

СУЩЕСТВУЕТ ЛИ ГАМЕТОФИТНЫЙ АПОМИКСИС У ДИПЛОИДНЫХ ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ?

В.А. Соколов^{1,2}, П.А. Панихин¹, Т.К. Тараканова¹

¹ Учреждение Российской академии наук Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: sokolov@mcb.nsc.ru;

² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

В статье изложен анализ имеющихся в литературе результатов по обнаружению бесполосеменного (апомиктического) размножения у диплоидных цветковых растений. Под этим термином принято понимать клоновое размножение растений через семенную фазу. В этом случае зародыш формируется из диплоидной материнской клетки без участия генетического материала отца и является абсолютной генетической копией матери. Еще в 1940-е годы Г. Стеббинс (Stebbins, Babcock, 1939), а затем и другие исследователи (Powers, 1945) обратили внимание на тесную связь апомиктического размножения и полиплоидии. До настоящего момента нет какого-либо принятого объяснения этого феномена, но вместе с тем не обнаружено ни одного приемлемого доказательства существования бесполосеменных диплоидов. Был проработан большой массив сообщений по данной теме, и в результате был сделан вывод о том, что статьи об обнаружении диплоидных апомиктов не имеют однозначных доказательств по причине недостаточного методического обеспечения экспериментов или связаны с неверной трактовкой термина *диплоид*.

Ключевые слова: апомиксис, зародышевые мешки, диплоиды, полиплоиды, анеуплоиды, полигаплоиды.

Введение

Прежде всего, стоит пояснить, что подразумевается под терминами *диплоид* и *полиплоид*. Под диплоидами имеются в виду формы или клетки, обладающие полным набором гомологичных пар хромосом. Э.А. Страсбургер, предложивший этот термин, полагал, что зигота получает по гаплоидному набору гомологов от обоих родителей. Поскольку у апомиктов потомки наследуют геномы только от матери, мы оставили лишь первую часть его классического определения. Полиплоидами называем клетки или организмы, число хромосом которых более чем диплоидное ($> 2n = 2x$). При этом, если геном содержит количество хромосом кратное гаплоидному, то полиплоид – сбалансированный. Если нет, то такие формы считаем гетероплоидами или анеуплоидами.

Первым на тесную корреляцию апомиксиса и полиплоидии обратил внимание Л. Стеббинс (Stebbins, Babcock, 1939). Позднее эта проблема

была рассмотрена весьма подробно в работе Пауэрса (Powers, 1945). К настоящему моменту связь апомиксиса и полиплоидии у растений достаточно хорошо обоснована экспериментально (Nogler, 1984; Carman, 1997; Savidan, 2000; Sokolov, Khatypova, 2000). Тем не менее периодически появляются сенсационные сообщения об обнаружении диплоидных растений, размножающихся бесполосеменным путем. В прошлом заблуждения такого рода, иногда очень длительные, были связаны с тем, что способ репродукции определяли по фенотипическим признакам потомков. Этот метод не позволял однозначно отличать апомиктических потомков от полученных в результате самоопыления или гибридизации с сибями, что служило источником ошибок и посылкой к неверной интерпретации получаемых результатов (Holm, Ghatnekar, 1996; Holm *et al.*, 1997). Публикации о наблюдении апомиктического способа репродукции у диплоидных растений можно разделить на две группы. Первая и наиболее

обширная связана либо с изучением $2n = 2x$ цитотипов агамных комплексов, либо с экспериментальными попытками передачи апомиктического способа размножения от полиплоидов диплоидным формам. Агамными комплексами называют естественные популяции какого-

либо вида растений, состоящие из индивидов, несущих кариотипы различной пloidности, от $2n = 2x$ до $2n = 16x$.

Диплоидные компоненты агамных комплексов размножаются сексуально, а полиплоиды, как правило, являются апомиктами (рис. 1).

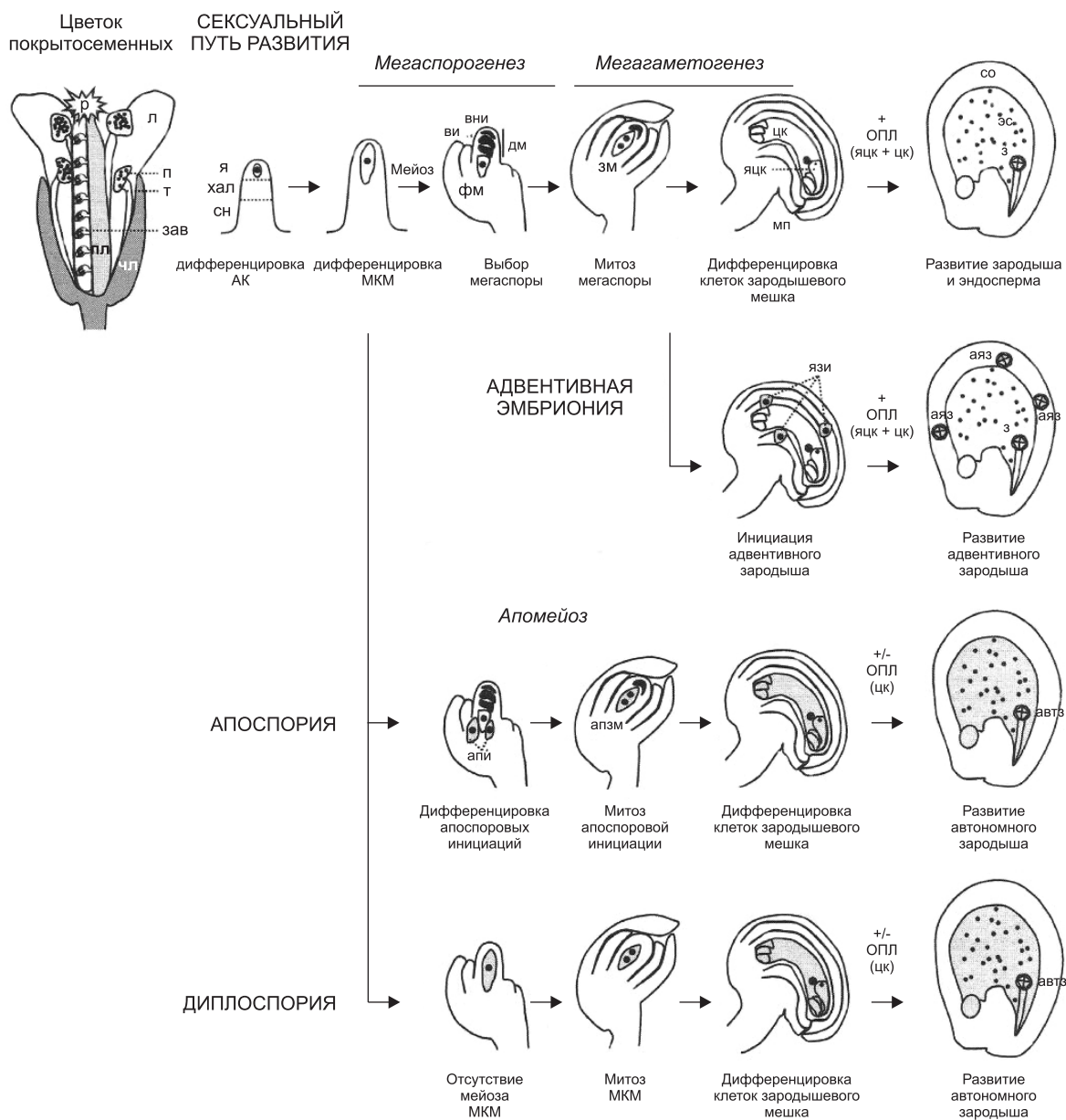


Рис. 1. Стадии развития семяпочки и семени у сексуальных и апомиктических покрытосемянных.

Сокращения (см. рисунок): р – рыльце; пл – плодolistик; л – лепесток; п – пыльник; т – тычинка; зав – завязь; чл – чашелистик; я – ядро; хал – халаза; сн – семязножка; АК – археспориальная клетка; МКМ – материнская клетка мегаспоры; ви – внешний интегумент; вни – внутренний интегумент; дм – дегенерирующие мегаспоры; фм – функционирующая мегаспора; зм – зародышевый мешок; яцк – яйцеклетка; цк – центральная клетка; мп – микропиле; ОПЛ – оплодотворение; со – семенная оболочка; эс – эндосперм; з – зародыш; язи – ядра зародышевых инициалей; аяз – адвентивные ядерные зародыши; апи – апоспоровая инициаль; апзм – апоспоровый зародышевый мешок; автз – автономный зародыш. Апомиктические структуры на схеме семяпочка/семя затушеваны в серый цвет (Tucker, Koltunov, 2009).

Внутри интерплоидных популяций существует постоянный поток генов между растениями разных цитотипов (Harlan *et al.*, 1964; Asker, Jerling, 1992). Диплоиды в таких сообществах, кроме полового воспроизведения, могут формироваться как дигаплоиды в результате партеногенетического развития редуцированных яйцеклеток тетраплоидов (Harlan *et al.*, 1964; Asker, Jerling, 1992). В связи с этим обстоятельством теоретически среди диплоидных форм агамного комплекса вполне могут обнаруживаться растения, несущие все локусы, контролирующие элементы апомиксиса и экспрессирующие его. Диплоидные апомикты такого типа наиболее вероятны среди видов с автономным развитием эндосперма, поскольку у них отсутствует препятствие, связанное с дисбалансом родительских геномов в развитии этого органа (Sokolov, 2006). У псевдогамных апомиктов для успешного развития функционального эндосперма требуются либо изменения в проявлении эффекта импринтинга, либо модификации развития зародышевого мешка и оплодотворения. Одним из таких типов бесполосеменных растений являются апоспорические формы с развитием четырехъядерного зародышевого мешка Ranunculum-типа. У них центральная клетка формируется на основе единственного полярного ядра, несущего соматический набор хромосом ($2n$). При ее оплодотворении спермий привносит гаплоидное ядро, поэтому соотношение геномов родителей в первичной клетке эндосперма будет $2F : 1M$, как и при половом размножении. И, наконец, третий вариант ухода от эффекта импринтинга из-за нарушения баланса геномов – это оплодотворение центральной клетки двумя гаплоидными спермиями или одним нередуцированным диплоидным. Первый из этих вариантов наблюдается у лютика (*Ranunculus*), а второй – у бочеры (*Boecheira*) (Naumova *et al.*, 2001). Вместе с тем у бочеры, видимо, возможен и вариант оплодотворения, наблюдаемый у лютика (Taskin *et al.*, 2009a, b). Эта группа растений крайне полиморфна. Разные виды и линии демонстрируют различия по элементам апомиксиса, что, возможно, и приводит к противоречию результатов (Naumova *et al.*, 2001; Kantama, 2005; Taskin *et al.*, 2009a, b). Так, Д. Карман обнаружил у почти облигатного полигаплоида *Boecheira microphylla* ($2n = 2x = 14$) формирование как апоспорических, так и ди-

плоспорических зародышевых мешков (Личное сообщение Д. Кармана, рис. 2). При этом диплоспория может быть как *Antennaria*- так и *Taraxacum*-типов.

Следует подчеркнуть, что изучение бесполосеменного размножения у *Boecheira* только началось, и пока нет достаточного пула экспериментальных результатов, чтобы сделать определенные выводы. Все выкладки, приведенные нами в пользу возможного обнаружения диплоидных апомиктов в природе или их экспериментального получения, не учитывают еще одного не столь давно обнаруженного феномена. При переходе из диплоидного состояния в полиплоидное и обратно экспрессия некоторых генов существенно меняется. Поэтому предсказать со всей определенностью пенетрантность и экспрессивность развития такого сложного признака, как апомиксис, при изменении плоидности не представляется возможным (Adams, Wendel, 2005; Comai, 2005; Rodrigues, Koltunow, 2005; Chen, Ni, 2006). Отсюда можно заключить, что дигаплоидизация полиплоидных апомиктных растений путем партеногенетического развития редуцированных яйцеклеток может быть сопряжена с эпигенетическим изменением экспрессии признака бесполосеменного размножения у получаемых форм.

Вторая группа публикаций связана с обнаружением диплоидных апомиктов у экспериментальных и культурных растений (Зайковская и др., 1978; Сеилова и др., 1984, 1989, 1994; Малецкий, Малецкая, 1996; Богомолов, 2007; Elkonin *et al.*, 2007; Kantama *et al.*, 2007). При этом культурные бесполосеменные растения были выявлены среди обычных сексуально размножающихся сортов, которые длительное время селектировали и изучали как половые (Rao, Narayana, 1968; Rao, Murty, 1972; Зайковская и др., 1978; Сеилова и др., 1984; Малецкий, Малецкая, 1996; Малецкий и др., 1998; Богомолов, 2007). Более того, некоторые исследователи на основе таких апомиктов создали гетерозисные гибриды (Богомолов, 2007).

Создание диплоидных апомиктов является принципиальным моментом для освоения на практике технологий бесполосеменной селекции, которая, по сложившимся представлениям, должна радикально изменить создание сортов и сельскохозяйственное производство (Jefferson,

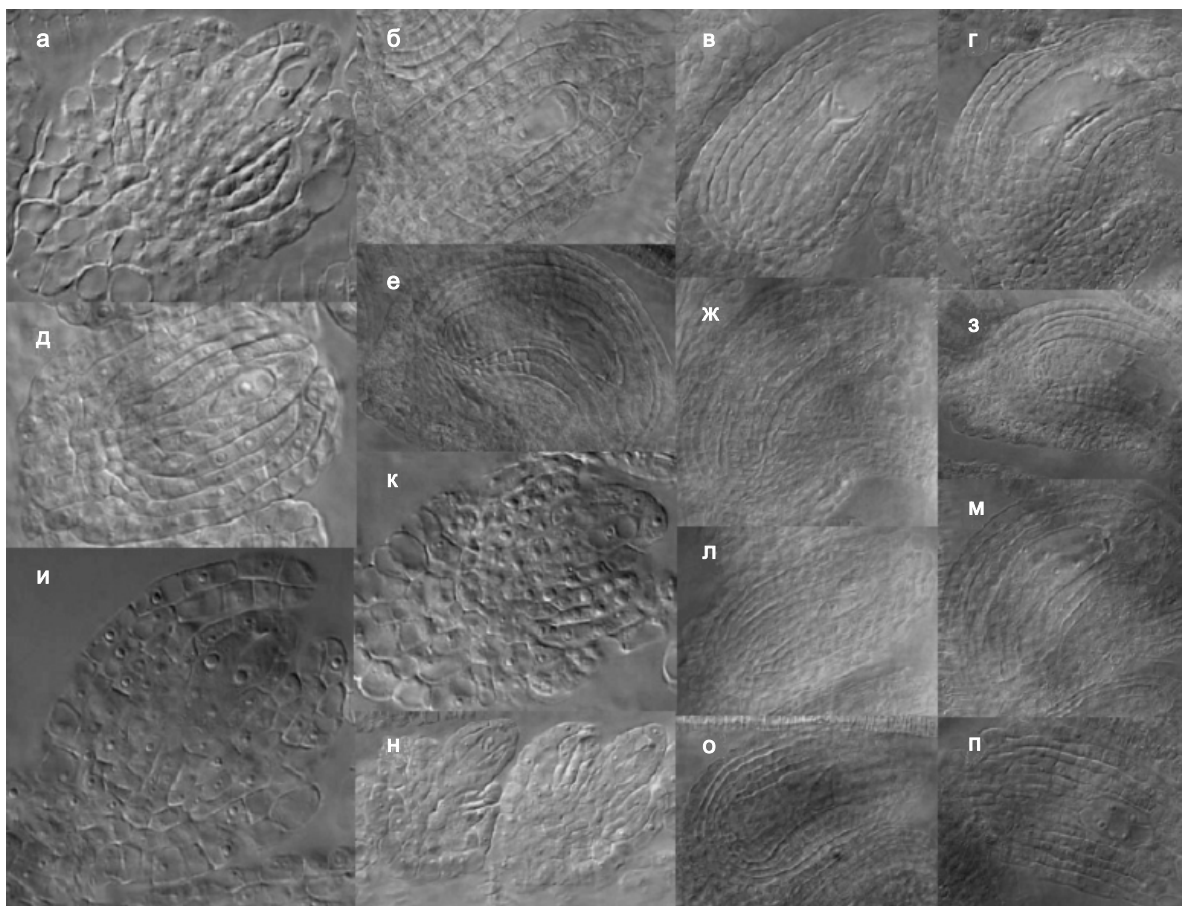


Рис. 2. Половые, диплоспорические и апоспорические зародышевые мешки у *Boechera microphylla*.

а, к – ранняя дегенерация МКМ и замещение ее апоспорической или возможно диплоспорическое развитие; б, г, е, з, л, м, о, п – первичные и вторичные апоспорические зародышевые мешки; д – Тагахасум-тип диплоспории; и – множественные апоспорические инициалии (АИ), замещающие МКМ; н – половая МКМ слева и АИ и апоспорические мешки, замещающие половую МКМ. Фото представлены Дж. Карманом.

1994; Hanna, 1995; Kindiger, Sokolov, 1997; Savidan, 2000). Это связано с тем, что апомиктическая репродукция позволяет сохранять комплексы сложных признаков (например, гетерозис) без расщепления теоретически бесконечно долго, что резко сокращает потерю ресурсов при получении гибридных семян (Kindiger, Sokolov, 1997). Поэтому получение самоконирующихся культурных растений рассматривается в современной прикладной биологии как скатерть самобранка (или Святой Грааль).

В данном обзоре предпринята попытка проанализировать опубликованные по диплоидным апомиктам результаты и, насколько возможно, подвести черту под многолетними дискуссиями по этой проблеме.

Лапчатка (*Potentilla argentea*)

Первое упоминание об обнаружении диплоидных апомиктов в природных популяциях связано с изучением агамных комплексов лапчатки (*Potentilla argentea*) и принадлежит шведскому классику генетики А. Мюнтцингу (Muntzing, 1928, 1931). Более 60 лет из-за несовершенства экспериментальных методов этот ошибочный результат не был опровергнут, несмотря на обширные исследования многих авторов (Muntzing, 1933, 1940; Popoff, 1935; Shimotomai, 1935; Gentcheff, 1938; Gentcheff, Gustafson, 1940; Muntzing A., Muntzing G., 1941, 1943, 1945; Hakansson, 1946; Asker, 1966, 1970a, b, 1971, 1978–1980). При этом Аскер подчеркивал,

что апомиктические диплоиды лапчатки встречаются только как составная часть агамных комплексов. Более того, им была предложена схема циклической динамики цитотипов в природных популяциях этих растений (Asker, Jerling, 1992). Однако широкое использование биохимических и молекулярных методов в конце 20 в. позволило со всей определенностью установить, что диплоиды в агамных комплексах размножаются сексуально. Наиболее активный исследователь природных популяций *Potentilla* С. Аскер через два десятка лет работы усомнился в существовании диплоидных апомиктов (Asker, 1990; Asker, Jerling, 1992). Далее были получены экспериментальные доказательства отсутствия бесполосемянных растений среди диплоидов агамных комплексов *P. argentea* (Holm, 1995; Holm, Ghatnekar, 1996; Holm *et al.*, 1997). Используя RAPD маркеры, Холм показал, что в 19 природных популяциях диплоиды лапчатки размножаются самоопылением с присутствием небольшого числа гибридов от перекрестного опыления. Клоновых форм среди потомства у диплоидов, т. е. апомиктов, он не обнаружил (Holm, 1995). Далее при контролируемом опылении и анализе получаемых гибридов с использованием изозимных маркеров, а также проточной цитофотометрии было показано, что все они имеют половое происхождение (Holm, Ghatnekar, 1996; Holm *et al.*, 1997). Этими работами было окончательно установлено отсутствие бесполосемянного размножения у диплоидных лапчаток.

Злаки (*Poaceae*)

Роды *Paspalum*, *Brachiaria*, *Panicum* принадлежат трибе Paniceae подсемейства Panicoideae, имеющим очень высокий уровень морфологического и таксономического разнообразия. Растения этих родов существуют в форме агамных комплексов и имеют много общего в репродуктивной стратегии (Stebbins, 1950). Все они являются важнейшими пастбищными растениями и требуют селекционного улучшения, чему препятствует апомиксис. Обычно в природных агамных популяциях Paniceae диплоиды крайне редки – около 2 %. Они в большей массе стерильны и не способны конкурировать с полиплоидами. Харлан и де Вет

(Harlan *et al.*, 1964) не нашли апоспорических диплоидов у *Bothriochloa – Dichanthium*, а Савидан – у *Panicum maximum* (Savidan, Pernes, 1982). Среди трав к настоящему моменту выявлены виды, которые экспрессируют отдельные элементы апомиксиса на диплоидном уровне. Так, например, апоспорические зародышевые мешки и партеногенетические зародыши на ранних стадиях развития обнаружены у диплоидной *Brahiaria decumbens*. Но семян, развившихся из этих зародышевых мешков, не зарегистрировано, так как у них не формируется эндосперм, и партеногенетические зародыши гибнут на стадии глобулы (Naumova *et al.*, 1999). У некоторых диплоидных видов *Paspalum* (*P. equitans*, *P. cromoiorrhizon*, *P. intermedium*, *P. quadrifarium*, *P. haumanii*, *P. rufum*, *P. notatum*) наряду с обычными половыми спорадически обнаруживаются апоспорические зародышевые мешки. Но экспериментальных доказательств бесполосемянного размножения этих видов пока не имеется (Quarin, 1986; Quarin, Norrmann, 1987; Norrmann *et al.*, 1989; Quarin *et al.*, 2001). Рассмотрим далее работы по выявлению элементов апомиктического размножения у диплоидных злаков как наиболее изученной в этом направлении группе.

Гречка (*Paspalum rufum*)

Наиболее обширные исследования по выявлению диплоидных апомиктов были проведены на различных видах гречки – *Paspalum* (Quarin, 1986; Quarin, Norrmann, 1987; Norrmann *et al.*, 1989; Quarin *et al.*, 2001). Обычно виды этого рода (их более 400, и это одна из главных пастбищных культур, занимающая миллионы га в Аргентине и Бразилии) организованы в агамные комплексы. Числа хромосом у индивидов, входящих в них, колеблются от $2n = 2x$ до $2n = 16x$. Диплоидные формы, как правило, – самонесовместимые растения, а полиплоиды являются апоспорическими, самоопыляемыми, псевдогамными апомиктами с весьма вариабельными по структуре зародышевыми мешками. Центральная клетка обычно содержит два полярных ядра. При этом зародышевый мешок может быть трехъядерным, и тогда у него отсутствуют как синергиды, так и антиподы. Возможен и пятиядерный вариант, когда

имеется яйцеклетка, две синергиды и двухъядерная центральная клетка (рис. 3). Впрочем, возможны и другие варианты.

Возможно, что неопределенность в формировании компонентов зародышевого мешка есть способ преодоления импринтинга у *Paspalum*, что приводит к формированию функциональных зерновок при самоопылении редуцированной пылью. Наиболее детально изучавшаяся диплоидная форма *P. rufum* имеет $2n = 2x = 20$ и размножается сексуально, при этом высокостерильна. В то же время тетраплоиды этого вида ($2n = 4x = 40$) являются самоопыляемыми псевдогамными апомиктами. Фенотипически эти цитотипы очень близки и при гибридизации дают незначительное количество гибридных семян, что, по всей видимости, объясняется эффектом импринтинга (Nortmann *et al.*, 1994). Цитозембриологические исследования показали, что некоторые диплоидные перекрестники гречки из агамных комплексов, в том числе и *P. rufum*, спорадически формируют апоспорические зародышевые мешки (Quarin, 1986; Quarin, Nortmann, 1987; Nortmann *et al.*, 1989). Отсюда можно предполагать, что на диплоидном уровне существует некоторый генетический потенциал к апоспорическому размножению. Поскольку апомиксис тесно связан с полиплоидией, выявление экспрессии бесполого размножения у диплоидов могло бы изменить существующие представления о его генетическом контроле, равно как и о стабильности агамных комплексов как эволюционно сложившейся адаптивной системе.

В генетических исследованиях по доказательству возможной апомиктической репродукции диплоидов был использован обнаруженный в природе $2n = 2x$ цитотип *P. rufum* – Q3754 (Siena *et al.*, 2008). Эмбриологические исследования этой линии показали, что от 8,8 до 26,8 % ее семян имеют одновременно как сексуальные, так и апоспорические зародышевые мешки, а остальные – только половые (Nortmann *et al.*, 1989). Апомиксис и сексуальное размножение не исключают друг друга, и часто одно и то же растение и даже семяпочка могут нести зародышевые мешки обоих типов (Harlan *et al.*, 1964). Апомикты, дающие хотя бы часть потомства половым путем, называются факультативными. Потомство

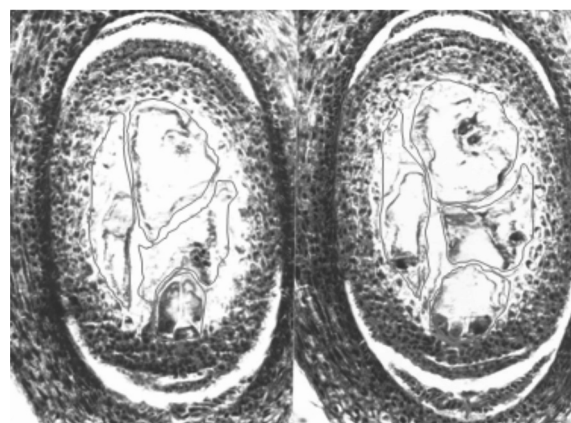


Рис. 3. Апомиктический тетраплоид *Paspalum notatum*.

Два последовательных среза материнской завязи, демонстрирующих четыре апоспорических зародышевых мешка (фото предоставлено С. Quarin).

таких растений может быть представлено 4 вариантами: 1) сегрегационные V^II гибриды – при половом формировании яйцеклетки и ее оплодотворении ($n + n$); 2) собственно апомикты – при апомейотическом формировании яйцеклетки и ее партеногенетическом развитии ($2n + 0$); 3) потомки с увеличенной относительно материнского организма плоидностью, когда нередуцированная яйцеклетка оплодотворяется и дает потомство – V^{III} ($2n + n$); 4) полигаплоиды, когда редуцированная яйцеклетка развивается партеногенетически ($n + 0$) (Nogler, 1984; Savidan, 2000). При этом в случае завязывания V^II и V^{III} гибридов от самоопыления их иногда называют S^II и S^{III} соответственно. Анализ потомства – это лучший и абсолютно точный способ оценки уровня агамоспермии у факультативных апомиктов, так как закладка апоспорического зародышевого мешка, наблюдаемая цитозембриологически, не гарантирует формирования бесполого потомства. У апоспорических апомиктов всегда закладываются сексуальные зародышевые мешки и в развитии осуществляется много фенокритических событий, поэтому любой из зародышей может погибнуть на каком-либо этапе развития семени (Marshall, Brown, 1974). Для дифференциации полового потомства от апомиктического можно использовать различные методы с тестированием признаков по ДНК (Kantama *et al.*, 2007)

или достаточно быстрое и массовое сравнение путем количественной цитофотометрии ДНК в ядрах (Matzk *et al.*, 2000). Этот метод позволяет оценить содержание ДНК в зародыше и эндосперме единичной зерновки. Гречка является удобным объектом для изучения методом проточной цитофотометрии, поскольку апомиксис у нее псевдогамный и получаемое при этом соотношение геномов между зародышем и эндоспермом при апоспории будет 2/5, а у половых – 2/3, что безошибочно тестируется.

Способ репродукции у линии Q3754 был перепроверен цитозембриологически на стадии выброса пыльников. С этой целью были проанализированы 48 семязпочек для обнаружения зародышевых мешков, соответствующих разным способам размножения: 1) Polygonum-типа, т. е. сформированных только редуцированными мегаспорами; 2) как редуцированных, так и апоспорических; 3) только апоспорических. Наблюдения показали, что абсолютное большинство исследованных семязпочек – 42 (87,5 %) – содержали по единственному зародышевому мешку. Они имели характерный для Polygonum-типа набор структурных элементов – яйцеклетку, две синергиды у микропиллярного отдела, большую вакуолированную центральную клетку с двумя полярными ядрами и группу антипод в халазальной части. Другие 6 семязпочек (12,5 %) имели по одному мейотическому зародышевому мешку и одному апоспорическому. При этом апоспорический был меньше и имел 4–5 клеток. Одна из них – яйцеклетка, одна или две – синергиды и большая клетка с двумя полярными ядрами. Все апоспорические зародышевые мешки не имели антипод. Эти результаты говорят о наличии у изученной диплоидной линии Q3754 весьма незначительного потенциала к апомиксическому размножению. На основании полученных данных было решено проанализировать потомство этой линии при гибридизации с разными отцовскими формами с целью определения уровня возможной апоспории у потомков изучили три популяции.

Первая из них – семья Н1 (44 растения) была получена опылением Q3754 пыльцой естественного диплоида Q3861 этого же вида. Следующая семья – S1 (95 растений) была получена путем стимулирования самоопыления у Q3754. С этой целью пыльцу *Paspalum urvillei* наносили на

пыльца *P. rufum*, при этом гибридизация отсутствовала, но разрушалась система самонесовместимости, что позволяло собственной пыльце прорасти и оплодотворять яйцеклетки (Quarin, Norrmann, 1987; Burton, Hanna, 1992; Quarin, Caronio, 1995). И, наконец, третья семья – М1 (20 растений) была получена опылением Q3754 пыльцой тетраплоида Q3785 этого же вида.

Анализ популяции Н1 показал, что все ее растения являются продуктами только половой репродукции и у них всегда присутствует хотя бы один маркер от пыльцевого родителя. Более того, не было выявлено ни одного V^{III} гибрида, так как все растения были сегрегантами по материнским маркерам вследствие прохождения мейоза при макроспорогенезе. Этот результат совершенно однозначно можно интерпретировать как отсутствие функциональных апоспорических зародышевых мешков у диплоида Q3754, и все полученное потомство является результатом полового размножения.

Анализ семьи S1 показал, что 5 из 95 растений имеют такой же тип гетерозиготности по 14 маркерам, как и материнское растение. Siena с соавт. (2008) полагают, что случайное восстановление гетерозиготной конституции в результате полового размножения маловероятно, поэтому следует считать их продуктом бесполого размножения. Таким образом, основной способ размножения у линии Q3754 сексуальный, и ожидаемая частота апоспории – 7,3 %. Здесь два момента осложняют однозначность интерпретации, и они связаны с методами проведения эксперимента. Прежде всего, при некоторой селективности прорастания пыльцы восстановление гетерозиготности по 14 маркерам у 5 растений из 95 вполне допустимо. Во-вторых, такие маркеры могли быть привнесены пыльцой *P. urvillei*, использовавшейся для преодоления барьера самонесовместимости.

В потомстве Н1 и S1 были только диплоидные растения, в то время как при опылении Q3754 пыльцой тетраплоидного цитотипа этого же вида, Q3785 (вариант М1), получали диплоидные (15 растений – 75 %), триплоидные (4 растения – 20 %) и тетраплоидные формы (1 растение – 5 %). Диплоиды, по всей видимости, являются продуктом самоопыления. Триплоиды являются продуктом опыления

редуцированной яйцеклетки диплоидной пыльцой Q3785 или нередуцированной яйцеклетки собственной гаплоидной пыльцой Q3754. Тетраплоид, возможно, есть результат оплодотворения нередуцированной яйцеклетки пыльцой тетраплоидной отцовской формы. Таким образом, в этом опыте апомиктические растения не обнаружены, поскольку все они являются результатом гибридизации. Кроме анализа развивающихся зерновок, было проведено цитофотометрическое изучение 40 семян, полученных при опылении Q3754 пыльцой Q3785. Большая часть из них – 29 семян (72,5 %) давали два пика, соответствующие диплоидному зародышу и триплоидному эндосперму, т. е. они развились половым путем от самоопыления. 9 семян были V^{III} гибридами с триплоидными зародышами и пентаплоидными эндоспермами. И оставшиеся 2 растения были тетраплоидными V^{III} гибридами от опыления нередуцированных яйцеклеток пыльцой тетраплоида. Заметим, в этом эксперименте также не выявлено ни одного действительно апомиктического потомка среди изученных растений.

Если проанализировать все изученные растения суммарно, приняв 5 растений из популяции S1 за апомикты, мы должны сказать, что уровень апоспории у Q3754 равен 2,5 % (5 растений из общего числа 199). Однако при этом не ясно, почему при опылении собственной пыльцой на фоне чужеродной 5 растений авторы отнесли к апомиктам и не обнаружили ни одного V^{III} гибрида, в то время как 104 потомка от опыления чужеродной диплоидной и тетраплоидной пыльцой не дали ни одного бесполосеменного растения, но выявили гибриды с возросшей плоидностью общей численностью 16, т. е. 8 %?

К настоящему моменту становится совершенно очевидным, что без генетического тестирования потомства, на основании только эмбриологических результатов, невозможно дать определенный ответ о типе размножения. Так, у диплоида *P. malacophyllum* гистохимические исследования показали наличие потенциала к апомиктическому развитию, но бесполосеменных потомков не было обнаружено (Hojsgaard *et al.*, 2008).

Подводя итог анализу работы на гречке, необходимо подчеркнуть неубедительность доказательства апомиктического размножения

диплоида *P. rufum*. Но если даже принять точку зрения Siena с соавт., то уровень апоспорических потомков в 2,5 % едва ли говорит о бесполосеменном размножении этой линии, скорее это факультативно-половой тип.

Отметим еще два момента, связанных с исследованиями этой группы авторов. Прежде всего, ими показано, что перевод полового диплоида *P. notatum* на тетраплоидный уровень с помощью колхицина давал апоспорические растения (Quarin, 1992; Quarin *et al.*, 1998). Тем самым они подтвердили ранее высказанную идею Ноглера (Nogler, 1984) об отсутствии экспрессии признака апомиксиса у диплоидов. Кроме того, они продемонстрировали, что апоспория у *Paspalum simplex* контролируется единственным доминантным локусом (Pupilli *et al.*, 2001, 2004), и позднее он был выявлен также у *P. malacophyllum* и *P. notatum* (Pupilli *et al.*, 2004). Доказательство апоспоричности изучаемой линии было бы много строже, если бы авторы показали присутствие у нее соответствующих маркеров. Отсюда было бы ясно, что наличие бесполосеменного локуса и экспрессия этого признака – неравнозначные явления. Более того, к настоящему времени известны ампликоны, специфичные для апомиктов *Paspalum*, и они также могут быть использованы для тестирования бесполосеменного размножения у диплоидов (Martinez *et al.*, 2003; Polegri *et al.*, 2010).

Близко к этим работам примыкает исследование американских авторов, в котором была предпринята попытка получить бесполосеменные диплоиды у *P. notatum* в чисто селекционных целях (Burton, Hanna, 1992; Burton, 1999). Однако несмотря на большие объемы проработанного материала, апомиктические диплоиды не были выявлены.

Ветвянка (*Brachiaria decumbens*)

Другим хозяйственно важным растением, имеющим более 70 видов и широко распространенным в дикой природе в форме агамных комплексов и потенциально способным к апомиксису на диплоидном уровне, является ветвянка – *Brachiaria decumbens*. У нее существует очень своеобразный механизм обхода проблемы соотношения родительских геномов в эндосперме. Этот вид является псевдогамным апомиктом

Panicum-типа, и его зародышевые мешки состоят из четырех клеток: двух синергид, одной яйцеклетки и одной центральной клетки, каждая из которых несет по нередуцированному материнскому геному. Поэтому при образовании первичной клетки эндосперма к двойному набору хромосом последней добавляется гаплоидный набор спермия и, таким образом, соотношение будет $2F : 1M$, как при половом размножении. Именно такой набор родительских геномов требуется для его нормального развития и функционирования. В связи с этим у диплоидов *Brachiaria* эффект импринтинга не может быть препятствием в реализации апомиктического типа развития. Ветвянка является очень важной кормовой культурой. Только в Центральной Бразилии она занимает 30 млн га, что стимулирует исследования, связанные с ее селекцией. Цитоэмбриологические изучения растений ветвянки из природных агамных комплексов, проведенные в Голландии, позволили обнаружить у диплоидов (авторы используют и второй термин – дигаплоиды) уровень апоспории по числу заложенных зародышевых мешков от 7 до 15 %, а у тетраплоидов – от 80 до 95 % (Naumova *et al.*, 1999). Но при этом апомиктически развившихся потомков у диплоидов не наблюдалось, так как эндоспермы не формировались и зародыши гибли на ранних этапах онтогенеза (Naumova *et al.*, 1999). Следует упомянуть, что ранее проведенные на этом же материале исследования также не обнаружили диплоидных апомиктов и способности дигаплоидов давать семена (Valle, Savidan, 1989; Valle *et al.*, 1989; Valle, Glienke, 1991). Это послужило основанием считать диплоиды облигатными половыми растениями (Valle, Glienke, 1991). В цитируемой работе подчеркивается, что, возможно, следует считать диплоидные формы факультативно-сексуальными (Naumova *et al.*, 1999). Тем не менее окончательный ответ на возникшее противоречие можно получить только после генетического анализа потомства диплоидов. Для нас важен вывод авторов рассмотренных работ об отсутствии у диплоидов апомиктического способа репродукции.

Кейптаунская трава (*Tribolium*)

Эндемичный для Южной Африки род *Tribolium*, входящий в трибу Dantonieae, подразде-

ляется на три секции: собственно *Tribolium*, *Acutiflorae* и *Uniolae*. Первая секция состоит из 5 видов, и у одного среди них (*Tribolium hispidum*) имеется тетраплоидный цитотип. Кроме того, все представители этой секции, кроме *Tribolium ciliare*, имеют *B*-хромосомы. Две другие секции состоят в основном из тетраплоидных видов с небольшим числом гексаплоидных цитотипов. Некоторые из них имеют от 1 до 4 *B*-хромосом. У одного из диплоидных видов (*Tribolium echinatum*) цитоэмбриологически показано формирование нередуцированного зародышевого мешка до состояния 4 ядер (Visser, Spies, 1994). Эта работа вызывает много вопросов. Прежде всего, основываясь только на эмбриологических данных, утверждать обнаружение диплоидных апомиктов, по нашему мнению, – излишне смелый вывод. Ранее мы рассмотрели работы на гречке и ветвянке, где выявленная цитоэмбриологически потенция к апоспории не реализуется. Тем более что все без исключения изученные растения имели сексуальные зародышевые мешки и лишь некоторые как дополнение – апоспорические. К сожалению, авторы не провели количественной оценки по соотношению завязей с чисто половыми зародышевыми мешками и совмещенных с апоспорическими. Никаких генетических доказательств бесполосеменного размножения у диплоидов *Tribolium* после этой публикации авторы не сообщили, несмотря на весьма продолжительное время. Совершенно очевидно, что цитоэмбриологические наблюдения на ранних стадиях развития семязпочки не могут быть однозначно увязаны с получаемым в итоге потомством. При этом утверждения о формировании апоспорического зародышевого мешка основываются только на том, что веретено деления у предполагаемой инициальной клетки располагается параллельно таковому у делящихся клеток нуцеллуса. Следующее возражение, которое можно привести в качестве недостаточной доказательности апоспории в данном исследовании, связано с его кариотипом. Авторы указывают, что у *Tribolium* имеются три *B*-хромосомы. Вполне допустимо, что если это действительно *B*-хромосомы, то они могут давать нарушения развития семязпочки и экспрессии генов, контролирующих формирование в нем единственной МКМ.

Кроме того, поскольку диплоидные формы являются частью агамных комплексов, то они вполне могут экспрессировать отдельные компоненты элементов бесполосеменного размножения, как это было показано на других злаковых травах.

Белоус торчащий (*Nardus stricta*)

Белоус торчащий – *Nardus stricta*, в монографии Аскера и Джерлинга этот вид упоминается как апомиктически размножающийся диплоид (Asker, Jerling, 1992). По всей видимости, это ошибка, связанная с обнаружением автором оригинального исследования цитотипа с $2n = 26$ (Rychlewski, 1967). Исходя из того, что 26 делится лишь на 2, эта форма была отнесена к диплоидам. На самом деле в природных популяциях этого вида имеется широкая вариабельность по числу хромосом – от $2n = 4x = 22$ до $2n = 4x = 28$. Некоторые расы с Ньюфаундленда имеют $2n = 4x = 30$. Ранее Авдулов показал, что базовое число хромосом этого вида тетраплоидное и кратно 7: $2n = 4x = 28$. Обнаруживаемые цитотипы с иным количеством хромосом – это его вариации, существующие благодаря бесполосеменному размножению и отсутствию мейоза (Авдулов, 1931). Их происхождение связывают преимущественно с корневищным способом размножения этих растений в природе (Chadwick, 1960), хотя они могут давать жизнеспособные семена. Поэтому наблюдаемые отклонения в числе хромосом никак не сказываются на жизнеспособности и адаптивности этого апомиктического полиплоидного вида. В цитируемой Аскером и Джерлингом работе (Asker, Jerling, 1992) изложены лишь результаты кариологического анализа разных экотипов белоуса, а способы их размножения не рассматриваются (Rychlewski, 1967). Поэтому апомиктический способ репродукции у *N. stricta* не имеет исключения из правила, предложенного Ноглером (Nogler, 1984).

Зубровка (*Hieriechloe*) Poaceae

По зубровке существует единственная работа, в которой изложены результаты сравнительного цитоэмбриологического исследования двух ее видов (*Hieriechloe australis* и *Hieriechloe*

odorata) разного эколого-географического происхождения (Weimark, 1967).

Базовое число хромосом у видов этого злака $x = 7$, и у изученных форм оно колебалось от $2n = 2x = 14$ до $2n = 8x = 56$. Диплоидные растения были собраны в Германии и Финляндии. Авторы не сообщают, были ли они компонентами агамных комплексов. Все результаты ограничены эмбриологическими наблюдениями и иллюстрации выполнены рисунками. К сожалению, приводимые статистические данные не дают представления об уровне апоспории у диплоидов. Сообщается только, что основная масса зародышевых мешков имеет мейотическое происхождение, при этом они множественные (от 1 до 4 на семяпочку) и иногда сопровождаются апоспорическими инициалиями. Генетического анализа потомков предполагаемых диплоидных апомиктов в рассматриваемой работе не представлено. По этим причинам считать данную публикацию доказывающей существование апоспории у диплоидных рас зубровки, по нашему мнению, нельзя. Даже принимая точку зрения автора о существовании апоспорических инициалий, «иногда сопровождающих сексуальные зародышевые мешки» и развитие из них бесполосеменного потомства, можно говорить только о факультативно половом размножении, но не бесполосеменном.

Гамаграсс (*Tripsacum*) Poaceae

Весьма показательный эксперимент, демонстрирующий однозначную связь полиплоидии и апомиксиса, выполнен Шерманом с коллегами (Sherman *et al.*, 1991). Они опыляли диплоидную половую форму гамаграсса ($2n = 2x = 36$) пылью триплоидного апомиктического вида ($2n = 3x = 54$) и получали гибриды с набором хромосом от 36 до 50, т. е. имеющие трисомию по отдельным хромосомам. Анализ типа зародышевых мешков позволил установить, что растения с числом хромосом 45 и выше (т. е. $2n = 36 + 9$ и более) закладывают от 75 до 100 % диплоспорических зародышевых мешков. В то время как у диплоидов их наблюдается от 0 до 25 %. Результаты этого эксперимента соответствуют наблюдаемым на гречке и ветвянке, у которых диплоидные компоненты агамных ком-

плексов проявляли закладку апоспорических зародышевых мешков в аналогичном проценте случаев (Quarin, 1986; Quarin, Caronio, 1995; Naumova *et al.*, 1999). Кроме того, результаты данного исследования хорошо согласуются с нашими данными по хромосомному контролю апомиксиса у гибридов кукурузы с гамаграссом. Минимальное число хромосом дикого родителя, необходимых для поддержания апомиктического размножения гибридов, в наших опытах равнялось 9 (Sokolov, Khaturova, 2000). И именно такое число добавочных хромосом у диплоида приводит к резкому возрастанию количества закладываемых диплоспорических зародышевых мешков (Sherman *et al.*, 1991). Несмотря на то что данная работа выполнена на цитозембриологическом уровне, в ней показана четкая корреляция между количеством дополнительных хромосом и долей диплоспорических зародышевых мешков у потомков.

Рассматривая результаты данного исследования в сравнении с данными других авторов (Blakey *et al.*, 2003), можно однозначно утверждать строгую связь диплоспории и полиплоидии у гамаграсса. Несмотря на то что диплоидные формы трипсакума входят в агамные комплексы, апомиктов среди них не обнаружено (Bradley *et al.*, 2007).

Голубое просо (*Panicum antidotale*)

Сообщение о возможном апомиктическом способе репродукции у диплоидного проса (*Pennisetum ramosum*) прозвучало в диссертации Нарайана, но эта работа нами не изучена в силу ее недоступности (Narayan, 1951). Еще ранее тенденция к апоспории у голубого проса (*Panicum antidotale*) была обнаружена Бартоном (Burton, 1942). Позднее этот вид был исследован им цитозембриологически с целью обнаружения бесполосеменных зародышевых мешков (Kumari, 1960). Он изучил около 500 цветков и обнаружил, что только два содержали множественные зародышевые мешки. Однако лишь у одного из них наряду с мешком Polygonum-типа были обнаружены инициалии, которые можно было считать апоспорическими зачатками. При этом надо отметить, что, работая с этим видом, Браун и Эмери, просмотрев 28 завязей, апоспории не обнаружили (Brown, Emery, 1958).

Вряд ли можно считать частоту 0,2 % апоспорических зародышевых мешков доказательством апомиксиса у диплоидного голубого проса, притом что следующее поколение генетически не изучено.

Ястребинка (*Hieracium*) Asteraceae

Род *Hieracium* – весьма полиморфный и имеет множество видов, организованных в агамные комплексы, включающие растения с геномами от $2n = 3x$ до $2n = 8x$, и все они апомиктичны. Диплоидные формы среди них, как правило, отсутствуют, но у некоторых полиплоидных видов показано партеногенетическое развитие редуцированных яйцеклеток (Skalinska, 1971). Возможно, такой дигаплоид был выявлен Бикнеллом среди 5000 проростков, полученных из семян размножавшегося в теплице триплоидного *Hieracium auranticum* (Bicknell, 1997). Он предположил, что эта форма является диплоидным апомиктом. По габитусу это растение (A2) было много меньше и слабее других сибов. Как показал цитогенетический анализ, у него было диплоидное число хромосом $2n = 2x = 18$. Автор предполагает, что это растение могло иметь половое происхождение или быть партеногенетическим дигаплоидом. У него было намного меньше цветков в соцветии в сравнении с триплоидами и наблюдалась очень низкая завязываемость семян – 9 % (у триплоида 57 %).

Далее для получения экспериментального материала растение A2 размножали микроклонованием через культуру тканей. Клоны выращивали в теплице и стимулировали к цветению изменением продолжительности светового режима. Формирование множественных апоспорических зародышевых мешков у растения A2 было показано на эмбриологических препаратах семян. В большинстве из них наблюдали от одной до двух вакуолированных апоспорических инициалей, дифференцирующихся из клеток нуцеллуса. Обычно они располагались либо рядом с редуцированной материнской клеткой зародышевого мешка, либо с самим мешком. Развитие нередуцированного зародышевого мешка было очень быстрым, и в большинстве случаев все мейотические продукты деления дегенерировали до первого митотического деления гаплоидной клетки. Развитие эмбриона в

апоспорическом зародышевом мешке началось сразу же по окончании мегаспорогенеза. В некоторых семяпочках наблюдали зародыши на стадии глобулы, т. е. еще до раскрытия цветка и формирования пестика. Многие семяпочки содержали по несколько нередуцированных зародышей. Низкую семенную продуктивность у A2 R. Vicknell объясняет конкуренцией множественных зародышей за пластические вещества, что приводит к их элиминации.

Микроспорогенез у A2 также сильно нарушен, и они дают мало функциональной пыльцы. Это объясняется очень слабым развитием спорогенной ткани, в результате чего формируется малое число тетрад, что в итоге ведет к формированию небольшого количества мелких пыльцевых зерен. Попытки получить потомство опылением такой пыльцой диплоидных половых растений не увенчались успехом. Обычно у полиплоидных апоспорических форм ястребинки наблюдается одновременное формирование сексуальных и апоспорических зародышевых мешков (Skalinska, 1971, 1973, 1976). Это способствует как увеличению, так и снижению плоидности растений, входящих в агамные комплексы благодаря V^{II} и V^{III} гибридам. Некоторые семяпочки у растений A2 содержат только по одному зародышевому мешку, и исходя из их структуры и полярности они, видимо, несут редуцированные гаметы, т. е. являются половыми.

Работа Бикнелла вызывает много вопросов, начиная со способа получения материала для исследования. Нам представляется не совсем корректным изучение генетически контролируемого признака на материале, у которого могли произойти соматоклональные мутации при размножении через культуру тканей. Кроме того, поскольку Бикнелл, наблюдал не только апоспорические зародышевые мешки, но и чисто сексуальные, то для оценки апомиктического потенциала диплоидов было бы желательно знать их соотношение. Как мы уже неоднократно отмечали выше, если уровень апоспории не более нескольких процентов, то называть такое размножение бесполое не корректно. Закрепиться в природе таким растениям: с частотой возникновения 0,02 %, стерильной пыльцой и завязываемостью семян на порядок более низкой в сравнении с триплоидным

апомиктом даже в условиях искусственного выращивания практически нереально. По всей видимости, по сумме названных причин такие бесполое растения не обнаруживаются в естественных популяциях.

У нас нет принципиальных возражений против возможных диплоидных апомиктов среди растений с автономным развитием перманентного эндосперма, как у ястребинки, поскольку у них формируется под контролем только материнского генома, и постзиготические препятствия, связанные с дисбалансом родительских геномов, у них отсутствуют (Sokolov, 2006). Однако экспериментальные результаты Бикнелла недостаточны, для того чтобы быть убедительными.

Древесные

Рябина (*Sorbus eximia*) Rosaceae

Первой работой на древесных, цитируемой в связи с апомиксисом на диплоидном уровне, является статья Янкуна и Кованда (Jankun, Kovanda, 1988). Она выполнена на рябине, *Sorbus eximia* (межвидовой гибрид *Sorbus aria* × *Sorbus torminalis*). Этот гибрид произрастает в Богемии и имеет два цитотипа: диплоид $2n = 2x = 34$ и тетраплоид $2n = 4x = 68$. У тетраплоида апоспорические и сексуальные зародышевые мешки формируются приблизительно в равных количествах, а у диплоида основная масса их – половые (117 из 121 изученных), тогда как оставшиеся четыре апоспорические. Все иллюстрации выполнены от руки, и генетического анализа потомства не проводилось. Простой подсчет говорит о том, что у диплоидов только 3,3 % потенциальных потомков могут иметь апомиктическое происхождение. Опять, как мы уже неоднократно отмечали ранее, такое размножение следует считать факультативно половым.

Кипарис

(*Cupressus duprieziana*) Cupressaceae

Очень долгое время надежных сообщений о существовании апомиктических форм среди голосеменных растений не существовало (Asker, Jerling, 1992). Открытие совершенно уникального мужского апомиксиса было сделано Пичо с коллегами (Pichot *et al.*, 1998, 2001, 2008;

Fady *et al.*, 2000). Они работали с реликтовым кипарисом *Cupressus duprieziana*, популяция которого в Алжирской Сахаре насчитывает всего 231 дерево, занимающие ареал 12 тыс. га. Полученные результаты являются великолепной иллюстрацией того, как в природе могут возникать и закрепляться уникальные варианты отклонений от полового размножения. Все началось с того, что при искусственной гибридизации *C. duprieziana* у потомков не выявлялись материнские варианты изозимов. Изучение содержания ДНК в клетках гибридных зародышей показало, что они диплоидны. Обычно клетки эндосперма у голосеменных гаплоидны, но у *C. duprieziana* так же, как и у близкого ему *Cupressus sempervirens*, имели варьирующую ploидность от 1С до 6С и более. Для выяснения происхождения диплоидности зародышей провели измерение ДНК в пыльцевых зернах обоих видов. Оказалось, что пыльца *C. duprieziana* диплоидна, в то время как у *C. sempervirens* она гаплоидна. Отсюда стало понятным, почему потомки *C. duprieziana* выявляют только отцовские варианты изозимов при наличии диплоидного генома. Авторы сделали вывод, что в данном случае имеет место уникальное явление «мужского апомиксиса». Более поздние исследования с использованием RAPD маркеров подтвердили эти результаты Pichot с соавт. (2008). Далее они получили уникальные гаплоидные растения, опыляя *C. duprieziana* пыльцой *C. sempervirens* (Pichot *et al.*, 2001), подтвердив тем самым отсутствие функциональных яйцеклеток у материнского растения. Генетический анализ получаемого потомства также говорит об андрогенном – бесполом типе размножения *C. duprieziana*. Таким образом, этот пример показывает, что продуцируемый зародыш не связан генетически с другими компонентами семени. Авторы сделали вывод, что апомиксис наряду с другими факторами является препятствием инбредному вырождению и дает селективные преимущества этому виду, сохраняя уникальную комбинацию отцовских генов (Pichot *et al.*, 2001). Заканчивая эту часть, касающуюся специфического типа андрогенного апомиксиса у кипариса, подчеркнем, что мы включили его как пример диплоидного апомиксиса у **голосеменного** растения. Для них характерны развитие **гаплоидного** эндосперма

без оплодотворения и, как следствие, отсутствие импринтинга – основного препятствия для развития жизнеспособных семян у потенциальных апомиктов.

Бочера (*Boechea*) Brassicaceae

Самыми примечательными событиями начала 21 в. в изучении апомиксиса были подтверждение и углубление современными методами результатов Бёчера по диплоидным апомиктам (Naumova *et al.*, 2001; Koch *et al.*, 2003; Schranz *et al.*, 2005, 2006; Kantama *et al.*, 2007), полученных в 1951 г. на *Arabis holboellii* (Bocher, 1951). Позднее род *Arabis* был подразделен на два, и новый получил название в честь первооткрывателя бесполосеменного размножения у видов этого таксона *Boechea*.

Основная масса растений этого рода обитает на территории Северной Америки, они наиболее подробно изучены ботанически (Windham, Al-Shehbaz, 2006, 2007a, b). Этот род состоит из более чем 70 видов, размножающихся половым путем, и 38 гибридных видов (в основном триплоидов), размножающихся апомиктически (Kantama *et al.*, 2007; Kiefer, 2008; Voigt, 2009).

Анализ результатов, касающихся бесполосеменного размножения у *Boechea*, оказался наиболее трудоемким и сложным, так как гибридизация сыграла значительную роль в его эволюции (Dobeš *et al.*, 2004a, b; Kantama *et al.*, 2007), и обычно такие события сопровождаются значительными геномными перестройками и изменениями в экспрессии генов (Shaked *et al.*, 2001; Hegarty, Hiscock, 2005). Наблюдаемые в настоящее время ploидность и репродуктивное поведение у *Boechea* являются результатом биогеографической истории этого рода, включающей генетическую изоляцию, дивергенцию, адаптацию и реколонизацию Северной Америки после отступления ледника. Периодическое возникновение полиплоидии и апомиктического размножения (Sharbel, Mitchell-Olds, 2001) привело к формированию множества бесполосеменных форм, различающихся по эволюционному возрасту. По мере возникновения апомиктические линии развивались независимо. В итоге они накопили различные геномные изменения, отличающие их друг от друга (инделы, дубликации и делеции),

некоторые из которых существенно влияют на конъюгацию хромосом и протекание мейоза у межвидовых гибридов. В результате событий в эволюционной истории рода *Boecheira* у половых диплоидов и некоторых апомиктов числа хромосом совпадают – $2n = 2x = 14$ (Kantama, 2005; Kiefer, 2008; Voigt, 2009; Carman, личное сообщение). Вместе с тем обнаружены виды *Boecheira*, имеющие $2n = 2x = 15$. При этом некоторые исследователи считали, что такие анеуплоиды несут В-хромосому (Sharbel *et al.*, 2004; Sharbel *et al.*, 2005; Voigt, 2009), и относили их к апомиктическим диплоидам. Однако к настоящему моменту экспериментально показано, что дополнительные хромосомы в метафазе мейоза образуют гетероморфные триваленты и несут ДНК *Boecheira stricta* (Kiefer, 2008), поэтому их следует считать настоящими трисомиками, а следовательно, полиплоидами.

Исследование апомиксиса у бочера насчитывает около 10 лет, т. е. число работ пока невелико и поддается сравнительному анализу. Мы решили рассмотреть их здесь на основе хронологического подхода.

Первая работа на диплоидных апомиктах бочера была выполнена в рамках международного проекта, и в ней показаны псевдогамное и автономное развитие эндосперма, а также происхождение потомства от нередуцированных женских и мужских гамет (Naumova *et al.*, 2001). Авторы наблюдали формирование материнских клеток мегаспор, а далее развитие зародышевого мешка шло либо половым путем, либо бесполосеменным. При бесполосеменном варианте размножения мегаспора делится один раз, производя диплоспорическую диадру, представляющую собой две мегаспороподобные клетки. Клетка, лежащая ближе к микропиле, дегенерирует, тогда как халазальная увеличивается в размерах, вакуолизируется, делится митотически три раза и формирует зародышевый мешок, морфологически не отличимый от полового (апомиксис Тагахасум-типа). Частота апомиктических зародышевых мешков у диплоидов колеблется от 45 до 89 %.

Преимущественный способ формирования эндосперма у апомиктов бочеры – псевдогамия, хотя встречается и автономное развитие, судя по результатам проточной цитофотометрии (Naumova *et al.*, 2001). С небольшой частотой

у них встречаются оплодотворение нередуцированной яйцеклетки и образование V^{III} гибридов. На основе количественных данных по ДНК в ядрах авторы предположили, что у диплоидного апомикта центральная клетка оплодотворяется нередуцированной пылью. Позднее этот результат был подтвержден только для триплоидов (Voigt *et al.*, 2007; Taskin *et al.*, 2009a). В свою очередь, у диплоидных апомиктов бочеры эндосперм формируется на основе слияния центральной клетки и двух редуцированных спермиев (Voigt *et al.*, 2007; Taskin *et al.*, 2009a). Для разрешения противоречий в цитированных исследованиях были необходимы дополнительные эксперименты. Позднее они были проведены в диссертационной работе Фойгт (Voigt, 2009). Она показала, что у апомиктов с геномом $2n = 14$ формируется как гаплоидная, так и диплоидная пыльца так же, как и у триплоидов (рис. 4).

Вскоре молекулярно-цитогенетические эксперименты голландских и немецких ученых в корне изменили представления о плоидном состоянии геномов «диплоидных апомиктов». Сравнительные цитогенетические исследования половых и апомиктических форм ($2n = 14$) нескольких видов бочера из разных географических популяций показали, что бесполосеменные растения имеют совершенно иную структуру хромосом, нежели сексуальные диплоиды. В реальности они представляют собой гибриды между видами *B. stricta* и *B. holboellii*, у которых произошла реконструкция хромосом, сопровождавшаяся сокращением их числа (гаплоидизация) и превратившая их в дигаплоиды (Kantama, 2005) (табл. 1).

Эти исследования вскрыли характерную особенность для всех без исключения бесполосеменных диплоидных форм бочера: они несли одну хромосому с высоким содержанием гетерохроматина. Кроме того, некоторые апомиктические линии имели дополнительную 15-ю хромосому, самую мелкую в наборе, также с высоким содержанием гетерохроматина. У линий из Гренландии хромосому с высоким содержанием гетерохроматина обозначали *Het'*. Аналогичную хромосому у линий из Скалистых гор обозначали *Het*, а дополнительную 15-ю – *Del* (Kantama, 2005) (табл. 2).

Примечательно, что прицентромерный гетерохроматин абберантных хромосом *Het* и *Del* у

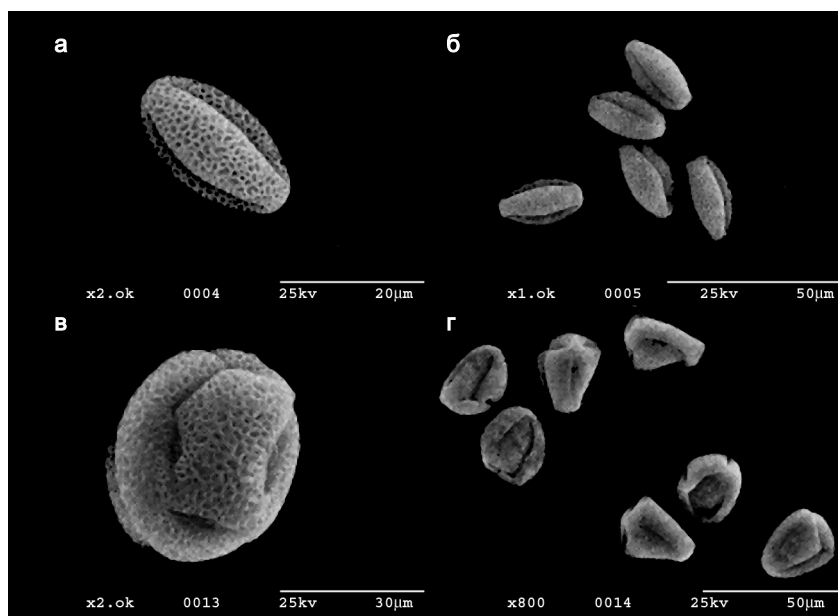


Рис. 4. Микрофотография пыльцы *Boecheera*, выполненная на сканирующем электронном микроскопе.

а, б – пыльца полового диплоида. Гаплоидные пыльцевые зерна мелкие (ширина 13–16 μm) эллипсоидной формы с симметричными бороздками. в, г – пыльца апомиктического триплоида. Триплоидные пыльцевые зерна значительно крупнее (ширина 22–30 μm) и имеют сферическую форму с асимметричными бороздками (Windham, Al-Shehbaz, 2006).

Таблица 1

Краткий обзор основных цитогенетических
и таксономических особенностей апомиктов *Boecheera*

Линии	Таксономическая принадлежность	Число хромосом вида (GISH окрашивание)		Цитоплазма по хлоропластной ДНК	Происхождение внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS)
		<i>holboellii</i>	<i>stricta</i>		
BH208	<i>holboellii</i>	14	0	<i>holboellii</i>	<i>holboellii</i>
BS2	<i>stricta</i>	0	14	<i>stricta</i>	<i>stricta</i>
ES6	<i>stricta</i>	0	14	<i>stricta</i>	<i>stricta</i>
ES9	× <i>divaricarpa</i>	7	7	<i>holboellii</i>	<i>stricta</i> ¹
BH1	<i>holboellii</i>	11	4	<i>holboellii</i>	<i>holboellii</i>
BH74	<i>holboellii</i>	4	11	<i>holboellii</i>	<i>holboellii</i>
BH115	<i>holboellii</i>	5	10	<i>holboellii</i>	<i>holboellii</i>
BH224	<i>holboellii</i>	11	4	<i>holboellii</i>	<i>holboellii</i>
BDi175	× <i>divaricarpa</i>	9	6	<i>stricta</i>	<i>stricta</i>
GRL2	<i>holboellii</i>	9	5	<i>holboellii</i>	<i>holboellii</i>

¹ Обе NOR хромосомы пришли от *Boecheera stricta*. По: Kantama, 2005.

всех без исключения линий состоит из повторов, пришедших от *B. stricta*. На основе полученных результатов Кантама обосновал схему происхождения полигаплоидов с 14 и 15 хромосомными геномами от триплоидного гибрида, у которого диплоидизация сопровождалась потерей значи-

тельной части генома и реконструкцией оставшихся хромосом (Кантама, 2005).

Подводя итог анализу рассмотренных исследований, мы можем заключить: 1) апомикты *Boecheera* – аллогамноиды с различными комбинациями хромосом *B. holboellii* и *B. stricta*,

Таблица 2

Краткий обзор соотношения количества видоспецифичных хромосом по распределению сигналов *Boecheera holboellii* (красный сигнал) и *Boecheera stricta* (зеленый сигнал). *Het*, *Het'* и *Del* – добавочные aberrантные хромосомы *Boecheera stricta* всегда показывают зеленый гибридационный сигнал

Линии	Число хромосом	Структура хромосом в геномах			
		<i>Boecheera stricta</i>	<i>Boecheera holboellii</i>	Аберрантные хромосомы	Примечание
Sexuals					
BH208	14		14		
BS2	14	14			
ES6	14	14			
<i>B. × divaricarpa</i> apomicts					
BDi175	15	6	9	<i>Het + Del</i>	
ES9	14	7	7	<i>Het'</i>	
<i>B. holboellii</i> apomicts					
GRL2	14	5	9	<i>Het'</i>	
BH1	15	4	11	<i>Het + Del</i>	Слабое присутствие ДНК от <i>stricta</i> по всему геному
BH74	15	11	4	<i>Het + Del</i>	
BH115	15	10	5	<i>Het + Del</i>	Слабое присутствие ДНК от <i>stricta</i> по всему геному
BH224	15	4	11	<i>Het + Del</i>	

По: Kantama, 2005.

являющиеся результатом межвидовой гибридизации, сопровождающейся комплексной реорганизацией хромосом; 2) все апомикты *Boecheera* имеют гетерохроматиновый комплемент *Het + Del* или *Het'* – эти aberrантные хромосомы несут перичентромерные повторы от *B. stricta*; 3) поскольку все апомикты имеют хромосомы с высоким содержанием гетерохроматина, то возможно, что он играет какую-то роль в становлении этого способа репродукции (Kantama, 2005; Kiefer, 2008).

Таким образом, диплоидность апомиктов бочера является чисто внешней. Цитогенетический анализ однозначно показал, что их геномы состоят из компонентов хромосом родительских видов, участвовавших в межвидовой гибридизации, и они должны быть отнесены к полигаплоидам. При этом они несут наборы не просто хромосом, суммарно равные диплоидному набору ($2n = 2x = 14$), а в значительной степени реконструированных хромосом. По всей видимости, количество ДНК на геном (2С)

у апомиктичных дигаплоидов больше, чем у диплоидных родительских линий за счет дубликаций, что подтверждается характером экспрессии генов в зародышевых мешках (Sharbel *et al.*, 2009, 2010). Последние результаты четко демонстрируют, что полигаплоиды бочера ($2n = 14$) отличаются от диплоидов не только по структуре хромосом, но и функционально на уровне профилей экспрессии генов – они ведут себя не как половые диплоиды, а как бесполо-семенные триплоиды. Это связано с тем, что гены, вовлеченные в экспрессию апомиксиса в зародышевых мешках, представлены у них многими копиями. Шарбелю с коллегами (Sharbel *et al.*, 2010) удалось продемонстрировать усиление экспрессии некоторых аллелей, сопровождающейся гетерохронией. По всей видимости, этот феномен опосредован дубликациями и последствиями давней гибридизации комплекса апомиктов *B. holboellii*. Использование метода супер-SAGE позволило идентифицировать в зародышевых мешках у половых и бесполо-

менных растений 4000 различно экспрессирующихся мРНК. Их попарное сравнение у двух сексуальных (*B. stricta* и *B. holboellii*, $2n = 2x = 14$) и двух апомиктов (*B. divaricarpa*, $2n = 14$) позволяет идентифицировать аллельные варианты в одинаковых локусах. У апомиктов усиленно экспрессирующиеся аллели согласованно имели более чем три родственных варианта РНК, т. е. выявляли транскрипцию с дублированных локусов. Таким образом, морфологические преобразования хромосом, выявленные в работе Кантама, функционально обнаруживают себя как дублированные, по крайней мере по локусам, вовлеченным в экспрессию апомиксиса (Sharbel *et al.*, 2010).

Кроме того, созревание пыльцы у полигаплоидов бочера протекает так же, как и у триплоидов, от которых они произошли. При этом формируются как гаплоидные, так и диплоидные пыльцевые зерна, что является одной из возможностей избежать эффекта импринтинга (Voigt, 2009).

Изложенные результаты исследований «диплоидных» апомиктов бочера однозначно говорят о том, что правильнее такие растения называть **полигаплоидами**. К диплоидам их нельзя отнести, так как нет парности хромосом и функционально по многим параметрам они ведут себя как полиплоиды.

Апомиктические диплоиды культурных растений

Основная масса публикаций, сообщающих о диплоидных апомиктах среди культурных растений, выполнена в странах ближнего зарубежья и России. Одни исследования говорят о выявлении бесполосеменных форм среди сортов, ранее селектировавшихся как половые (Зайковская и др., 1978; Малецкий и др., 1991; Сеилова, 1996; Elkonin *et al.*, 2007), другие – о его индуцировании различными физическими факторами (Сеилова и др., 1984; Богомолов, 2007). И абсолютно большее их число связано с бесполосеменной сахарной свеклой *Beta vulgaris*. Провести анализ этих исследований, который был проделан по работам на злаках и *Boechera*, не представляется возможным, так как ни одна из работ не имеет доказательной базы декларируемого авторами бесполосеменного размножения и часто изложе-

ны в форме, не позволяющей оценить реальность экспериментальных результатов. Так, один из исследователей по своим материалам защитил докторскую диссертацию, и вся библиография, оговоренная правилами ВАК, состоит из 8 публикаций на 15 страницах журнала «Сахарная свекла» (Богомолов, 2007)! Другая группа авторов также достаточно активна (Малецкий, Малецкая, 1996; Малецкий и др., 1997, 1998). Однако эмбриологических доказательств у них вообще нет, а генетические не выдерживают критики. К слову сказать, некая легкость присутствует у этих авторов и в цитировании. Так, в одной из работ дана ссылка на публикацию Фаворского в Докладах ВАСХНИЛ за 1928 г. Здесь уточним, что Совнарком издал постановление об организации академии с таким названием 25 июня 1929 г. Возможно, что Фаворский опубликовал свою работу, не дожидаясь этого решения и организации журнала в 1936 г.? Еще несколько исследователей сообщали об обнаружении апомиктических форм диплоидной сахарной свеклы из бывших союзных республик (Зайковская и др., 1978; Сеилова и др., 1994; Сеилова, 1996). Мы не хотим анализировать причины получения этих результатов, поскольку для этого необходимо провести проверку с использованием экспериментального материала, на котором работы были выполнены. Думаем, полезнее отослать заинтересованных читателей к обзору самого опытного и признанного в мире специалиста по апомиктическим формам и эволюции рода *Beta* Барбары Ясsem (Jassem, 1990). Она сообщила, что среди диплоидных культурных форм свеклы апомиктов нет, а все попытки передать этот способ размножения от диких полиплоидных сородичей пока безуспешны. С ее мнением согласуются результаты поиска бесполосеменной сахарной свеклы, выполненные на большом материале Кнаппом (Knapp, 1975).

Что касается обнаружения апомиктов у диплоидов сорго, то здесь ситуация близка к изложенной по сахарной свекле (Rao, Nagayana, 1968; Rao, Murty, 1972; Elkonin *et al.*, 2007). Мы решили не анализировать эти результаты в нашем сообщении, поскольку ранее они многократно проверялись и обсуждались в независимых экспериментах и неизменно делались выводы об отсутствии бесполосеменных диплоидов сорго (Marshall, Downes, 1977; Ravi,

1993). Упомянем лишь недавнюю работу Кармана с коллегами по обнаружению регулярной закладки апоспорических инициалей у некоторых видов диплоидного сорго (Carman *et al.*, 2011). Однако у всех этих форм не наблюдается развития бесполосеменных зародышевых мешков и апомиктического способа репродукции. Эти наблюдения еще раз говорят об ограниченности цитоэмбриологического метода в деле выявления способа размножения растений.

Благодарности

Авторы благодарят Камило Кварина и Джона Кармана за многочисленные обсуждения материалов статьи и любезно представленные фотоматериалы. Кроме того, мы благодарны к.б.н. Г. Герашенкову за вездливую критику, которая заставила нас дополнительно проштудировать две диссертации и около 30 работ, чтобы основательнее подтвердить свою позицию об отсутствии диплоидных апомиктов у цветковых растений.

Работа выполнена при поддержке интеграционного проекта СО РАН № 53.

Список сокращений

- RAPD – random amplified polymorphic DNA
 GISH – genomic *in situ* hybridization
 cpDNA – chloroplast DNA
 ITS – internal transcribed spacer
 NOR – nucleolar organiser region
 F – female
 M – male
 МКМ – материнская клетка мегаспоры

Литература

- Авдулов Н.П. Кариосистематическое исследование семейства злаков // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Л.: ВИР, 1931. 428 с.
- Богомолов М.А. Научное обоснование и приемы создания исходного материала для гетерозисной селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.): Дис. ... д-ра с.-х. наук. Рамонь: Всерос. науч.-исслед. ин-т селекции и семеноводства овощных культур, 2007. 314 с.
- Зайковская Н.Э., Перетяцько В.Г., Ширяева Э.И., Ярмолюк Г.И. Апомиксис у мужскостерильной сахарной свеклы // Докл. ВАСХНИЛ. 1978. № 3. С. 11–13.
- Малецкий С.И., Вепрев С.Г., Шавруков Ю.Н. Генетический контроль размножения сахарной свеклы. Новосибирск: Наука, 1991. 168 с.
- Малецкий С.И., Малецкая Е.И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы // Генетика. 1996. Т. 32. № 12. С. 1643–1650.
- Малецкий С.И., Левитес Е.В., Малецкая Е.И., Овечкина О.Н. Автосегрегация и сцепленное наследование в агамоспермных потомствах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. 1998. Т. 34. № 4. С. 520–527.
- Малецкий С.И., Левитес Е.В., Малецкая Е.И., Шаворская О.А. Автосегрегация в партеногенетических потомствах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Докл. АН. 1997. Т. 354. № 5. С. 705–706.
- Сеилова Л.Б. Апомиксис у сахарной свеклы и его использование в практической селекции: Дис. ... д-ра биол. наук. Алматы: Ин-т ботаники, 1996. 210 с.
- Сеилова Л.Б., Абдурахманов А.А., Камалетдинова Ф.И. Апомиксис у инбредных линий видов рода *Beta* (Chenopodiaceae) // Ботан. журнал. 1989. Т. 74. № 5. С. 700–702.
- Сеилова Л.Б., Абдурахманов А.А., Хайленко Н.А. Эмбриология индуцированного апомиксиса у сахарной свеклы // Цитология и генетика. 1984. Т. 18. № 2. С. 90–92.
- Сеилова Л.Б., Коновалов А.А., Балков И.Я. Пути формирования апомиктического потомства у сахарной свеклы с факультативным апомиксисом // Цитология и генетика. 1994. Т. 28. № 4. С. 44–47.
- Adams K.L., Wendel J.F. Polyploidy and genome evolution in plants // Curr. Opin. Plant Biol. 2005. V. 8. № 2. P. 135–141.
- Asker S.E. The occurrence of aberrants in some apomictic *Potentilla argentea*-biotypes // Hereditas. 1966. V. 56. № 1. P. 54–70.
- Asker S.E. Apomixis and sexuality in the *Potentilla argentea* complex I. Crosses with other species // Hereditas. 1970a. V. 66. № 1. P. 127–143.
- Asker S.E. Apomixis and sexuality in the *Potentilla argentea* complex II. Crosses within the complex // Hereditas. 1970b. V. 66. № 2. P. 189–204.
- Asker S.E. Apomixis and sexuality in the *Potentilla argentea* complex III. Euploid and aneuploid derivatives (including trisomics) of some apomictic biotypes // Hereditas. 1971. V. 67. № 1. P. 111–142.
- Asker S.E. Pseudogamy, hybridization and evolution in *Potentilla* // Hereditas. 1978. V. 87. № 2. P. 179–183.
- Asker S.E. Progress in apomixis research // Hereditas. 1979. V. 91. № 2. P. 231–240.
- Asker S.E. Gametophytic apomixis: elements and

- genetic regulation // *Hereditas*. 1980. V. 93. № 2. P. 277–293.
- Asker S.E. Biochemical studies of variation in *Potentilla argentea* // *Apomixis Newslett.* 1990. V. 2. P. 55.
- Asker S.E., Jerling L. *Apomixis in Plants*. L.; B. R.: CRC Press, 1992. 298 p.
- Bicknell R.A. Isolation of a diploid, apomictic plant of *Hieracium aurantiacum* // *Sex. Plant Reprod.* 1997. V. 10. № 3. P. 168–172.
- Blakey C.A., Goldman S.L., Dewald C.L. *et al.* Isolation of stage- and ploidy-specific floral RNA in *Tripsacum dactyloides* for cDNA library construction – a pilot study for large-scale isolation // *Maize Gen. Coop. Newslett.* 2003. V. 77. P. 56–57.
- Bradley J.E., Carman J.C., Jamison M.S., Naumova T.N. Heterochronic features of the female germline among several sexual diploid *Tripsacum* L. (Andropogoneae, Poaceae) // *Sex Plant Reprod.* 2007. V. 20. № 1. P. 9–17.
- Brown W.V., Emery W.H.P. Apomixis in Gramineae: Panicoideae // *Amer. J. Bot.* 1958. V. 45. № 4. P. 253–263.
- Bocher T.W. Cytological and embryological studies in the amphi-apomictic *Arabis holboellii* complex // *Kong. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr.* 1951. V. 6. № 7. P. 1–59.
- Burton G.W. A cytological study of some species in the Tribe Paniceae // *Am. J. Bot.* 1942. V. 29. № 5. P. 355–361.
- Burton G.W., Hanna W.W. Using apomictic tetraploids to make a self-incompatible diploid *Pensacola bahiagrass* clone set seed // *J. Heredity*. 1992. V. 83. № 4. P. 305–306.
- Burton G.W. Effort to create apomictic diploid of *Paspalum notatum* var. *parodi* // *Apomixis Newslett.* 1999. V. 11. P. 35.
- Carman J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony // *Biol. J. Linn. Soc.* 1997. V. 61. № 1. P. 51–94.
- Carman J.G., Jamison M., Elliott E. *et al.* Apospority appears to accelerate onset of meiosis and sexual embryo sac formation in sorghum ovules // *BMC Plant Biol.* 2011. V. 11. P. 9–21.
- Chadwick M.J. Biological flora of the British Isles: *Nardus stricta* L. // *J. Ecol.* 1960. V. 48. P. 225–267.
- Chen Z.J., Ni Z. Mechanism of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids // *BioEssays*. 2006. V. 28. № 3. P. 240–252.
- Comai L. The advantages and disadvantages of being polyploid // *Nat. Rev. Genetics*. 2005. V. 6. № 11. P. 836–846.
- Dobeš C., Mitchell-Olds T., Koch M.A. Extensive chloroplast haplotype variation indicates Pleistocene hybridization and radiation of North American *Arabis drummondii*, *A. × divaricarpa*, and *A. holboellii* (Brassicaceae) // *Mol. Ecol.* 2004a. V. 13. P. 349–370.
- Dobeš C., Mitchell-Olds T., Koch M.A. Intraspecific diversification in North American *Boecheria stricta* (= *Arabis drummondii*), *Boecheria × divaricarpa*, and *Boecheria holboellii* (Brassicaceae) inferred from nuclear and chloroplast molecular markers – an integrative approach // *Amer. J. Bot.* 2004b. V. 91. P. 2087–2101.
- Elkonin L.A., Belyaeva E.V., Tsvetova M.I. Efficient selection for apomixis in Sorghum lines with nuclear and cytoplasmic male sterility // 3th Intern. Apomixis Conf. Wernigerode, Germany, 27 June – 1 July 2007. Wernigerode: The Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. 2007. P. 112.
- Fady B., Pichot C., Hochu I. Lack of mother tree alleles in zymograms of *Cupressus dupreziana* A. Camus embryos // *Ann. For. Sci.* 2000. V. 57. № 1. P. 17–22.
- Gentcheff G. Über die pseudogame Fortpflanzung bei *Potentilla* // *Genetica*. 1938. V. 20. P. 398–408.
- Gentcheff G., Gustafsson A. Parthenogenesis and pseudogamy in *Potentilla* // *Bot. Not.* 1940. for 1940. P. 109–132.
- Hakansson A. Untersuchungen über die Embryologie einiger *Potentilla* Formen // *Lunds Univ. Årsskr. N.F. Adv. 2.* 1946. V. 42. № 5. P. 70.
- Hanna W.W. Use of apomixis in cultivar development // *Adv. Agron.* 1995. V. 54. P. 333–350.
- Harlan J.R., Brooks M.H., Borgaonkar D.S., de Wet J.M.J. Nature and inheritance of apomixis in *Bothriochloa* and *Dichanthium* // *Bot. Gas.* 1964. V. 125. P. 41–46.
- Hegarty M.J., Hiscock S.J. Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies // *New Phytol.* 2005. V. 165. P. 411–423.
- Hojsgaard D., Schegg E., Valls J.F.M. *et al.* Sexuality, apomixis, ploidy levels, and genomic relationships among four *Paspalum* species of the subgenus *Anachyris* (Poaceae) // *Flora*. 2008. V. 203. № 7. P. 535–547.
- Holm S. Unexpectedly high levels of genetic variation in *Potentilla argentea* L. (s. l.) in Southern Sweden // *Hereditas*. 1995. V. 123. № 2. P. 127–139.
- Holm S., Ghatnekar L. Sexuality and no apomixis found in crossing experiments with diploid *Potentilla argentea* // *Hereditas*. 1996. V. 125. № 1. P. 77–82.
- Holm S., Ghatnekar L., Bengtsson B.O. Selfing and outcrossing but no apomixis in two natural populations of diploid *Potentilla argentea* // *J. Evol. Biol.* 1997. V. 10. № 3. P. 343–352.
- Jankun A., Kovanda M. Apomixis at the diploid level in *Sorbus eximia* (Embryological studies in *Sorbus* 3) // *Preslia*. 1988. V. 60. P. 193–213.

- Jassem B. Apomixis in the genus *Beta* // Apomixis Newslett. 1990. V. 2. № 19. P. 7–23.
- Jefferson R.A. Apomixis: a social revolution for agriculture? // Biotechnol. Dev. Monit. 1994. V. 19. P. 14–16.
- Kantama L. Chromosome studies and genetic analysis of natural and synthetic apomictic model species: Ph. D. thesis. Wageningen: Wageningen University, 2005. 120 p.
- Kantama L., Sharbel T.F., Schranz M.E. *et al.* Diploid apomicts of the *Boechera holboellii* complex display large-scale chromosome substitutions and aberrant chromosomes // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. № 35. P. 14026–14031.
- Kiefer C. Evolution and Phylogeography of the North American genus *Boechera* (Brassicaceae) and the Evolution of Apomixis: Ph. D. thesis. Heidelberg: Heidelberg University, 2008. 122 p.
- Kindiger B., Sokolov V.A. Progress in development of apomictic maize // Trends Agron. 1997. V. 1. P. 76–94.
- Knapp E. Apomixis bei der Zuckerrübe? // Z. Pflanzenzüchtg. 1975. B. 75. № 1. S. 1–9.
- Koch M., Al-Shehbaz I.A., Mummenhoff K. Molecular systematics, evolution, and population biology in the mustard family (Brassicaceae) // Ann. Mo. Bot. Gard. 2003. V. 90. P. 151–171.
- Kumari S.K. Cytogenetic investigations in Paniceae: Occurrence of apospory in a diploid species of *Panicum* – *P. antidotale* Retz // Curr. Sci. 1960. V. 29. P. 191.
- Marshall D.R., Brown A.H.D. Estimation of the level of apomixis in plant populations // Heredity. 1974. V. 32. P. 321–333.
- Marshall D.R., Downes R.W. A test for obligate apomixis in grain sorghum R473 // Euphytica. 1977. V. 26. P. 661–664.
- Martinez E.J., Hopp H.E., Stein Ju. *et al.* Genetic characterization of apospory in tetraploid *Paspalum notatum* based on the identification of linked molecular markers // Mol. Breed. 2003. V. 12. P. 319–327.
- Matzk F., Meister A., Schubert I. An efficient screen for reproductive pathways using mature seeds of monocots and dicots // Plant J. 2000. V. 21. № 1. P. 97–108.
- Muntzing A. Pseudogamie in der Gattung *Potentilla* // Hereditas. 1928. V. 11. № 2/3. P. 267–283.
- Muntzing A. Note on the cytology of some apomictic *Potentilla*-species // Hereditas. 1931. V. 15. № 2. P. 166–178.
- Muntzing A. Apomictic and sexual seed formation in *Poa* // Hereditas. 1933. V. 17. № 2. P. 131–154.
- Muntzing A. Further studies on apomixis and sexuality in *Poa* // Hereditas. 1940. V. 26. № 2. P. 115–190.
- Muntzing A., Muntzing G. Some new results concerning apomixis, sexuality and polymorphism in *Potentilla* // Bot. Not. 1941. V. 94. P. 237–278.
- Muntzing A., Muntzing G. Spontaneous changes in chromosome number in apomictic *Potentilla collina* // Hereditas. 1943. V. 29. P. 451–460.
- Muntzing A., Muntzing G. The mode of reproduction of hybrids between sexual and apomictic *Potentilla argentea* // Bot. Not. 1945. V. 98. P. 49–71.
- Narayan K.N. Cytogenetic studies of apomixis in *Penisetum*: Ph. D. thesis California: University of California, 1951.
- Naumova T.N., Hayward M.D., Wagnvoort M. Apomixis and sexuality in diploid and tetraploid accessions of *Brachiaria decumbens* // Sex. Plant Reprod. 1999. V. 12. № 1. P. 43–52.
- Naumova T.N., Van der Laak J., Osadchij J. *et al.* Reproductive development in apomictic populations of *Arabis holboellii* (Brassicaceae) // Sex. Plant Reprod. 2001. V. 14. № 4. P. 195–200.
- Nogler G.A. Genetics of apospory in apomictic *Ranunculus auricomus* // Bot. Helv. 1984. V. 94. № 2. P. 411–422.
- Norrmann G.A., Quarin C.L., Burson B.L. Cytogenetics and reproductive behavior of different chromosome races in six *Paspalum* species // J. Hered. 1989. V. 80. № 1. P. 24–28.
- Norrmann G.A., Bovo O.A., Quarin C.L. Post-zygotic seed abortion in sexual diploid × apomictic tetraploid intraspecific *Paspalum* crosses // Austral. J. Bot. 1994. V. 42. № 4. P. 449–456.
- Pichot C., Borrut A., El Maâtaoui M. Unexpected DNA content in the endosperm of *Cupressus dupreziana* A. Camus seeds and its implications in the reproductive process // Sex. Plant. Reprod. 1998. V. 11. № 3. P. 148–152.
- Pichot C., El Maâtaoui M., Raddi S., Raddi P. Surrogate mother for endangered *Cupressus* // Nature. 2001. V. 412. № 6842. P. 39.
- Pichot C., Liens B., Nava J.L.R. *et al.* Cypress surrogate mother produces haploid progeny from alien pollen // Genetics. 2008. V. 178. № 1. P. 379–383.
- Polegri L., Calderini O., Arcioni S., Pupilli F. Specific expression of apomixis-linked alleles revealed by comparative transcriptomic analysis of sexual and apomictic *Paspalum simplex* Morong flowers // J. Exp. Bot. 2010. V. 61. № 6. P. 1869–1883.
- Popoff A. Über die Fortpflanzungsverhältnisse der Gattung *Potentilla* // Planta. 1935. V. 24. P. 510–522.
- Powers L. Fertilization without reduction in *Guayule* (*Parthenium argentatum* Gray.) and a hypothesis as to the evolution of apomixis and polyploidy // Genetics. 1945. V. 30. № 4. P. 323–346.
- Pupilli F., Labombarda P., Caceres M.E. *et al.* The chromosome segment related to apomixis in *Paspalum simplex* is homoeologous to the telomeric region of

- the long arm of rice chromosome 12 // *Mol. Breed.* 2001. V. 8. № 1. P. 53–61.
- Pupilli F., Martinez E.J., Busti A. *et al.* Comparative mapping reveals partial conservation of synteny at the apomixis locus in *Paspalum* spp. // *Mol. Genet. Genom.* 2004. V. 270. № 6. P. 539–548.
- Quarin C.L. Seasonal changes in the incidence of apomixis of diploid, triploid, and tetraploid plants of *Paspalum cromyorrhizon* // *Euphytica*. 1986. V. 35. P. 515–522.
- Quarin C.L. The nature of apomixis and its origin in Panicoid grasses // *Apomixis Newslett.* 1992. V. 5. P. 8–15.
- Quarin C.L., Caponio I. Cytogenetics and reproduction of *Paspalum dasypleurum* and its hybrids with *P. urvellei* and *P. dilatatum* ssp. *Flavescens* // *Int. J. Plant Sci.* 1995. V. 156. № 2. P. 232–235.
- Quarin C.L., Espinoza F., Martínez E.J. *et al.* A rise of ploidy level induces the expression of apomixis in *Paspalum notatum* // *Sex. Plant Reprod.* 2001. V. 13. № 5. P. 243–249.
- Quarin C.L., Norrmann G.A. Cytology and reproductive behavior of *Paspalum equitans*, *P. ionanthum*, and their hybrids with diploid and tetraploid cytotypes of *P. cromyorrhizon* // *Bot. Gaz.* 1987. V. 148. № 3. P. 386–391.
- Quarin C.L., Norrmann G.A., Espinoza F. Evidence for autopolyploidy in apomictic *Paspalum rufum* // *Hereditas*. 1998. V. 129. № 2. P. 119–124.
- Rao N.G.P., Narayana L.L. Apomixis in grain sorghum // *Ind. J. Genet. Plant Breed.* 1968. V. 28. P. 121–127.
- Rao N.G.P., Murty U.R. Further studies on obligate apomixis in grain sorghum // *Indian J. Genet. Plant Breed.* 1972. V. 32. P. 379–383.
- Ravi S.B. Apomixis in sorghum line R473 – Truth or myth? A critical analysis of published work // *Current Sci.* 1993. V. 64. № 5. P. 306–315.
- Rodrigues J.C.M., Koltunow A.M.G. Epigenetic aspects of sexual and asexual seed development // *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 2005. V. 47. № 1. P. 37–49.
- Rychlewski J. Karyological studies on *Nardus stricta* L. // *Acta. Biol. Cracov. ser. Bot.* 1967. V. 10. P. 55–72.
- Savidan Y., Pernes J. Diploid-tetraploid-dihaploid cycles and the evolution of *Panicum maximum* Jacq // *Evolution*. 1982. V. 36. P. 596–600.
- Savidan Y. Apomixis: Genetics and breeding // *Plant Breed. Rev.* 2000. V. 18. P. 13–86.
- Schranz M.E., Dobe C., Koch M.A., Mitchell-Olds T. Sexual reproduction, hybridization, apomixis, and polyploidization in the genus *Boechea* (Brassicaceae) // *Am. J. Bot.* 2005. V. 92. P. 1797–1810.
- Schranz M.E., Lysak M.A., Mitchell-Olds T. The ABC's of comparative genomics in the Brassicaceae: building blocks of crucifer genomes // *Trends Plant Sci.* 2006. V. 11. P. 535–542.
- Shaked H., Kashkush K., Ozkan H. *et al.* Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat // *Plant Cell*. 2001. V. 13. P. 1749–1759.
- Sharbel T.F., Mitchell-Olds T. Recurrent polyploid origins and chloroplast phylogeography in the *Arabidopsis holboellii* complex (Brassicaceae) // *Heredity*. 2001. V. 87. P. 59–68.
- Sharbel T.F., Mitchell-Olds T., Dobes C. *et al.* Biogeographic distribution of polyploidy and B chromosomes in the apomictic *Boechea holboellii* complex // *Cytogenet. Genome Res.* 2005. V. 109. P. 283–292.
- Sharbel T.F., Voigt M.-L., Corral J.M. *et al.* Molecular signatures of apomictic and sexual ovules in the *Boechea holboellii* complex // *Plant J.* 2009. V. 58. № 5. P. 870–882.
- Sharbel T.F., Voigt M.-L., Corral J.M. *et al.* Apomictic and sexual ovules of *Boechea* display heterochronic global gene expression patterns // *Plant Cell*. 2010. V. 22. № 3. P. 655–671.
- Sharbel T.F., Voigt M.-L., Mitchell-Olds T. *et al.* Is the aneuploid chromosome in an apomict *Boechea holboellii* a genuine B chromosome? // *Cytogenet. Genome Res.* 2004. V. 106. P. 173–183.
- Sherman R.A., Voigt P.W., Burson B.L., Dewald C.L. Apomixis in diploid × triploid *Tripsacum dactyloides* hybrids // *Genome*. 1991. V. 34. P. 528–532.
- Shimotomai N. Zur kenntnis der pseudogamie bei *Potentilla* // *Proc. Imp. Acad. Japan.* 1935. V. 11. P. 338–339.
- Siena L.A., Ortiz J.P.A., Startor M.E. *et al.* Genetic and embryological evidences of apomixis at the diploid level in *Paspalum rufum* support recurrent autopolyploidization in the species // *Sex. Plant Reprod.* 2008. V. 21. № 3. P. 205–215.
- Skalinska M. Experimental and embryological studies in *Hieracium aurantiacum* L. // *Acta. Biol. Cracov. ser. Bot.* 1971. V. 14. P. 139–155.
- Skalinska M. Further studies in facultative apomixis of *Hieracium aurantiacum* L. // *Acta. Biol. Cracov. ser. Bot.* 1973. V. 16. P. 121–137.
- Skalinska M. Cytological diversity in the progeny of octoploid facultative apomicts of *Hieracium aurantiacum* // *Acta. Biol. Cracov. ser. Bot.* 1976. V. 19. P. 39–46.
- Sokolov V.A. Imprinting in Plants // *Rus. J. Gen.* 2006. V. 42. № 9. P. 1043–1052.
- Sokolov V.A., Khatypova I.V. The development of apomictic maize: update, problems and perspective // *Genetika (Yugoslavia)*. 2000. V. 32. № 3. P. 331–353.
- Stebbins G.L., Babcock E.B. The effect of polyploidy

- and apomixis on the evolution of species in Crepis // J. Hered. 1939. V. 30. № 12. P. 519–530.
- Stebbins G.L. Variation and Evolution in Plants. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1950. 643 p.
- Taskin K.M., Turgut K., Scott R. Apomeiotic pollen mother cell development in the apomictic *Boechera* species // Biol. Plantarum. 2009a. V. 53. № 3. P. 468–474.
- Taskin K.M., Turgut K., Scott R.J. Somatic embryogenesis in apomict *Boechera holboellii* // Acta Biol. Hungar. 2009b. V. 60. № 3. P. 301–307.
- Tucker M.R., Koltunow A.M.G. Sexual and asexual (apomictic) seed development in flowering plants: molecular, morphological and evolutionary relationships // Funct. Plant Biol. 2009. V. 36. P. 490–504.
- Valle C.B., Glienke C. New sexual accessions in *Brachiaria* // Apomixis Newslett. 1991. V. 3. P. 11–13.
- Valle C.B., Savidan Y.H. Embryological analysis in *Brachiaria decumbens* Stapf // Apomixis News. 1989. V. 1. P. 29–31.
- Valle C.B., Savidan Y.H., Jank L. Apomixis and sexuality in *Brachiaria decumbens* Stapf // Proc. XVI Intern. Grasslands Congr. France, 1989. France: Inst. Nat. de la Recherche Agronom., 1989. P. 407–408.
- Visser N.C., Spies J.J. Cytogenetic studies in the genus *Tribolium* (Poaceae: Danthonieae). II. A report on embryo sac development, with special reference to the occurrence of apomixis in diploid specimens // S. Afr. J. Bot. 1994. V. 60. № 1. P. 22–26.
- Voigt M.-L. From a Phenotype to Transcriptomics Apomixis Initiation in the genus *Boechera*: Ph. D. thesis. Gatersleben: IPK Gatersleben, 2009. 150 p.
- Voigt M.-L., Melzer M., Rutten T. *et al.* Gametogenesis in the apomictic *Boechera holboellii* complex: the male perspective // Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives / Ed. E. Hörandl, U. Grossniclaus, P. van Dijk, T.F. Sharbel. Ruggell: Gantner-Verlag, 2007. P. 235–258.
- Weimark G. Apomixis and sexuality in *Hierochloa australis* and in Swedish *H. odorata* on different polyploidy levels // Bot. Notiser. 1967. V. 120. P. 209–235.
- Windham M.D., Al-Shehbaz I.A. New and Noteworthy species of *Boechera* (Brassicaceae) I: sexual diploids // Harvard Papers Bot. 2006. V. 11. P. 61–68.
- Windham M.D., Al-Shehbaz I.A. New and noteworthy species of *Boechera* (Brassicaceae) II: apomictic hybrids // Harvard Papers Bot. 2007a. V. 11. P. 257–274.
- Windham M.D., Al-Shehbaz I.A. New and noteworthy species of *Boechera* (Brassicaceae) III: additional diploids and apomictic hybrids // Harvard Papers Bot. 2007b. V. 12. P. 251–274.

IS GAMETOPHYTIC APOMIXIS PRESENT IN DIPLOID FLOWERING PLANTS?

V.A. Sokolov^{1,2}, P.A. Panikhin¹, T.K. Tarakanova¹

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS,
Novosibirsk, Russia, e-mail: sokolov@mcb.nsc.ru;

² Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Summary

The paper reviews publications on detection of apomixis in diploid flowering plants. By this term we mean plant cloning through the seed. In this case, the embryo forms from a diploid maternal cell without the contribution of parental genes. It is a perfect genetic replica of the mother. As long ago as 1930s, Stebbins (Stebbins, Babcock, 1939) and later other researchers (Powers, 1945) noted a tight connection between apomictic reproduction and polyploidy. Until now, there is no accepted explanation for this phenomenon; on the other hand, no acceptable evidence for existence of apomictic diploids has been found. The goal of this work was to analyze the available publications on diploid apomictic plants. A large volume of papers on this problem was analyzed, and the results are concisely presented here. It is concluded that the reported cases of discovery of diploid apomicts either lack unambiguous evidence because of improper experimental methods or are related to a wrong interpretation of the term diploid.

Key words: apomixis, embryo sacs, diploids, polyploids, aneuploids, polyhaploids.