

УДК 581.3, 582.761.2

Т.Н. НАУМОВА

Ботанический институт им. В.Л. Комарова
Российской академии наук,
Санкт-Петербург
E-mail: Tamarann@mail.ru

АПОМИКСИС И АМФИМИКСИС У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ



Целью настоящей работы является сопоставление апомиктического и полового воспроизведения (амфимиксиса) у цветковых растений. Рассматриваются светоптические и ультраструктурные аспекты цитозембриологических процессов у апомиктов, начиная с ранних этапов развития семяпочки и заканчивая сформированным семенем. У исключительно большинства апомиктов отмечается неспособность к развитию автономного эндосперма и формированию жизнеспособных семян без участия оплодотворения ядер центральной клетки зародышевого мешка. Выявлены характерные признаки ультраструктурной дифференциации мегаспороцитов при диплоспории, апоспоровых инициалей при апоспории, эмбриоцитов при адвентивной эмбрионии, а также яйцеклеток при партеногенезе и синергид при апогаметии, проведено их сопоставление с генеративными структурами амфимиктов. Сделано предположение о сходстве на клеточном уровне механизмов генетической регуляции формирования и развития генеративных структур при апомиксисе и амфимиксисе. Настоящая работа не является обзором по апомиксису в целом. Основой ее написания служат опубликованные оригинальные материалы, полученные автором в результате многолетних исследований в области апомиксиса.

© Т.Н. НАУМОВА, 2008

АПОМИКСИС И АМФИМИКСИС У ЦВЕТКОВЫХ

Оба процесса, и амфимиксис и апомиксис, происходят на растении, достигшем генеративной фазы развития, на базе его генеративных структур: в мужской сфере это пыльники, пыльцевые зерна и спермии, в женской — семяпочки, зародышевые мешки с находящимися в них гаметамы. Завершаются эти процессы образованием семени. Амфимиксис и апомиксис не равнозначны по роли и распространению среди цветковых. Половое воспроизведение, в основе которого лежит двойное оплодотворение, занимает господствующее положение.

Апомиксис обнаружен у значительного числа видов и встречается спорадически по всему филогенетическому древу покрытосеменных. В некоторых семействах это явление распространено очень широко (*Poaceae*, *Asteraceae*, *Rosaceae*, *Rutaceae* и др.). Отдельные виды, реже — роды, могут быть почти полностью апомиктичными, и тогда на долю амфимиксиса остаются единичные проценты. У других растений процент апомиксиса в пределах вида и даже у особей одного и того же вида в разные годы может колебаться в широких пределах (род *Erythronium*). У большинства растений одновременно могут иметь место и амфимиксис, и апомиксис, такие растения относят к категории факультативных апомиктов. Исключительно редки растения, полностью утратившие амфимиксис, такие растения считаются облигатными апомиктами. С полной уверенностью к облигатным апомиктам могут быть отнесены лишь те, которые в природных условиях формируют семена при отсутствии фертильной пыльцы. Следует отметить, что апомиксис исследован менее детально и у меньшего числа видов, чем амфимиксис. Начало исследований в области апомиксиса относится к началу XX столетия, когда немецкий ученый Винклер в 1906 г. дал определение этого явления и разработал его первую классификацию. В дальнейшем имена всемирно известных отечественных и зарубежных ученых были связаны с исследованиями апомиксиса и разработкой его классификаций. К ним относятся в первую очередь А. Ernst, E. Strasburger, F. Fagerlind, G. Stebbins, A. Gustafsson, Я.С. Модилевский, Р. Maheshwary, E. Battaglia, В.А. Поддубная-Арнольди, С.С. Хохлов, Д.Ф. Петров, М.П. Солнцева и др. Необходимо отметить, что до сих пор мало известно о развитии апомиктичных растений и

природе, на популяционном уровне. Лишь немногие виды исследованы с достаточной степенью детальности от спорогенеза до зрелого семени. С использованием же современных методов генетики и молекулярной биологии изучены лишь отдельные этапы развития единичных видов. Основные сведения по апомиксису приведены в последних монографических работах, посвященных этой проблеме [1, 2]. Направления современных исследований по апомиксису, последние достижения и проблемы, которые ждут своего решения, рассмотрены в издании, вышедшем в самое последнее время [3]. Существуют довольно много точек зрения и гипотез относительно генетической природы апомиксиса, однако наиболее обоснованной и приближающейся к реальности, по нашему мнению, является гипотеза, разрабатываемая J. Carman. Она находит вполне определенные подтверждения при изучении природных популяций и в экспериментальных исследованиях [4, 5].

Апомиксис (*apo* – без и *mixis* – смешение) – замещение половой репродукции (амфимиксис) разными типами неполовой репродукции (апомиксис), которые не являются результатом слияния гамет. Благодаря утрате или угнетению оплодотворения и мейоза не происходит чередования ядерных фаз при смене поколений спорофит – гаметофит. Подобно амфимиксису, это генетически контролируемая репродуктивная система [6]. Существует целый ряд других определений апомиксиса, в которых отражены разные подходы и точки зрения авторов. Понятие апомиксиса большинством исследователей в настоящее время трактуется в более широком аспекте и включает в себя не только способ образования спорофита, но и все процессы, связанные с развитием семени. Апомиксис и амфимиксис в настоящем сообщении будут сопоставляться исходя из этих позиций.

При описании эмбриологических аспектов апомиксиса мы намеренно не будем придерживаться той или иной классификации, так как классификации апомиксиса многочисленны, принципы построения и терминология их различны. Здесь, по мере необходимости, будут использованы только общепринятые термины и рассмотрены основные типы апомиксиса, такие как диплоспория, апоспория

и адвентивная эмбриония, партеногенез и апогаметия, а также специфика развития семени в этих случаях.

Амфимиксис (*amphi* – оба, *mixis* – смешение) – процесс половой репродукции, основой которого у цветковых служит двойное оплодотворение. Одним результатом двойного оплодотворения является диплоидный зародыш, который наследует признаки обоих родителей ($2n$), а другим – триплоидный эндосперм ($3n$) с двумя материнскими и одним отцовским геномами при Polygonum-типе зародышевого мешка. Двойное оплодотворение, а также вопросы эволюции гамет подробно изучаются отечественными и зарубежными исследователями [7, 8].

Цитоэмбриология апомиктичных растений

Диплоспория – тип апомиксиса, когда зародышевый мешок начинает развитие из нередуцированного мегаспороцита, мейоз которого аномален или заменен митозом. Облигатная диплоспория неизвестна. У большинства видов наряду с диплоспорией могут происходить нормальный мейоз и мегаспорогенез, у редких видов возможна также апоспория. Таким образом, в разных семяпочках одного и того же растения может иметь место один из трех указанных процессов и развиваться соответственно нередуцированные диплоспорические и апоспорические или мейотические зародышевые мешки. Выделяют несколько типов развития диплоспорических зародышевых мешков и аномальных мейотических делений, которые предшествуют их образованию [9,10]. Более часто встречаются Taraxacum-, Ixeris- и Antennaria-типы, каждый из них имеет свою специфику образования и развития. Зародышевый мешок Taraxacum-типа биполярный, восьмиядерный, семиклеточный, морфологически он сходен с гаплоидным зародышевым мешком Polygonum-типа. Образуется из функциональной диплоидной мегаспоры с реституционным ядром. Реституция ядерного материала происходит в профазе I и метафазе I, второе деление мейоза завершается образованием диады мегаспор. При Ixeris-типе зародышевого мешка начальные и завершающие этапы сходны с таковыми Taraxacum-типа. Однако при эквационном мейотическом делении не

образуется клеточной перегородки, диада не формируется, ядра сливаются и в итоге зародышевый мешок начинает развитие из нередуцированной мегаспоры. В последнее время все больше исследователей приходят к мысли о том, что разница между *Taraxacum*- и *Ixeris*-типами зародышевых мешков не столь велика, их можно рассматривать как единый *Taraxacum*-тип [11]. Зародышевый мешок *Antennaria*-типа начинает развитие непосредственно из мегаспороцита с реституционным ядром, удвоение ядерного материала происходит до начала мейоза. Далее это ядро претерпевает три последовательных деления митоза, образуя биполярный, восьмиядерный, семиклеточный зародышевый мешок, морфологически сходный с *Polygonum*-типом.

Характерным признаком мегаспороцита, мейоз которого аномален, является отсутствие у него каллозной оболочки, в то время как у амфимиктов при *Polygonum*-типе зародышевого мешка она формируются постоянно. Тест на каллозу может быть использован для идентификации диплоспории у цветковых [12–14].

Для понимания диплоспории одним из наиболее важных, по нашему мнению, является познание роли и значимости протопласта, а именно: происходят ли в нем преобразования, аналогичные тем, которые характерны для протопласта мегаспороцита, вступающего в мейоз. Материалы ультраструктурных исследований по этому вопросу будут даны ниже. Другой вопрос касается способности к формированию семян при диплоспории и выяснении насколько велика роль ее в семенном воспроизведении растений, обладающих этим типом апомиксиса.

Ответ на этот вопрос был, отчасти, получен при изучении видов *Allium* [15], а также при исследовании природных диплоидных и триплоидных популяций *Arabis holboellii* (*Brassicaceae*), вида, который характеризуется факультативной диплоспорией с формированием зародышевого мешка *Taraxacum*-типа и мейотического зародышевого мешка *Polygonum*-типа [16]. Соотношение диплоспории и амфимиксиса оказалось различным в разных популяциях. В двух триплоидных популяциях процент апомейоза был высок и составлял соответственно 95–100 % и 83–98 %. В дипло-

идных популяциях доля апомейоза меньше (45–89 %). Далее важно было определить характер развития зародыша и эндосперма в зародышевых мешках *Taraxacum*-типа и возможность образования из них жизнеспособных семян. Благодаря методу проточной цитофотометрии обнаружено, что большая часть жизнеспособных семян имеют зародыши, возникающие из нередуцированных яйцеклеток. В очень редких случаях отмечены зародыши повышенной ploидности, которые могли возникнуть в результате оплодотворения нередуцированной яйцеклетки гаплоидным или диплоидным спермием. Эндосперм образуется, как правило, в результате оплодотворения и проявляет себя как структура, более требовательная к оплодотворению по сравнению с зародышем. Автономное формирование эндосперма также не исключается, хотя осталось неизвестным, может ли он достигать полного развития. Было выявлено большое разнообразие соотношений ploидности между зародышем и эндоспермом в развивающихся семенах исследуемых популяций *A. holboellii* (3 : 9; 3 : 6; 2 : 6; 2 : 4; 2.6 : 6; 4 : 6; 3 : 9; 3 : 6; 6 : 9). Это коренным образом отличается от стандартных соотношений ploидности между зародышем и эндоспермом ($2n : 3n$) у амфимиктичных растений (при *Polygonum*-типе зародышевого мешка).

Довольно сходно с *Arabis* происходит развитие семени у *Poa nemoralis* и *P. palustris*, у которых диплоспорические зародышевые мешки развиваются по *Antennaria*-типу. Около 90–95 % диплоидных яйцеклеток оказывались способными давать партеногенетические зародыши, причем развиваться такие зародыши начинали рано, еще до цветения. Эндосперм формировался лишь в очень немногих семяпочках, развитие его зависело от оплодотворения. Партеногенетические зародыши при отсутствии эндосперма развивались лишь до глобулярной стадии, жизнеспособные семена не формировались [17]. Следовательно, у изученных нами видов из родов *Arabis* и *Poa*, характеризующихся диплоспорией с *Taraxacum*- и *Antennaria*-типами зародышевых мешков и далеко отстоящих друг от друга в систематическом отношении, формирование жизнеспособных семян оказалось возможным лишь при условии наличия эндосперма. Эндосперм же

был в исключительном большинстве случаев псевдогамным и формировался в результате оплодотворения. Таким образом, формирование жизнеспособных семян при диплоспории, несмотря на высокую частоту партеногенеза, тесно связано с амфимиксисом, а именно с оплодотворением ядер центральной клетки.

Диплоспория обнаружена у представителей разных видов из семейств *Asteraceae*, *Solanaceae*, *Rosaceae*, *Poaceae*, *Brassicaceae*. Встречается она и у экономически важных растений — *Manihot esculenta* и *Sorghum bicolor*. Специальные научно-исследовательские программы США посвящены всестороннему изучению репродуктивных процессов и апомиксиса у *Sorghum bicolor* и *Tripsacum*, а также у других растений [5].

Апоспория — тип апомиксиса, при котором развитие зародышевого мешка начинается не из мегаспороцита или мегаспоры, а из клетки нуцеллуса (апоспоровой инициали). В семязпочке часто возникают и начинают развиваться несколько инициалей и, как следствие, несколько апоспорических зародышевых мешков. Может приступить к развитию и зародышевый мешок, возникший из мегаспоры, образованию которой предшествовал мейоз. Следует отметить, что апоспорические и мейотические зародышевые мешки начинают развиваться практически в один и тот же временной период и могут одновременно присутствовать в одной и той же семязпочке. Наиболее конкурентоспособными чаще оказываются апоспорические зародышевые мешки по сравнению с мейотическими. Развитие апоспорических мешков в основном следует по *Hieracium*- и *Panicum*-типам [17]. Число митозов апоспоровой инициали, число образовавшихся ядер и клеток, а также характер их расположения в сформированном мешке являются основными критериями выделения этих типов. *Hieracium*-тип зародышевого мешка образуется из апоспоровой инициали в результате трех последовательных митотических делений, он биполярен, имеет семь клеток и восемь ядер, морфологически сходен с зародышевым мешком *Polygonum*-типа. *Panicum*-тип зародышевого мешка, в отличие от *Hieracium*-типа, образуется в результате двух последовательных митозов апоспоровой инициали. В сформированном состоянии он монополярен, состоит из

четырёх ядер и трех или четырех клеток. В трехклеточном состоянии он имеет яйцеклетку, синергиду и центральную клетку с двумя полярными ядрами, в четырехклеточном — яйцеклетку, две синергиды и центральную клетку с одним полярным ядром. Антиподы в обоих случаях отсутствуют. Признак отсутствия антипод используется для диагностики апоспории у растений с *Panicum*-типом зародышевого мешка. При *Hieracium*- и *Panicum*-типах зародышевых мешков все ядра диплоидны и идентичны между собой как генетически, так и по содержанию ДНК (2С).

Апоспория описана у разных в систематическом отношении групп цветковых растений. Наиболее широко это явление распространено у представителей таких семейств, как *Asteraceae*, *Poaceae*, *Rosaceae*. В целом ряде других семейств апоспория встречается спорадически у отдельных видов (*Adoxaceae*, *Boraginaceae*, *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cyrtillaceae*, *Cucurbitaceae*, *Globulariaceae*, *Myrtaceae*, *Ochnaceae*, *Polygonaceae*, *Ranunculaceae*, *Rutaceae*, *Taccaceae*, *Urticaceae*).

Методы проточной цитофотометрии и фазово-контрастной микроскопии дали возможность исследовать большой объем материала и в том числе семян на ранних этапах их развития. Определено количество ядерного материала (~ плоидность) развивающихся зародыша и эндосперма. Исследования показали, что в пределах вида *Poa pratensis* процент апоспории может иметь высокую вариабельность — от 9 до 76 % [18]. Обнаружено также, что на ранних этапах развития семени часть апоспорических зародышевых мешков имеет партеногенетические диплоидные зародыши и пентаплоидный эндосперм, который мог возникнуть лишь в случае оплодотворения, при слиянии двух диплоидных полярных ядер центральной клетки с гаплоидным спермием. Вполне возможно, что такие семена могут быть жизнеспособными. В то же время значительная часть апоспорических зародышевых мешков оказалась не способной к образованию семян: в них либо отсутствовали и зародыш, и эндосперм, либо отсутствовал только эндосперм, а партеногенетический зародыш при отсутствии эндосперма мог развиваться лишь до глобулярной стадии, недоразвитое семя погибало. Развитие эн-

досперма только из слившихся полярных ядер без оплодотворения не наблюдали.

Аспоспория характерна также для *Brachiaria decumbens*, исключительно важного кормового злака для стран тропиков и субтропиков. Цитозембриологические исследования показали, что в аспоспорических зародышевых мешках этого вида происходит формирование партеногенетических зародышей, которые нормально развиваются до глобулярной стадии, и дальнейшее их развитие не происходит из-за отсутствия эндосперма [19]. Редуцированные зародышевые мешки Polygonum-типа также довольно редко оказывались способными к развитию семени, что, как мы полагаем, связано с особенностями генома и может объясняться тем, что диплоидные растения в действительности были дигаплоидами.

Таким образом, исследованные нами *Poa pratensis* и *Brachiaria decumbens* имеют практически аналогичные характеристики в развитии семени из аспоспорических зародышевых мешков: зародыш возникает, как правило, из неоплодотворенной яйцеклетки — партеногенетически, эндосперм без оплодотворения не развивается, при его отсутствии полного развития семени не происходит, оно приостанавливается по достижении партеногенетическим зародышем глобулярной стадии. Следовательно при аспоспории вполне очевидна зависимость образования жизнеспособных семян от оплодотворения. Формирование эндосперма в аспоспорических зародышевых мешках без оплодотворения, только из сливающихся диплоидных полярных ядер, невозможно. Причиной этого могут быть нестандартные соотношения пloidности партеногенетического зародыша и автономного эндосперма ($2n : 4n$), а также импринтинг. Низкая семенная продуктивность характерна не только для *Brachiaria decumbens* и *P. pratensis*, но и многих других апомиктических видов [14, 18, 19].

Нуцеллярная и интегументальная (адвентивная) эмбриония

Нуцеллярная и интегументальная (адвентивная эмбриония) — тип апомиксиса, при котором в нуцеллусе (при крассинуцеллятных семязпочках) и во внутреннем интегументе (при тенуинуцеллятных семязпочках) диффе-

ренцируются инициальные клетки (эмбриоциты), способные дать начало адвентивным зародышам, т.е. зародышам, приходящим в зародышевый мешок извне. У большинства растений этот тип апомиксиса сочетается с амфимиксисом, и адвентивные зародыши развиваются в зародышевом мешке, возникшем вследствие мейоза. Известны растения, у которых адвентивная эмбриония встречается совместно с аспоспорией (*Ochna*, *Malus*, *Pyrus*, *Allium*). В этих случаях возникают проблемы в развитии семени, связанные большей частью с формированием эндосперма. Адвентивные зародыши проникают в зародышевый мешок на начальных этапах их развития, но чаще после завершения процесса двойного оплодотворения и начала развития эндосперма. Появление в семязпочке и активация эмбриоцитов не связаны ни с опылением, ни с оплодотворением. Присутствие в развивающемся семени одновременно полового зародыша и адвентивных вполне возможно. Полиэмбриония — развитие в семени нескольких зародышей, характерная черта адвентивной эмбрионии. Зародыши неполовой природы могут возникать как в микропиллярной зоне семени, так и в хилазальной, и расти в противоположных направлениях, навстречу друг другу (*Euonymus macroptera*). Вероятно, конкуренция между зародышами решает вопрос об их выживании. Зародыши полового происхождения, по нашему мнению, оказываются менее конкурентоспособными, чем адвентивные, они погибают часто на стадии проэмбрио.

Адвентивная эмбриония — один из наиболее распространенных в природе типов апомиксиса. Встречается это явление спорадически по всему филогенетическому древу цветковых. Наиболее характерно оно для деревьев, кустарников и многолетних травянистых, произрастающих в области тропиков и субтропиков, большинство имеют высокие числа хромосом и эволюционно представляют собой полиплоиды. Наличие адвентивной эмбрионии может быть использовано в качестве таксономического признака вида, а в отдельных случаях и рода (*Sarcococca*, *Poncirus*, *Citrus*, *Evonymus*). К настоящему времени адвентивная эмбриония описана более чем у 250 видов, принадлежащих к 57 семействам цветковых, и включает

целый ряд хозяйственно ценных растений (*Citrus*, *Mangifera*, *Ribes*, *Beta*, *Alnus* и др.).

Адвентивная эмбриония исследована нами особенно подробно по сравнению с другими типами апомиксиса. Основные сведения о ней приведены в ряде журнальных публикаций и в последних изданиях [2, 20]. В общей сложности, но с разной степенью подробности были изучены 26 видов из шести семейств цветковых. Исследования включали изучение последовательных этапов развития женских и мужских репродуктивных структур: спорогенез, гаметогенез, опыление, оплодотворение, эмбрио- и эндоспермогенез, зрелое семя. Анализ оригинальных и литературных данных показывает, что при адвентивной эмбрионии последовательность и ход эмбриональных процессов при развитии семени соответствует тем, которые характерны для полового воспроизведения. Однако эмбриогенез адвентивных зародышей не имеет полной аналогии ни с одним из типов эмбриогенеза половых зародышей. Это касается главным образом начальных этапов развития зародыша, которые происходят вне зародышевого мешка и без его гормонального влияния. Начиная с глобулярной стадии, по завершении формирования эмбриодермы адвентивные и половые зародыши развиваются сходно, и в зрелом состоянии они морфологически неразличимы. Уникальным среди видов с адвентивной эмбрионией мы считаем эмбриональное развитие и формирование жизнеспособных полиэмбриональных семян при отсутствии фертильных пыльцевых зерен у *Sarcococca humilis* [21, 22].

Особое внимание при изучении адвентивной эмбрионии было уделено ультраструктурным исследованиям по дифференциации нуцеллуса, эмбриоцитов и начальным этапам развития нуцеллярных и интегументальных зародышей (см. ниже).

Таким образом, даже краткое описание эмбриологических процессов, их последовательности и взаимозависимости при таких типах апомиксиса, как диплоспория, апоспория, адвентивная эмбриония, показывают, что они не столь точно и четко связаны между собой, как это имеет место при половом воспроизведении. В частности, при апомиксисе соотношение пloidности зародыш : эндосперм вариабельно

и отличается от того, которое характерно для амфимиктов. Кроме того, обнаружено конкурирующее взаимное влияние женского и мужского геномов при образовании эндосперма (импринтинг), которое ингибирует формирование эндосперма [23]. Исследования в области эндоспермогенеза и особенно связанные с изучением импринтинга исключительно важны для решения вопросов практического использования апомиксиса.

Ультраструктурные аспекты дифференциации эмбриональных структур при апомиксисе и амфимиксисе

В 1970–1995 гг. интенсивно развивались ультраструктурные исследования в области эмбриологии растений. Это, практически, было новым направлением, возникновение которого обусловлено появлением совершенных электронных микроскопов с высокой разрешающей способностью. Они позволили заглянуть внутрь клетки, увидеть клеточные органеллы и их преобразование в процессе дифференциации. Значимость этого отчасти сопоставима с достижениями, сделанными нашими предшественниками в период появления первых световых микроскопов в начале XVIII века. В настоящее время объем ультраструктурных исследований очень сократился, приоритеты отданы молекулярной биологии и геномной инженерии.

Значимые и интересные данные получены по ультраструктуре видов амфимиктов. Были исследованы ультраструктура яйцеклетки в процессе ее подготовки к оплодотворению, непосредственно сам процесс слияния ядер, роль цитоплазмы спермия и яйцеклетки, особенности тонкого строения зиготы и этапы эмбриогенеза. Немногочисленные исследования были посвящены ультраструктуре нуцеллуса семяпочки, эндосперма, пыльников и пыльцевых зерен. Были выявлены отличительные ультраструктурные признаки половых клеток (гамет) от соматических клеток. Исследования в связи с трудоемкостью метода и высокой стоимостью оборудования носили ограниченный характер. Несмотря на это, полученные данные внесли неопределимый вклад в познание специфики генеративных процессов растений. Основные достижения в этой области связаны с именами

известных ученых, среди них M.T.M. Willemse, W.A. Jensen, B. Rodkiewicz, J. Bednara, H.L. Mogensen, J.L. van Went, S.D. Russel, A.A.M. van Lammeren, H.J. Wilms, K. Norstog, A.A. Чеботарь, Г.Я. Жукова и др.

Данные, полученные нашими предшественниками, активизировали начало ультраструктурных исследований в области апомиксиса. Несмотря на большой интерес к апомиксису, ультраструктурные исследования этого явления практически отсутствовали. Одним из первых в этой области было проведено изучение тонкой структуры инициальных клеток нуцеллярных зародышей (эмбриоцитов) у *Sarcococca humilis* (Вухасеае) [24]. В дальнейшем число исследований возросло, к сожалению, очень незначительно.

Ультраструктурные аспекты диплоспории

Ультраструктурные данные по протопласту нередуцированного мегаспороцита и последующим этапам развития диплоспорического зародышевого мешка *Antennaria*-типа получены при исследовании *Poa nemoralis* и *P. pratensis* [19, 20, 26]. Обнаружено, что начало развития диплоспорического зародышевого мешка, а это именно тот период, когда осуществляется переход от нередуцированного мегаспороцита к одноядерному диплоспорическому мешку, морфологически и функционально выявляется довольно отчетливо. Прежде всего он характеризуется интенсификацией обменных процессов между ядром и цитоплазмой. Морфология цитоплазматических органелл, а также ядра, ядрышка и ядерной мембраны свидетельствует об увеличении синтеза предшественников рибосом в ядре, их транспорте в цитоплазму, где происходит активация, в особенности, синтеза белков. Размер и вакуолизация клетки увеличиваются, крупные вакуоли сосредоточиваются у полюсов, что в норме характерно для одноядерного гаплоидного зародышевого мешка. Клеточная оболочка утолщается, число плазмодесм резко сокращается, вследствие этого сокращаются взаимные контакты и усиливается изоляция диплоидного мегаспороцита и развивающегося из него диплоспорического зародышевого мешка от окружающих клеток нуцеллуса.

Эти исследования показали, что при диплоспории структурно-функциональные про-

цессы, происходящие в цитоплазме мегаспороцита при аномальном мейозе, в целом аналогичны тем, которые характерны для цитоплазмы мегаспороцита при нормальном мейозе. Таким образом, при аномальном течении преобразований ядерного материала и замене мейоза на апомейоз, наблюдаемым при диплоспории, направленность процессов метаболизма в протопласте, характерная для нормального мейоза, в целом сохраняется. Именно это, вероятно, предотвращает гибель диплоидного мегаспороцита и приводит его к апомиксису. Изложенное заключение служит ответом на поставленный ранее вопрос о роли протопласта клетки при диплоспории.

Ультраструктурные аспекты апоспории.

Ультраструктурные особенности инициальных клеток апоспорических зародышевых мешков (апоспоровых инициалей) исследованы на примере *Panicum maximum* [20, 26, 27]. Видимые признаки дифференциации апоспоровых инициалей проявляются в приобретении одной или несколькими клетками нуцеллуса сферической формы, увеличении размеров клетки, а также размеров ядра и ядрышек. Начинает возрастать их функциональная активность, о чем свидетельствует состояние пластид, митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулома, увеличивается число рибосом и полисом, изменяется характер вакуолизации. Клеточная оболочка утолщается, сокращается число плазмодесм как следствие этих процессов, усиливается изоляция апоспоровых инициалей от соседних клеток нуцеллуса. Сокращение клеточных контактов посредством утраты плазмодесм и увеличение метаболической активности протопласта является, как было уже отмечено, характерным для мегаспороцитов. Следовательно, при апоспории признаки дифференциации апоспоровых инициалей имеют определенные черты сходства с формированием мегаспороцитов у амфимиктов. Весьма существенным при определении направленности развития апоспоровых инициалей и превращения их в апоспорические зародышевые мешки, по нашему мнению, является временной фактор.

Вполне возможно, что генетическую информацию к развитию зародышевых мешков получают при апоспории не только мегаспо-

роциты, но и потенциальные мегаспороциты, которыми эволюционно являются все клетки нуцеллуса. Тем не менее осуществить эти потенции могут лишь некоторые из клеток нуцеллуса; большей частью это клетки, прилежащие к мегаспороциту. Именно поэтому на раннем этапе развития семяпочки дифференцируется несколько апоспоровых инициалей, каждая из которых может дать апоспорический зародышевый мешок. Диплоидные яйцеклетка и синергиды апоспорического зародышевого мешка *Panicum*-типа у *Panicum maximum* по ультраструктурной организации оказались в основном сходными с аналогичными гаплоидными клетками зародышевого мешка *Polygonum*-типа [26].

Ультраструктурные аспекты адвентивной эмбрионии. Первые ультраструктурные исследования адвентивной эмбрионии были проведены на *Sarcococca humilis* (Вухасеае) [24, 28, 29], виде, который имеет высокий процент образования нуцеллярных зародышей и формирования жизнеспособных полиэмбриональных семян при полной стерильности пыльцевых зерен [30, 31]. Позднее с помощью метода электронной микроскопии были исследованы ряд других видов с нуцеллярной и интегументальной эмбрионией: *Evonymus macroptera* (Celastraceae), *Poncirus trifoliata* (Rutaceae), *Opuntia elata* (Cactaceae) [2, 20]. Анализ полученных данных позволяет понять общие закономерности и последовательность процессов, происходящих на клеточном уровне при дифференциации эмбриоцитов и развитии из них зародышей неполовой природы из клеток нуцеллуса или внутреннего интегумента. Выделяется несколько основных положений, которые лежат в основе нуцеллярной и интегументальной эмбрионии.

Во-первых, эмбриоциты формируются на вполне определенном временном этапе развития семяпочки, а именно по завершении развития зародышевого мешка, т.е. в период, предшествующий началу развития полового зародыша. Вполне возможно, что клетки нуцеллуса при нуцеллярной эмбрионии и клетки внутреннего интегумента при интегументальной эмбрионии как потенциальные генеративные клетки семяпочки получают генетическую программу на развитие зародыша. Сопоставление адвентивной эмбрионии и апоспории в этом

плане вполне закономерно. В обоих случаях клетки нуцеллуса дают начало той структуре, которая должна развиваться в семяпочке в определенный период в норме при амфимиксисе, а именно на ранних этапах, до цветения при апоспории — зародышевые мешки, а на более поздних, после цветения при адвентивной эмбрионии — зародыши. Следовательно, генетическая программа развития семяпочки направлена на формирование определенных структур в определенные периоды развития растения, причем у амфимиктов осуществление ее происходит беспрепятственно и постоянно, а у апомиктов она затруднена. В то же время различия в пloidности зародышевых мешков (апоспорических и мейотических), как и различия в составе генома зародыша (будь он только материнским, как при адвентивной эмбрионии, либо смешанным, как у полового зародыша) не являются лимитирующими для осуществления этой генетической программы развития генеративных структур. Именно поэтому опыление, оплодотворение, присутствие зиготического зародыша не являются определяющими в детерминации эмбриоцитов и начале развития адвентивных зародышей. Аналогично этому и формирование апоспоровых инициалей не активизируется каким-либо внешним фактором.

Во-вторых, дифференциация эмбриоцитов включает в себя морфологические преобразования клетки, ее ядра и протопласта, происходящие в определенной последовательности. Проявляются они как на светооптическом, так и на ультраструктурном уровнях. Начинается дифференциация эмбриоцита с увеличения размеров клетки и ее ядра, изменения их формы. Параллельно происходят преобразования ядерных структур и клеточных оргanelл, которые приводят к изменению общей направленности процессов метаболизма. Особую роль играют преобразования в строении клеточной оболочки, которая в процессе дифференциации значительно утолщается и утрачивает плазмодесмы, способствуя этим изоляции эмбриоцита и увеличению избирательности обменных процессов между ним и прилежащими клетками ткани.

В-третьих, характер дифференциации инициальных клеток адвентивных зародышей

(эмбриоцитов) сходен у всех исследованных видов, которые принадлежат к систематически разным таксонам. Следовательно, процесс дифференциации эмбриоцитов при адвентивной эмбрионии представляет собой вполне определенную закономерность, при которой отдельные клетки нуцеллуса, выполняющие в норме трофическую функцию, превращаются в высоко метаболически активные и специфически дифференцированные клетки-эмбриоциты, способные к образованию жизнеспособных зародышей неполовой природы с материнским геномом.

Партеногенез и апогаметия

Партеногенез представляет собой развитие зародыша из неоплодотворенной яйцеклетки. В природе возможен диплоидный и гаплоидный партеногенез. Диплоидный партеногенез имеет место в зародышевых мешках, в процессе формирования которых отсутствовал мейоз, а именно при диплоспории (диплоспорический партеногенез) и при апоспории (апоспорический партеногенез). Редко также возможны случаи удвоения пloidности гаплоидного ядра яйцеклетки. Разновидностью партеногенеза считается гемигамия (семигамия). Это явление, при котором ядро спермия, проникшее в яйцеклетку, не сливается с ее ядром, а приступает к делениям самостоятельно, причем при первых же делениях часто происходит удвоение ядерного материала и в мужском, и в женском ядрах, в проэмбрио и на более поздних этапах сохраняются мозаичные участки тканей (*Gossypium*, *Zephyranthes* и др.). Распространение и встречаемость диплоидного партеногенеза в природе практически аналогичны суммарному распространению и встречаемости диплоспории и апоспории, которые были рассмотрены выше. Частота встречаемости диплоидного партеногенеза в пределах вида обычно высокая (20 % и более).

Гаплоидный партеногенез имеет место в редуцированных зародышевых мешках, развитию которых предшествовал мейоз. По неизвестным причинам у некоторых видов гаплоидная яйцеклетка оказывается способной к эмбриогенезу. Гаплоидные зародыши в большинстве случаев, если в процессе их развития не происходит диплоидизация, оказываются нежизне-

способными. Частота встречаемости гаплоидного партеногенеза обычно низкая и не превышает 1–2 %. Описан он у целого ряда видов (*Datura*, *Nicotiana*, *Triticum*, *Oryza*, *Hordeum*, *Brassica*, *Crepis*, *Solanum*, *Zea*, *Gossypium* и др.). Большинство из них являются хозяйственно значимыми, а следовательно, были изучены более детально, чем другие, для которых такой низкий процент партеногенеза мог остаться незамеченным. Экспериментально частота встречаемости гаплоидного партеногенеза может быть значительно увеличена и в некоторых случаях она достигает 90 % и более [26].

Апогаметия – развитие зародыша не из гаметы (яйцеклетки), а из синергид гаплоидных или диплоидных. Гаплоидная апогаметия имеет место у растений с гаплоидными зародышевыми мешками, диплоидная апогаметия характерна для нередуцированных зародышевых мешков диплоспорических и апоспорических. Распространение и частота встречаемости в природе диплоидной и гаплоидной апогаметии невелики, они значительно меньше, чем гаплоидного и диплоидного партеногенеза. Исключения составляют единичные виды, у которых процент гаплоидной апогаметии может быть высоким (*Trillium camschatcense*).

Ультраструктурные аспекты гаплоидного партеногенеза и апогаметии

Ультраструктурные исследования партеногенеза весьма ограничены и касаются не более 3–5 видов. В основном это злаки, а среди видов с апогаметией исследован единственный вид – *Trillium camschatcense* [20, 32]. Данные, полученные нашими коллегами по ультраструктуре амфимиктов [33], были использованы как эталон для сопоставления их с ультраструктурными данными по партеногенезу и апогаметии.

Гаплоидный партеногенез был исследован на примере аллоплазматической линии *Triticum aestivum* (kotschy–Salmon–line), где образование гаплоидных зародышей достигало 90 %. Полученные данные сопоставлялись с результатами исследований амфимиктической линии этого вида (aestivum–Salmon–line) при искусственном опылении [34]. Для каждой из линий были исследованы три критических периода: I период – три дня до искусственного

опыления, при этом мы получали возможность сопоставить состояние гаплоидных яйцеклеток, одна из которых в дальнейшем даст партеногенетический гаплоидный зародыш, а другая будет оплодотворена и даст половой зародыш; II период — цветение, когда двойное оплодотворение должно было произойти и образовалась зигота у амфимиктической линии, что позволило сопоставить ультраструктуру зиготы со строением партеногенетической яйцеклетки в период цветения; III период — 17 ч после оплодотворения, этот период соответствовал началу развития полового и партеногенетических зародышей, тонкое строение которых и было сопоставлено. До сих пор это практически единственная работа в области ультраструктурных исследований апомиксиса, которая выполнена на уникальном материале и четко спланирована с целью сопоставления партеногенеза, зиготогенеза и эмбриогенеза. Основные результаты этих исследований показали, что за три дня до опыления и оплодотворения яйцеклетка амфимиктической линии слабо функционально активна, в то время как яйцеклетка партеногенетической линии уже имела высокую функциональную активность, о чем свидетельствовали состояния ядра, ядрышка и клеточных органелл. Различия касались и строения клеточной оболочки: у яйцеклетки половой линии она была утолщенной по всему периметру, в то время как у партеногенетической клеточная оболочка отсутствовала и на большом протяжении в халазальной части яйцеклетки была видна лишь плазмалемма, причем состояние последней не изменялось и к периоду цветения. Следовательно, партеногенетическая яйцеклетка уже за три дня до цветения имела признаки, характерные в норме для яйцеклетки, которая готова к оплодотворению. Яйцеклетка половой линии приобретала строение, аналогичное партеногенетической яйцеклетке, значительно позднее — к началу зиготогенеза. Были получены уникальные ультраструктурные данные по процессу слияния спермия с ядром яйцеклетки и состоянию протопласта в этот период. Развитие полового и партеногенетического зародышей начиналось практически синхронно, на период исследования они были соответственно двух- и трехклеточными. Принципи-

альных различий в ультраструктуре протопласта и строении клеточных оболочек обнаружено не было.

Параллельно с яйцеклеткой были исследованы синергиды, одна из которых часто активизировалась и оказывалась способной к развитию синергидного (апогаметического) зародыша. На ранних этапах развития семени партеногенетической линии неоднократно встречалась полиэмбриония, источником ее были партеногенетический и апогаметический зародыши.

Таким образом, проведенные ультраструктурные исследования по гаплоидным партеногенезу у *Triticum aestivum* и апогаметии у *Trillium camschatcense* позволяют сделать выводы о том, что партеногенетические яйцеклетки, как и синергиды, способные к апогаметии, претерпевают последовательные и вполне определенные ультраструктурные преобразования ядра, ядрышка, клеточных органелл и клеточной оболочки, прежде чем дать начало гаплоидным зародышам неполового происхождения. Причем, эти процессы по основным характеристикам практически идентичны с ультраструктурной дифференциацией яйцеклетки, зиготы и проэмбрио полового происхождения. Однако временные периоды начала активации их не совпадают. В частности, подготовка (активация) партеногенетической яйцеклетки к эмбриогенезу начинается заранее, еще до цветения. Подтверждением полученным ультраструктурным данным могут служить светооптические исследования *Poa pratensis*, у которого партеногенетические зародыши часто присутствуют в зародышевом мешке еще до начала цветения. Имеют место среди цветковых и другие аналогичные примеры.

При дальнейшем сравнении партеногенеза и апогаметии с амфимиксисом следует обратить внимание на тот факт, что сходство в ультраструктурной организации между ними проявляется вне зависимости от пloidности генеративных структур: гаплоидные (*Triticum*) и диплоидные (*Panicum*, *Poa*). Яйцеклетки при партеногенезе и синергиды при апогаметии имеют сходную направленность в процессах ультраструктурной дифференциации и аналогичный конечный результат — проэмбрио, как

и амфимиктичные растения при оплодотворении. Кроме того, характер и направленность ультраструктурных преобразований при партеногенезе и апогамии осуществляются сходно у таксонов, занимающих разное систематическое положение (*Poaceae*, *Trilliaceae*).

Вполне возможно, что амфимикты и апомикты на клеточном уровне имеют сходные механизмы генетической регуляции в дифференциации эмбриональных структур. Допустима точка зрения о том, что протопласт и, особенно, клеточные органеллы, имеющие наряду с ядром собственную ДНК, играют в этом важную роль. Для амфимиктов и апомиктов исключительно важна изоляция генеративных клеток (мегаспороцитов, апоспоровых инициалей, эмбриоцитов, зиготы, партеногенетической яйцеклетки, синергид при апогамии) и возникающих из них структур (зародышевых мешков и зародышей) от окружающих тканей. Изоляция во всех указанных случаях осуществляется за счет утолщения клеточной оболочки и утраты плазмодесм. Обменные процессы таких клеток индивидуализируются, поступление метаболитов становится более избирательным и, как следствие, изменяется общая направленность развития и переход с соматического на генеративный путь развития.

Потенциальная роль апомиксиса

Практическое значение апомиксиса для сельского хозяйства может быть исключительно велико благодаря возможности с помощью его сохранять гибридные (F_1) и гетерозисные свойства хозяйственно ценных растений в течение многих лет, в целом ряду поколений. Именно поэтому, и особенно в последние два десятилетия, проводятся интенсивные и всесторонние исследования апомиксиса в целом ряде ведущих научных институтов стран Европы, Англии и США. Результаты этих исследований обсуждаются на конференциях, публикуются в ведущих научных журналах или выходят как отдельные обобщающие издания [1–3]. Результатом практического использования апомиксиса может быть возросшая в несколько раз урожайность сельскохозяйственных культур и обеспечение продуктами питания всего человечества [35].

Хорошо известна значимость гибридных семян для получения высоких урожаев различных сельскохозяйственных культур, включая овощные, хлебные и кормовые злаки, декоративные растения. Получение же их требует исключительно высоких затрат, связанных с содержанием родительских форм, их искусственным опылением, уходом за растениями и арендой больших площадей специально оборудованных теплиц. Именно поэтому гибридные семена имеют высокую себестоимость. Известно, что большинство практически значимых культур являются амфимиктами и характеризуются половым способом семенного воспроизведения. В настоящее время широко распространены идеи апомиктизации хозяйственно ценных растений. Для этого предлагается несколько подходов. В основе их лежат либо преобразования генома амфимиктов в направлении его функционирования, аналогично апомиктичному, либо индукция чужеродных генов. Для этих целей широко применяются самые современные методы молекулярной биологии и геномной инженерии наряду с классическими методами цитоэмбриологии и генетики (гибридизация, мутагенез). Эти работы находятся в настоящее время на начальных стадиях и о серьезных положительных результатах пока говорить рано, особенно если учесть слабую степень изученности апомиксиса. Очень мало известно о генетической природе и принципах наследования апомиксиса, о проблемах импринтинга при развитии псевдогамного эндосперма, а также об активации и развитии автономного эндосперма. Высокая экономическая заинтересованность и возможность получения в перспективе огромных выгод приводят уже сейчас к большой конкуренции между ведущими сельскохозяйственными монополиями (*Syngenta*, *Pioneer Hi Bred International*, *Rijk Zwaan Zaadteelt B.V.*, *Aventis CropScience N.V.*, *Partec GmbH* и др.). Для проведения исследований отпускаются большие финансовые средства. Наиболее важные результаты патентуются.

Таким образом, в перспективе планируется использование апомиксиса в качестве стабилизатора успехов, достигнутых исследователями в результате гибридизации или с помощью методов геномной инженерии. Эти представле-

ния не являются иллюзорными, примером могут служить природные агамные комплексы, где апомиксис вполне успешно функционирует как стабилизатор гибридности и способствует расширению ареалов.

T.N. Naumova

APOMIXIS AND AMPHIMIXIS IN FLOWERING PLANTS

The light microscopic and ultrastructural events of apomictic seed development from the earliest stages through the embryo and endosperm development to maturity were compared with those of the sexual one. The problem of autonomous endosperm formation was postulated as the main problem in low apomictic seed set. The characteristic features of fine differentiation of megasporocytes at diplospory, aposporous initials at apospory, embryocytes at adventive embryony as well as the egg cells at parthenogenesis and synergids at apogamety were described and compared with sexual reproductive structures. It was supposed that the observed similarities in differentiation at the cell level are the result of identical mechanisms of genetic regulation of reproductive structures at amphimixis and apomixis.

T.N. Naumova

АПОМІКСИС І АМФІМІКСИС У КВІТКОВИХ РОСЛИН

Метою даної статті є порівняння апоміктичного та статевого розмноження (амфіміксис) у квіткових рослин. Розглядаються світлооптичні та ультраструктурні аспекти цитоембріологічних процесів у апоміктів, починаючи з ранніх етапів розвитку насінного зачатка та закінчуючи сформованою насінною. У переважній більшості апоміктів зазначено нездатність до розвитку автономного ендосперма і формування життєздатного насіння у відсутності запліднення ядер центральної клітини зародкового мішка. Виявлено характерні ознаки на ультраструктурному рівні диференціювання мегаспорцитів при диплоспрії, апоспорових ініціалей при апоспрії, ембріоцитів при адвентивній ембріонії, а також яйцеклітин при партеногенезі та синергід при апогаметії, проведено їхнє порівняння з генеративними структурами амфіміктів. Зроблено припущення щодо подібності на клітинному рівні механізмів генетичної регуляції формування і розвитку генеративних структур при апоміксисі та амфіміксисі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Asker S.E., Jerling L.* Apomixis in Plants. — Boca Raton : CRC Press, 1992. — 298 p.
2. *Naumova T.N.* Apomixis in Angiosperms. Nucellar and Integumentary Embryony. — Boca Raton : CRC Press, 1993. — 144 p.
3. *Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives* / Eds E. Hörandl, U. Grossniklaus, P. Van Dijk, T. Sharbel. Regnum Vegetabile 147, International Association for Plant Taxonomy and Koeltz Scientific Books. — Vienna, 2007.
4. *Carman J.G.* Do duplicate genes cause apomixis? // *Apomixis : Evolution, Mechanisms and Perspectives* / Ibid. — P. 1–29.
5. *Bradly J.E., Carman J.G., Jamison M.S., Naumova T.N.* Heterochronic features of the female germline among several sexual diploid *Tripsacum* (*Andropogonaceae*, *Poaceae*) // *Sex. Plant. Reprod.* — 2007. — **20**, № 1. — P. 9–17.
6. *Rieger R., Michaelis A., Green M.M.* Glossary of Genetics Classical and Molecular. — New Delhi : Narosa Publ. House, 1991. — 553 p.
7. *Кордюм Е.Л.* Эволюционная цитоембриология покрытосеменных растений. — Киев : Наук. думка, 1978. — 219 с.
8. *Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Семя. Том 2* / Под ред. Т.Б. Батыгиной. — Санкт-Петербург : Мир и семья, 1997. — 821 с.
9. *Battaglia E.* Apomixis Recent Advances in the Embryology of Angiosperms / Ed. P. Maheshwary. — New Delhi : Indian Soc. Plant Morphol., 1963 — P. 221–264.
10. *Crane C.F.* Classification of Apomictic Mechanisms // *The Flowering of Apomixis : From Mechanisms to Genetic Engineering* / Eds Y. Savidan, J.C. Carman, T. Dresselhaus. Mexico, D.F.: CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR), 2001. — P. 24–34.
11. *Nogler G.A.* Gametophytic Apomixis. Embryology of Angiosperms / Ed. B.M. Johry. — Berlin : Springer-Verlag, 1984. — P. 476–518.
12. *Rodkiewicz B.* Callose in cell wall during megasporogenesis in angiosperms // *Planta.* — 1970. — **93**. — P. 39–47.
13. *Carman J.G., Crane C., O. Riera-Lizarazu* Comparative histology of cell walls during meiotic and apomeiotic megasporogenesis in two hexaploid Australian *Elymus* species // *Crop. Sci.* — 1991. — **31**. — P. 1527–1532.
14. *Naumova T.N.* Apomixis in tropical fodder crops: cytological and functional aspects // *Euphytica.* — 1997. — **96**. — P. 93–99.
15. *Kojima A., Nagato J.* Diplosporous embryo sac formation and the degree of diplospory in *Allium tuberosum* // *Sex. Plant Reprod.* — 1992. — **5** № 1. — P. 72–78.
16. *Naumova T.N., Van der Laak J., Osadchiy J., Matzk F., Kravchenko A., Bergervoet J., Ramulu K.S., Boultier K.* Reproductive development in apomictic populations of *Arabidopsis holboellii* (*Brassicaceae*) // *Sex Plant Reprod.* — 2001. — **14**. — P. 195–200.
17. *Rutishauser A.* Embryologie und Fortpflanzungsbiologie der Angiospermen. — Berlin : Springer-Verlag, 1969. — P. 104–121.

18. Naumova T., Den Nijs A.P.M., Willemse M.T.M. Quantitative analysis of aposporous parthenogenesis in *Poa pratensis* genotypes // Acta bot. neerl. – 1993. – 42, № 3. – P. 229–312.
19. Naumova T.N., Hayward M.D., Wagenvoort M. Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accessions of *Brachiaria decumbens* // Sex Plant Reprod. – 1999. – 12. – P. 43–52.
20. Naumova T.N., Vielle-Calzada J.-Ph. Ultrastructural analysis of apomictic development // The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering / Eds Y. Savidan, J.C. Carman, T. Dresselhouse Mexico, D.F.: CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR), 2001. – P. 44–63.
21. Наумова Т.Н. Семязпочка, макроспорогенез, микро- и макрогаметогенез у *Sarcococca humilis* Hort. (*Vuxaceae*) // Бот. журн. – 1979. – 64, № 5. – С. 635–645.
22. Наумова Т.Н. Нуцеллярная полиэмбриония в роде *Sarcococca* (*Vuxaceae*) // Бот. журн. – 1980. – 65. – С. 230–240.
23. Тырнов В.С. Взаимоотношения зародыша и эндосперма при апомиксисе. Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Том 3. Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. – Санкт-Петербург: Мир и семья, 2000. – С. 180–186.
24. Naumova T., Willemse M.T.M. Nucellar polyembryony in *Sarcococca humilis*. Ultrastructural aspects // J. Phytomorphology. – 1982. – 32, № 1. – P. 94–108.
25. Naumova T.N., Osadtchij J.V., Sharma V.K., Dijkhuis P., Ramulu K.S. Apomixis in plants: structural and functional aspects of diplospory in *Poa nemoralis* and *P. palustris* // Protoplasma. – 1999. – 208. – P. 186–195.
26. Наумова Т.Н. Апоспория. Диплоспория. Ультраструктурные аспекты апомиксиса // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Том 3 / Под ред. Т.Б. Батыгиной. – Санкт-Петербург: Мир и семья, 2000. – С. 146–192.
27. Naumova T.N., Willemse M.T.M. Ultrastructural characterisation of apospory in *Panicum maximum* // Sex Plant Reprod. – 1995. – 8. – P. 197–204.
28. Наумова Т.Н., Виллемсе М.Т.М. Ультраструктурные аспекты нуцеллярной полиэмбрионии у *Sarcococca humilis* (*Vuxaceae*). Нуцеллус и инициальные клетки нуцеллярных проэмбрио // Бот. журн. – 1983. – 68, № 8. – С. 1044–1054.
29. Наумова Т.Н., Виллемсе М.Т.М. Ультраструктурные аспекты нуцеллярной полиэмбрионии у *Sarcococca humilis* (*Vuxaceae*). Деление инициальной клетки и нуцеллярные проэмбрио // Бот. журн. – 1983. – 68, № 9. – С. 1184–1195.
30. Наумова Т.Н. Семязпочка, макроспорогенез, микро- и макрогаметогенез у *Sarcococca humilis* Hort. (*Vuxaceae*) // Бот. журн. – 1979. – 64, № 5. – С. 635–645.
31. Наумова Т.Н. Нуцеллярная полиэмбриония в роде *Sarcococca* (*Vuxaceae*) // Бот. журн. – 1980. – 65. – С. 230–240.
32. Наумова Т.Н., Яковлев М.С. Развитие эмбриональных структур *Trillium camschatcense* Ker-Gawl. после опыления // Бот. журн. – 1975. – 60, № 5. – С. 627–634.
33. Плюц Т.А. Ультраструктура зародышевого мешка покрытосеменных. – Киев: Наук. думка, 1992. – 146 с.
34. Naumova T.N., Matzk F. Differences in the initiation of the zygotic and parthenogenetic pathway in the Salmon line of wheat: ultrastructural studies // Sex Plant Reprod. – 1998. – 11. – P. 121–130.
35. Toenniessen G.H. Feeding the world in the 21st century: plant breeding, biotechnology, and the potential role of apomixes // The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering / Eds Y. Savidan, J.C. Carman, T. Dresselhouse Mexico D.F.: CIMMYT, IRD, European Commission DG VI (FAIR), 2001. – P. 1–7.

Поступила 30.05.07