

УДК 582.26:547.979.8

В.П. КОМАРИСТАЯ, О.С. ГОРБУЛИН

Харьковский национальный ун-т им. В.Н. Каразина, кафедра ботаники

Украина, 61077 Харьков, пл. Свободы, 4

**СПОРОПОЛЛЕНИН В СОСТАВЕ КЛЕТОЧНЫХ ОБОЛОЧЕК
ЗИГОТ *DUNALIELLA SALINA* TEOD. (*CHLOROPHYTA*)**

В лабораторной культуре *Dunaliella salina* Teod. получены зиготы, в составе клеточных оболочек которых установлено присутствие устойчивого к ацетолиту полимера – спорополленина. Обсуждается функция β -каротина, накапливающегося в липид-каротиноидных глобулах в клетках этих микроводорослей, как возможного предшественника материала клеточных оболочек зигот.

Ключевые слова: *Dunaliella*, зиготы, спорополленин, β -каротин.

Введение

Как известно, вегетативные клетки представителей рода *Dunaliella* Teod. голые, покрыты лишь плазмалеммой либо имеют покров в виде гликокаликса (Klut et al., 1983). Клеточные оболочки известны только у зигот (гладкие) и цист (орнаментированные) (Масюк, 1973). Химическая природа клеточных оболочек зигот и цист *Dunaliella salina* Teod. не была исследована, по-видимому, вследствие отсутствия метода получения достаточного для биохимического анализа количества зигот и цист в лабораторной культуре.

Среди зеленых водорослей известны виды, обладающие способностью к сверхсинтезу и накоплению внепластидных (вторичных) каротиноидов. Наиболее ярко эта особенность выражена у водорослей экстремальных местообитаний, таких как *D. salina* (гипергалинные водоемы), *Haematococcus pluvialis* Flot. emend. Wille (эфмерные водоемы) и *Chlamydomonas nivalis* (Bauer) Wille (высокогорные ледники и снежники). Эти виды вызывают "красное цветение" соответствующих местообитаний (Масюк, 1973; Goodwin, 1974).

Способность водорослей продуцировать вторичные каротиноиды связывают со способностью синтезировать специфический полимер клеточных стенок – спорополленин (Atkinson et al., 1972). Каротиноиды давно рассматриваются в качестве возможных предшественников спорополленина (Brooks, Shaw, 1968). Для морской микроводоросли *Nannochlorum eucaryotum* (Wilhelm, Eisebeis, Wild et Zahn) Menzel et Wild, накапливающей астаксантин и кантаксантин, было установлено присутствие спорополленина в клеточных оболочках (Geisert et al., 1987). Имеются косвенные данные, указывающие на то, что спорополленин входит в состав оболочек цист (апланоспор) *Haematococcus pluvialis*, о чем свидетельствует устойчивость оболочек к кислотному и щелочному гидролизу, установленная Montsant et al. (2001), и *Chlamydomonas nivalis*, на что указывает спектр поглощения оболочек в ультрафиолетовой области (Gorton, Vogelmann, 2003).

© В.П. Комаристая, О.С. Горбулин, 2006

Цель данной работы – проверить гипотезу о том, что в состав клеточных оболочек зигот *D. salina* входит спорополленин, а следовательно, образование клеточных оболочек зигот может быть, по крайней мере, одной из функций вторичного β -каротина *D. salina*.

Материалы и методы

Объект исследования. Культура *Dunaliella salina* была выделена из садочных бассейнов солепромысла, расположенного на озере Сасык (Сакский р-н, Автономная Республика Крым) в 2004 году и поддерживалась на питательной среде, приготовленной с использованием морской соли (250 г/л). При первом пассаже этой культуры на среду Артари в модификации Н.П. Масюк (1973) наблюдалась адгезия клеток к стенкам колбы, а через 4-5 недель – массовое образование на стенках колбы скоплений шаровидных оранжевых клеток с гранулированным содержимым, покрытых гладкой оболочкой. Этот материал собирали шпателем и помещали в лунки предметных стекол для дальнейшего исследования.

Проведение цитохимической реакции на целлюлозу. Для изучения химической природы клеточной оболочки в нативном препарате проводили реакцию с хлор-цинк-йодом (Evans, 1989).

Выделение и идентификация спорополленина. Спорополленин является единственным природным полимером, устойчивым к ацетолу, поэтому сохранение в препарате клеточных оболочек после проведения ацетолу является доказательством присутствия в них спорополленина (Dickinson, Bell, 1973). Процедуру ацетолу (Atkinson et al., 1972) адаптировали для предметных стекол с лунками. Препараты последовательно промывали смесью хлороформ : метанол (1:2, по объему), 1 н. NaOH, 0,1 М ацетатом натрия и ледяной уксусной кислотой. Затем в лунки предметных стекол добавляли смесь для ацетолу (уксусный ангидрид : концентрированная серная кислота, 9:1, по объему). Стекла помещали в чашку Петри на кипящую водяную баню (90-95 °С) на 10 мин, затем охлаждали. В ходе обработки контролировали состояние препаратов под микроскопом Ergaval (Carl Zeiss), результаты обработки регистрировали микрофотокамерой с помощью цифрового фотоаппарата Olympus C5050Z. Опыт повторяли трижды.

Результаты

В материале, снятом шпателем со стенок колб, в которых культивировали *D. salina* на среде Артари в модификации Н.П. Масюк (1973), среди вегетативных клеток наблюдались скопления (кластеры) круглых оранжевых клеток диаметром 17-27 мкм с гранулированным содержимым и гладкой оболочкой розоватого оттенка (рис. 1), которые соответствовали описанию зигот (Масюк, 1973). В то же время, в жидкой культуре встречались только вегетативные клетки, а зиготы отсутствовали.

Хлор-цинк-йод оболочки зигот не окрашивал, что позволяет исключить присутствие в них целлюлозы, пектина, а также кутина, суберина и лигнина (Evans, 1989).

Пигменты зигот *D. salina*, в отличие от вегетативных клеток в препарате, не экстрагировались органическими растворителями. Зиготы оказались устойчивыми к действию щелочи (1 н. NaOH), концентрированной кислоты (ледяной уксусной) и смеси для ацетолита при комнатной температуре (рис. 2). После последовательной обработки этими реагентами наблюдалось лишь отслаивание протопластов зигот от оболочек (плазмолиз) (см. рис. 2).

Рис. 1. Скопление зигот *Dunaliella salina* Teod. в материале, адгезировавшем к стенкам культивационной колбы (показано стрелкой).

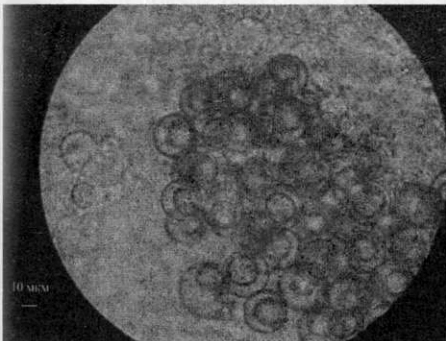
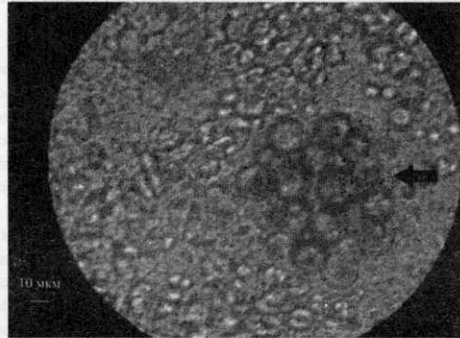


Рис. 2. Зиготы *Dunaliella salina* Teod. после последовательной обработки смесью хлороформ : метанол (1:2, по объему), 1 н. NaOH, 0.1 М ацетатом натрия, ледяной уксусной кислотой и смесью уксусный ангидрид : концентрированная серная кислота (9:1, по объему) при комнатной температуре.

Нагревание на кипящей водяной бане в течение 10 мин в смеси для ацетолита приводило к полному растворению протопластов зигот и вегетативных клеток в препарате. Оболочки зигот при этом сохранялись (рис. 3). Связь между клеточными оболочками соседних зигот нарушалась в ходе ацетолита, так как последующие промывки дистиллированной водой приводили к полному распаду

кластера на отдельные оболочки. По данным Atkinson et al. (1972), для полного растворения клеточных оболочек, не содержащих спорополленин, требуется от нескольких секунд до 1 минуты нагревания в смеси для ацетализа. Устойчивость клеточных оболочек зигот *D. salina* к ацетализу свидетельствует о присутствии в них спорополленина.

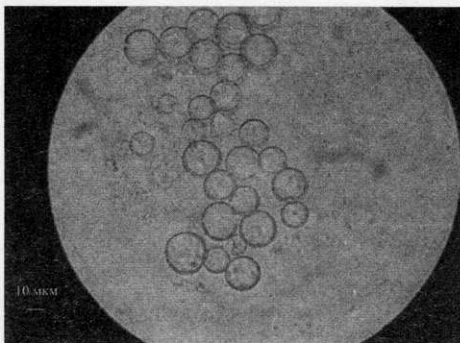


Рис. 3. Клеточные оболочки зигот *Dunaliella salina* Teod. после 10 мин нагревания на кипящей водяной бане (90-95 °С) в смеси уксусный ангидрид/концентрированная серная кислота (9:1, по объему).

Обсуждение

Спорополленин принадлежит к группе высокоустойчивых природных полимеров, но в отличие от других веществ с подобными свойствами – лигнина, кутина, суберина (Eglinton, Logan, 1991) – он имеется не только у высших растений. Спорополленин был выявлен у миксобактерий (Strohl, 1977), в оболочках плодовых тел и спор слизевика *Dictyostelium discoideum* Raper (Maeda, 1984), в стенках зигоспор *Mucor mucedo* L. (Brooks, Shaw, 1968), в оболочках аскоспор дрожжей *Neurospora crassa* Shear et Dodge (Gooday, 1974), в клеточных стенках вегетативных клеток ряда видов водорослей класса *Chlorococophyceae* (Atkinson et al., 1972) и зигот класса *Volvocophyceae* (Sulek, 1997; Van Winkle-Swift, Rickoll, 1997; Blokker et al., 1999), а также в экзине спор высших споровых и пыльцы семенных растений. Он обладает исключительной устойчивостью к физическим и химическим воздействиям, а также к микробному разложению, благодаря чему пыльца и споры в ископаемом состоянии сохраняют свою морфологию в течение миллионов лет (Brooks, Shaw, 1978). Спорополленин обладает высокой сорбционной способностью. Опыты, проведенные на крысах, получавших с кормом пестициды, показали, что спорополленин, выделенный из клеток *Chlorella* Beyer, может использоваться *per os* для детоксикации ксенобиотиков (Pore, 1984). Предлагается использовать спорополленин в качестве носителя в методиках синтеза белков в системах *in vitro* (Mackenzie, Shaw, 1980). Считают, что отложения спорополленина на поверхности клеток талетума –

орбикулы, освобождающиеся в атмосферу вместе с пылью, ответственны за аллергические реакции у человека (Vinkier, Smets, 2001).

Этот уникальный биополимер исследуется уже почти 200 лет (John, 1814), но из-за его химической инертности и нерастворимости в большинстве растворителей изучению спорополленина посвящено сравнительно немного работ (Guilford et al., 1988). До сих пор не выяснены механизмы биосинтеза спорополленина и остается дискуссионным вопрос о его химической структуре и предшественниках.

Установлено, что при микроспорогенезе у цветковых спорополленин откладывается на поверхности плазматической мембраны развивающейся микроспоры экзогенно в результате полимеризации предшественников, которые секретируются клетками тапетума (Pacini et al., 1985). Синтез и отложение спорополленина происходит довольно быстро на ранних стадиях микроспорогенеза (Chau et al., 1992). Характер отложения спорополленина определяется фибриллярным матриксом, состоящим из углеводов и белков, который формируется на поверхности плазматической мембраны микроспоры примэкиной или гликокаликсом (Heslop-Harrison, 1968b; Rowley, 1973; Steer, 1977). Роль белков в синтезе спорополленина остается не выясненной (Chau et al., 1992), поэтому до сих пор не известно, является ли синтез спорополленина ферментативным процессом.

Каротиноиды были первыми предложены в качестве возможных предшественников спорополленина. Было показано включение ^{13}C -меченых каротиноидов в спорополленин пыльцы *Lilium* L. и *Cucurbita* L. (Brooks, Shaw, 1968), а также включение экзогенного ^3H -меченого β -каротина в спорополленин у гриба *N. crassa* (Gooday, 1974). Однако, как оказалось, ингибиторы каротиногенеза не подавляют синтез спорополленина у *Cucurbita pepo* L. (Prahl et al., 1985). ЯМР-спектроскопия образцов спорополленина из различных природных источников (*Triticum aestivum* L., *Pinus thunbergii* Parl., *Zea mays* L., *Ambrosia trifida* L., *Lycopodium* sp., *Chlorella fusca* Shihira et Krauss) показала, что спорополленин – это целый класс макромолекул, имеющих видоспецифичный состав, причем основным компонентом, общим для разных видов, являются жирные кислоты, а не каротиноиды (Guilford et al., 1988). В составе спорополленина высших растений был выявлен еще целый ряд компонентов, например у *Typha angustifolia* L. – алифатические полигидроксисоединения, связанные простыми эфирными связями (Ahlers et al., 2000; Bubert et al., 2002), и фенольные компоненты (Ahlers et al., 2003). Фенольные соединения – кумаровая и феруловая кислоты – были выявлены в составе спорополленина у целого ряда видов семенных растений (*Vicia faba* L., *Betula pendula* Roth, *Helleborus foetidus* L., *Pinus sylvestris* L.) (Rozema et al., 2001). Меченый фенилаланин включался в состав спорополленина микроспор *Tulipa* L. (Prahl et al., 1986). Спорополленин *T. aestivum* был охарактеризован как фенилпропанонид-липидный полимер, содержащий длинноцепочечные спирты (Wang et al., 2002).

Тем не менее, участие каротиноидов в образовании спорополленина полностью отрицать нельзя, по крайней мере, для ряда видов. Так, ЯМР-спектр спорополленина *Lycopodium* sp. показал его существенное структурное сходство с искусственно синтезированным полимером β -каротина (Guilford et al., 1988). Включение β -каротина в состав оболочки пыльцы у ряда видов может

происходить и без полимеризации. У *Lilium* каротиноидный материал синтезируется на поздних этапах микроспорогенеза, секретируется клетками тапетума, и, связываясь с фибриллярным матриксом клеточной стенки микроспоры, заполняет полости в ранее синтезированной экзине (Heslop-Harrison, 1968a). Этот маслянистый материал не полимеризуется, но придает пыльце окраску и устойчивость к ультрафиолетовой радиации, а также цементирует пыльцевые зерна вместе при опылении у некоторых энтомофильных видов (Heslop-Harrison, 1968a).

Структуры, содержащие β -каротин у *D. salina*, напоминают так называемые тельца Убиха, содержащие предшественники спорополленина в клетках тапетума у высших растений. Исследования ультраструктуры клеток *D. salina* показали, что β -каротин локализован в липидных глобулах диаметром 100-200 нм, располагающихся на периферии хлоропласта по внутренней стороне его мембраны, а также выстилающих изнутри плазматическую мембрану клетки (Владимирова, 1978; Владимирова, Абдуллаев, 1979), причем цитоплазматические глобулы имеют хлоропластное происхождение (Hejazi et al., 2004). Было установлено, что β -каротин составляет 65% массы глобул, липиды – 28% (Рамазанов и др., 1988). Липидный компонент глобул представлен в основном триглицеридами, их накопление сопровождается аккумуляцией β -каротина (Rabbani et al., 1998). Сходную внутриклеточную локализацию имеют и вторичные каротиноиды *Chlamydomonas nivalis* (Weiss, 1983) и *Haematococcus pluvialis* (Grünwald et al., 2000). Как и липидно-каротиноидные глобулы микроводорослей (Katz et al., 1995), тельца Убиха содержат липиды и специфические низкомолекулярные белки, которые, возможно, выполняют транспортную функцию (Staiger et al., 1998).

Есть данные, свидетельствующие о том, что клетки *Dunaliella*, подобно клеткам тапетума, способны секретировать содержимое липид-каротиноидных глобул в среду (Bozhkov, Menzjanova, 1995; Клячко-Гурвич и др., 1997; Hejazi et al., 2004). Возможно, этот процесс имеет место и при синтезе спорополленина клеточных стенок зигот *D. salina*, а липиды глобул являются его предшественниками. Можно предположить, что β -каротин включается в состав спорополленина посредством полимеризации и/или в качестве цементирующего компонента. В пользу последнего может свидетельствовать кластерный характер расположения зигот (см. рис. 1) и их адгезия к стенкам колбы. Выяснение химической структуры спорополленина *D. salina*, как и других видов водорослей, требует специального исследования.

Кластерное расположение зигот *D. salina* (см. рис. 1) ранее в литературе не описывалось. Возможно, оно характерно только для условий культуры и требует чистой, хорошо освещенной поверхности стекла. Такое расположение может быть следствием массовой копуляции, которая типична для *Dunaliella* (Масюк, 1973). Диаметр зигот в культуре составлял 17-27 мкм и соответствовал диапазону (12-28 мкм), указанному в диагнозе вида (Дедусенко-Щеголева и др., 1959).

О том, что при действии полярных растворителей зиготы *D. salina* не разрушаются, не теряют пигментов (см. рис. 2) и сохраняют жизнеспособность, известно давно (Радченко, Масюк, 1969; Масюк, 1973). Следовательно, оболочка зигот непроницаема для органических растворителей. Плазмолиз в растворах

зигот непроницаема для органических растворителей. Плазмолиз в растворах кислот и щелочей (см. рис. 2) показывает, что клеточная стенка зигот является водонепроницаемой. В этом отношении оболочка зигот *D. salina* сходна с эскиной пыльцевых зерен *Pinus sylvestris* L., которая имеет узкие поры, пропускающие молекулы воды (Bohne et al., 2003).

Функции каротиноидов, накапливающихся в результате влияния разнообразных неблагоприятных факторов в клетках водорослей, которые обитают в экстремальных условиях среды, до сих пор окончательно не выяснены. В литературе приводится целый ряд гипотез. Наиболее распространенные из них: липид-каротиноидные глобулы экранируют хлоропласт при избыточном освещении (Bidigare et al., 1993), каротиноиды глобул выполняют антиоксидантную функцию (Grunewald et al., 2000). Кроме того, показано, что продукты метаболизма каротиноидов в животных клетках (витамин А и его аналоги), клетках грибов (триспоровые кислоты) и растений (абсцизовая кислота) регулируют пролиферацию и дифференцировку клеток (Olson, 1993). Вполне вероятно, что каротиноиды у водорослей экстремальных местообитаний обладают полифункциональностью. Участие в образовании клеточных оболочек покоящихся стадий жизненного цикла может быть еще одной функцией каротиноидов у этих водорослей.

Выводы

1. В культуре получены зиготы *Dunaliella salina* характерного для данного вида диаметра и морфологии.
2. В состав оболочек зигот *D. salina* входит спорополленин, который придает зиготам устойчивость к органическим растворителям, растворам кислот и щелочей, но не препятствует транспорту воды через оболочку.
3. Полученные результаты и анализ литературных данных позволяют предположить, что образование клеточных оболочек зигот может быть, по крайней мере, одной из функций вторичных каротиноидов *D. salina* и других водорослей экстремальных местообитаний.

V.P. Komaristaya, O.S. Gorbulin

Department of Botany, V.N. Karazin Kharkov National University,
4, Svobody Sq., 61077 Kharkov, Ukraine

SPOROPOLLENIN IN CELL ENVELOPES OF *DUNALIELLA SALINA* TEOD. ZYGOTES

In the envelopes of zygotes formed by laboratory culture of *Dunaliella salina* Teod. acetolysis-resistant polymer sporopollenin was recorded. Authors discuss function of β -carotene accumulating in lipid-carotenoid globules in the cells of this alga as the possible predictor of the material of the cell envelopes of zygotes.

Keywords: *Dunaliella salina*, zygote, sporopollenin, β -carotene.

- Владимирова М.Г. Ультраструктурная организация клетки *Dunaliella salina* и ее функциональные изменения в зависимости от интенсивности света и температуры // Физиол. раст. – 1978. – 25, № 3. – С. 571-576.
- Владимирова М.Г., Абдуллаев А.А. Морфология и субмикроскопическая структура *Dunaliella salina* в условиях интенсивной культуры // Роль низших организмов в круговороте веществ в замкнутых экологических системах. – Киев: Наук. думка, 1979. – С. 199-206.
- Дедусенко-Щеголева Н.Т., Матиенко А.М., Шкорбатов Л.А. Зеленые водоросли. Класс Вольвовковые. *Chlorophyta: Volvocineae*. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959. – 231 с. – (Опред. пресновод. водор. СССР. 8).
- Клячко-Гурвич Г.Л., Пронина Н.А., Фурнаджиева С., Рамазанов З.М., Петков Г. Действие субоптимальной температуры на липидный состав и состояние мембран *Dunaliella salina* // Физиол. раст. – 1997. – 44, № 2. – С. 212-221.
- Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. и перспективы его практического использования. – Киев: Наук. думка, 1973. – 244 с.
- Радченко М.И., Масюк Н.П. К методике хроматографического изучения пигментов полиблефаридовых водорослей // Гидробиол. журн. – 1969. – 5, № 4. – С. 130-132.
- Рамазанов З.М., Клячко-Гурвич Г.Л., Ксенофонтов А.Л., Семенов В.Е. Влияние субоптимальной температуры на содержание β-каротина и липидов у галофильной водоросли *Dunaliella salina* // Физиол. раст. – 1988. – 35, № 5. – С. 864-869.
- Ahlers F., Bubert H., Steuernagel S., Wiermann R. The nature of oxygen in sporopollenin from the pollen of *Typha angustifolia* L. // Z. Natur. – 2000. – 55, N 3/4. – P. 129-136.
- Ahlers F., Lambert J., Wiermann R. Acetylation and silylation of piperidine solubilized sporopollenin from pollen of *Typha angustifolia* L. // Ibid. – 2003. – 58, N 11/12. – P. 807-811.
- Atkinson A.W.J., Gunning B.E.S., John P.C.L. Sporopollenin in the cell wall of *Chlorella* and other algae: ultrastructure, chemistry and incorporation of ¹⁴C-acetate, studied in synchronous cultures // Planta. – 1972. – 107, N 1. – P. 1-32.
- Bidigare R.R., Ondrusek M.E., Kennicut M.C., Iturriaga R., Harvey H.R., Hoham R.W., Macko S.A. Evidence for a photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae // J. Phycol. – 1993. – 29, N 4. – P. 427-434.
- Blokker P., Schouten S., de Leeuw J.W., Sinninghe Damste J.S., van den Ende H. Molecular structure of the resistant biopolymer in zygospore cell walls of *Chlamydomonas monoica* // Planta. – 1999. – 207, N 4. – P. 539-543.
- Bohne G., Richter E., Woehlecke H., Ehwald R. Diffusion barriers of tripartite sporopollenin microcapsules prepared from pine pollen // Ann. Bot. – 2003. – 92, N 2. – P. 289-297.
- Bozhkov A.I., Menzyanova N.G. Age dependence of lipid metabolism and β-carotene content in cells of *Dunaliella viridis* Teod. // Algologia. – 1995. – 5, N 1. – P. 34-38.
- Brooks J., Shaw G. Chemical structure of the exine of pollen walls and a new function for carotenoids in nature // Nature. – 1968. – 219, N 153. – P. 532-533.
- Brooks J., Shaw G. Sporopollenin: a review of its chemistry, palaeochemistry, and geochemistry // Grana. – 1978. – 17. – P. 91-97.
- Bubert H., Lambert J., Steuernagel S., Ahlers F., Wiermann R. Continuous decomposition of sporopollenin from pollen of *Typha angustifolia* L. by acidic methanolysis // Z. Natur. – 2002. – 57, N 11/12. – P. 1035-1041.
- Chay Ch.H., Buehler E.G., Thorn J.M., Whelan Th. M., Bedinger P.A. Purification of maize pollen exines and analysis of associated proteins // Plant Physiol. – 1992. – 100, N 2. – P. 756-761.
- Dickinson H.G., Bell P.R. The identification of sporopollenin in sections of resin-embedded tissues by controlled acetolysis // Stain. Technol. – 1973. – 48, N 1. – P. 17-22.

- Eglinton G., Logan G.A. Molecular preservation // Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. B. Biol. Sci. – 1991. – 30, N 333(1268). – P. 315-327.
- Evans W.Ch. Trease and Evans' Pharmacognosy. – Oxford: Alden Press. 1989. – 832 p.
- Geisert M., Rose T., Bauer W., Zahn R.K. Occurrence of carotenoids and sporopollenin in *Nannochlorum eucaryotum*, a novel marine alga with unusual characteristics // Biosystems. – 1987. – 20, N 2. – P. 133-142.
- Gooday G.W. Sporopollenin formation in the ascospore wall of *Neurospora crassa* // Arch. Microbiol. – 1974. – 101, N 2. – P. 145-151.
- Goodwin T.W. Carotenoids and biliproteins // Algal physiology and biochemistry. – Oxford; London: Black. Publ., 1974. – P. 176-205.
- Gorton H.L., Vogelmann Th.C. Ultraviolet radiation and the snow alga *Chlamydomonas nivalis* (Bauert) White // Photochem. and Photobiol. – 2003. – 77, N 6. – P. 608-615.
- Grunewald K., Eckert M., Hirschberg J., Hagen C. Phytoene desaturase is localized exclusively in the chloroplast and up-regulated at the mRNA level during accumulation of secondary carotenoids in *Haematococcus pluvialis* (Volvocales, Chlorophyceae) // Plant Physiol. – 2000. – 122, N 4. – P. 1261-1268.
- Guilford W.L., Schnieder W.M., Labovitz J., Opella S.J. High resolution solid state ^{13}C NMR spectroscopy of sporopollenins from different plant taxa // Ibid. – 1988. – 86, N 1. – P. 134-136.
- Hejazi M.A., Kleingris D., Wuyffels R.H. Mechanism of extraction of β -carotene from microalga *Dunaliella salina* in two-phase bioreactors // Biotechnol Bioeng. – 2004. – 88, N 5. – P. 593-600.
- Heslop-Harrison J. Another carotenoids and the synthesis of sporopollenin // Nature. – 1968a. – 220, N 167. – P. 605.
- Heslop-Harrison J. Wall development within the microspore tetrad of *Lilium longiflorum* // Can. J. Bot. – 1968b. – 46, N 10. – P. 1185-1192.
- John J.F. Über Befruchtenstrasse nebst eine analyse des tulpen pollens // J. Chem. Phys. – 1814. – 12. – P. 244-261.
- Katz A., Jimenez C., Pick U. Isolation and characterization of a protein associated with carotene globules in the alga *Dunaliella bardavil* // Plant Physiol. – 1995. – 108, N 4. – P. 1657-1664.
- Klut M.E., Bisalputra T., Anita N.J. Agglutination of the chlorophycean flagellate *Dunaliella tertiolecta* by treatment with lectins or divalent cations at alkaline pH // J. Phycol. – 1983. – 19, N 1. – P. 112-115.
- Mackenzie G., Shaw G. Sporopollenin. A novel, naturally occurring support for solid phase peptide synthesis // Int. J. Pept. Protein Res. – 1980. – 15, N 3. – P. 298-300.
- Maeda Y. The presence and location of sporopollenin in fruiting bodies of the cellular slime moulds // J. Cell Sci. – 1984. – N 66. – P. 297-308.
- Montsant A., Zarka A., Boussiba S. Presence of a nonhydrolyzable biopolymer in the cell wall of vegetative cells and astaxanthin-rich cysts of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) // Mar. Biotechnol. – 2001. – 3, N 6. – P. 515-521.
- Olson J.A. Molecular actions of carotenoids // Ann. NY Acad. Sci. – 1993. – N 691. – P. 156-166.
- Pacini E., Franchi G.G., Hesse M. The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in *Embryophyta* // Plant Syst. Evol. – 1985. – 149, N 3/4. – P. 155-185.
- Pore R.S. Detoxification of chlordecone poisoned rats with *Chlorella* and *Chlorella* derived sporopollenin // Drug. Chem. Toxicol. – 1984. – 7, N 1. – P. 57-71.
- Prahl A.K., Ritscher M., Wiermann R. New aspects of sporopollenin biosynthesis // Biotechnology and Ecology of Pollen. – New York: Springer Verlag, 1986. – P. 313-318.

- Prahl A.K., Springstube H., Grumbach K., Weirmann R. Studies on sporopollenin biosynthesis: the effect of inhibitors of carotenoid biosynthesis on sporopollenin accumulation // Z. Natur. – 1985. – N 40. – P. 621-626.
- Rabbani S., Beyer P., Lintig J., Huguency P., Kleinig H. Induced β -carotene synthesis driven by triacylglycerol deposition in the unicellular alga *Dunaliella bardawil* // Plant Physiol. – 1998. – 116, N 4. – P. 1239-1248.
- Rowley J.R. Formation of pollen exine bacules and microchanells on a glycoalyx // Grana. – 1973. – 13. – P. 129-138.
- Rozema J., Broekman R.A., Blokker P., Meijkamp B.B., de Bakker N., van de Staaij J., van Beem A., Ariese F., Kars S.M. UV-B absorbance and UV-B absorbing compounds (para-coumaric acid) in pollen and sporopollenin: the perspective to track historic UV-B levels // J. Photochem. Photobiol. B. – 2001. – 62, N 1/2. – P. 108-117.
- Staiger D., Kappeler S., Muller M., Apel K. The proteins encoded by two tapetum-specific transcripts, Sa tap35 and Sa tap44, from *Sinapis alba* L. are localized in the exine cell wall layer of developing microspores // Planta. – 1994. – 192, N 2. – P. 221-231.
- Steer M.W. Differentiation of the tapetum in *Avena*. I. The cell surface // J. Cell Sci. – 1977. – 25, N 1. – P. 125-138.
- Strohl W.R., Larkin J.M., Good B.H., Chapman R.L. Isolation of sporopollenin from four myxobacteria // Can. J. Microbiol. – 1977. – 23, N 8. – P. 1080-1083.
- Sulek J. Variations of the surface sculpture and cell wall ultrastructure of the zygospores in *Chlamydomonas gettleri* (Chlorophyta) // Bot. Acta. – 1997. – 110, N 6. – P. 444-451.
- Van Winkle-Swift K.P., Rickoll W.L. The zygospore wall of *Chlamydomonas monoica* (Chlorophyceae): morphogenesis and evidence for the presence of sporopollenin // J. Phycol. – 1997. – 33, N 4. – P. 655-665.
- Vinckier S., Smets E. The potential role of orbicules as a vector of allergens // Allergy. – 2001. – 56, N 12. – P. 1109-1111.
- Wang A., Xia Q., Xie W., Dumonceaux T., Zou J., Dalla R., Selvaraj G. Male gametophyte development in bread wheat (*Triticum aestivum* L.): molecular, cellular, and biochemical analyses of a sporophytic contribution to pollen wall ontogeny // Plant J. – 2002. – 30, N 6. – P. 613-623.
- Weiss R.L. Fine structure of the snow alga (*Chlamydomonas nivalis*) and associated bacteria // J. Phycol. – 1983. – 19, N 2. – P. 200-204.

Получена 11.10.05

Подписала в печать Т.В. Догадина