*ОНТОГЕНЕЗ, 2023, том 54, № 5, с. 283–305*

**ОБЗОРЫ**

*УДК 57.032:581.331.2:576.314.6:57.012.4+577.22:544.77.022.532:544.72.05*

# РОЛЬ ФИЗИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ ОБОЛОЧКИ ПЫЛЬЦЫ: ГИПОТЕЗА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

**© 2023 г. Н. И. Габараева***

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376 Россия*

**E-mail: 1906ng@mail.ru*

Поступила в редакцию 01.02.2023 г.
После доработки 02.07.2023 г.
Принята к публикации 18.07.2023 г.

Обзор посвящен анализу и обобщению современных знаний о процессах, лежащих в основе онтогенеза оболочки мужского гаметофита. Обсуждены новые и ранее полученные данные по развитию экзины, а также выделены фазы, повторяющиеся в развитии экзины филогенетически далеких друг от друга видов растений. Хотя показано, что формирование экзины зависит от множества генов, повторяемость паттернов экзины у различных видов растений (например, колумеллятной и гранулярной эктэкзины, ламелл эндэкзины с “белыми линиями”) позволяет предположить, что эти паттерны основаны на неких небиологических принципах заполнения пространства. Механизмы, вовлеченные в развитие экзины, оставались неясными до тех пор, пока не было показано, что последовательность структур, наблюдаемая в ходе развития экзины, совпадает с последовательностью самоорганизующихся мицеллярных мезофаз. Позднее было обнаружено, что в формировании экзины участвует и другой физико-химический процесс – фазовое разделение. Чтобы подтвердить, что экзино-подобные паттерны могут генерироваться *in vitro* за счет простых физических процессов, и их формирование не требует регуляции на уровне генома, нами и другими авторами был предпринят ряд экспериментов. В обзоре обсуждены полученные в этих экспериментах данные. Несколько серий наших новых опытов по моделированию развития экзины с применением смесей поверхностно-активных веществ привели к получению структур, симулирующих основные типы экзины. Анализ образцов методом трансмиссионной электронной микроскопии показал, что эти структуры формируются за счет совместного действия фазового разделения и мицеллярной самоорганизации. Пересмотр и анализ данных по морфогенезу экзины и по моделированию ее формирования выявили, что молекулярно-генетические механизмы и физические силы работают в тандеме, со значительным вкладом физических процессов.

*Ключевые слова:* оболочка пыльцевого зерна, развитие пыльцы, физические силы, самоорганизация, мицеллярные мезофазы, фазовое разделение, моделирование морфогенеза

**DOI:** 10.31857/S0475145023050051, **EDN:** KAHONH

## ВВЕДЕНИЕ

Одна из наиболее интересных черт оболочек пыльцы и спор – их широкое морфологическое и ультраструктурное разнообразие. Именно эта черта дает возможность идентифицировать ископаемые пыльцевые зерна в дисперсном состоянии и помогает проводить исследования в области палеоэкологии и изменения климата. Происхождение этого структурного многообразия было трудно объяснить. Тем не менее, еще в 1935-м г. Вудхаус (Wodehouse, 1935) использовал идеи Томпсона (Thompson, 1917) о роли механических и физических процессов в морфогенезе для интерпретации структурного многообразия пыльцы.

В наше время авторы, работающие в клеточной биологии и биологии развития, подчеркивают важность биофизических систем контроля процессов развития (Ingber, Jamieson, 1985; Ingber, 1993, 2003a, 2003b; Lecuit, Lenne, 2007; Lecuit, 2008; Lintilhac, 2014; Lintilhac et al., 2019; Stillman, Mayor, 2023). Были опубликованы обзоры, демонстрирующие роль процессов самоорганизации в биологических системах (например, Kauffman, 1993; Kurakin, 2005; Benítez, 2013; Schweisguth, Corson, 2019; Curantz, Manceau, 2021). Показано, что физические механизмы, в том числе процессы саморганизации участвуют в образовании различных паттернов и структур (Coen, Meyerowitz, 1991; Lecuit, Lenne, 2007; Lecuit, 2008; Shapiro et al., 2015; Schweisguth, Corson, 2019). Действительно, с точки зрения биофизики, морфогенез на тканевом уровне осуществляется “в результате взаимо-

действия свойств тканей и действующих на эти ткани механических сил" (Shellard, Mayor, 2023). Мандельброт (Mandelbrot, 1982, p. 162) утверждал по поводу центрального основного свойства биологической формы, что: "Характеристикам, предопределенным геометрией, незачем загромождать генетический код". Имеется много хорошо изученных примеров самоорганизации на молекулярном уровне (Sitte, 1981), в том числе формирование нуклеосом, рибосом, полиферментных комплексов, микротрубочек, микрофиламентов, миофиламентов и других компонентов цитоскелета (например, Vignaud et al., 2012; Kadzik et al., 2020). Эти явления близки к самоорганизации в неживых системах. Геном в этом случае предоставляет начальные условия процессов развития (Regier, Hatzopoulos, 1988). Более того, сама плазматическая мембрана клетки и ее поверхностный покров – гликокаликс – также строятся путем самоорганизации. Однако роль физических сил, широко признанная в других областях биологии развития, все еще недооценивается специалистами, изучающими формирование таксон-специфичных форм оболочек пыльцевых зерен.

Идея о том, что физико-химический процесс, самоорганизация может участвовать в развитии стенки пыльцевого зерна, была впервые введена Хеслоп-Харрисоном (Heslop-Harrison, 1972) и позже развита другими авторами (Герасимова-Навашина, 1973; Sheldon, Dickinson, 1983; Dickinson, Sheldon, 1986; Габараева, 1990, Gabarayeva, 1993; van Uffelen, 1991; Hemsley et al., 1992; Blackmore et al., 2007, 2010). Хорошо известное, удивительное сходство паттернов экзины у многих неродственных видов ясно указывает, что формирование этих паттернов основано на каких-то физических закономерностях, таких как операции заполнения пространства (Scott, 1994).

Важная мысль о том, что самоорганизующиеся физико-химические взаимодействия вмешиваются в формирование паттернов в живых системах, принадлежит Д'Арси Томпсону (D'Arcy Thompson, 1917). Предположение о том, что гликокаликс, основа для будущей экзины в тетрадном периоде микроспор, является самоорганизующейся коллоидной системой (Габараева, 1990a, Gabarayeva, 1993), оказалось хорошим дополнением к предположению о коллоидно-мицеллярной природе спорополленина (Hemsley et al., 1992; Collinson et al., 1993). Наша совместная гипотеза о значительном участии процессов самоорганизации в формировании экзины (Gabarayeva, Hemsley, 2006; Hemsley, Gabarayeva, 2007) интерпретировала процесс формирования экзины как разворачивающуюся последовательность мицеллярных мезофаз с последующей аккумуляцией спорополленина.

То, что гликокаликс микроспор (=примэкзиновый матрикс по Heslop-Harrison, 1972) состоит главным образом из гликопротеинов, было показано гистохимически (Rowley, 1971, 1973; Pettitt, Jermy, 1974; Rowley, Dahl, 1977; Pettitt, 1979). Паули (Rowley, 1975) показал также присутствие в гликокаликсе липополисахаридов.

Многие гликопротеины и липополисахариды являются высокомолекулярными веществами (ВМВ), которые относятся к классу поверхностно-активных веществ – сурфактантов. Важно то, что ионы $Ca^{++}$ в водной фазе вызывают поверхностную агрегацию гликопротеиновых молекул (Gingell, 1973), следовательно эти вещества обладают склонностью к структурообразованию и поверхностному мицеллообразованию (Bray, 1973). Гликопротеиновые растворы сочетают характеристики молекулярных растворов и коллоидов и известны как молекулярные коллоиды (МК). Последние являются основным содержимым живой клетки: большинство клеток содержат коллоиды, а не истинные растворы. Более того, сама цитоплаза является псевдоколлоидом. В этом смысле, значительная часть биологии является наукой о коллоидах. МК спонтанно образуют особые структурные системы, стабильные и обратимые, с размахом размера частиц в коллоидном диапазоне – от 1 до 1000 нанометров (Фридрихсберг, 1995). Механизм образования мицелл является энергетически выгодным и идет путем самоорганизации (см. более детально в Hemsley, Gabarayeva, 2007). Это означает, что для генерации мицеллярных агрегатов требуется меньше энергии, чем для их распада.

Сфера мицеллярной самоорганизации "богата и замечательна" (Scriven, 1977; Ball, 1994). Благодаря самоорганизации возникают так называемые "биконтинуальные структуры", напоминающие лабиринт. Они состоят из двух взаимопроникающих подобъемов, организованных по типу "масло-в-воде", стабилизированных молекулами сурфактантов (см. Fig. 4C в статье Hemsley, Gabarayeva, 2007). Эти структуры подобны проламеллярным телам, из которых формируются хлоропласты (Gunning, Steer, 1986). Такие структуры предоставляют наиболее эффективный механизм упаковки в пространстве (Hemsley et al., 2004). Описано много разных форм мицеллярных структур.

Мицеллы – супрамолекулярные агрегаты, которые формируются в растворах сурфактантов при некой определенной концентрации данного вещества путем самоорганизации в результате гидрофобных взаимодействий. Главная последовательность мицеллярных мезофаз и их названия показаны на рис. 1. Некоторые характеристики мицелл обобщены Хэмли (Hamley, 2000) и – вкратце – в нашем предыдущем обзоре (Габараева, 2014). Последние две мезофазы последовательности являются жидкими кристаллами (Reinitzer, 1888;

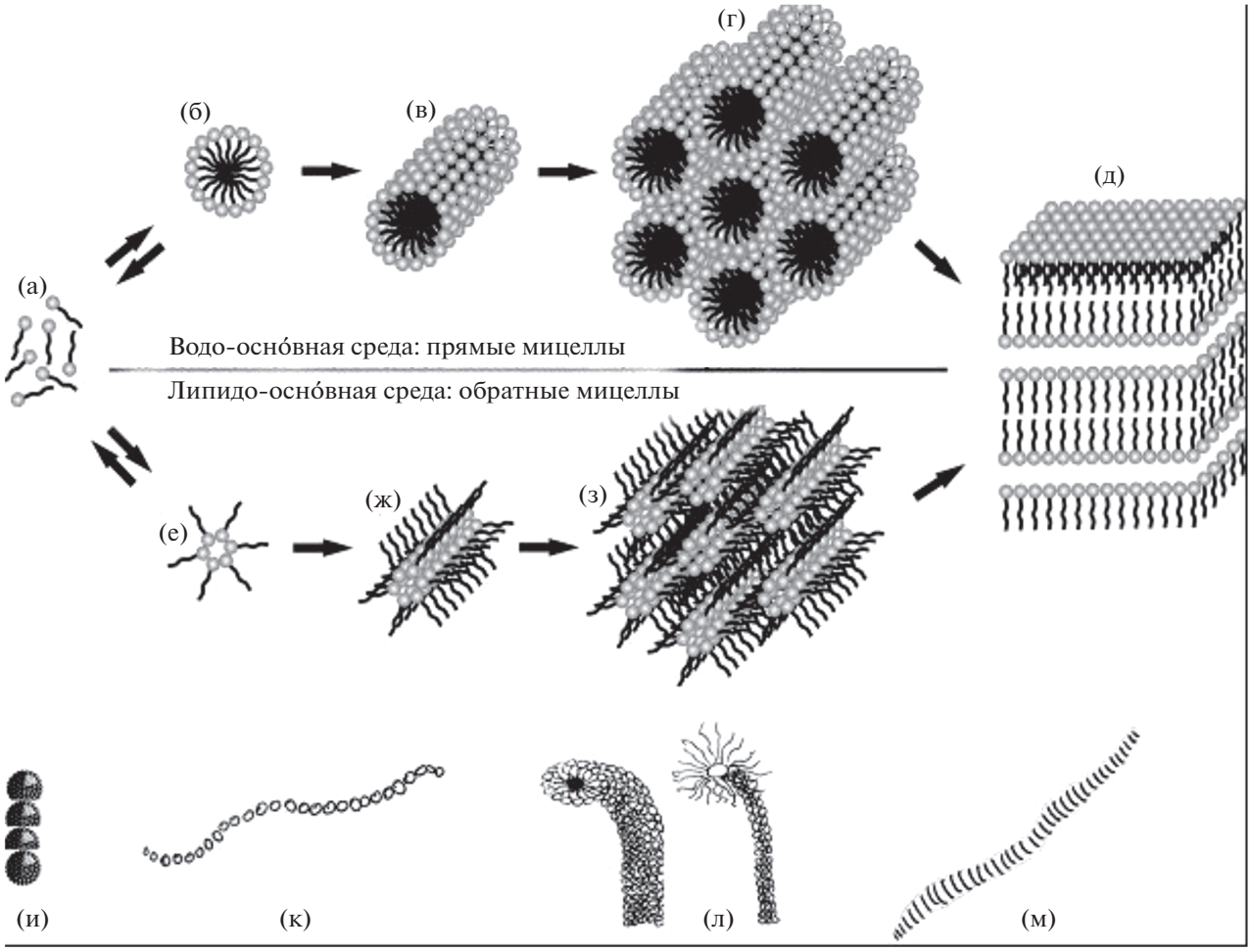



**Рис. 1.** Различные формы мицелл и их агрегатов (адаптировано из Hamley, 2000). (а–м) Сурфактанты в растворе (при условии возрастающих концентраций) демонстрируют последовательное прохождение мезофаз от дисперсных мономеров до ламеллятной организации. Эти спонтанно-образующиеся структуры принимают слегка различную (реверсную) конфигурацию в зависимости от того, формируются ли они в водо-основной или липидо-основной среде. (а) Свободные молекулы с гидрофильной головкой и гидрофобным хвостом. (б) Сферическая мицелла (в разрезе). (в) Цилиндрическая мицелла. (г) Гексагонально-упакованные цилиндрические мицеллы. (д) Ламинатные (двуслойные) мицеллы в параллельной упаковке с зазорами между бислоями (“чистая” мезофаза). Эта последняя мезофаза является конечной независимо от состава среды. (е) Обратная (реверсная) сферическая мицелла (в разрезе). (ж) Обратная (вывернутая наизнанку) цилиндрическая мицелла. (з) Обратные гексагонально-упакованные цилиндрические мицеллы (средняя мезофаза). (и) Транзитивная мезофаза между сферическими и цилиндрическими мицеллами – колонки сферических мицелл. (к) Цепочки сферических мицелл – стринги. (л) Прямая и обратная изогнутые цилиндрические мицеллы. (м) Червеобразная мицелла (из сплющенных сферических мицелл). На рис. 1 воспроизведены: Fig. 1a–f from the paper of Gabarayeva, Grigorjeva, 2016 “Simulation of exine patterns by self-assembly” from Permission and License number 5474710817880 of Springer Publishing Company.

Lehmann, 1904; Neto, Salinas, 2005). Был обнаружен феномен опалесценции, создаваемый жидкими кристаллами в живой (например, надкрылья жуков) и неживой (опал) природе (Reinitzer, 1888). Жидкие кристаллы (см. Fig. 5 в Hemsley, Gabarayeva, 2007) часто наблюдаются в цитоплазме развивающихся микроспор и тапетума (см. Fig. 5 в Gabarayeva et al., 2010: *Persea americana*). Опалесценция типична для поверхности многих пыльцевых зерен и спор, например для пыльцы *Stangeria eriopus* и *Enchephalartos altensteinii*: пыльца этих видов обладает переливчатостью при наблюдении под бинокуляром.

Молекулярно-генетические механизмы, включая дифференциальную экспрессию генома, определяют точный состав веществ и их относительные концентрации, включая предшественники спорополленина и его мономеры: жирные кислоты, фенилпропаноиды, например, *p*-кумаровую кислоту (Gubatz et al., 1986; Herminghaus et al., 1988; Wiermann, Gubatz, 1992; Wilmesmeier, Wiermann, 1995; Van Bergen et al., 2004; Hemsley et al., 1996a;

Wilmesmeier, Wiermann, 1997; Wiermann et al., 2001; Grienberger et al., 2010; Kim, Douglas, 2013; Wang et al., 2013; Quilichini et al., 2015; Li et al., 2019). Предшественники и мономеры спорополленина, будучи также поверхностно-активными веществами, доставляются в периплазматическое пространство, начиная со средней тетрадной стадии.

Известны многочисленные гены, экспрессия которых необходима для отложении экзины, так как определяет состав "строительных блоков", необходимых для ее формирования (Paxson-Sowders et al., 1997, 2001; Ariizumi et al., 2004, 2005; Dong et al., 2005; Nishikawa et al., 2005; Zhang et al., 2007; Grienenberger et al., 2010; Ariizumi, Toriyama, 2011; Dobritsa et al., 2011; Li et al., 2010; Wallace et al., 2011; Lou et al., 2014; Hu et al., 2014; Quilichini et al., 2015; Jia et al., 2015; Shi et al., 2015; Kim, 2015; Padmanaban et al., 2017; Xiong et al., 2020; Wang, Dobritsa, 2018, 2021; Li et al., 2019; Wang et al., 2021; Mi et al., 2022; Xu et al., 2022; Kanaoka et al., 2022),. Обзор по генетическим и биохимическим механизмам построения стенки пыльцевого зерна опубликован Ши с соавторами (Shi et al., 2015). Недавно был опубликован краткий обзор по цитологической и метаболической дифференциации между вегетативными клетками и клетками мужского гаметофита, с акцентом на роль временной каллозной оболочки (Liu, Wang, 2021). Однако, ничто не противоречит идее, что возникновение специфических паттернов экзины основано на физико-химических закономерностях тесной упаковки в пространстве (так называемых "операциях заполнения пространства" – Scott, 1994; Hemsley, 1998).

Цель этой работы – обрисовать главные выводы из предыдущих исследований и представить новые эксперименты по моделированию экзин для того, чтобы сформулировать главные закономерности упущенных ранее из вида механизмов морфогенеза экзины.

## РАМКИ ОБЗОРА

Обзор сфокусирован на роли физико-химических процессов в онтогенезе оболочки пыльцы. Мы сконцентрировались на наших собственных работах, а также на работах других авторов, которые имели дело с той же проблемой. Результаты последних 8-ми лет, которые прошли с нашего предыдущего обзора (Gabarayeva, 2014), пересмотрены и проанализированы. Обсуждены прежние и новые онтогенетические исследования и экспериментальное моделирование.

## ПЕРЕСМОТР КОНЦЕПЦИИ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ, ЛЕЖАЩИХ В ОСНОВЕ РАЗВИТИЯ ЭКЗИНЫ

Ключевой момент заключается в том, что вся последовательность структур, наблюдавшаяся нами в ходе развития экзины у 43 видов из отдаленных и близких таксонов, совпадает с последовательностью самоорганизующихся мицеллярных мезофаз. Возникновение этих мезофаз инициируется в периплазматическом пространстве микроспор определяемыми геномом сурфактантами (вероятнее всего – гликопротеинами и липополисахаридами) при постепенном увеличении их концентрации. Огромное разнообразие паттернов экзины возникает, по сути, на основе трех основных мицеллярных элементов: сферических, цилиндрических (палочковидных) и пластинчатых (рис. 1). В органических системах эти элементы часто слегка искажены: встречаются искривленные столбики или волнистые пластины вместо прямых. Таковы натуральные элементы, наблюдаемые в процессе развития экзины: сферические единицы голосеменных (например, гранулы экзины у *Larix*); палочковидные единицы, такие как прямые или искривленные колумеллы большинства ангиоспермовых; прямые или искривленные альвеолы (как в экзине у *Stangeria* и *Pinus*); извилистые или ровные ламеллы (как у многих оболочек спор и в эндэкзине семенных растений).

Сферические мицеллы наблюдались на ранних стадиях развития экзины у всех исследованных видов. У большинства видов мы наблюдали также колонки из сферических мицелл (которые являются транзитивной мезофазой между сферической и цилиндрической мезофазой (рис. 2: *Eupomatia laurina*, *Chamaedorea microspadix*, *Magnolia sieboldii*, *Nymphaea mexicana*, *Swida alba* и *Acer tataricum*), как и дискоидную мезофазу (колонки "монетных столбиков", сплющенные мицеллы) у цикадовых *Stangeria eriopus* и *Encephalartos altensteinii* (рис. 3а–3в; Fig. 7 в работе Hemsley, Gabarayeva 2007).

J. Rowley в своих многочисленных работах (см. полный список его статей в посвященной его памяти статье Блэкмо и Скварлы – Blackmore, Skvarla, 2012) наблюдал палочковидные элементы у большого числа видов. Он называл эти единицы пучками (tufts), (Rowley, 1990), и рассматривал как фундаментальные единицы экзины, подчеркивая их спиральную субструктуру. Спиральную субструктуру развивающихся колумелл мы наблюдали у многих изученных нами видов в тетрадном периоде; позднее она маскируется отложениями спорополленина. Спиральная субструктура цилиндрических мицелл, которой присуща закрученность, известна, например, в хиральной, нематической фазе и смектической С фазе, где молекулы рас-

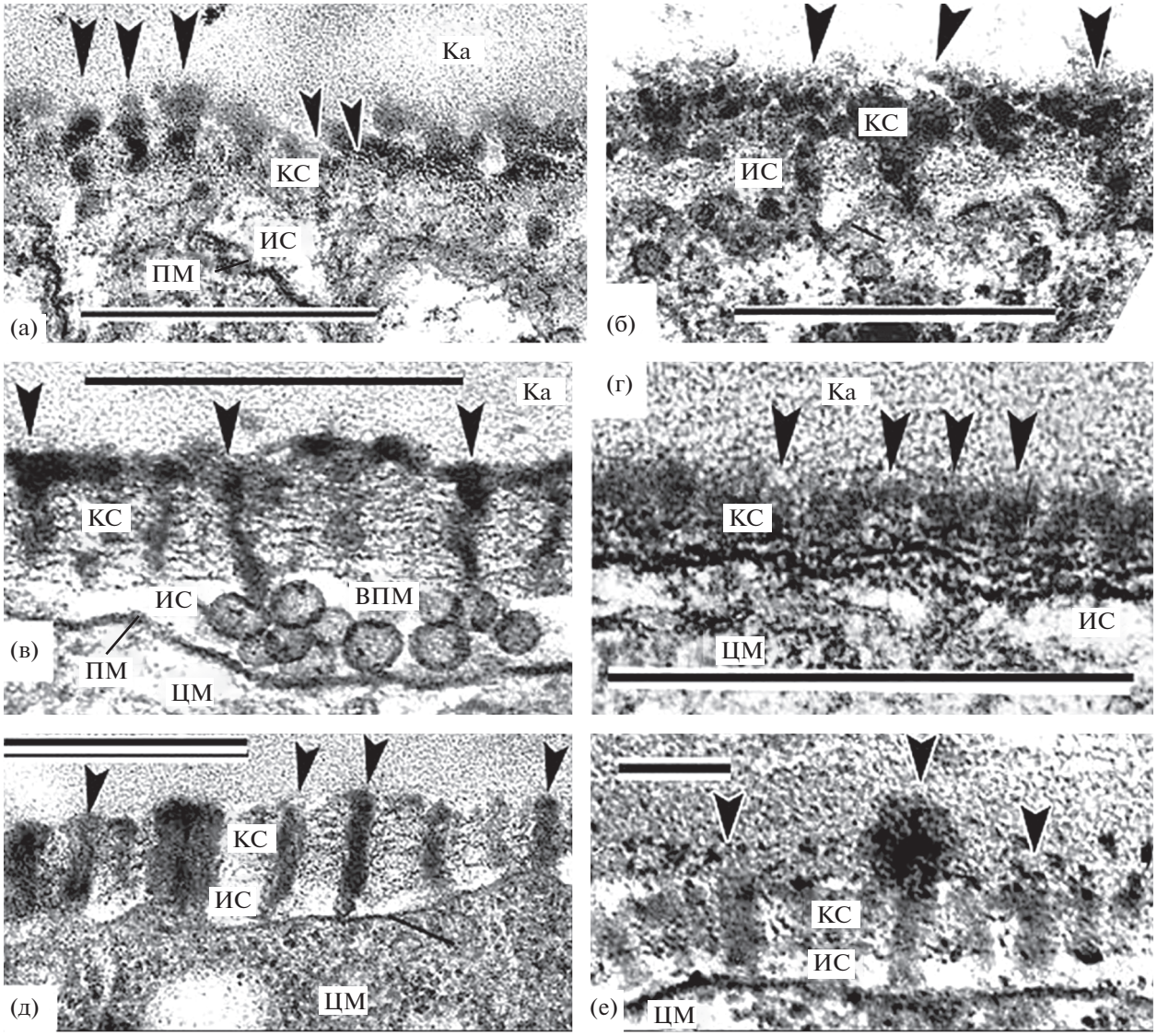



**Рис. 2.** Молодая и средняя тетрадные стадии развития микроспор у ряда видов, выявляющие инициальные мицеллярные мезофазы параллельно с фазовым разделением. (а, б) Колонки сферических мицелл на ранней тетрадной стадии у *Eupomatia laurina* и *Chamaedorea microspadix* (*головки стрелок*). (в–е) Колонки полуслившихся сферических мицелл (*головки стрелок*) на средней тетрадной стадии у (в) *Magnolia sieboldii*, (г) *Nymphaea mexicana*, (д) *Swida alba,* (е) *Acer tataricum*. Фазовое разделение в периплазматическом пространстве хорошо заметно как концентрированный (КС) и истощенный (ИС) слой. Ка – каллоза, ПМ – плазматическая мембрана, ВПМ – выросты плазматической мембраны, цм – цитоплазма микроскоры. (а–е: Fig. 3a'–f' из Gabarayeva, Grigorjeva, 2016). Масштабные линейки 0.5 мкм. На рис. 2 воспроизведены: Fig. 2 from the paper of Gabarayeva, Grigorjeva, 2016 "Simulation of exine patterns by self-assembly" from Permission and License number 5474710817880 of Springer Publishing Company).

положены винтообразным образом (см. Fig. 11, i, j в работе Gabarayeva, 2014). Мы считаем, что "тафты" (по терминологии Rowley) соответствуют цилиндрическим мицеллам или, скорее, их кластерам.

В настоящее время выяснилось, что мицеллярная самоорганизация – не единственный физический процесс, вовлеченный в развитие экзины. Другим важным процессом является фазовое разделение. Этот процесс являет собой физический механизм гетерогенного распределения веществ в неком объеме. В частности, фазовое разделение локально увеличивает концентрацию веществ в одной области периплазматического пространства, одновременно приводя к истощению в другой его области. Было показано (Lavrentovich et al., 2016), что многообразие паттернов экзины может быть объяснено фазовым переходом к пространственно измененным фазам. Последние являются геометрически правильными структурами, вызванными фазовым разделением (Leibler, Andelman, 1987). При фазовом разделении изначально сме-

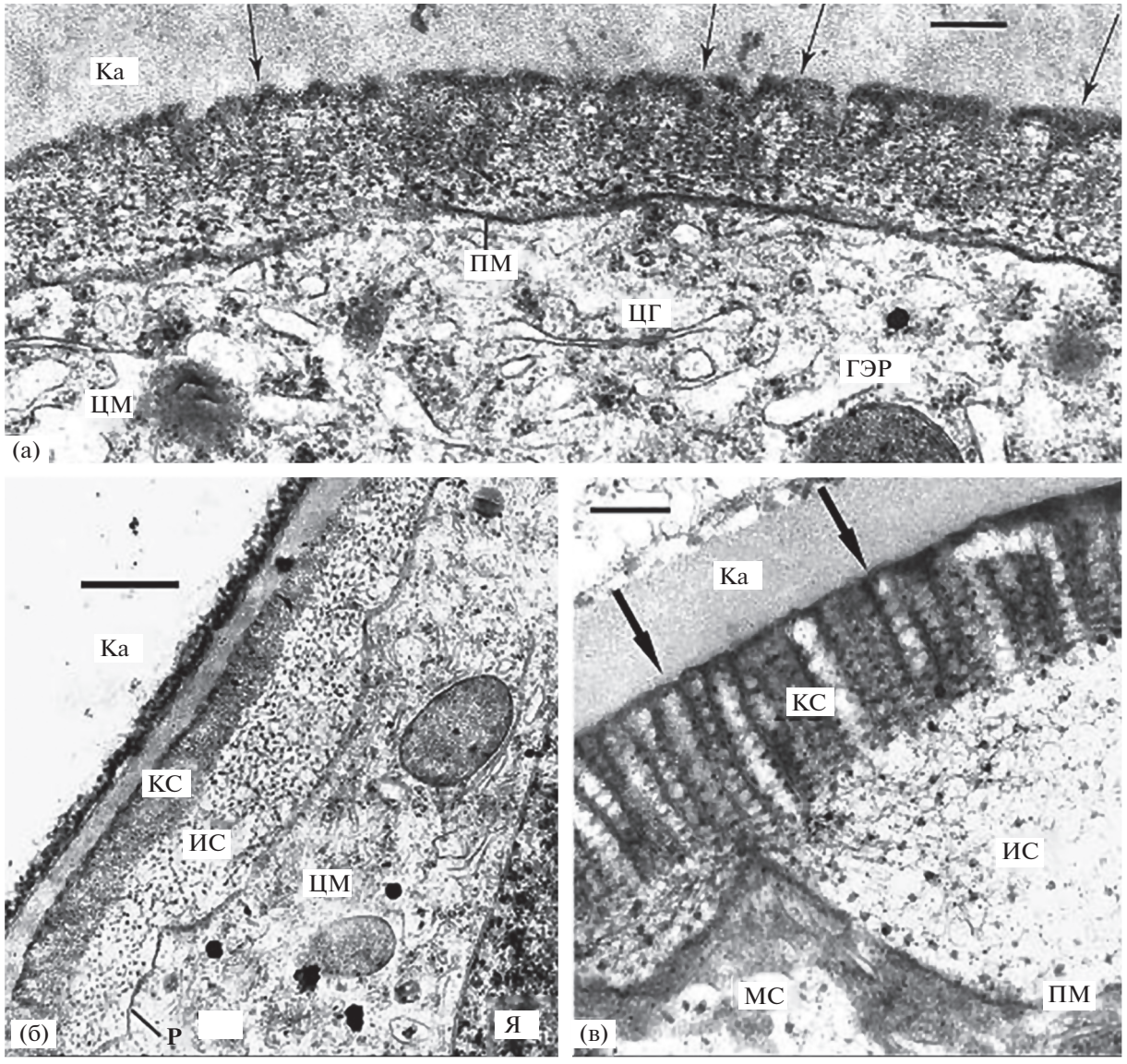



**Рис. 3.** Молодая и средняя тетрадные стадии развития микроспор у цикадовых. (а) Транзитивная мицеллярная мезофаза “монетные столбики” (колонки уплощенных сферических мицелл) при переходе от ранней к средней тетрадной стадии у *Stangeria eriopus*. Гликокаликс состоит из отдельных радиально ориентированных и тесно упакованных колонок сплющенных сферических мицелл (*стрелки*). (б, в) Средняя тетрадная стадия у *Stangeria eriopus* (б) and *Encephalartos altensteinii* (в). Фазовое разделение веществ гликокаликса привело к расслоению на концентрированный (КС) и истощенный (ИС) слои. Упорядоченная мицеллярная структура – слой цилиндрических мицелл – локализована внутри концентрированного слоя. Эта средняя (или гексагональная) мезофаза является каркасом будущей удлиненно-альвеолярной эктэкзины. ГЭР – гладкий эндоплазматический ретикулум, ЦГ – цистерны Гольджи. Остальные обозначения здесь и далее – как на рис. 2. Масштабные линейки: (а) 0.3, (б) 1, (в) 0.2 мкм. На рис. 3 воспроизведены: (а, б) Plate V, 11 and VI, 13 from the paper of Gabarayeva, Grigorjeva, 2002, “Exine development in *Stangeria eriopus* (Stangeriaceae): ultrastructure and substructure, sporopollenin accumulation, the equivocal character of the aperture, and stereology of microspore organelles”, Review of Palaeobotany and Palynology 122 (2002) 185-218, from Permission and License number 5474710508368 of ELSEVIER; (c) Plate IV, 6 from the paper of Gabarayeva, Grigorjeva, 2004, “Exine development in *Encephalartos altensteinii* Cycadaceae): ultrastructure, substructure and the modes of sporopollenin accumulation”, Review of Palaeobotany and Palynology 132 (2004) 175–193, from Permission and License number 5474710077579 of ELSEVIER.

шанные системы подвергаются фазовому расслоению (процесс, обратный смешиванию) на два или более компартмента, в результате которого в двух результирующих измененных фазах может появляться упорядоченная пространственная структура (Alberti, 2017). Позднее появилась теория, объясняющая все многообразие паттернов экзины, включая скульптуру и распределение апертур, этим физическим процессом (Radja et al., 2019). Эти авторы использовали компьютерное моделиро-

вание, чтобы показать, что в ходе развития оболочки пыльцы фазовое разделение ведет к пространственно-измененной фазе, и что паттерны оболочки пыльцы формируются путем фазового разделения примэкзины, сопряженного с извилистым профилем плазматической мембраны. Важно, что периплазматическое пространство микроспор является местом локализации сурфактантов, концентрация которых постоянно увеличивается что приводит к мицеллярной самоорганизации. Принимая во внимание этот факт, мы предложили нашу интерпретацию: после фазового разделения, структуры пространственно-измененной фазы представляют собой ничто иное как последовательность мицеллярных мезофаз (Gabarayeva et al., 2020).

Фазовое разделение играет роль во многих других клетках растений и животных, где необходимо гетерогенное распределение вещества в цитоплазме. Например, было показано, что путем изменения организации и динамики связанных с полярностью сигнал-несущих центров, фазовое разделение может служить универсальным биофизическим механизмом, лежащим, наряду с генетической регуляцией, в основе асимметричного клеточного деления (АКД) у бактерий и других организмов (Tan et al., 2022).

Радья (Radja, 2020) в своем обзоре подчеркивает, что количество отдельных компонентов экзины у различных видов неизвестно, и распределение липополисахаридов, гликопротеинов и сложных углеводов, предполагаемых как составные компоненты экзины, должно быть проверено.

Ранее мы уже подчеркивали, что тетрадный период – ключевой в онтогенезе пыльцевой оболочки. Начиная с 19-го века были проведены сотни микроскопических исследований тетрадных (и посттетрадных) стадий, особенно после появления трансмиссионного и сканирующего электронных микроскопов. Но тетрадный период получил недостаточно внимания со стороны молекулярных генетиков и биохимиков, за несколькими исключениями (например, Wang et al., 2021). Пересмотр всех наших онтогенетических данных, с акцентом на ключевой тетрадный период (см. Gabarayeva et al., 2019, 2021; Gabarayeva, Grigorjeva, 2021; Grigorjeva et al., 2021 и другие наши публикации в списке литературы) показал не только соответствие последовательности развивающихся структур мицеллярной последовательности, но также признаки фазового разделения, предшествующие каждой стадии развития экзины. По-видимому, локальное увеличение концентрации сурфактантов в одном из подобъемов периплазматического пространства является необходимым для запуска фазового перехода к следующей мезофазе, сразу после расслоения. Признаки фазового разделения и структур, соответствующих тем или иным мицеллярным мезофазам в ходе развития экзины легко видеть на наших микрографиях (рис. 2 и все последующие). Они очевидны в тетрадном периоде у видов, принадлежащих широкому спектру таксонов (от лептоспорангиатных папоротников до однодольных покрытосеменных). Наиболее выразительные признаки фазового разделения наблюдаются в ходе развития пыльцевой стенки у *Echinops exaltatus* и *Tanacetum vulgare*, тех видов Asteraceae, которые имеют сложную, “2-х этажную” экзину, состоящую из наружных тонких и внутренних толстых колумелл (рис. 4а–4г). У обоих видов фазовое разделение происходит на средней тетрадной стадии (рис. 4а, 4в), приводя сначала у *Echinops exaltatus* к образованию большой лакуны (истощенный слой – рис. 4а) и разбавленного слоя у *Tanacetum vulgare* (рис. 4в), затем к появлению толстых проколумелл внутреннего слоя у обоих видов (рис. 4б, 4г). Особым моментом является то, что вещества, заполняющие периплазматическое пространство, фазово-разделены не только параллельно плазмалемме, но и вокруг растущих колумелл (рис. 4б, *восклицательные знаки*). Это особенность, часто наблюдаемая в развитии оболочки пыльцы. Весьма вероятно, что и какой-то другой, еще не обнаруженный физический процесс вовлечен в развитие экзины, в данном случае – прерывистого внутреннего тектума (наружные колумеллы находятся в контакте с внутренними через отверстия во внутреннем тектуме – рис. 4б, 4г, *звездочки*; 4в, *стрелка*). Это должен быть самоорганизующийся реакционно-диффузионный (РД) процесс, ведущий к формированию продырявленных пластинок. Последние соответствуют РД-модели Тьюринга, одной из наиболее известных теоретических моделей саморегуляции паттернов в живых системах (Kondo, Miura, 2010).

Основные стадии развития экзины у *Trevesia burckii* показаны на рис. 5. На ранней тетрадной стадии процесс фазового разделения виден внутри инвагинаций плазматической мембраны (рис. 5а). Несколько позднее фазово-разделенные слои становятся более отчетливыми, и скопления сферических мицелл появляются внутри разбавленного слоя (рис. 5б). На средней тетрадной стадии плазмалемма глубоко и регулярно инвагинирована и несет на верхушках скопления тесно упакованных, параллельных друг другу цилиндрических мицелл (средняя мицеллярная мезофаза – рис. 5в); фазово-разделенные слои хорошо заметны. На поздней тетрадной стадии плазмалемма становится ровной, фазовое разделение – особенно хорошо заметным, и кластеры цилиндрических мицелл видны как проколумеллы после аккумуляции на них инициального спорополленина (рис. 5г).

Процесс инвагинации плазматической мембраны наблюдался у широкого круга видов и был важной предпосылкой для точной предразметки расположения колумелл: в ходе формирования проколумелл арабиногалактан-протеины (АГП)

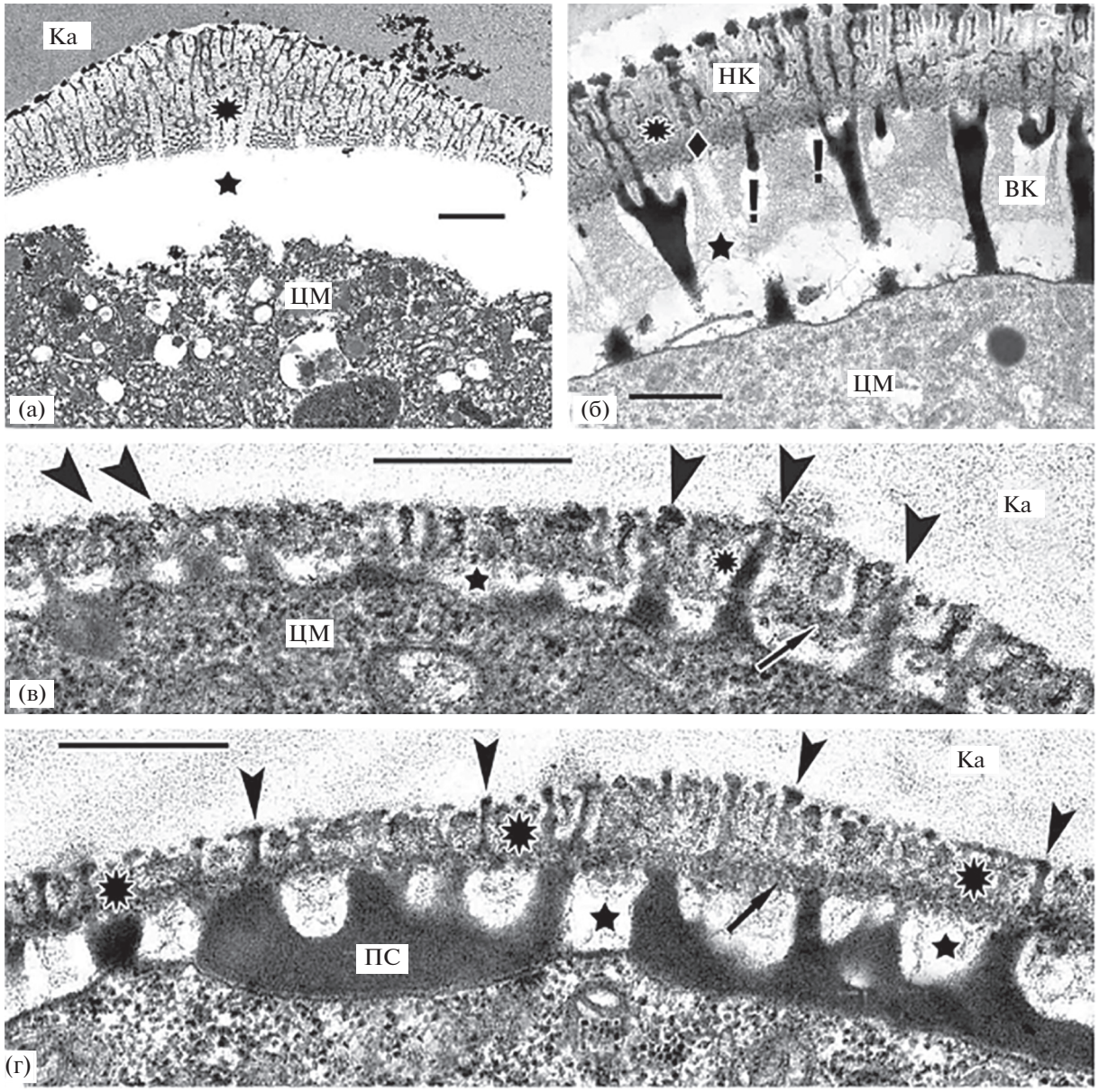



**Рис. 4.** Ярко выраженное фазовое разделение и мицеллярные структуры в тетрадном периоде у *Echinops exaltatus* и *Tanacetum vulgare*. (а, б) Средняя и поздняя тетрадные стадии у *E. exaltatus*. (а) Фазовое разделение крайне выражено: слой тесно упакованных цилиндрических мицелл (средняя мезофаза) локализован в концентрированном слое (*астерик*), а большой просвет внизу – истощенный слой (*звездочка*). (б) Поздняя тетрадная стадия: примэкзина с наружными проколумеллами (НК) и внутренними толстыми проколумеллами (ВК). Признаки фазового разделения очевидны (*астерик* и *звездочка*). Средняя (в) и поздняя (г) тетрадные стадии у *Tanacetum vulgare*. Примэкзина в процессе развития. Наружный слой тонких проколумелл (*головки стрелок*) основан на цилиндрических мицеллах (средняя мезофаза) внутри конденсированного слоя (астериски), толстые колумеллы – внутри истощенного слоя (*звездочки*). Внутренний тектум: продырявленная пластинка (*стрелки*). Масштабные линейки: (а, б) 1 мкм, (в, г) 0.5 мкм. На рис. 4 воспроизведены: (а, б) Figs. 6a, 8d from the paper of Gabarayeva et al. "Assembling the thickest plant cell wall: exine development in *Echinops* (Asteraceae, Cynareae)", Planta (2018) 248:323–346, from Permission and License number 5474711020697 of Springer Nature; (в, г) Figs. 6D, 7F from the paper of Gabarayeva et al., "Pollen wall substructure and development in tanacetum vulgare (compositae: anthemideae): revisiting hypotheses on pattern formation in complex cell walls", Int. J. Plant Sci. 177(4):347–370. 2016. The University of Chicago).

и ксиланы были обнаружены на пиках ундулирующей плазматической мембраны в тетрадном периоде (Suzuki et al., 2017). Было высказано предположение (Li et al., 2017), что арабиногалактан-протеины могут быть местами адгезии спорополленина и компоновки паттерна в раннем развитии оболочки микроспор. Это полностью совпадает с нашей давней точкой зрения на раннюю детерминацию

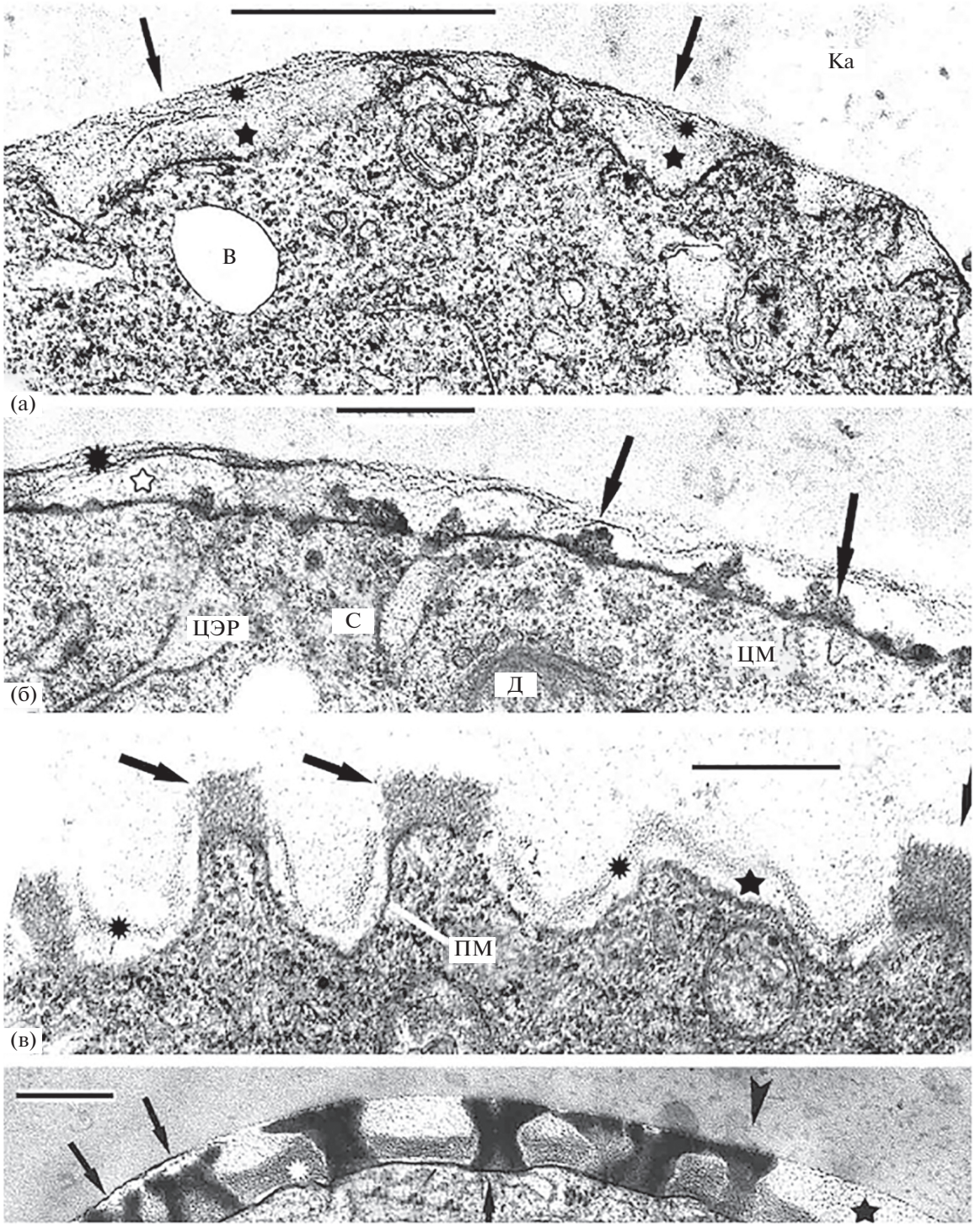



**Рис. 5.** Тетрадный период у *Trevesia burckii*. (а) Ранняя тетрадная стадия. Инициальное фазовое разделение внутри регулярных инвагинаций плазмалеммы (*стрелки*): концентрированный (*астериски*) и истощенный (*звездочки*) слои. (б) Молодая тетрада. Кластеры сферических мицелл (*стрелки*) внутри разбавленного слоя (*астериск*). (в) Средняя тетрадная стадия. На верхушках глубоко инвагинированной плазмалеммы появляются кластеры цилиндрических мицелл как основа для проколумелл (*стрелки*). Конденсированный (*астериски*) и истощенный (*звездочка*) слои выражены сильнее. (г) Поздняя тетрадная стадия. После инициальной аккумуляции спорополленина кластеры цилиндрических мицелл преобразуются в проколумеллы. Фазово-разделенные слои резко выражены и поменялись местами. ЦЭ – расширенная цистерна ЭР, В – вакуоль. Масштабные линейки: (а, б) 1мкм, (в, г) 0.5 мкм. На рис. 5 воспроизведены: (а–г) Plate III, 5; Plate IV, 3; Plate V, 2; Plate VII, 3 from the paper of Gabarayeva et al. “Sporoderm development in *Trevesia burckii* (Araliaceae). I. Tetrad period: Further evidence for the participation of self-assembly processes”, Review of Palaeobotany and Palynology 156, 2009, 211–232, from Permission and License number 5474710296934 from ELSEVIER.

паттернов экзины (Gabarayeva et al., 2009), которая, как можно предположить, происходит за счет самосборки белковых комплексов.

Такие же события наблюдаются в онтогенезе экзины у других изученных нами видов: *Symphytum officinale* (Gabarayeva et al., 2011), *Eupomatia laurina* (Gabarayeva, Grigorjeva, 2014), *Passiflora racemosa* (Gabarayeva et al., 2013a, b), *Polemonium caeruleum* (Gabarayeva, Grigorjeva, 2018), *Chloranthus japonicus*, магнолииды и другие рано разошедшихся покрытосеменные (Gabarayeva et al., 2021), *Cymbalaria muralis* (Polevova et al., 2022).

Другие типичные черты самоорганизующихся систем – повторение мезофазной последовательности – наблюдались в развитии пыльцевых оболочек у *Acer tatricum* L. и у *Passiflora racemosa* Brot., где после появления конечной мезофазы (ламинатных мицелл, основы ламелл эндэкзины) появлялась первая мезофаза – сферические мицеллы (Gabarayeva et al., 2010, рис. 7; 2013b, рис. 10), и начиналась вторая мицеллярная последовательность.

Хотя совпадение наблюдаемых стадий развития экзины и основной мицеллярной последовательности впечатляюще, для его подтверждения необходимо экспериментальное моделирование. Чтобы показать, что фазовое разделение и мицеллярная самоорганизация вовлечены в развитие оболочки пыльцы, были предприняты эксперименты *in vitro*. В них использовались сурфактанты периплазмы микроспор (натуральные или их заменители), чтобы получить симуляты натуральных экзин. Эти попытки были успешными. Первые экспериментальные усилия реплицировать структуру оболочек спор *in vitro* были предприняты Хемсли и его соавторами (Hemsley et al., 1996; 1998; 2003). Авторы исследовали структуру и развитие мегаспор *Selaginella* и обнаружили высоко упорядоченную коллоидно-кристаллическую оболочку, которая состояла из сферических единиц спорополленина (Hemsley, Griffiths, 2000). Эти авторы использовали свое оригинальное оборудование и создали условия искусственного эксперимента, близкие таковым натурального спорангия. Полученные симуляты оказались очень схожими с натуральными оболочками ряда видов, особенно – со сложной оболочкой *Selaginella*. Наиболее важный вывод, следующий из этих экспериментов: сложная форма не обязательно является следствием сложных взаимодействий.

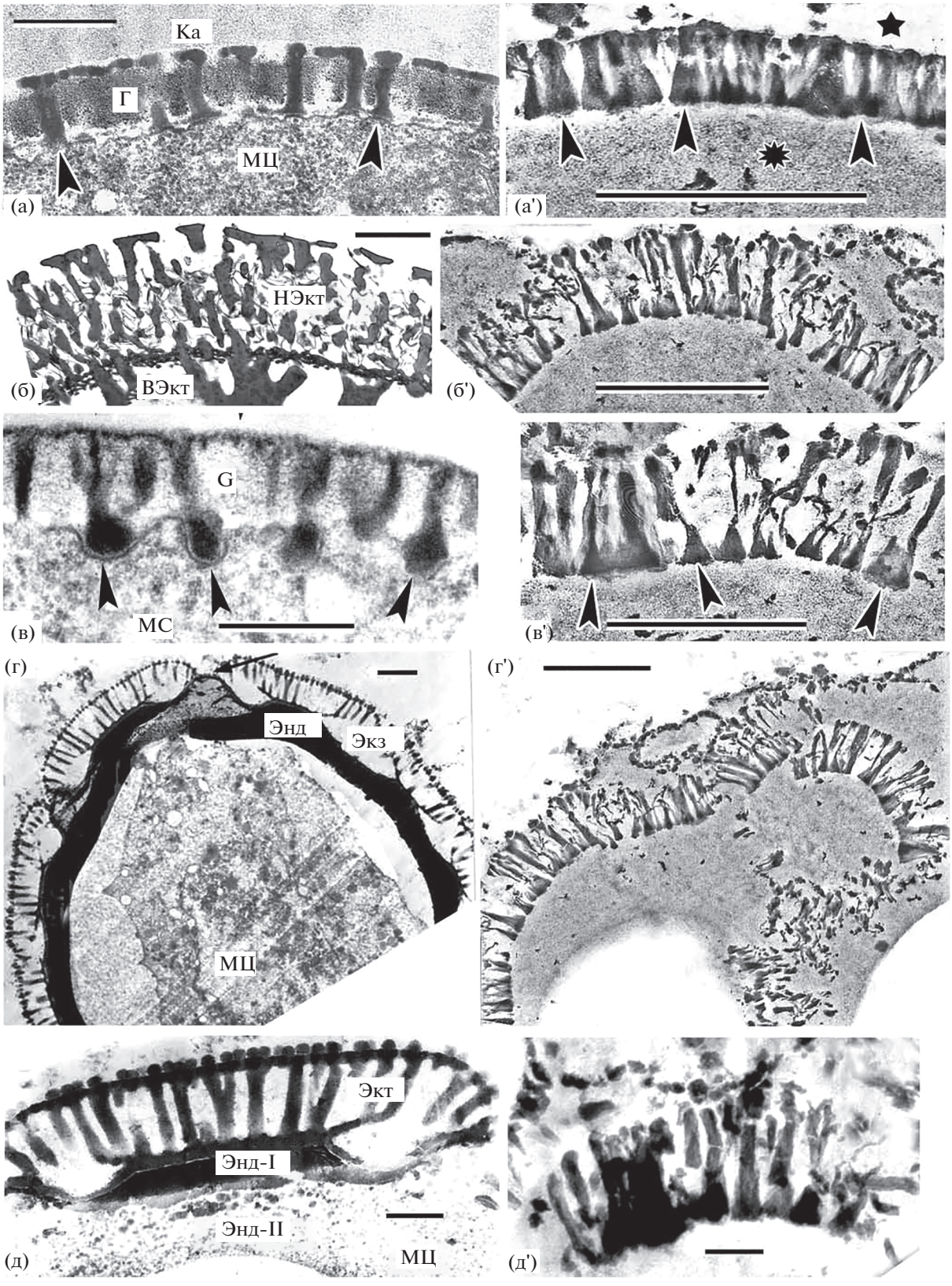
Позднее мы продолжили эксперименты по моделированию экзины, используя наш собственный простой метод (см. Gabarayeva, Grigorjeva, 2016; 2017). Мы получили *in vitro* симуляты всех основных типов экзины: колумеллятной, гранулярной, альвеолярной и гомогенной эктэкзины, а также ламеллятной эндэкзины (рис. 6, 7, 8, а также Gabarayeva et al., 2019; 2020). Таким образом, используя смеси сурфактантов, мы показали, что все паттерны экзины могут быть симулированы в *in vitro* системах, где действуют физические силы фазового разделения и мицеллярной самоорганизации.

## НОВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО МОДЕЛИРОВАНИЮ ЭКЗИНЫ: ИСКУССТВЕННЫЕ ЭКЗИНО-ПОДОБНЫЕ ПАТТЕРНЫ

В этих экспериментах был использован наш оригинальный простой метод (Gabarayeva, Grigorjeva, 2016; Gabarayeva et al., 2019). Коллоидные смеси сурфактантов – тех же или аналогичных тем, что находятся в периплазматическом пространстве развивающихся микроспор – приготавливали, используя эти вещества в различных сочетаниях и концентрациях (табл. 1). Смеси пяти типов (смесь № 1, № 2, № 3, № 4, № 5) помещали либо в малые чашки Петри диаметром 3.5 см, либо между 2-х предметных стекол, оставляя их в покое в течение некоторых периодов времени (табл. 1) для того, чтобы прошли процессы фазового разделения и самоорганизации путем конденсации (испарения воды). Продолжительность эксперимента зависела от скорости испарения воды (табл. 1, “ДДФ” – дни до момента фиксации).

Мы слегка модифицировали наш метод, описанный ранее (Gabarayeva, Grigorjeva, 2016, 2021; Gabarayeva et al., 2019, 2020; Grigorjeva et al., 2021), в частности использовали некоторые новые вещества, в том числе муцин, лецитин и стеариновую кислоту. Кроме того, в экспериментах со смесями 1, 2 и 4 мы удерживали смеси в процессе конден-

**Рис. 6.** Натуральные паттерны экзины ряда видов (а–д) и экспериментальные симуляты, возникшие путем самоорганизации (а'–д'). (а) Колумеллятная эктэкзина на поздней тетрадной стадии у *Acer tataricum*. Колумеллы (*головки стрелок*). (а') Симулят с колумеллятно-подобным паттерном (*головки стрелок*) на границе раздела липидного (*астерик*) и водного (*звездочка*) доменов. (б) Зрелая эктэкзина у *Echinops exaltatus* с наружной эктэкзиной (НЭкт) и внутренней эктэкзиной (ВЭкт). (б') Симулят, имитирующий наружную эктэкзину *Echinops*. (в) Поздняя тетрадная стадия у *Cabomba aquatica*. Развивающиеся колумеллы с расширенным основанием (*головки стрелок*). (в') Колумеллятно-подобный симулят, “колумеллы” с расширенным основанием (*головки стрелок*). (г) Свободная микроспора *Borago officinalis* с зрелой колумеллятной эктэкзиной (Экт) и с эндэкзиной (Энд). Апертурный район (*стрелка*). (г') Симулят, частично имитирующий эктэкзину у *Borago*. (д) Интерапертурный район экзины у *Borago officinalis* с колумеллятной эктэкзиной (Экт) и двуслойной эндэкзиной (Энд-I и Энд-II). (д´) Симулят, частично сходный с эктэкзиной у *Borago*. Масштабные линейки: (а, в, д; а'–г') 0.5 мкм; (б) 2 мкм; (г) 1 мкм; (д') 0.1 мкм. На рис. 6 воспроизведены: Fig. 2 from the paper of Gabarayeva et al., Annals of Botany XX: 1–14, 2019, “Mimicking pollen and spore walls: self-assembly in action”, from Permission and License number 5491291182073 of Springer Publishing Company).


Ка
Г
МЦ
(а)
(а')
НЭкт
ВЭкт
(б)
(б')
G
МС
(в)
(в')
(г)
Энд
Экз
МЦ
(г')
Экт
Энд-I
Энд-II
МЦ
(д)
(д')

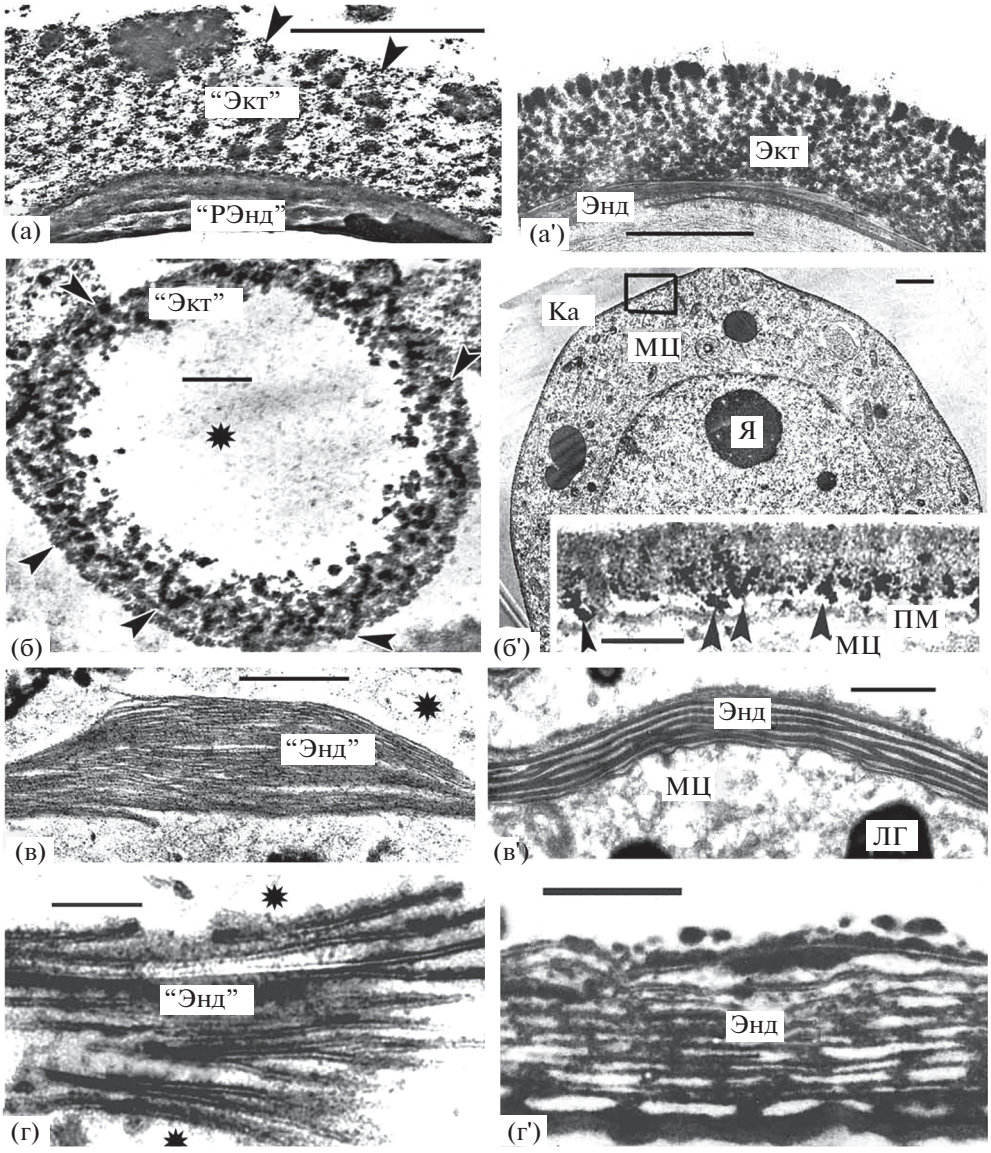



**Рис. 7.** Модели и сопоставимые с ними натуральные гранулярные эктэкзины и ламеллятные эндэкзины. (а–г) Симуляты, (а', б') гранулярные эктэкзины, (в', г', вставка) ламеллятные эндэкзины. (а) Развитие ламинатных мицелл ("РЭнд") в концентрированном слое, симулирующее ламеллы эндэкзины у *Larix decidua* (а'). (б) Симулят оболочки микроспоры, основанный на сферических мицеллах, самоорганизованных в колонки (*головки стрелок*), сходный с паттерном развивающейся экзины у *Symphytum officinale* на средней тетрадной стадии (б' и увеличенная часть оболочки с развивающимися колумеллами (*головки стрелок*, вставка). (Fig. 2g, eg', h, h' из Gabarayeva et al., 2020). (в) Модель ("Энд"), состоящая из ламинатных мицелл, симулирует ламеллы эндэкзины у *Juniperus communis* (в', Энд). (Fig. 9a, a' из Gabarayeva et al., 2020). (г) Модель ("Энд"), состоящая из ламинатных мицелл с типичными зазорами между бислоями, симулирует ламеллы эндэкзины у *Abies concolor* (г', Энд). (Fig. 9d, d' из Gabarayeva et al., 2020). Экт - эктэкзина, РЭнд – развивающаяся эндэкзина, МЦ – цитоплазма микроспоры, Я – ядрышко, ПМ – плазмалемма. Масштабные линейки: (а, а', б') 1 мкм; (б, вставка в б', г) 0.1 мкм; (в, в', г') 0.5 мкм. На рис. 7 воспроизведены: parts of Figs. 2 and 9 from the paper of Gabarayeva et al.,"Artificial pollen walls simulated by the tandem processes of phase separation and self-assembly in vitro", New Phytologist, 2019, 225: 1956–1973 from Permission and License Number 5491290930469 of John Wiley and Sons.

сации, поместив их между двумя предметными стеклами, разделенными стеклянными капиллярами диаметром 0.4 мм. Таким образом, на экспериментальные смеси накладывались физические ограничения, что приближало состояние коллоидных растворов к естественным условиям узкого периплазматического пространства микроспоры. Эксперименты были проведены шесть раз с одинаковыми результатами, но с небольшими вариациями в размерах и кривизне структурных единиц.

Высохшие пленки фиксировали обычным методом, используемым в электронной микроскопии

**Таблица 1.** Компоненты, их концентрации и объемы, использованные для получения симулятов экзины (рис. 6 и 7). ДДФ – число дней опыта (процесса самоорганизации) до фиксации

| № смеси | Компоненты | Число дней до фиксации (ДДФ) | № рисунка |
|---|---|---|---|
| 1 | Каллоза 3% (водный коллоидный раствор, 2 мл) + хондроитин (2 мл) + + гипромелдоза 3% (водный раствор, 2 мл) + гликопротеин 5% (0.5 мл) + + сапонин 3% (1 мл) + лецитин (3 капли*) + *p*-кумаровая кислота 5% (спиртовой раствор, 2 мл) + омега-3 жирные кислоты (4 капли) + ванилиновая кислота 1% (спиртовой раствор, 10 капель) + стеариновая кислота 1% (4 drops) | 5T** | Рис. 9а, 9б |
| 2 | *Двухэтапный эксперимент:*<br>Каллоза 3% (водный коллоидный раствор, 2 мл) + гипромелдоза 3% (водный раствор, 2 мл) + лецитин (0.5 мл) + кофейная кислота 1% (0.5 мл) + + олеиновая кислота (чистая, 5 капель) + ванилиновая кислота (1% спиртовой раствор, 5 капель) + стеариновая кислота (1% спиртовой раствор, 5 капель)<br>*Через 4 дня добавлено:*<br>Каллоза 3% (водный коллоидный раствор, 2 мл) + гипромелдоза (3% водный раствор, 1 мл) + муцин 1% (водный раствор, 1 мл) + сапонин 3% (водный раствор, 0.5 мл) + лецитин (0.5 мл) + *p*-кумаровая кислота 5% (спиртовой раствор, 6 капель) + олеиновая кислота (чистая, 2 капли) + + ванилиновая кислота (1% спиртовой раствор, 3 капли) + стеариновая кислота (1% спиртовой раствор, 5 капель | 3 + 3T | Рис. 9в |
| 3 | Каллоза 3% (водный коллоидный раствор, 2 мл) + гипромелдоза (5% водный раствор, 2 мл) + муцин (3% водный раствор, 1 мл) + сапонин (3% водный раствор, 2 мл) + *p*-кумаровая кислота 5% (спиртовой раствор, 10 капель)+ лецитин (4 капли) + омега-3 жирные кислоты (4 капли) + + ванилиновая кислота (1% спиртовой раствор, 6 капель) | 8 | Рис. 9г |
| 4 | Каллоза 3% (водный коллоидный раствор, 2 мл) + гипромелдоза (3% водный раствор, 2 мл) + муцин (3% водный раствор, 1 мл) + сапонин (3% водный раствор, 1 mл) + *p*-кумаровая кислота (5% спиртовой раствор, 0.5 мл) + лецитин (0.5 мл) + олеиновая кислота (чистая, 10 капель) + + ванилиновая кислота (1% спиртовой раствор, 10 капель) + стеариновая кислота (1% спиртовой раствор, 10 капель) | 5-10T | Рис. 10а, 10б, 10в |
| 5 | Каллоза 3% (водный коллоидный раствор, 2 мл) + гипромелдоза (3% водный раствор, 2 мл) + сапонин (3% водный раствор, 1 мл) + *p*-кумаровая кислота (5% спиртовой раствор, 0.5 мл) + лецитин (4 drops) + омега-3 жирные кислоты (4 капли) + ванилиновая кислота (1% спиртовой раствор, 10 капель) | 10 | Рис. 10г |
| | * 1 капля = 0.04 мл | | |
| | ** Все смеси, отмеченные буквой “T”, были приготовлены в тонком слое (0.4 мм), остальные – в более толстом (2–3 мм) перед конденсацией | | |

(Gabarayeva, Grigorjeva, 2016). Небольшие кусочки сухих пленок фиксировали в растворе 3% глутаральдегида и 2.5% сахарозы на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.3) с добавлением 1% танниновой кислоты. Материал постфиксировали 2%-ным тетроксидом осмия (pH 8.0, 2 ч). После обезвоживания в серии спиртов образцы инкубировались в смеси ацетона с заливочной средой Epon-Araldite, затем в чистой заливочной среде Epon-Araldite. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным раствором уранилацетата в этаноле и 0.2% цитратом свинца. Срезы исследовали с помощью электронного микроскопа Hitachi-600.

В этих *in vitro* экспериментах был смоделирован целый ряда структур, весьма схожих по своей

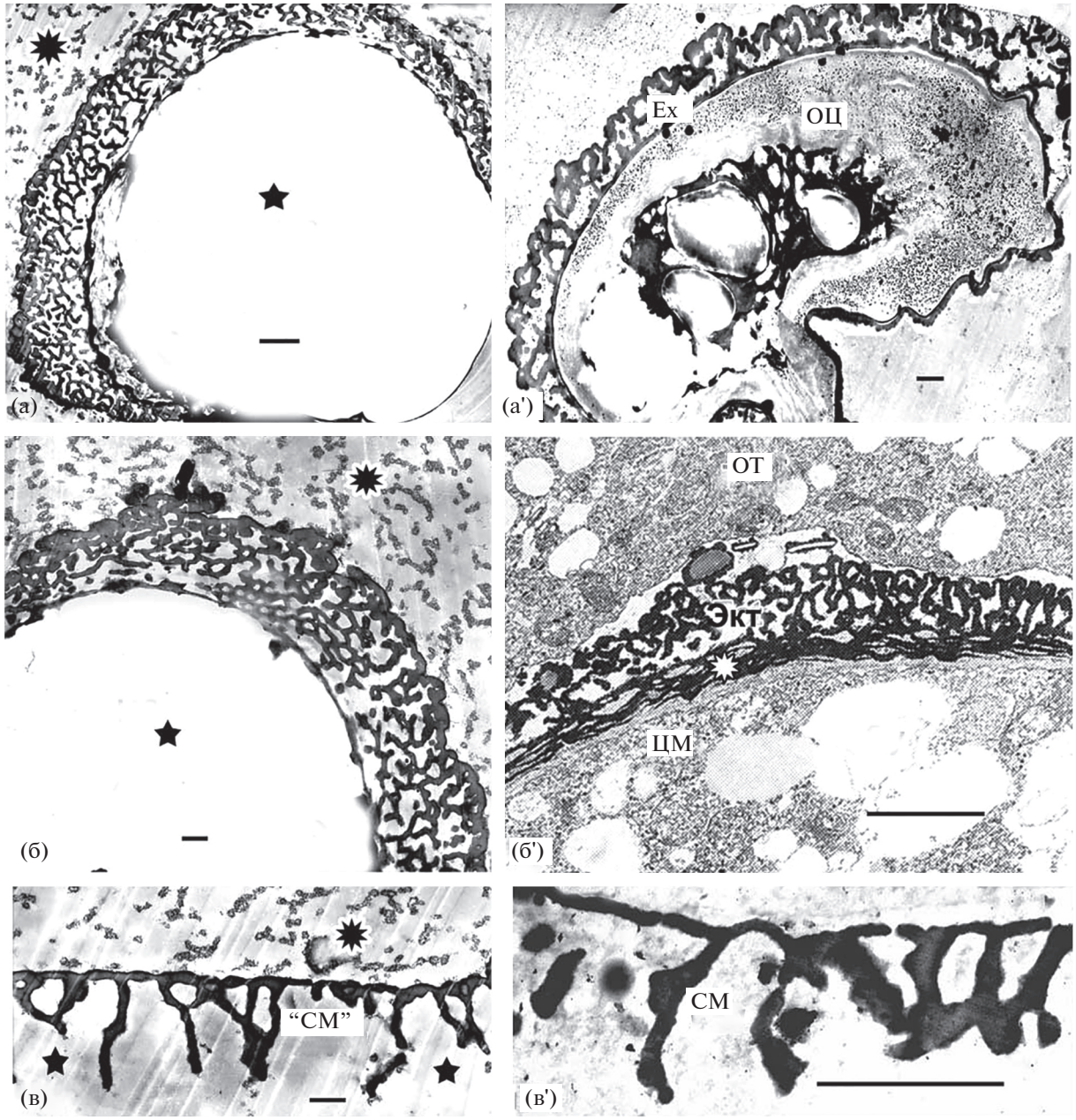



**Рис. 8.** Модели (а–в), симулирующие альвеолятные структуры экзины пыльцевых зерен *Pinus sylvestris* (а'–в'). (а) Симулят с альвеолярно-подобной оболочкой, сформированной на поверхности липидной капли. (а') Пыльцевое зерно *P. sylvestris* с альвеолятной экзиной (из гербарного материала). (б) Модель, симулирующая экзину *Pinus sylvestris*. (б') Экзина *Pinus sylvestris* (астериск: эндэкзина). (в) Симулят стенки пыльцевого мешка (“СМ”) *Pinus sylvestris*. (в') Стенка пыльцевого мешка (СМ) *Pinus sylvestris*. ОЦ остатки цитоплазмы, ЦМ цитоплазма микроспоры. Концентрированная фаза (*астериски*), истощенная фаза (*звездочки*) в результате фазового разделения. Масштабные линейки: (а, а') – 2 мкм; (б, б', в, в') – 1 мкм. На рис. 8 воспроизведены: Fig. 5 from the paper of Gabarayeva et al., “Artificial pollen walls simulated by the tandem processes of phase separation and self-assembly in vitro”, New Phytologist, 2019, 225: 1956–1973 from Permission and License Number 5491290930469 of John Wiley and Sons.

ультраструктуре с основными типами эктэкзины и ламеллятной эндэкзины в ходе их развития (рис. 9, 10).

Модели, показанные на рис. 9а–9в, симулируют гранулярную эктэкзину и ламеллятную эндэкзину с типичными “белыми линиями”, наблюдаемыми у голосеменных, например у *Larix decidua* (рис. 9а', 9б', 9в'). Симуляты, полученные из смеси № 1 (рис. 9а, 9б), подобны гранулярной эктэкзине *Larix* (рис. 9а', 9б', 9в'). Наличие фазового разделения очевидно на рис. 9б, где сформированы истощенный (*звездочка*) и конденсированный (*астериск*)

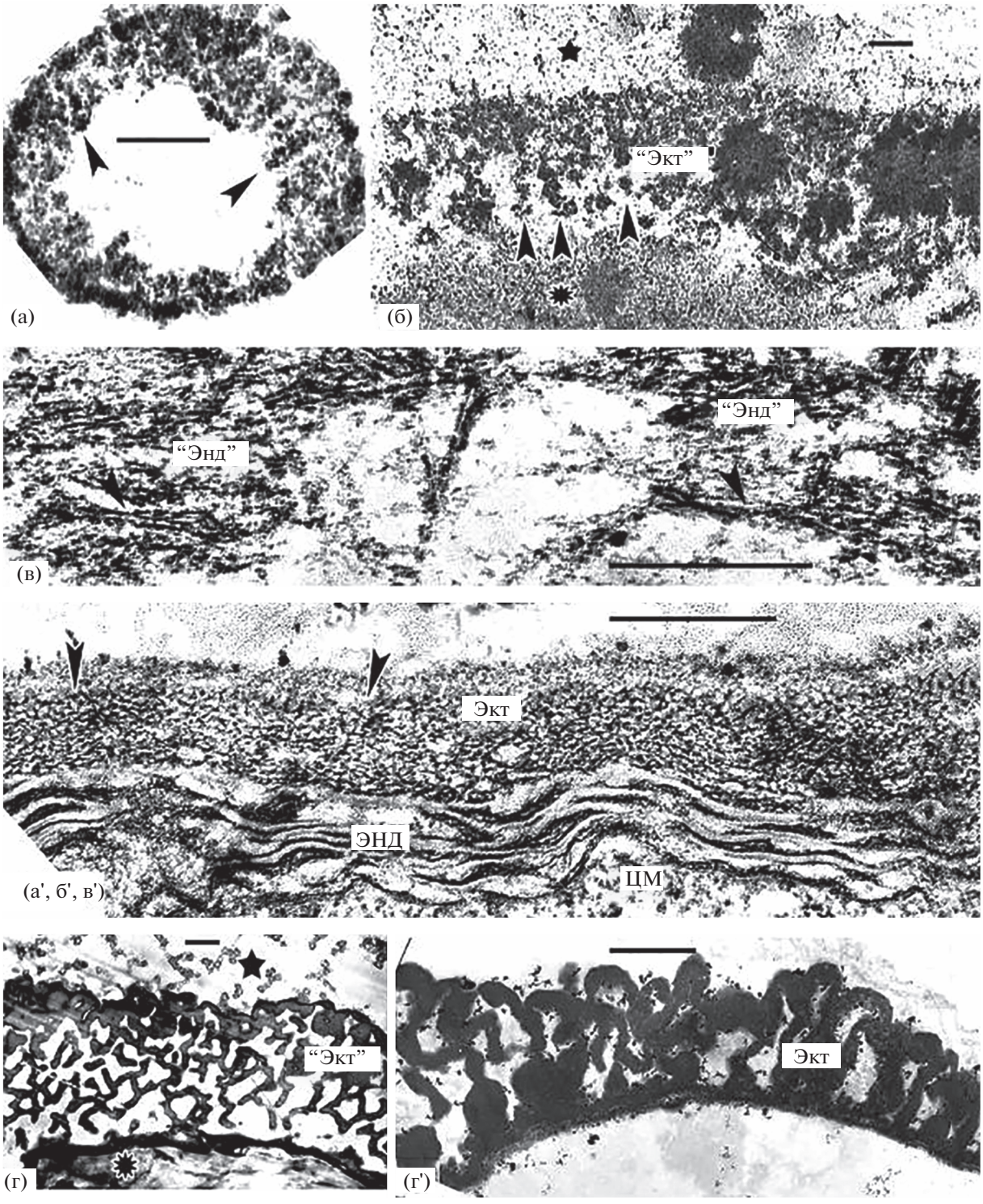



**Рис. 9.** Модели (симуляты), полученные с использованием смесей № 1–3 (а–г), симулирующие гранулярную (а', б', в') и альвеолярную (г') экзину (оригинальные данные). (а) Симулят, подражающий гранулярной эктэкзине. (б) Модель оболочки микроспоры, состоящей из колонок сферических мицелл (*головки стрелок*). Концентрированный (*астериск*) и истощенный (*звездочка*) домены после фазового разделения. (в) Симуляты (ламинатные мицеллы), сходные с ламеллятной эндэкзиной многих видов, с ее типичными “белыми линиями” (зазоры между бислоями мицелл). (а', б', в') Оболочка пыльцевого зерна *Larix decidua* с гранулярной эктэкзиной (Экт, *головки стрелок*) и ламеллятной эндэкзиной (Энд). (г) Модель, симулирующая альвеолярную эктэкзину. Конденсированный (*астериск*) и истощенный (*звездочка*) домены после фазового разделения. (г') Альвеолярная эктэкзина *Pinus sylvestris*. Масштабные линейки: (а) – 0.1 мкм; (б, в, а', б', в') – 0.5 мкм; (г, г') – 1 мкм.

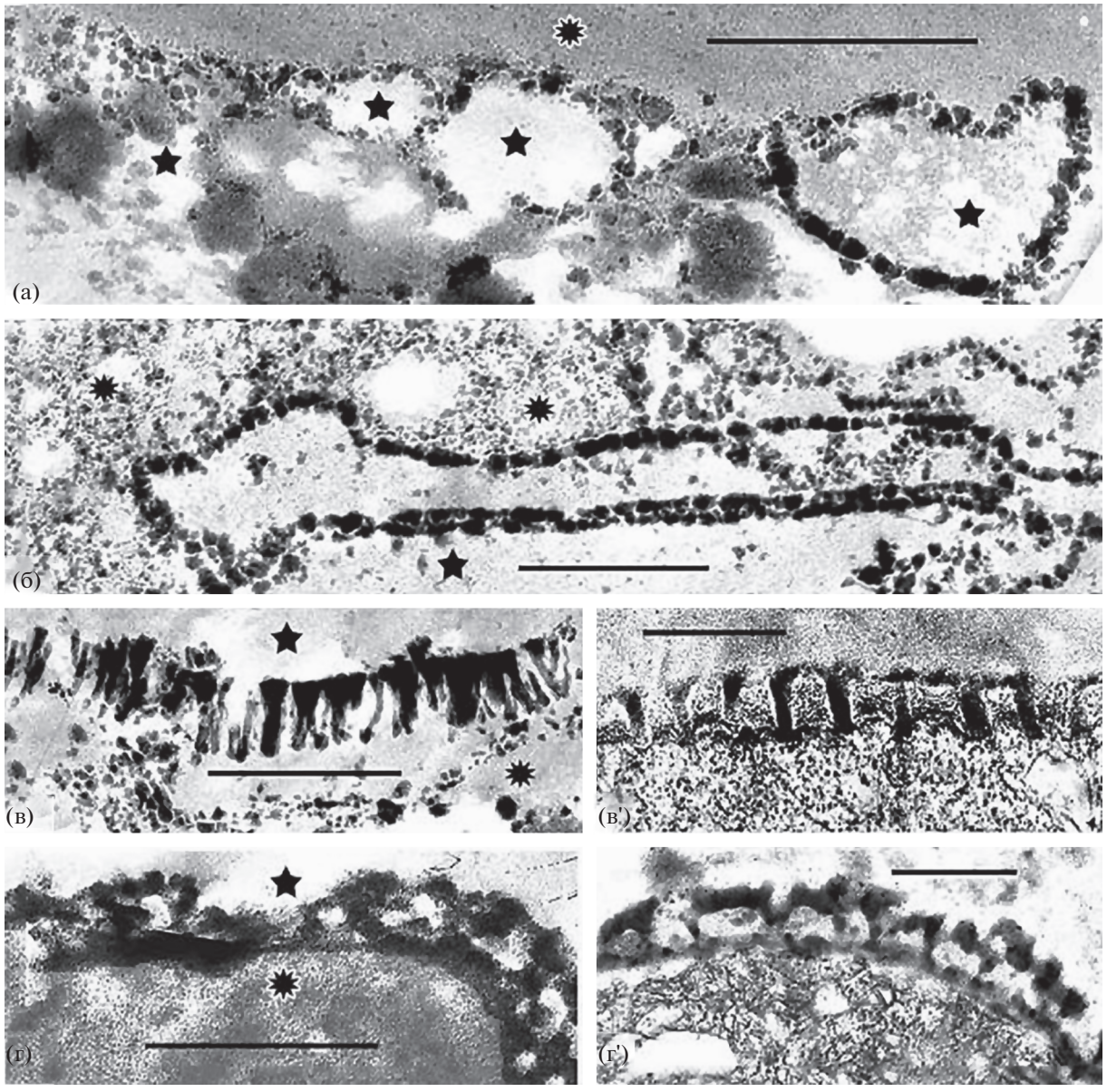



**Рис. 10.** Модели, полученные с использованием смесей № 4 и № 5, симулирующие развитие колумеллятной экзины (оригинальные данные). (а–в) Серия симулятов, полученных из смеси 4, возникла на поверхности раздела конденсированного (гидрофобного – *астериск*) и истощенного (гидрофильного – *звездочки*) доменов. (а) 5 дней до фиксации образца. Каскад везикуло-подобных объемов возник в результате фазового разделения и мицеллярной самоорганизации: сферические мицеллы появились вдоль поверхности везикул. Слева направо: колонки сферических мицелл постепенно перестраиваются в короткие цилиндрические мицеллы. (б) 7 дней до фиксации образца. После слияния везикулярных объемов, удлиненная везикула окружена короткими цилиндрическими мицеллами. (в) 10 дней до фиксации. Модель, сходная с примэкзиной, формирующейся на поздней тетрадной стадии у многих видов растений. (в') Примэкзина *Calycanthus floridus* в конце тетрадного периода. (г) Модель, полученная из смеси 5 (10 дней до фиксации), симулирует колумеллятную примэкзину на стадии распадающейся тетрады у ряда видов растений. (г') Примэкзина *Chamaedorea microspadix* на стадии распадающейся тетрады. Масштабные линейки 0.5 мкм.

слои. Паттерн, подражающий гранулярной эктэкзине, сформирован на границе раздела вышеуказанных слоев (рис. 9б, “Экт”). Гранулы, которые являются сферическими мицеллами (рис. 9а, 9б, *головки стрелок*), собраны в колонки подобно гранулам экзины *Larix* (рис. 9а', 9б', 9в', *головки стрелок*).

Структуры, полученные из смеси № 2, представляют собой ламинатные мицеллы с типичными просветами между бислоями (рис. 9в, *головки стрелок*). Эта структура симулирует ламеллятную эндэкзину у *Larix* (рис. 9а', 9б', 9в') с типичными “белыми линиями”, которые соответствуют про-

светам между ламинатными мицеллами, видными на рис. 9в.

Другой паттерн, полученный из смеси № 3 (рис. 9г), симулирует альвеолярную экзину, например, эктэкзину *Pinus sylvestris* (рис. 9г'). Эта структура возникла также на поверхности раздела между истощенным (рис. 9г, *звездочка*) и конденсированным слоем (рис. 9г, *астериск*) подобъемами в результате фазового разделения.

На рис. 10 показаны симуляты колумеллятной эктэкзины в процессе развития. Эти модели (рис. 10а–10в) были получены из смеси № 4 и зафиксированы через 5, 7 и 10 дней после начала эксперимента. Первый паттерн, полученный после 5-ти дней конденсации на границе раздела гидрофобного (рис. 10а, *астериск*) и гидрофильного (рис. 10а, *звездочки*) доменов, представляет собой серию пузыревидных пространств. После фазового разделения сферические мицеллы окружают пузыревидные домены. Заметно постепенное увеличение размера мицелл (слева направо): от колонок мелких сферических мицелл до более крупных, переходящих в короткие цилиндрические мицеллы (рис. 10а). 7-дневный эксперимент показал слияние нескольких пузыревидных доменов в один удлиненный (рис. 10б), сходный с колумеллятными примэкзинами многих видов. Структура, полученная после 10 дней конденсации (рис. 10в), представляет собой ряд типичных цилиндрических мицелл, которые симулируют колумеллятную примэкзину многих видов покрытосеменных, например у *Calycanthus floridus* на поздней тетрадной стадии (рис. 10в'). Цилиндрические мицеллы (рис. 10в) являются основой проколумелл после аккумуляции спорополленина.

Модель, полученная из смеси № 5 (рис. 10г), симулирует колумеллятную экзину, характерную для стадии молодых свободных микроспор многих видов покрытосеменных. Сходство очевидно, например, с молодой экзиной *Chamaedorea microspadix* (рис. 10г').

Из наших экспериментов – этих и проведенных ранее – ясно, что фазовое разделение, описанное как процесс, лежащий в основе возникновения паттернов экзины (Lavrentovich et al., 2016; Radja et al., 2019), действует вместе с процессом мицеллярной самоорганизации. Было отмечено (Radja, 2020), что паттерны пыльцевой оболочки могут быть использованы как модель для биологической самоорганизации и были указаны будущие направления действий в этом области.

В ходе естественного развития экзины, после того, как за счет экспрессии генома и целого каскада биохимических реакций определяется состав сурфактантов и их концентрации в периплазматическом пространстве микроспор, фазовое разделение и мицеллярная самоорганизация (и, возможно, еще какие-то пока неучтенные физические процессы) подхватывают инициативу и доводят развитие экзины до финальной точки (см. схему и подписи к ней на Fig. 6 в статье Gabarayeva, Grigorjeva, 2021).

A. Hemsley и я считаем (личные сообщения), что в целом генерация паттернов является скорее свойством коллоидных веществ, чем зависит от видо-специфичных материалов экзины, определяемых геномом каждого из видов растений. Иначе было бы невозможно получить экзино-подобные паттерны простым смешиванием веществ в ходе эксперимента *in vitro*. Образование паттерна зависит от условий внутри пыльника/спорангия, где коллоидные вещества являют свой полный потенциал. Это объясняет, например, недавно обнаруженный поразительный колумелло-подобный паттерн на поверхности тапетальных клеток (!) в отклонившихся от нормального пути развития пыльниках *Cymbalaria muralis* (Polevova et al., 2022, см. Fig. 4), где нормальный баланс коллоидных строительных веществ экзины был, по-видимому, нарушен. Другие примеры – появление ламелл с “белыми линиями”, основанных на ламинатных мицеллах, лежащих свободно в локусе пыльника у ряда видов, например у *Plantago major* (Gabarayeva et al., 2017, см. Fig. 15A) и у *Cymbalaria muralis* (Polevova et al., 2022, см. Fig. 7). Признаки фазового разделения и белых линий в орбикулах и в сгущениях полленкитта были описаны у многих видов, например, у магнолиид (Gabarayeva, Grigorjeva, 2012, см. Fig. 11F) и видов Apiaceae, хотя в то время были описаны автором как артефакты (Weber, 1992, см. Fig. 8). Равным образом, коллоидные вещества проявляют свой потенциал в наших предшествующих и настоящем экспериментах по моделированию *in vitro*: хотя влияние генома полностью отсутствовало, высокая паттерн-генерирующая способность этих веществ позволила симулировать все известные экзиноподобные ультраструктуры за счёт действия физических сил.

## ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Анализ имеющихся данных указывает на универсальный характер механизмов, лежащих в основе развития оболочки пыльцы.

Для развития оболочки мужского гаметофита недостаточно регуляции на уровне генома. На уровне генома определяются начальные условия формирования оболочки пыльцы, т.е. контролируются специфические для видов пропорции веществ-сурфактантов, продуцируемых в цитоплазме микроспор, особенно в ключевом тетрадном периоде. Затем физические процессы, такие как фазовое разделение и мицеллярная самоорганизация, действуя в тандеме, активизируются и доводят процесс до конца. Главными событиями развития экзины в посттетрадном периоде являются формирование

эндэкзины и массовая аккумуляция мономеров спорополленина, синтезированных в тапетуме.

Интердисциплинарные усилия, приложенные в обеих сферах – в тщательно проведенном прослеживании всех стадий развития на ультраструктурном уровне и в области коллоидной физической химии – способны пролить новый свет на хорошо известные факты. Они перспективны в отношении поддержки теоретических гипотез и дают более глубокое понимание морфогенеза.

Этот обзор показывает, что наблюдается удивительное сходство в возникающих структурах в ходе развития оболочек пыльцевых зерен в отдаленных таксонах, особенно в тетрадном и раннем пост-тетрадном периоде. Более того, простые коллоидные смеси, без какого-либо генетического контроля, способны самоорганизовываться в искусственные оболочки, имитирующие натуральные. Становится все более очевидным, что эти рефрены возникают путем неких фундаментальных физических процессов, объясняющих многократное повторение способов онтогенеза в природе (Meyen, 1978; Pozhidayev, 1993; 1995; 1998; 2000; 2002; Chaikovsky, 2018; Pozhidaev, Petrova, 2023).

В будущем необходимо достичь более полного понимания того, как дифференциальная экспрессия генома взаимодействует с физическими процессами в ходе онтогенеза. Конечная цель – понять, как эта сложная сеть взаимодействий создает наблюдаемое разнообразие ультраструктуры оболочки пыльцы, и как это разнообразие возникло в эволюции.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Я благодарю всех моих соавторов ранее опубликованных работ: В.В. Григорьеву, Я. Косенко, С.В. Полевову, А.Л. Шаварду, S. Blackmore, G. El-Ghazaly, A.R. Hemsley, S.J. Hiscock, M.O. Lavrentovich, S.E.M. Moore, J.R. Rowley. Особая благодарность – Stephen Blackmore (Стиву Блэкмо) за проверку англоязычной версии и многие советы по рукописи. Я благодарю моих анонимных рецензентов за взятый на себя труд по прочтению рукописи и важные поправки.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа поддержана инициативным грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 20-04-00174а (руководить Н.И. Габараева) и проводилась с использованием оборудования Центра “Клеточные и Молекулярные Технологии в Науках о Растениях” Ботанического института РАН им. В.Л. Комарова (Санкт-Петербург).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При выполнении данного исследования люди и животные не использовались в качестве объектов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

## ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРА

Автор статьи написала данный обзор, задумала и разработала новый эксперимент, описанный в данной статье, синтезировала образцы и провела их ультраструктурное исследование с помощью ТЭМ. Автором обобщены все данные и текст статьи подготовлен к представлению.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Габараева Н.И.* Гипотетические пути детерминации структуры экзины // Ботанический журн. 1990. Т. 75. С. 1353–1362 (с аннотацией на английском).

*Фридрихсберг Д.А.* Коллоидная химия. Санкт-Петербург: Химия, 1995 (2010 – 2е изд.). 416 с.

*Герасимова-Навашина Е.Н.* Физико-химическая природа формирования примэкзины пыльцевых зерен покрытосеменных // В: Коварский А. (Ред.). Эмбриология покрытосеменных. Кишинев: Штиинца, 1973. Р. 57–70.

*Ariizumi T., Hatakeyama K., Hinata K. et al.* Disruption of the novel plant protein NEF1 affects lipid accumulation in the plastids of the tapetum and exine formation of pollen, resulting in male sterility in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 2004. V. 39. P. 170–181. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02118.x

*Ariizumi T., Hatakeyama K., Hinata K. et al.* The HKM gene, which is identical to the MS1 gene of *Arabidopsis thaliana*, is essential for primexine formation and exine pattern formation // Sex Plant Reprod. 2005. V. 18. P. 1–7. https://doi.org/10.1007/s00497-005-0242-3

*Ariizumi T., Toriyama K.* Genetic regulation on sporopollenin synthesis and pollen exine development // Ann. Rev. Plant Biol. 2011. V. 62. P. 1–24. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-

*Ball P.* Designing the Molecular World. Princeton: Princeton University Press, 1994. 384 p.

*Benítez M.* An interdisciplinary view on dynamic models for plant genetics and morphogenesis: scope, examples and emerging research avenues // Front. Plant Sci. 2013. V. 4. P. 7. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00007

*Blackmore S., Wortley A.H., Skvarla J.J., Rowley J.R.* Pollen wall development in flowering plants // New Phytol. 2007. V. 174. P. 483–498. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02060

*Blackmore S., Wortley A.H., Skvarla J.J., Gabarayeva N.I., Rowley J.R.* Developmental origins of structural diversity in pollen walls of Compositae // Plant Syst. Evol. 2010. V. 284. P. 17–32. https://doi.org/10.1007/s00606-009-0232-2

*Blackmoore S., Skvarla J.J.* John Rowley (1926–2010), palynologist extraordinaire // Grana. 2012. V. 51. № 2. P. 77–83. https://doi.org/10.1080/00173134.2012.661454

*Bray D.* Model for membrane movements in the neural growth cone // Nature. 1973. V. 244. P. 93–96. https://doi.org/10.1038/244093a0

*Chaikovsky J.V.* (2018) Autopoiesis. Society of scientific editions KMK, Moscow (In Russian: Chaikovski J.V. Avtopoez).

*Meyen S.V.* (1984) Basic features of gymnosperm systematics and phylogeny as evidenced by the fossil record. Bot Rev 50. https://doi.org/10.1007/BF02874305

*Coen E.S., Meyerowitz E.M.* The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development // Nature. 1991. V. 353. P. 31–37. https://doi.org/10.1038/353031a0

*Curantz C., Manceau M.* Trends and variation in vertebrate patterns as outcomes of self-organization // Current Opinion in Genetics & Development. 2021. V. 1(69). P. 147–153.

*Dickinson H.G., Sheldon J.M.* The generation of patterning at the plasma membrane of the young microspore of Lilium // In: Blackmore S., Ferguson I.K. (eds.) Pollen and Spores: form and function. London: Academic Press. pp. 1–18.

*Dobritsa A.A., Geanconteri A., Shrestha J. et al.* A Large-scale genetic screen in Arabidopsis to identify genes involved in pollen exine production // Plant Physiol. (Lancaster). 2011. V. 157, P. 947–970. https://doi.org/10.1104/pp.111.179523

*Dobritsa A.A., Coerper D.* The novel plant protein INAPERTURATE POLLEN1 marks distinct cellular domains and controls formation of apertures in the Arabidopsis pollen exine // Plant Cell. 2012. V. 24. P. 4452–4464. https://doi.org/10.1105/tpc.112.101220

*Dong X.Y., Hong Z.L., Sivaramakrichnan M. et al.* Callose synthase (CalS5) is required for exine formation during microgametogenesis and for pollen viability in Arabidopsis // Plant J. 2005. V. 42. P. 315–328. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02379.x

*Gabarayeva N.I.* Hypothetical ways of exine pattern determination // Grana. 1993. V. 33. P. 54–59. doi.org/ https://doi.org/10.1080/00173139309428980

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V.* Exine development in Encephalartos altensteinii (Cycadaceae): ultrastructure, substructure and the modes of sporopollenin accumulation // Rev. Palaeobot. Palynol. 2004. V. 132. P. 175–193. https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2004.05.005

*Gabarayeva N.I., El-Ghazaly G.* Sporoderm development in Nymphaea mexicana (Nymphaeaceae). Plant Syst. Evol. 1997. V. 204. P. 1–19.

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V.* Exine development in Stangeria eriopus (Stangeriaceae): ultrastructure and substructure, sporopollenin accumulation, the equivocal character of the aperture, and stereology of microspore organelles // Rev. Palaeobot. Palynol. 2002. V. 122. P. 185–218. https://doi.org/10.1016/S0034-6667(02)00183-5

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V.* Sporoderm ontogeny in Chamaedorea microspadix (Arecaceae). Self-assembly as the underlying cause of development // Grana. 2010. V. 49. P. 91–114. https://doi.org/10.1080/00173131003650920

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V.* Sporoderm development in Swida alba (Cornaceae), interpreted as a self-assembling colloidal system // Grana. 2011. V. 50. P. 81–101. https://doi.org/10.1080/00173134.2011.580448

*Gabarayeva N.I., Hemsley A.R.* Merging concepts: The role of self-assembly in the development of pollen wall structure // Rev. Palaeobot. Palynol. 2006. V. 138. P. 121–139. https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2005.12.001

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Rowley J.R., Hemsley A.R.* Sporoderm development in Trevesia burckii (Araliaceae). I. Tetrad period: further evidence for the participation of self-assembly processes // Rev. Paleobot. Palynol. 2009. V. 156. № 1–2. P. 211–232. https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2008.12.001

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Rowley J.R.* Sporoderm development in Acer tataricum (Aceraceae). An interpretation // Protoplasma. 2010a. V. 247. P. 65–81. https://doi.org/10.1007/s00709-010-0141-9

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Rowley J.R.* A new look at sporoderm ontogeny in Persea americana. Micelles and the hidden side of development // Ann. Bot. 2010b. V. 105. P. 939–955. https://doi.org/10.1093/aob/mcq075

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Polevova S.V.* Exine and tapetum development in Symphytum officinale (Boraginaceae). Exine substructure and its interpretation // Plant Syst. Evol. 2011. V. 296. P. 101–120.

*Gabarayeva N., Grigorjeva V.* Sporoderm development and substructure in Magnolia sieboldii and other Magnoliaceae: an interpretation // Grana. 2012. V. 51. P. 119–147. https://doi.org/10.1080/00173134.2012.688863

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Kosenko Y.V.* Primexine development in Passiflora racemosa Brot. Overlooked aspects of development // Plant Syst. Evol. 2013. V. 299. P. 1013–1035.

*Gabarayeva N., Grigorjeva V., Polevova S.* Sporoderm and tapetum ontogeny in Juniperus communis (Cupressaceae). Connective structures between tapetum and microspores // Rev. Palaeobot. Palynol. 2014a. V. 206. P. 23–44.

*Gabarayeva N., Grigorjeva V.* Sporoderm and tapetum development in Eupomatia laurina (Eupomatiaceae). An interpretation // Protoplasma. 2014b. V. 251. P. 1321–1345. https://doi.org/10.1007/s00709-014-0631-2

*Gabarayeva N., Grigorjeva V.* Simulation of exine patterns by self-assembly // Plant Syst. Evol. 2016. V. 302. P. 1135–1156. https://doi.org/10.1007/s00606-016-1322-6

*Gabarayeva N., Grigorjeva V., Polevova S., Hemsley A.R.* Pollen wall and tapetum development in Plantago major L. (Plantaginaceae): assisting self-assembly // Grana. 2016. V. 56. № 2. P. 81–111. https://doi.org/10.1080/00173134.2016.1159729

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V.* An integral insight into pollen wall development: involvement of physical processes in exine ontogeny in Calycanthus floridus L., with an experimental approach // Plant J. 2021. V. 105. P. 736–753. https://doi.org/10.1111/tpj.15070

*Gabarayeva N.I., Polevova S.V., Grigorjeva V.V., Blackmore S.* Assembling the thickest plant cell wall: exine development in Echinops (Asteraceae, Cynareae) // Planta. 2018. V. 248. P. 323–346. https://doi.org/10.1007/s00425-018-2902-1

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Shavarda A.L.* Mimicking pollen and spore walls: self-assembly in action // Ann. Bot. 2019. V. 123. P. 1205–1218. https://doi.org/10.1093/aob/mcz027

*Gabarayeva N.I., Grigorjeva V.V., Lavrentovich M.O.* Artificial pollen walls simulated by the tandem processes of phase separation and self-assembly *in vitro* // New Phytol. 2020. V. 225. P. 1956–1973. https://doi.org/10.1111/nph.16318

*Gabarayeva N.I., Polevova S.V., Grigorjeva V.V., Hiscock S.J.* Underlying mechanisms of development: pollen wall ontogeny in Chloranthus japonicus and a reconsideration of pollen ontogeny in early-diverging lineages of angiosperms // Bot. J. Linn. Soc. V. XX. P. 1–21. https://doi.org/10.1093/BOTLINNEAN/BOAA102

*Gingell D.* Membrane permeability change by aggregation of mobile glycoprotein units // J. Theor. Biol. 1973. V. 38. P. 677–679.

*Grienenberger E., Kim S.S., Lallemand B. et al.* Analysis of TETRAKETIDE α-PYRONE REDUCTASE function in Arabidopsis thaliana reveals a previously unknown, but conserved, biochemical pathway in sporopollenin monomer biosynthesis // Plant Cell. V. 22. P. 4067–4083. https://doi.org/10.1105/tpc.110.080036

*Grigorjeva V.V., Gabarayeva N.* Pollen wall ontogeny in Polemonium caeruleum (Polemoniaceae) and suggested underlying mechanisms of development // Protoplasma. 2018. V. 255. P. 109–128. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1121-0

*Grigorjeva V.V., Polevova S.V., Gabarayeva N.I.* Pollen wall development in Hydrangea bretschneiderii Dippel. (Hydrangeaceae): advanced interpretation through physical input, with in vitro experimental verification // Protoplasma. 2021. V. 258. № 2. P. 431–447. https://doi.org/10.1007/s00709-020-01571-4

*Gubatz S., Herminghaus S., Meurer B., Strack D., Wiermann R.* The location of hydroxycinnamic acid amides in the exine of Corylus pollen // Pollen & Spores. 1986. V. 28. P. 347–354.

*Gunning B.E.S., Steer M.W.* Plant cell biology: Structure and Function. Jones & Bartlett Leaing, 1996. 120 p.

*Hamley I.* Introduction to soft matter. Polymers, colloids, amphiphiles and liquid crystals. Chichester: John Wiley & Sons, 2000. 331 p.

*Hemsley A.R., Gabarayeva N.I.* Exine development: the importance of looking through a colloid chemistry "window" // Plant Syst. Evol. 2007. V. 263. P. 25–49. https://doi.org/10.1007/s00606-006-0465-2

*Hemsley A.R.* Nonlinear variation in simulated complex pattern development // J. Theor. Biol. 1998. V. 192. P. 73–79. https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0610

*Hemsley A.R., Collinson M.E., Brain A.P.R.* Colloidal crystal-like structure of sporopollenin in the megaspore walls of recent Selaginella and similar fossil spores // Bot. J. Linn. Soc. 1992. V. 108. P. 307–320.

*Hemsley A.R., Scott A.C., Barrie P.J., Chaloner W.G.* Studies of fossil and modern spore wall biomacromolecules using 13C solid state NMR // Ann. Bot. 1996. V. 78. P. 83–94. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0099

*Hemsley A.R., Griffiths P.C.* Architecture in the microcosm: biocolloids, self-assembly and pattern formation // Phil. Trans. Royal Soc. London A. 2000. V. 358. P. 547–564.

*Hemsley A.R., Lewis J., Griffiths P.C.* Soft and sticky development: some underlying reasons for microarchitectural pattern convergence // Rev. Paleobot. Palenol. 2004. V. 130. P. 105–119. https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2003.12.004

*Herminghaus S., Gubatz S., Arendt S., Wiermann R.* The occurrence of phenols as degradation products of natural sporopollenin – a comparison with "synthetic sporopollenin" // Zeit für Nat. 1988. Bd 43c. P. 491–500.

*Heslop-Harrison J.* Pattern in plant cell walls: morphogenesis in miniature // Proc. Roy. Inst. GB. 1972. V. 45. P. 335–351.

*Hu J., Wang Z., Zhang L., Sun M.X.* The Arabidopsis Exine Formation Defect (EFD) gene is required for primexine patterning and is critical for pollen fertility // New Phytol. 2014. V. 203. P. 140–154. https://doi.org/10.1111/nph.12788

*Ingber D.* Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton // J. Cell. Sci. 1993. V. 104. P. 613–627. https://doi.org/10.1242/jcs.104.3.613

*Ingber D.E.* Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology // J. Cell. Sci. 2003a. V. 116. P. 1157–1173. https://doi.org/10.1242/jcs.00359

*Ingber D.E.* Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks // J. Cell. Sci. 2003b. V. 116. 1397–1408. https://doi.org/10.1242/jcs.00360

*Ingber D.E., Jamieson J.D.* Cells as tensegrity structures: architectural regulation of histodifferentiation by physical forces transduced over basement membrane. In: Andersson L.C., Gahmberg C.G., Ekblom P. (eds.), Gene expression during normal and malignant differentiation. Orlando, FL.: Academic Press, 1985. P. 13–32.

*Jia Q.S., Zhu J., Xu X.F., Lou Y., Zhang Z.L., Zhang Z.P., Yang Z.N.* Arabidopsis AT-hook protein TEK positively regulates the expression of arabinogalactan proteins for nexine formation // Mol. Plant. 2015. V. 8. P. 251–260. https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.10.001

*Kadzik R.S., Homa K.E., Kovar D.R.* F-actin cytoskeleton network self-organization through competition and cooperation // Annual review of cell and developmental biology. 2020. V. 6(36). P. 35–60.

*Kanaoka M.M., Shimizu K.K., Xie B. et al.* KOMPEITO, an atypical Arabidopsis rhomboid-related gene, is required for callose accumulation and pollen wall development // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. P. 5959. https://doi.org/10.3390/ijms23115959

*Kauffman S.A.* The origin of order. New York, Oxford: Oxford University Press, 1993. 709 p.

*Kim M.J., Kim M., Lee M.R. et al.* LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN (LDB) 10 interacts with SIDECAR POLLEN/LBD27 to control pollen develop-

ment in Arabidopsis // Plant J. 2015. V. 81. P. 794–809. https://doi.org/10.1111/tpj.12767

*Kurakin A.* Self-organization versus watchmaker: stochastic dynamics of cellular organization // Biol. Chem. 2005. V. 386. P. 247–254. https://doi.org/10.1515/BC.2005.030

*Lavrentovich M.O., Horsley E.M., Radja A., Sweeney A.M., Kamien R.D.* First-order patterning transitions on a sphere as a route to cell morphology // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2016. V. 113. P. 5189–5194. https://doi.org/0.1073/pnas.1600296113

*Lecuit T.* "Developmental mechanics": cellular patterns controlled by adhesion, cortical tension and cell division // HFSP J. 2008. V. 2. 72–78. https://doi.org/10.2976/1.2896332

*Lecuit T., Lenne P.F.* Cell surface mechanics and the control of cell shape, tissue patterns and morphogenesis // Mol. Cell. Biol. 2007. V. 8. P. 633–644. https://doi.org/10.1038/nrm2222

*Lehmann O.* Flüssige Kristalle, sowie Plastizität von Kristallen im Allgemeinen, molekulare Umlagerungen und Aggregatzustandsänderungen. Leipzig: Engelmann, 1904. 267 p.

*Leibler S., Andelman D.* Ordered and curved meso-structures in membranes and amphiphilic films. J. Phys. Paris. 1987. V. 48. P. 2013–2018. https://doi.org/10.1051/jphys:0198700480110201300

*Li W., Liu Y., Douglas C.* Role of glycosyltransferases in pollen wall primexine formation and exine patterning // Plant Physiol. 2017. V. 173. P. 167–182. https://doi.org/10.1104/pp.16.00471

*Li J., Yu M., Geng L.L., Zhao J.* The fasciclin-like arabinogalactan protein gene, FLA3, is involved in microspore development of Arabidopsis // Plant J. 2010. V. 64. P. 482–497. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04344.x

*Li F.S., Phyo P., Jacobowitz J. et al.* The molecular structure of plant sporopollenin // Nat. Plants. 2019. V. 5. P. 41–46. https://doi.org/10.1038/s41477-018-0330-7

*Lintilhac P.M.* The problem of morphogenesis: unscripted biophysical control systems in plants // Protoplasma. 2014. V. 251. P. 25–36. https://doi.org/10.1007/s00709-013-0522-y

*Liu L., Wang T.* Male gametophyte development in flowering plants: A story of quarantine and sacrifice // J. Plant Physiol. 2021. V. 258–259. P. 153365. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153365

*Lou Y., Xu X.F., Zhu J., Gu J.N., Blackmore S., Yang Z.N.* The tapetal AHL family protein TEK determines nexine formation in the pollen wall // Nat. Commun. 2014. V. 5. P. 3855. https://doi.org/10.1038/ncomms4855

*Mandelbrot B.B.* The Fractal Geometry of Nature. San Francisco: WH Freeman and Co., 1982. 460 p.

*Mi L., Mo A., Yang J. et al.* Arabdopsis novel microgametophyte defective mutant 1 is required for pollen viability via influencing intine development in Arabidopsis. Front. Plant Sci. 2022. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.814870

*Moore S.E.M., Gabarayeva N., Hemsley A.R.* Morphological, developmental and ultrastructural comparison of Osmunda regalis L. spores with spore mimics // Rev. Paleobot. Palynol. 2009. V. 156. P. 177–184.

*Neto A., Salinas S.* The physics of lyotropic liquid crystals: Phase transitions and structural properties. Oxford: Oxford Science Publications, 2005. 320 p.

*Nishikawa S., Zinkl G.M., Swanson R.J., Maruyama D., Preuss D.* Callose (β-1, 3 glucan) is essential for Arabidopsis pollen wall patterning, but not tube growth // BMC Plant Biol. 2005. V. 5. P. 22–30. https://doi.org/10.1186/1471-2229-5-22

*Padmanaban S., Czerny D.D., Levin K.A. et al.* Transporters involved in pH and K+ homeostasis affect pollen wall formation, male fertility, and embryo development // J. Exp. Bot. 2017. V. 68. P. 3165–3178. https://doi.org/10.1093/jxb/erw483

*Paxson-Sowders D.M., Owen H.A., Makaroff C.A.* A comparative ultrastructural analysis of exine pattern development in wild-type Arabidopsis and a mutant defective in pattern formation // Protoplasma. 1997. V. 198. P. 53–65.

*Paxson-Sowders D.M., Dodrill C.H., Owen H.A., Makaroff C.A.* Dex1, a novel plant protein, is required for exine pattern formation during pollen development in Arabidopsis // Plant physiol. 2001. V. 127. P. 1739–1749. https://doi.org/10.1104/pp.010517

*Pettitt J.M.* Ultrastructure and cytochemistry of spore wall morphogenesis. In: *Dyer AF* (ed) The experimental biology of ferns. London, N.Y., San Francisco: Academic Press, 1979. P. 211–252.

*Pettitt J.M., Jermy A.C.* The surface coats on spores // Biol. J. Linn. Soc. 1974. V. 6. P. 245–257.

*Plourde S.M., Amom P., Tan M., Dawes A.T., Dobritsa A.A.* Changes in morphogen kinetics and pollen grain size are potential mechanisms of aberrant pollen aperture patterning in previously observed and novel mutants of Arabidopsis thaliana // PLoS Comput. Biol. 2019. V. 15. e1006800. https://doi.org/10.1371/journal. pcbi.1006800

*Polevova S.V., Grigorjeva V.V., Gabarayeva N.I.* Pollen wall and tapetal development in Cymbalaria muralis: the role of physical processes, evidenced by in vitro modelling // Protoplasma. 2023. V. 260. P. 281–298. https://doi.org/10.1007/s00709-022-01777-8

*Pozhidaev A.E.* Polymorphism of pollen in the genus Acer (Aceraceae). Isomorphism of deviant forms of Angiosperm pollen. Grana. 1993. V. 32. P. 79–85. https://doi.org/10.1080/00173139309429457

*Pozhidaev A.E.* Pollen morphology of the genus Aesculus (Hippocastanaceae). Patterns in the variety of morphological characteristics. Grana. 1995. V. 34. P. 10–20. https://doi.org/10.1080/00173139509429028

*Pozhidaev A.E.* Hypothetical way of pollen aperture patterning. 1. Formation of 3-colpate patterns and endoaperture geometry. Rev. Palaeob. Palynol. 1998. V. 104. P. 67–83.

*Pozhidaev A.E.* Hypothetical way of pollen aperture patterning. 2. Formation of polycolpate patterns and pseudoaperture geometry. Rev. Palaeobot. Palynol. 2000. V. 109. P. 235–254.

*Pozhidaev A.E.* Hypothetical way of pollen aperture patterning. 3. A family-based study of Krameriaceae. Rev. Palaeobot Palynol. 2002. V. 127. P. 1–23.

*Pozhidaev A.E., Petrova N.V.* Structure of variability of palynomorphological features within and beyond the genus Galeopsis L. Hjl. (Lamiaceae) in the context of divergent morphological evolution. Biol. Bull. Rev. 2023. V. 13. P. 63–80. https://doi.org/10.1134/S2079086423010061

*Quilichini T.D., Grienenberger E., Douglas C.J.* The biosynthesis, composition and assembly of the outer pollen wall: A tough case to crack // Phytochemistry. 2015. V. 113. P. 170–182. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.05.002

*Radja A.* Pollen wall patterns as a model for biological self-assembly // J. Exper. Zool. Part B: Molecular and Developmental Evolution. 2020. V. 336. № 8. P. 629–641. https://doi.org/10.1002/jez.b.23005

*Radja A., Horsley E.M., Lavrentovich M.O., Sweeney A.M.* Pollen patterns form from modulated phases // Cell. 2019. V. 176. P. 856–868. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.014

*Regier J.C., Hatzopoulos A.K.* Evolution in steps: the role of regulatory alterations in the diversification of the moth chorion morphogenetic pathway. In: Varner J.E. (ed.) Self-assembling architecture. N.Y.: Alan R. Liss, 1988. P. 179–202.

*Reinitzer F.* Zur Kenntnis des Cholesterins // Monatshefte. 1888. V. 9. P. 421–441.

*Rowley J.R.* Implications on the nature of sporopollenin based upon pollen development. In: Brooks J., Grant P.R., Muir M.D., van Gijzel P., Shaw G. (eds.) Sporopollenin. London, N.Y.: Academic Press, 1971. P. 174–218.

*Rowley J.R.* Formation of pollen exine bacules and microchannels on a glycocalyx // Grana. 1973. V. 13. P. 129–138.

*Rowley J.R.* Lipopolysaccharide embedded within the exine of pollen grains. In: Bailey G.W. (ed.) 33rd Ann Proc Electron Microscopy Soc. Amer. Las Vegas, 1975. P. 572–573.

*Rowley J.R., Dahl A.O.* Pollen development in Artemisia vulgaris with special reference to glycocalyx material // Pollen Spores. 1977. V. 19. P. 169–284.

*Scott R.J.* Pollen exine – the sporopollenin enigma and the physics of pattern. In: Scott R.J., Stead M.A. (eds.) Molecular and Cellular Aspects of Plant Reproduction. Society for Experimental Biology Seminar Series 55. Cambridge: Univ. Press, 1994. P. 49–81.

*Skriven L.E.* Equilibrium bicontinuous structures. In: Mittal K.L. (ed), Micellization, Solubilization, and Microemulsions 1, 2. N.Y. & London: Plenum Press, 1977. P. 548–567.

*Sitte P.* Role of lipid self-assembly in subcellular morphogenesis. In Cytomorphogenesis in plants. In: Kiermayer O. (ed.) Cell Biology Monographs 8. Wien. N.Y.: Springer, 1981. P. 401–421. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-8602-2_15

*Shapiro B.E., Tobin C., Mjolsness E., Meyerowitz E.M.* Analysis of cell division patterns in the Arabidopisis shoot apical meristem // PNAS. 2015. V. 112. P. 4815–4820. https://doi.org/10.1073/pnas.1502588112

*Sheldon J.M., Dickinson H.G.* Determination of patterning in the pollen wall of Lilium henryi // J. Cell Sci. 1983. V. 63. P. 191–208.

*Shellard A., Mayor R.* Sculpting with stiffness: rigidity as a regulator of morphogenesis // Biochemical Society Transactions. 2023. BST20220826.

*Shi J., Cui M., Yang L., Lim Y.J., Zhang D.* Genetic and biochemical mechanisms of pollen wall development // Trends Plant Sci. 2015. V. 20. P. 741–753. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.01

*Stillman N.R., Mayor R.* Generative models of morphogenesis in developmental biology // Seminars in Cell & Developmental Biology. 2023. V. 147. P. 83–90.

*Suzuki T., Narciso J., Zeng W. et al.* KNS4/UPEX1: A type II arabinogalactan β-(1,3)-galactosyltransferase required for pollen exine development // Plant Physiol. 2017. V. 173. P. 183–205. https://doi.org/10.1104/pp.16.01385

*Schweisguth F., Corson F.* Self-organization in pattern formation // Developmental cell. 2019. V. 49(5). P. 659–77.

*Tan W., Cheng S., Li Y. et al.* Phase separation modulates the assembly and dynamics of a polarity related scaffold-signaling hub // Nat. Commun. 2022. V. 13. P. 7181. https://doi.org/10.1038/s41467-022-35000-2

*Taylor M.L., Hudson P.J., Rigg J.M. et al.* Pollen ontogeny in Victoria (Nymphaeales) // Int. J. Plant Sci. 2013. V. 174. P. 1259–1276. https://doi.org/10.1086/673246

*Taylor M., Cooper R.L., Schneider E.L., Osborn J.M.* Pollen structure and development in Nymphaeales: insights into character evolution in an ancient angiosperm lineage // Am. J. Bot. 2015. V. 102. P. 1–18. https://doi.org/10.3732/ajb.1500249

*Taylor M.L., Altrichter K.M., Aeilts L.B.* Pollen ontogeny in Ruppia (Alismatidae) // Int. J. Plant Sci. 2018. V. 179. P. 217–230. https://doi.org/10.1086/696535

*Thompson D.A.* On growth and form. Cambridge: University Press, 1917. 793 p.

*van Bergen P.F., Blokker P., Collinson M.E., Sinninghe Damsté J.S., de Leeuw J.W.* Structural biomacromolecules in plants: what can be learnt from the fossil record? In: Hemsley A.R., Poole I. (eds.) The evolution of plant physiology. Amsterdam: Academic Press, 2004. P. 134–154. https://doi.org/10.1016/B978-012339552-8/50009-3

*Van Uffelen G.A.* The control of spore wall formation. In: Blackmore S., Barnes S.H. (eds.) Pollen and spores: patterns of diversification. Oxford: Clarendon Press, 1991. P. 89–102.

*Vignaud T., Blanchoin L., Théry M.* Directed cytoskeleton self-organization // Trends in cell biology. 2012. V. 22(12). P. 671–682.

*Wallace S., Fleming A., Wellman Ch.H., Beerling D.J.* Evolutionary development of the plant spore and pollen wall // AoB PLANTS plr027. 2011. https://doi.org/10.1093/aobpla/plr027

*Wang R., Dobritsa A.* Exine and aperture patterns on the pollen surface: their formation and roles in plant reproduction // Ann. Plant Rev. 2018. V. 1. P. 1–40. https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0625

*Wang R., Dobritsa A.* Loss of THIN EXINE2 disrupts multiple processes in the mechanism of pollen exine formation // Plant Physiol. 2021. V. 187. P. 133–157. https://doi.org/10.1093/plphys/kiab244

*Wang R., Owen H.A., Dobritsa A.A.* Dynamic changes in primexine during the tetrad stage of pollen development // Plant Physiol. 2021. kiab426. https://doi.org/10.1093/plphys/kiab426

*Weber M.* The formation of pollenkitt in Apium nodiflorum (Apiaceae) // Ann. Bot. 1992. V. 70. P. 573–577. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088519

*Wiermann R., Gubatz S.* Pollen wall and sporopollenin // Int. Rev. Cytol. 1992. V. 140. P. 35–72.

*Wiermann R., Ahlers F., Schmitz-Thom I.* Sporopollenin. In: Hofrichter M., Steinbüchel A. (eds.) Biopolymers – Lignin, Humic Substances and Coal, vol. 1. Weinheim: Wiley-VCH, 2001. P. 209–227. https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol1007

*Wilmesmeier S., Wiermann R.* Influence of EPTC (S-ethyl-dipropyl-thiocarbamate) on the composition of surface waxes and sporopollenin structure in Zea mays // J. Plant Physiol. 1995. V. 146. P. 22–28.

*Wilmesmeier S., Wiermann R.* Immunocytochemical localization of phenolic compounds in pollen walls using antibodies against p-coumaric acid coupled to bovine serum albumin // Protoplasma. 1997. V. 197. P. 148–159.

*Wodehouse R.P.* Pollen grains: their structure, identification and significance in science and medicine. N.Y.: McGraw-Hill Co. 1935.

*Xiong S.-X., Zeng Q.-Y., Hou J.-Q. et al.* The temporal regulation of TEK contributes to pollen wall exine patterning // PLoS Genet. 2020. V. 16. № 5. e1008807. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008807

*Xu M., Yan X., Wang Y. et al.* ADAPTOR PROTEIN-1 complex-mediated post-Golgi trafficking is critical for pollen wall development in Arabidopsis // New Phytol. 2022. V. 235. P. 472-487. https://doi.org/10.1111/nph.18170

*Zhang Z.B., Zhu J., Gao J.F. et al.* Transcription factor AtMYB103 is required for anther development by regulating tapetum development, callose dissolution and exine formation in Arabidopsis // Plant J. 2007. V. 52. P. 528–538. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03254.x

# The Role of Physical Processes in Pollen Wall Morphogenesis: Hypothesis and Experimental Confirmation

**N. I. Gabarayeva***

*Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, ul. Popova, 2, St. Petersburg, 197376 Russia*
**e-mail: 1906ng@mail.ru*

The review is devoted to the analysis and generalization of modern knowledge about the mechanisms underlying the ontogeny of the male gametophyte envelope. New and earlier data on exine development are discussed, and recurrent phases in the development of exine of phylogenetically distant plant species are emphasized. Though exine formation has been shown to be dependent on plenty of genes, the reiteration of exine patterns in different plant species (e. g. columellate, granular, "white-lined" lamellae) suggests that these patterns are based on some non-biological principles of space-filling operations. However, mechanisms involved remained obscure until it became clear that the sequence of structures observed during exine development coincided with the sequence of self-assembling micellar mesophases. It was discovered later that another physical-chemical process – phase separation – participated in exine formation. To confirm that exine-like patterns are capable of generating in vitro by simple physical processes, and their formation does not require regulation at the genome level, some our and other authors' in vitro experiments were undertaken; the data obtained are discussed. Several series of our new experiments on modeling exine development with mixtures of urface-active substances resulted in some patterns simulating the main types of natural exine. Transmission electron microscopy analysis of the samples has shown that patterns simulating the full range of exine types were obtained by joint action of phase separation and micellar self-assembly. The reconsideration and analysis of our and other authors' morphogenetic and modeling data revealed that molecular-genetic mechanisms and physical forces work in tandem, with considerable input of physical processes.

*Keywords:* pollen wall development, physical forces, self-assembly, phase separation, micellar mesophases, modeling of morphogenesis