

Академик АН УССР К. М. СЫТНИК, В. А. СИДОРОВ,
Н. В. БЕЛИЦЕР, Ю. Ю. ГЛЕБА

УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПОВ СЛИЯНИЯ ПРОТОПЛАСТОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Разработка методов выделения изолированных протопластов высших растений и их слияния с последующим получением гетерокарпозов позволяет преодолеть барьер половой несовместимости и открывает новые перспективы неполовой (соматической, парасексуальной) гибридизации растений. Индуцированное слияние протопластов отличается от спонтанного, которое не может быть применимо для гибридизации и происходит в основном в результате расширения плазмодесм в процессе выделения протопластов ⁽¹⁾. Ультраструктурные особенности процессов, происходящих при индуцированном слиянии, недостаточно изучены и представляют значительный интерес.

Изолированные протопласты получали энзиматической обработкой тканей листа табака *Nicotiana tabacum* L. ⁽²⁾, слияние индуцировали воздействием высоких рН в присутствии ионов кальция ⁽³⁾, а также обработкой полиэтиленгликолем ⁽⁴⁾. Приготовление материала к электронной микроскопии проводили на основе метода, разработанного ранее ⁽⁵⁾.

При воздействии на суспензию изолированных протопластов среды с высокощелочными значениями рН процент слияния протопластов достигал 5, однако большинство протопластов, сливаясь, образовывало крупные округлившиеся агрегаты с различной степенью повреждения мембранных структур, вероятно в дальнейшем нежизнеспособных. Под действием полиэтиленгликоля сохранность всех ультраструктур контактирующих и сливающихся протопластов была наилучшей.

Начальным этапам слияния протопластов предшествует их агрегация в результате непосредственной адгезии плазматических мембран протопластов. При агрегации протопластов, индуцированной полиэтиленгликолем, относительно большие участки плазмалеммы находятся в контакте, что может приводить к изменению формы протопластов при сохранении их структурной целостности. Однако при детальном электронно-микроскопическом изучении агрегированных протопластов обнаружено, что тесная адгезия плазмалемм происходит только в локальных участках, чередующихся с довольно широкими электронно-прозрачными зонами, где контактирование плазматических мембран не наблюдается (рис. 1А).

В настоящее время не имеется возможности установить, детерминированы ли места тесного контакта и последующего слияния плазмалеммы; следует отметить, что в адгезии могут участвовать как узкие лишённые органелл цитоплазматические тяжи, так и участки, насыщенные органеллами (рис. 1Б). В отдельных случаях плазматические мембраны соседних протопластов соединялись узким цитоплазматическим мостиком диаметром 18–20 нм (рис. 1Б). Предполагается, что такие мостики представляют собой плазмодесмы, наличие которых предопределено симпласткой природой растительных тканей и которые, по-видимому, изредка могут сохранять свою интактность при выделении протопластов.

В отдельных участках тесного контакта плазматических мембран происходят, очевидно, их локальные разрывы с последующим слиянием, обеспечивающим появление цитоплазматической непрерывности между

двумя протопластами (рис. 1B). Часть мембранного материала плазмалемм при этом изолируется с образованием замкнутых структур, заполненных внешней средой и напоминающих вакуоли (псевдовакуоли), окруженные мембраной, отличающейся от тонопласта.

Электронно-микроскопический анализ двух методов индукции слияния подтвердил эффективность слияния под воздействием полиэтиленгликоля. При этом начальные этапы слияния состоят в адгезии плазмалемм с последующей их рекомбинацией и образованием мостиков цитоплазматической непрерывности.

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного
Академии наук УССР
Киев

Поступило
6 X 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ L. A. Withers, E. C. Cocking, J. Cell Sci., v. 11, 59 (1972). ² Ю. Ю. Глеба и др., Физiol. раст., т. 21, 598 (1974). ³ W. A. Keller, G. Melchers, Zs. Naturforsch., B. 28c, 737 (1973). ⁴ K. N. Kao, M. R. Michayluk, Planta, v. 115, 355 (1974). ⁵ L. C. Fowke et al., Am. J. Bot., v. 60, 304 (1973).

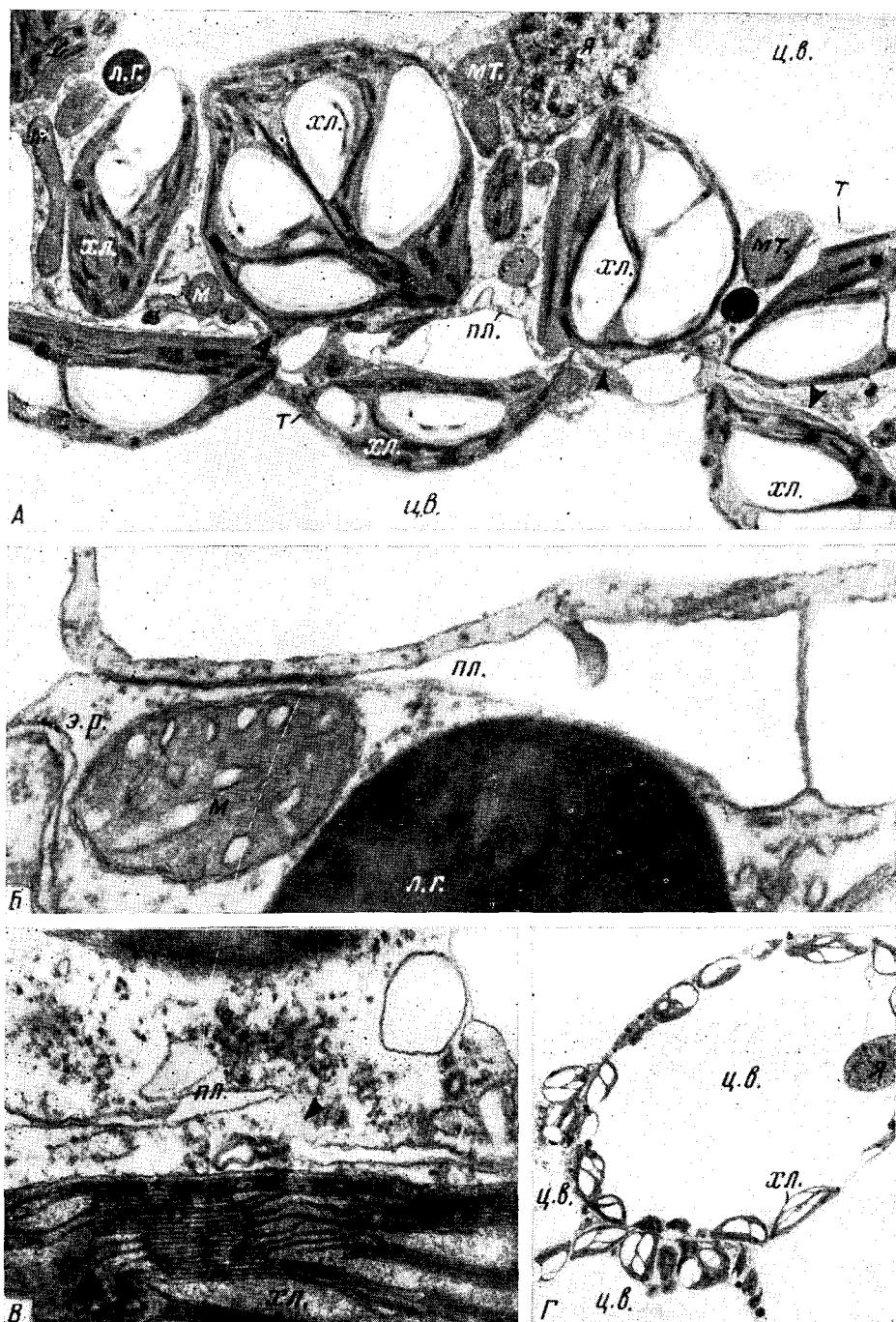


Рис. 1. *А* — ультраструктура зоны контакта двух протопластов под действием полиэтиленгликоля. Места адгезии указаны стрелками. 8700 $\times$. *Б* — участок плотной адгезии плазмалеммы и связи типа цитоплазматического мостика. 69 000 $\times$. *В* — ранняя стадия слияния протопластов. Зона слияния обозначена стрелкой. 63 000 $\times$. *Г* — общий вид трех протопластов на начальных стадиях слияния. 1700 $\times$. *я* — ядро, *хл* — хлоропласты, *м* — митохондрии, *мт* — микротельца, *э.р.* — эндоплазматический ретикулум, *я.г.* — липидные глобулы, *пл* — плазмалемма, *т* — тонопласт, *ц.в.* — центральная вакуоль