

633.5/9 А
А 65

Справочно-
информационный
отдел

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М.В. ЛОМОНОСОВА

Генерал
и.с.

На правах рукописи

АНДРЕЮК Денис Сергеевич

**ИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ
РАЗВИТИЯ И ПРОРАСТАНИЯ
МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ТАБАКА**
Nicotiana tabacum L.

03.00.12 - физиология растений

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2000

633,71: 581.14

633.57.9

А 65

Работа выполнена на кафедре физиологии растений
Биологического факультета Московского государственного
университета им. М.В. Ломоносова

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор Ермаков И.П.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
Ковалева Л.В.

кандидат биологических наук,
Тимофеев К.Н.

Ведущая организация: кафедра физиологии и биохимии растений
Санкт-Петербургского государственного университета

Защита диссертации состоится " 15 " ноября 2000 г. в 16:00 часов на
заседании Диссертационного Совета К.053.05.14 при Биологическом
факультете Московского государственного университета им. М.В.
Ломоносова по адресу: 119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ,
Биологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке
им. А.М. Горького Биологического факультета МГУ
им. М.В. Ломоносова

Автореферат разослан " 9 " октября 2000 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
кандидат биологических наук,
доцент

Полесская

Полесская О.Г.



Актуальность проблемы.

Свободные неорганические ионы участвуют в реализации многих
жизненно важных процессов: контролируют активность ферментов,
играют центральную роль в генерации и трансдукции сигналов,
осморегуляции и регуляции транспорта веществ через клеточные
мембраны. К числу наиболее "универсальных" в этом отношении ионов,
действующих в любых клетках, следует отнести ионы калия, хлорид, а
также протоны (Marshner, 1995). В жизни растительной клетки протоны
играют особую роль, поскольку они служат для энергизации
плазматических мембран (Sze et al., 1999). Наряду с перечисленными
ионами регуляторные функции в клетках растений выполняет нитрат
(Scheible et al., 1997).

Вопросы, связанные с изучением роли указанных ионов в
регуляции роста и метаболизма у растений, изучены достаточно полно
на вегетативных тканях и органах (Marshner, 1995). У покрытосеменных
растений, с этой точки зрения, наиболее исследован корень (Walker et al.,
1998). Такой важный для решения фундаментальных проблем
физиологии растений объект, каким является мужской гаметофит,
оставался вне поля зрения исследователей, хотя и было известно, что
его онтогенез у покрытосеменных сопровождается резкими изменениями
интенсивности биосинтетических и ростовых процессов (Резникова,
1984). Это следует объяснять отсутствием до последнего времени
адекватных методических подходов к изучению механизмов ионной
регуляции на столь специфичном объекте.

Основываясь на данных исследования процессов вегетативного
роста, допустимо предположить, что ионные механизмы играют важную
роль в регуляции метаболизма и роста мужского гаметофита. Для
проверки этого предположения представлялось необходимым с
использованием комплекса современных методов установить, в какой
мере и каким конкретно образом неорганические ионы участвуют в
регуляции критических этапов онтогенеза мужского гаметофита. Это,
во-первых, совокупность процессов, предшествующих и
подготавливающих формирование мужского гаметофита (рост,
вакуолизация и поляризация микроспоры); во-вторых, дифференциация
пыльцевого зерна и его взаимодействие с тканями пыльника; и, наконец,
его активация на начальном этапе прорастания.

Цели и задачи работы.

Целью настоящей работы являлось установление роли ионов калия,
хлорида, нитрата и величины внутриклеточного pH в регуляции
онтогенеза мужского гаметофита покрытосеменных растений на
примере *Nicotiana tabacum* L.

Для достижения этой цели были исследованы стадии развития и прорастания мужского гаметофита, резко различающиеся между собой направленностью доминирующих физиологических функций. При этом решались следующие конкретные задачи:

- изучить динамику внутриклеточных концентраций ионов калия, хлорида и нитрата, а также величины внутриклеточного pH с целью выявления взаимосвязи этих показателей с функциональной активностью мужского гаметофита;
- провести анализ элементного состава локулярной жидкости пыльника и установить роль внеклеточных ионов в контроле развития мужского гаметофита;
- выявить на клеточном уровне основные физиологические механизмы, определяющие величину внутриклеточного pH в процессе развития и прорастания мужского гаметофита.

Научная новизна.

Впервые проведено комплексное изучение вклада ионных механизмов в регуляцию онтогенеза мужского гаметофита покрытосеменных растений. Выявлена динамика содержания неорганических ионов во внутриклеточной и внеклеточной средах в процессе дифференциации и прорастания мужского гаметофита, и установлена взаимосвязь изменений ионного состава этих сред с инициацией реорганизации метаболизма пыльцевого зерна при его переходе в состояние покоя и последующем выходе из этого состояния.

Впервые показано, что величина внутриклеточного pH определяет скорость активации и прорастания пыльцевого зерна. Тем самым установлена роль величины внутриклеточного pH в контроле функциональной активности мужского гаметофита.

Впервые изучен ряд механизмов, контролирующих величину внутриклеточного pH в онтогенезе мужского гаметофита: H^+ -АТФаза плазматической мембраны, альтернативная оксидаза и хлоридные каналы.

Практическая ценность работы.

В работе вскрыты существенные элементы системы контроля развития и прорастания мужского гаметофита, что важно для формирования представлений о механизмах регуляции полового размножения высших растений. Полученные результаты могут быть использованы при обсуждении центральных проблем физиологии и эмбриологии растений в соответствующих курсах лекций, читаемых студентам биологических специальностей.

Апробация работы.

Материалы диссертации были доложены на Международных конференциях студентов и аспирантов "Ломоносов" (Москва, 1999, 2000), Международной конференции по анатомии и морфологии растений (С.-Петербург, 1997), 3-м ежегодном симпозиуме ОФР РАН "Физико-химические основы физиологии растений и биотехнология" (Москва, 1997), VII Международной конференции "Биология клеток растений in vitro, биотехнология и сохранение генофонда" (Москва, 1997), II(X) съезде Русского ботанического общества "Проблемы ботаники на рубеже XX-XXI веков" (С.-Петербург, 1998), Международной конференции "Рецепция и внутриклеточная сигнализация" (Пушино, 1998), 4-м Съезде общества физиологов растений России (Москва, 1999), VII Молодежной конференции ботаников (С.-Петербург, 2000), конференции молодых ученых "Горизонты физико-химической биологии" (Пушино, 2000), 12-м конгрессе FESSP (Будапешт, 2000). По материалам диссертации опубликовано 14 работ.

Структура и объем диссертации.

Диссертация включает следующие разделы: Введение, гл.1. Обзор литературы, гл.2. Материалы и методы, гл.3. Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы и список литературы. Работа изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 4 таблицы и 16 рисунков. Список литературы включает 155 наименований.

Материалы и методы.

Растения табака *Nicotiana tabacum* L. выращивали из семян в климатической камере (25°C, 16ч световой день). Идентификацию стадий онтогенеза мужского гаметофита проводили в соответствии с классификацией Кую, Harada (1986) с использованием общепринятых цитохимических методов. Исследовали следующие стадии: М.1 - ранняя микроспора по выходе из тетрады, эта стадия взята в качестве точки отсчета на рис. 1, 2 (t = 0 сут), М.2 - вакуолизирующаяся микроспора (t = 1 сут), М.3 - премитозная микроспора (t = 1,5 сут), ПЗ.1 - среднее 2-ядерное пыльцевое зерно (t = 3 сут), ПЗ.2 и ПЗ.3 - поздние 2-ядерные пыльцевые зерна (t = 3,5 сут и t = 4 сут, соответственно), ПЗ.4 - зрелое, частично обезвоженное пыльцевое зерно, ПЗ.5 и ПЗ.6 - соответственно, начальный и заключительный периоды активации зрелого пыльцевого зерна.