Видны: сферосомы (сф), трансосомы (тс), диктиосомы (дс), ($\times 56000$).

По данным Турбина [8], у фертильных линий кукурузы микроспороциты имеют хорошо развитое основное вещество цитоплазмы и эндоплазматическую сеть с рибосомами. Однако у микроспороцитов стерильных форм, по сравнению с фертильными, в основном веществе цитоплазмы встречается большое количество вакуолей, и эндоплазматическая сеть слабо развита.

Особое место в цитоплазме пыльцевого зерна айвы занимают митохондрии. У стерильных пыльцевых зерен, имеющих сморщенную структуру, митохондрии нами не обнаружены. Цитоплазма в них находилась на стадии разрушения, а органоидов не было. В цитоплазме фертильных пыльцевых зерен айвы митохондрии, находящиеся на различных стадиях развития, имели различную ультраструктуру (рис. 4, 5). Так, у молодых пыльцевых зерен кристы митохондрий были плохо развиты (рис. 4). Сравнительно больше крист имелось в митохондриях зрелых пыльцевых зерен (рис. 5). Межкристное пространство митохондрий было заполнено гранулярным матриксом, который по мере дифференциации клетки становился плотным; количество крист возрастало. Гранулы, расположенные в матриксе митохондрий, в настоящее время рассматриваются как рибосомы, имеющие строение и функции, аналогичные рибосомам цитоплазмы.

Обнаружены также пыльцевые зерна, морфологически не отличающиеся от фертильных пыльцевых зерен, митохондрии которых были крупными, но кристы в них оказались неразвитыми, они имели внутри себя как бы вакуоли. Таким образом, в цитоплазме фертильной и стерильной пыльцы наблюдалось значительное различие между митохондриями. Возможно, это связано с общим нарушением ядра и цитоплазмы стерильных пыльцевых зерен, которые либо сморщены, либо сильно вакуолизированы или разрушены.

Ряд аналогичных данных имеется в отношении других растений [13, 14, 17].

В цитоплазме пыльцевых зерен *Argemone maritima* были также обнаружены многочисленные митохондрии [14]. У пыльцевых зерен *Capsella annua* L. митохондрии имели многочисленные кристы [17]. В отношении пыльцевых зерен *Clivia miniata* установлено, что когда цитоплазма богата митохондриями, эндоплазматического ретикулума не видно [13]. Однако у микроспороцитов стерильных форм кукурузы, по данным Турбина [8], крупные, разбухшие митохондрии неправильной формы, внутри которых еще сохранились остатки крист. Встречается значительное число образований типа митохондрий, для которых характерна вакуолизация, что вносит некоторый дефект в структуру; нарушается также процесс их самообновления в клетке.

С помощью электронного микроскопа особенно отчетливо выявляется ультраструктура хлоропластов с хорошо развитой ламеллярной структурой у фертильных пыльцевых зерен. (рис. 5). Пропластиды и лейкопласты окружены двойной поверхностной мембраной, каждая из которых имеет толщину примерно 100 Å. Пластиды имеют округло-

эллипсоидную форму и расположены в цитоплазме неравномерно. В отличие от фертильных, в цитоплазме стерильных пыльцевых зерен пластиды не были обнаружены.

О наличии пластид в цитоплазме пыльцевых зерен различных растений в литературе также имеются некоторые данные [9, 16, 17]. Выяснено, например, что у пыльцевых зерен кукурузы и *Capsicum annuum* L. [9] пластиды в цитоплазме не имеют ламеллярную систему и находятся в состоянии пропластид [17]. У пыльцевых зерен *Helleborus foetidus* [16] с наступлением вакуолизации появляются крупные амилопласты. У пыльцевых зерен 8-и видов *Campanula* были обнаружены тела, сходные по морфологическим и химическим свойствам с элайопластами, которые то появляются, то исчезают в плазме в определенные фазы развития пыльцевых зерен [15].

На ультратонких срезах фертильных пыльцевых зерен айвы нами был обнаружен аппарат Гольджи в виде развитых цистерн диктиосом (рис. 5), которые в отдельных участках цитоплазмы имели структурную связь с вакуолями, элементами эндоплазматической сети и с транслосомами (рис. 6). Диктиосомы представляют собой уплощенные мешки, цистерны, пузыри неправильной формы, ограниченные мембраной. Толщина мембран элементов диктиосом составляет примерно 100 Å. На отдельных участках цитоплазмы элементы диктиосомы не связаны с другими органондами.

Довольно развитый аппарат Гольджи был обнаружен также в микроспорах фертильной линии кукурузы [8, 9]. А у *Capsicum annuum* L. с развитием пыльцевого зерна в некоторых частях периферии цитоплазмы наблюдалось связывание диктиосом с пузырьками и тяжами эндоплазматической сети [13].

Как и у спорочитов фертильных линий кукурузы, в фертильных пыльцевых зернах айвы отмечается наличие многочисленных сферосом (рис. 6). Их количество уменьшается у стерильных линий [8].

С помощью метода ультратонких срезов нами было установлено, что в пыльцевом зерне айвы содержатся толстостенные гранулы, которые по своей структуре, форме и связи с эндоплазматической сетью (рис. 6) напоминают гранулы, описанные у других клеток и названные транслосомами [7]. Известно, что транслосомы постепенно подвергаются деструкции, утрачивают форму, и их содержимое в виде глыбок располагается по периферии вакуоли. Иногда эти глыбки образуют скопления более крупных размеров. Можно присоединиться к мнению других исследователей относительно функциональной роли транслосом, которая выражается в накоплении и транспорте клеточных метаболитов в вакуоль [7]. Таких транслосом не было в цитоплазме стерильных пыльцевых зерен айвы. Почему-то в работах других исследователей не встречаются данные о транслосомах. По-видимому, они не обратили внимания на них или может быть в их объектах таких гранул не было.

Таким образом, наличие всех жизненно важных органондов в цитоплазме фертильных пыльцевых зерен айвы и отсутствие их или слабое развитие в цитоплазме стерильных пыльцевых зерен показывает, что, видимо, их развитие связано с генетическим аппаратом, ибо стерильные пыльцевые зерна у айвы, как показали данные [6, 10], появляются в основном при нарушении мейоза, в результате изменения количественного состава хромосомного набора. На наш взгляд, особое внимание необходимо обратить на жизнедеятельность таких основных органондов, как митохондрии, нарушение которых, видимо, приводит к уменьшению микроэнергетического запаса пыльцевого зерна, а также к неразвитости рибосом и эндоплазматической сети, вследствие чего синтез белка не происходит [12].

Пыльцевое зерно является сложной структурой, нормальное протекание процессов в нем возможно при комплексной работе всех органондов, которые и определяют функциональную деятельность этой клетки, обеспечивающей столь важные процессы в жизни растений, как опыление, оплодотворение и восстановление диплоидной фазы существования данного растения.

Ереванский государственный университет,
лаборатория электронной микроскопии

Поступило 7.IV 1975 г.

Գ. Պ. ՉՈՒԱԿՅԱՆ, Ս. Ա. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Լ. Խ ԱՐՐԱՀԱՄՅԱՆ

Cydonia oblonga Mill-ի ֆերտիլ եւ ստերիլ փոշեհատիկների
ուլտրաուսրոուսոութեան շարժման ուսումնասիրութիւնը

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել է սերկելենու Արարատի 1 և Երևանի 12 սորտերի ֆերտիլ և ստերիլ փոշեհատիկների ուլտրաստրուկտուրան: Պարզվել է, որ ֆերտիլ և ստերիլ փոշեհատիկների հիմնական տարբերությունը կապված է ֆերտիլ փոշեհատիկների բջջապլազմայի և բջջային օրգանոիդների նորմալ զարգացման և ստերիլ փոշեհատիկներում դրանց բայթայման կամ թերի զարգացման հետ:

Ֆերտիլ փոշեհատիկներում լավ զարգացած է գրանուլյար էնդոպլազմատիկ ցանցը, որտեղ ութոսոմները մեծ մասամբ դասավորված են գծային ձևով: Միտոքոնդրիաները գտնվում են զարգացման տարբեր փուլերում: Փոշեհատիկների վաղ և ուշ զարգացման փուլերում կա մեծ բաղադրանքային միտոքոնդրիաների ներքին կառուցվածքի մեջ: Կրիստները լավ են զարգացած ֆերտիլ փոշեհատիկների հասուն շրջանի միտոքոնդրիաներում: Ստերիլ փոշեհատիկներում բջջապլազմայի բայթայման, մեծ չափով վակուոլիզացիայի և բջջային օրգանոիդների թույլ ձևավորման ու բայթայման հետևանքով նախալոր չէր տալ նրանց ուլտրակառուցվածքը:

Սերկելենու ֆերտիլ և ստերիլ փոշեհատիկների ուլտրակառուցվածքում եղած տարբերությունները հետևանք են սպորոգենների ընթացքում կորիզում տեղի ունեցող զարգացման նորմալ ընթացքի շեղումների, որոնք ուղղակի ձևով ազդում են միկրոսպորների և արական գամետոֆիտի զործունեության և ներքին կառուցվածքի վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агабабян В. Ш. В сб.: Морфология пыльцы и спор растений. М., 1973.
2. Агабабян В. Ш., Заварян З. Л. Биологический журнал Армении, 2, 26, 1974.
3. Габриелян-Бекетовская А. Айва АрмССР, Ереван, 1957.
4. Гревцова Н. А., Мейер Н. Р. Вестн. Моск. ун-та (биол. почвовед), 3, 1972.
5. Гревцова Н. А. Автореф. канд. дисс., М., 1974.
6. Руденко И. С. Цитология и генетика, 2, 4, 1968.
7. Саяев Р. К. Поглощение веществ растительной клеткой. М., 1969.
8. Турбин Н. В. ДАН СССР, 191, 5, 1970.
9. Чеботарь А. А. Эмбриология кукурузы. Кишинев, 1972.
10. Чолахян Д. П., Самеелян Г. Е., Акопян Дж. И. Биологический журнал Армении, 23, 12, 1970.
11. Чолахян Д. П. Тез. докл. научн. конф. по генетике и генетическим основам селекции, посв. 50-летию образования Советского Союза, Ереван, 1972.
12. Чолахян Д. П., Саркисян С. А., Торчян Н. Х. Тез. докл. XII Междунар. бот. конгр. Л., 1975.
13. Gullvag Barbro. Grana pollinol, 3, 1964.
14. Erdtman G. Grana pollinol, 3, 1966.
15. Gorska Brylask. Elajoplasty Acta. Sos. bot. Pollon, 3, 409, 1962.
16. Echlin P. Cell. Sci. 11, 1, 1972.
17. Tarnavski J. T., Ciobanu J. R. Stud. sicerc. biol. Ser. bot. 23, 5, 1971.