

СООБЩЕНИЯ

РАЗВИТИЕ ЖЕНСКИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР
У ВИДОВ *BOECHERA* (BRASSICACEAE)
ПРИ ПОЛОВОМ И АПОМИКТИЧНОМ СПОСОБАХ РЕПРОДУКЦИИ

© 2023 г. Г. Ю. Виноградова^{1,*}, Н. В. Синельникова^{2,**}, К. М. Ташкин^{3,***}, В. Б. Брюхин^{1,****}

¹Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия

²Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения РАН

ул. Портовая, 18, Магадан, 685000, Россия

³Университет Чанаккале Онсекиз Марм, Чанаккале, 17100, Турция

*e-mail: vinogradova-galina@binran.ru

**e-mail: meks_mag@mail.ru

***e-mail: kmtaskin@comu.edu.tr

****e-mail: vbrukhin@gmail.com

Поступила в редакцию 02.11.2023 г.

После доработки 06.11.2023 г.

Принята к публикации 07.11.2023 г.

Представлены результаты сравнительного эмбриологического исследования двух видов из рода *Boechea* (*B. falcata* и *B. stricta*), для которых характерен половой способ репродукции, и древнего природного гибрида (*B. stricta* × *B. retrofracta*) — линии М4В с апомиктичным способом репродукции. Дана детальная характеристика развития семязачатка исследуемых растений, показано значительное сходство этого процесса, а также общий план строения сформированного семязачатка: орто-кампилотропный, битегмальный, медионуцеллярный. Развитие зародышевого мешка у *B. falcata* и *B. stricta* соответствует моноспорическому Polygonum-типу; в семязачатках растений линии М4В преимущественно образуется апомиктичный нередуцированный женский гаметофит в результате диплоспории Тагахасум-типа. Небольшая часть семязачатков у этой линии формирует редуцированный зародышевый мешок с участием мейоза, но в отличие от *B. falcata* и *B. stricta* после второго мейотического деления формируется триада мегаспор, из которых функциональной является халазальная. В семязачатках апомиктичной линии М4В часто наблюдалось недоразвитие внутреннего интегумента, что скоррелировано с остановкой развития мегаспороцита и зародышевого мешка и их последующей деструкцией. Вероятно, данное нарушение связано с гибридной природой линии, а не с апомиксисом. У апомиктичной линии М4В зародыш формируется партеногенетически, но для его развития необходим эндосперм, который, по-видимому, развивается только после тройного слияния (оплодотворения слившихся полярных ядер спермием). В отсутствии эндосперма происходит гибель зародыша и остановка развития семени.

Ключевые слова: *Boechea*, Brassicaceae, апомиксис, диплоспория, семязачаток, партеногенез

DOI: 10.31857/S0006813623120104, **EDN:** ZFORQW

Род *Boechea* Á. Löve et D. Löve (сем. Brassicaceae) включает 110 видов, представленных многолетними или двулетними растениями, распространенными преимущественно на территории Северной Америки (Koch et al., 1999, 2003; Kiefer et al., 2009; Osadtchii et al., 2017). Один из двух видов, произрастающих на территории России — *Boechea falcata* (Turcz.) (= *Arabis turczaninowii* Ledeb.), является эндемиком Восточной Сибири и Дальнего Востока; его происхождение, согласно данным по молекулярным маркерам, некоторые авторы связывают с возможной миграцией предковых форм из Северной Америки в Сибирь через Берингов пролив (Al-

Shehbaz, 2005; Kiefer et al., 2009; Alexander et al., 2013). Ранее представителей рода *Boechea* относили к роду *Arabis* L. на основании близких морфологических признаков; однако кариологические исследования показали различия в числе хромосом, что привело Á. Löve и D. Löve (1976) к разделению рода *Arabis* (s.l.) на виды Нового Света с $x = 7$ (выделенные в род *Boechea*) и виды Старого света с $x = 8$ (оставшиеся в роде *Arabis*). Последующие молекулярно-филогенетические исследования показали, что эти два рода относятся к различным кладам на филогенетическом древе се-

мейства Brassicaceae (Koch et al., 2000; Beilstein et al., 2010; Nikolov et al., 2019; Hendriks et al., 2023).

В таксономическом отношении род *Boecheira* очень сложен, так как его представители — преимущественно автогамные межвидовые гибриды (аллодиплоиды), образующие агамные комплексы, для которых характерно как апомиктичное, так и половое воспроизведение (Kantama et al., 2007; Beck et al., 2012; Aliyu et al., 2013; Alexander et al., 2015; Li et al., 2017; Brukhin, 2017; Brukhin et al., 2019). В отличие от апомиктов других покрытосеменных растений, являющихся полиплоидами (Asker, Jerling, 1992), у представителей рода *Boecheira* апомиксис встречается не только у полиплоидных (чаще всего триплоидных $2n = 3x = 21$) форм, но и у диплоидных растений (Böcher, 1951; Alexander et al., 2015; Li et al., 2017); реже могут формироваться апомиктичные тетраплоиды (Schranz et al., 2005; Aliyu et al., 2010).

Апомиксис у представителей рода *Boecheira* представлен, главным образом, диплоспорией Taraxacum-типа, при которой происходит нарушение первого деления мейоза и формируется реституционное ядро; второе деление мейоза приводит к образованию диады нередуцированных клеток. Дальнейшее развитие халазальной клетки диады приводит к формированию зародышевого мешка той же пloidности, что и материнское растение (Böcher, 1951; Naumova et al., 2001; Taşkin et al., 2004; Windham et al., 2015; Osadtchiy et al., 2017; Brukhin et al., 2019; Mateo de Arias et al., 2020). У некоторых видов отмечена диплоспория Antennaria-типа, при которой происходит замена мейоза на митоз и в результате после деления мегаспороцита сразу формируется 2-ядерный зародышевый мешок, который также имеет нередуцированное число хромосом, как и материнское растение (Carman et al., 2019). Также наряду с диплоспорией у некоторых представителей *Boecheira* наблюдается апомиксис в форме апоспории: апоспорические инициали и образующиеся из них гаметофиты могут располагаться в нуцеллусе рядом с тетрадами мегаспор или диадами (Carman et al., 2019). Нередуцированные яйцеклетки в апомиктических зародышевых мешках, как правило, формируют зародыш партеногенетически. Эндосперм образуется путем оплодотворения (псевдогамия), хотя в некоторых случаях отмечалось автономное образование эндосперма (Naumova et al., 2001; Voigt et al., 2007).

В природных популяциях, формирующих агамные комплексы и интрогрессивные гибриды, частота апомиксиса может варьировать в зависимости от условий произрастания и роли половых видов в гибридизации (материнское или отцовское растение) (Li et al., 2017; Rushworth et al., 2018; Rushworth, Mitchell-Olds, 2021). *Boecheira* — единственный род в сем. Brassicaceae, где прояв-

ление апомиксиса у некоторых видов и линий достигает 98% (Aliyu et al., 2010). Среди других родов Brassicaceae единичные случаи апомиксиса зарегистрированы у небольшого числа видов из родов *Erysimum* L. (Mulligan, 1966), *Parrya* R. Br. (Mosquin, Hayley, 1966), *Draba* L. (Mulligan, Findlay, 1970; Jordan-Thaden et al., 2013), *Phoenicautis* Nutt. ex Torr. et A. Gray (Mandáková et al., 2021), *Polycstenium* Greene и *Sandbergia* Greene (Mandáková et al., 2020).

Высокая частота встречаемости апомиксиса у представителей рода *Boecheira*, имеющих близкое родственное положение к роду *Arabidopsis* Heynh., дает возможность изучения апомиксиса с точки зрения молекулярно-генетической регуляции (Schranz et al., 2006; Kantama et al., 2007; Sharbel et al., 2009; 2010; Corral et al., 2013; Mau et al., 2013; Schmidt et al., 2014; Kliver et al., 2018; Bakin et al., 2022). У *Boecheira* идентифицировано несколько генов, ассоциированных с апомиксисом (Corral et al., 2013; Mau et al., 2013; Bakin et al., 2022). Кроме того, отсекарованы и собраны геномы двух половых видов *B. stricta* (Li et al., 2017) и *B. retrofracta* (Kliver et al., 2018), а также геномы двух природных апомиктических линий, M4B (NCBI Bioproject PRJNA774175) и ES517 (NCBI Bioproject PRJNA765627), при этом геном M4B собран до диплоидного уровня хромосом. Таким образом, последние два вида являются первыми апомиктами с полностью собранным геномом и представляют особый интерес для изучения. Кариологические исследования выявили связь апомиксиса и генов, ассоциированных с ним, с наличием aberrантных гетерохроматиновых хромосом *Het*, *Het'* и *Del* у некоторых апомиктических анеуплоидных линий *Boecheira* (Sharbel et al., 2004, 2005; Kantama et al., 2007; Mandáková et al., 2015; 2020; Mau et al., 2022).

Изучение апомиксиса показало, что, несмотря на высокий процент образования апомейотических зародышевых мешков, количество завязавшихся семян у апомиктических линий было значительно ниже, по сравнению с линиями, для которых характерен половой способ репродукции. Это может быть связано с тем, что у апомиктов мейоз сопровождается аномалиями, приводящими к нарушению развития семян (Mateo de Arias et al., 2020). Кроме того, нарушение развития семян может быть обусловлено гибридной природой многих апомиктов (Rushworth, Mitchell-Olds, 2021), а также развитием эндосперма, зависящим во многом от пloidности полярных ядер и спермиев (Voigt-Zielinski et al., 2012; Mau et al., 2021). Однако, до сих пор причины гибели семязачатков и семян у апомиктических видов *Boecheira* в процессе их развития остаются слабо изученными.

Настоящее исследование посвящено изучению развития женских репродуктивных структур у трех видов *Boecheira*, для которых характерно поло-

вое и апомиктичное воспроизведение, с целью выявления некоторых факторов, обуславливающих появление аномалий в развитии семязачатков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Семена *Boechnera falcata* были собраны с растений возраста 7–10 лет в естественных местах обитания: петрофитное несомкнутое сообщество из *Artemisia gmelinii* Weber ex Stechm. и *B. falcata* на склоне южной экспозиции крутизной 45° (Тенькинский район Магаданской области, в 10 км к юго-востоку от села Оротук — 62°01'50.586" N, 148°38'46.591" E). Растения *B. falcata* — травянистые многолетники высотой до 60 см; стебли голые, зеленые с сизоватым оттенком; стеблевые листья продолговатые, цельные или зубчатые, стеблеобъемлющие, длиной до 2 см; нижние листья, собранные в розетку, — плоские, овально-продолговатые, зубчатые, длиной до 3.5 см, густо опушены двураздельными волосками; цветение в конце первой декады июня, цветки в щитковидных кистях; лепестки розово-фиолетовые, длиной до 9 мм; стручки узкие, свисающие вниз, слегка серповидно изогнутые, длиной до 8 см и шириной 2–3 мм.

Семена *B. stricta* были собраны с растений, произрастающих в горах на северо-западе США, морфология растений описана ранее (Schranz et al., 2007; Li et al., 2017 и др.). Семена природного апомиктичного гибрида *B. stricta* × *B. retrofracta* (M4B) были собраны с растений, произрастающих в горах округа Южный Лемхай, штат Айдахо, США (Lemhi County, State of Idaho, USA), 44°36'07" N, 113°35' 07" E, к западу от пика Гунсайт (Gunsight Peak), в долине горной реки Эйттайм-Крик. Семена *B. stricta* и гибрида M4B были любезно предоставлены профессором Т. Митчеллом-Олдсом (Т. Mitchell-Olds) из университета Дьюка (Duke University, Durham, North Carolina, USA).

Семена всех трех видов проращивали согласно методике М.Е. Schranz (Schranz et al., 2005; 2006). Сначала семена выдерживали на влажной фильтровальной бумаге в темноте в течение 3 недель с холодной стратификацией (+4°C) для снятия покоя. Затем чашки Петри с семенами переносили в ростовую камеру с температурой +21°C в условия 16-часового светового дня. Проросшие семена переносили в почвенную смесь. Цветение растений происходило через 6 недель после обработки холодом.

Бутоны, цветки и завязи на разных стадиях развития были зафиксированы в FAA (формалин : ледяная уксусная кислота : 70% этиловый спирт в соотношении 7 : 7 : 100) в течение 7 дней, после чего материал был отмыт 70% этиловым спиртом и использовался либо для приготовления постоянных препаратов и их анализа методом световой

микроскопии (СМ), либо для исследования тотальных семязачатков с помощью метода просветления и оптики интерференциально-дифференциального контраста (DIC).

Обработка материала и приготовление препаратов проводились по общепринятой цитологической методике (Pausheva, 1980). Срезы толщиной 8–10 мкм были сделаны на микротоме Microm HM 325 (Carl Zeiss, Germany). Окраску препаратов проводили гематоксилином по Эрлиху с подкраской алциановым синим. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа Axio Imager Z1 (Carl Zeiss, Germany) ЦКП БИН РАН; фотографии выполнены цифровой камерой AxioCam MRc5 и обработаны ПО Zen Blue Editor (Carl Zeiss, Germany).

Для просветления семязачатков завязи выделяли из бутонов и цветков и помещали их в просветляющую жидкость — 10% раствор хлоралгидрата на ночь (Barykina et al., 2004). Далее для приготовления временных препаратов завязи помещали на предметное стекло в каплю глицерина, выделяли семязачатки и накрывали их покровным стеклом. Выделение завязей и семязачатков проводили под стереомикроскопом Stemi 2000 (Carl Zeiss, Germany). Просветленные семязачатки анализировали с помощью микроскопа AxioPlan 2 (Carl Zeiss, Germany) в режиме DIC (дифференциально-интерференционный контраст).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Развитие семязачатка у всех трех исследованных видов происходит в целом единообразно. Различия проявляются в способе репродукции: у *Boechnera falcata*, изученной впервые в нашем исследовании, отмечен только половой способ репродукции, как и у *B. stricta*, что в целом подтверждает более ранние исследования этого вида (Aliyu et al., 2010; Rojek et al., 2018). Для линии M4B, также ранее не изученной эмбриологически, показано преимущественно апомиктичное развитие женского гаметофита.

Развитие женских репродуктивных структур у Boechnera falcata и B. stricta

В завязи длиной около 0.5 мм на плаценте инициируется около 30 примордиев семязачатков. При удлинении завязи до 0.7–1.0 мм в семязачатках начинается инициация интегументов за счет деления клеток эпидермального слоя, причем закладка внутреннего интегумента происходит раньше наружного. В это же время начинается дифференциация археспориальной клетки в апикальной части субэпидермального слоя нуцеллуса. Граница заложения интегументов расположена ниже уровня археспориальной клетки, вследствие того, что изначально примордий

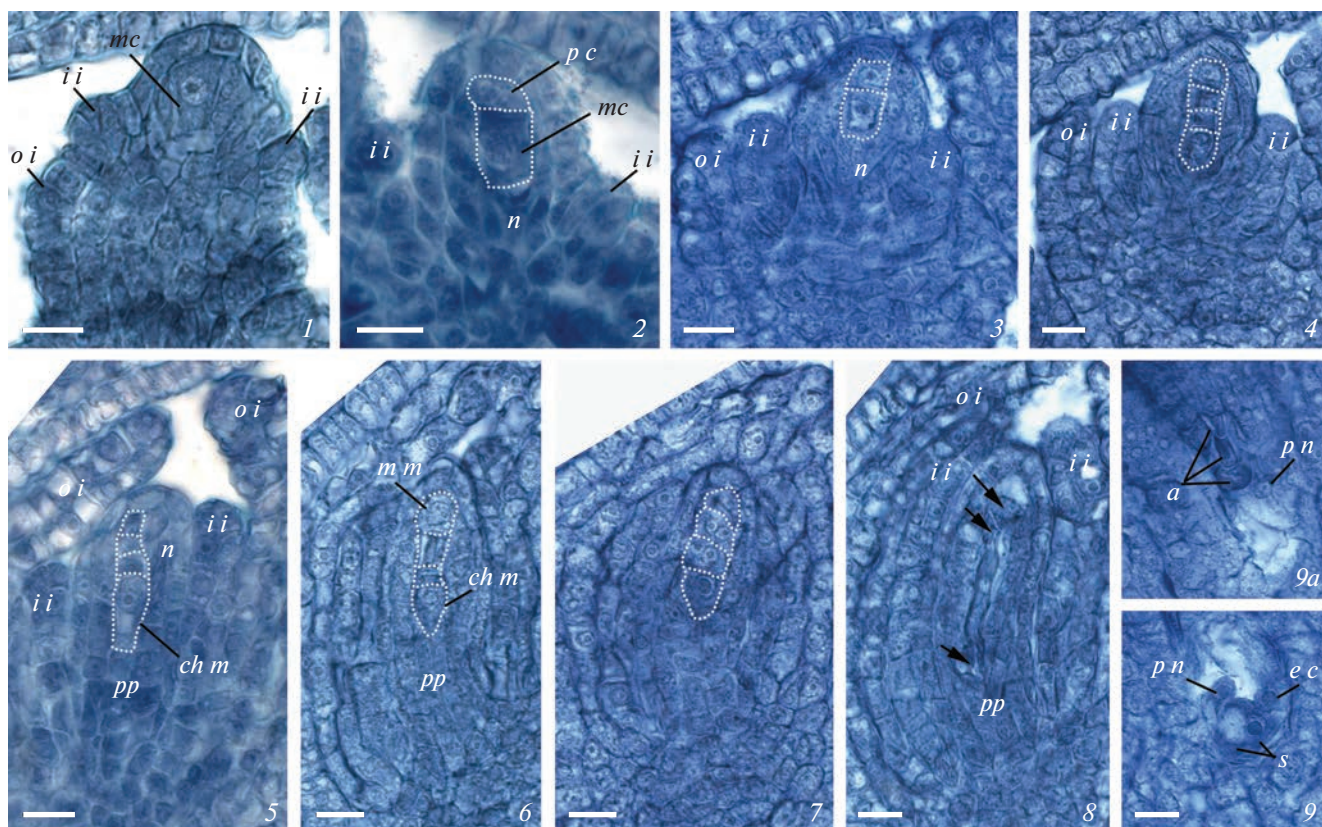


Рис. 1. Развитие семязчатка и женского гаметофита у *Boechera falcata*. 1–2 – формирование мегаспороцита в семязчатке без париетальной клетки (1) и с париетальной клеткой (2); 3 – образование диады клеток после первого деления мейоза; 4 – тетрада мегаспор, сформированная после мейоза; 5 – тетрада мегаспор в ходе развития семязчатка, рост халазальной функциональной мегаспоры и дегенерация трех микропилярных мегаспор; 6 – функционирование наряду с халазальной микропилярной мегаспоры в тетраде; 7 – образование двуядерных клеток из субмикропилярной и эпихалазальной мегаспор тетрады; 8 – четырехядерный зародышевый мешок (ядра указаны стрелками, на халазальном полюсе второе ядро не показано, так как расположено на следующем срезе); 9 – строение сформированного зародышевого мешка на микропилярном полюсе: две синергиды, яйцеклетка, занимающая латеральное положение, и микропилярное полярное ядро центральной клетки, 9а – халазальный полюс зародышевого мешка с тремя антиподами и халазальным полярным ядром центральной клетки. *a* – антипода, *ch m* – халазальная мегаспора, *ec* – яйцеклетка, *ii* – внутренний интегумент, *m m* – микропилярная мегаспора, *mc* – мегаспороцит, *n* – нукеллус, *oi* – наружный интегумент, *pc* – париетальная клетка, *pn* – полярное ядро, *pp* – постаменто-подиум, *s* – синергида. Масштабная линейка: 10 мкм.

Fig. 1. Development of the ovule and female gametophyte in *Boechera falcata*. 1–2 – development of the megasporocyte in the ovule without a parietal cell (1) and with a parietal cell (2); 3 – dyad of cells after the first meiotic division; 4 – tetrad of megaspores after the second meiotic division; 5 – growth of the chalazal functional megaspore and degeneration of three micropylar megaspores of tetrad during development of the ovule; 6 – functioning of micropylar along with the chalazal megaspore in the tetrad; 7 – development of binucleate cells from submicropylar and epichalazal megaspores of the tetrad; 8 – four-nucleate embryo sac are indicated by arrows, the second nucleus at the chalazal pole is not shown since it is located in the next section; 9 – structure of the formed embryo sac at the micropylar pole: two synergids, the egg cell occupying a lateral position, and the micropylar polar nucleus of the central cell, 9a – chalazal pole of the embryo sac with three antipodals and the chalazal polar nucleus of the central cell. *a* – antipodals, *ch m* – chalazal megaspore, *ec* – egg cell, *ii* – inner integument, *m m* – micropylar megaspore, *mc* – megasporocyte, *n* – nucellus, *oi* – outer integument, *pc* – parietal cell, *pn* – polar nucleus, *pp* – postamentopodium, *s* – synergid. Scale bar: 10 μ m.

представляет собой сильно вытянутый бугорок. Археспориальная клетка в процессе развития трансформируется в мегаспороцит, который быстро увеличивается в размерах. В семязчатке, где интегументы только иницируются, мегаспороцит представлен крупной вытянутой в продольном направлении клеткой, ядро в которой занимает преимущественно центральное положение; цитоплазма плотная, без видимых вакуо-

лей (рис. 1, 1; 2, 1). В единичных случаях у обоих видов формируются два мегаспороцита в одном семязчатке. Также изредка отмечено образование париетальной клетки, расположенной над мегаспороцитом (рис. 1, 2).

При дальнейшем росте завязи ее плацента продолжает формировать семязчатки: в завязях длиной 1.5–2.0 мм их количество достигает 50.

Семязачатки несколько увеличиваются в размере, преимущественно за счет роста их базальной части; начинается небольшой изгиб семязачатка. Интегументы становятся 2-слойными; внутренний и наружный интегументы примерно равны по длине и достигают половины длины нуцеллуса у *B. falcata* (рис. 1, 3, 4), у *B. stricta* они остаются короткими (рис. 2, 2, 3). На этой стадии развития семязачатка у обоих видов мегаспороцит приступает к мегаспорогенезу.

Мегаспорогенез и развитие зародышевого мешка соответствует моноспорическому Polygonum-типу, при котором два последовательных деления мейоза и сопровождающих их процессов цитокинеза приводят к образованию тетрады редуплицированных мегаспор (рис. 1, 3, 4; 2, 2, 3).

После завершения мейоза и образования мегаспор (в завязях длиной 2.4–3.5 мм) семязачаток начинает активно расти, изгибается, становится гемикампилотропным, по типизации И.И. Шамрова (Shamrov, 2008; 2017). По мере роста семязачатка мегаспоры претерпевают изменения — халазальная клетка тетрады увеличивается в размере и становится функциональной мегаспорой, тогда как мегаспоры, расположенные над ней, начинают дегенерировать (рис. 1, 5; 2, 4). У *B. falcata* часто самая апикальная клетка тетрады долго остается жизнеспособной (рис. 1, 6) и, возможно, может развиваться дальше. В одном случае отмечено образование двух 2-ядерных зародышевых мешков из соседних мегаспор одной тетрады (рис. 1, 7). Однако, как правило, развитие гаметофита происходит из халазальной мегаспоры, в цитоплазме которой появляются вакуоли, в дальнейшем эта клетка претерпевает три митотических деления, которые приводят к формированию ценоцитного зародышевого мешка — после первого деления 2-ядерного (рис. 2, 5), затем 4-ядерного (рис. 1, 8).

Ко времени формирования 2-ядерного зародышевого мешка в семязачатке значительно увеличивается халаза и базальная часть нуцеллуса, образующая единую структуру постаментно-подиума, клетки латерального слоя нуцеллуса начинают дегенерировать. Внутренний интегумент, как правило, полностью обрастает нуцеллус, при этом становится 2–3-слойным, а в микропилярной части 3–4-слойным. Наружный интегумент остается 2-слойным, но в микропилярной части утолщается до 5–6 слоев. Микропиле сформировано обоими интегументами (экзо-эндостом) (рис. 2, 5).

Третий, последний, митоз в зародышевом мешке сопровождается клеткообразованием. В результате формируется 3 клетки яйцевого аппарата (2 синергиды и яйцеклетка) на микропилярном полюсе; 3 клетки антипод на халазальном полюсе и центральная клетка с двумя полярными ядрами, сначала расположенными у полюсов (рис. 1, 9, 9a). В процессе созревания зародышевого мешка

клетки яйцевого аппарата приобретают специфические черты, характерные для синергид и яйцеклетки. Синергиды у изученных видов крупные, с базально расположенным ядром и вакуолью, занимающей апикальное положение; в базальной части также присутствует нитчатый аппарат (рис. 1, 9; 2, 6). Яйцеклетка имеет хорошо выраженную полярность с апикально расположенным ядром и крупной вакуолью в базальной части. Яйцеклетка, как правило, занимает латеральное положение по отношению к синергидам (рис. 1, 9; 2, 6). Полярные ядра в процессе созревания зародышевого мешка сближаются и сливаются вблизи яйцевого аппарата, образуя крупное вторичное ядро центральной клетки (рис. 2, 6). Антиподы у изученных видов мелкие, с плотной цитоплазмой и небольшим ядром, располагаются, как правило, рядом друг с другом (рис. 1, 9a; 2, 6). У *B. falcata* антиподы могут сохраняться до первых делений в эндосперме, у *B. stricta* антиподы часто дегенерируют до оплодотворения.

На стадии зрелого зародышевого мешка, готового к оплодотворению (завязи 4.4–6.3 мм в длину), семязачатки еще больше увеличиваются в размерах, становятся еще более изогнутыми (орто-кмпилотропными). На этой стадии нуцеллус практически полностью разрушается в микропилярной и латеральных частях, но значительно увеличивается в базальной области, причем в этой зоне его клетки становятся более крупными, вытянутыми и содержат плотную цитоплазму и крупные ядра. Наружный интегумент остается 2-слойным (за исключением его микропилярной области), а внутренний — становится массивным, 5–6-слойным; в клетках его внутренней эпидермы начинается морфологическая дифференциация, связанная с увеличением плотности цитоплазмы этих клеток, а также их растяжением в радиальном направлении, что позволяет предположить приобретение этими клетками функции интегументального тапетума и их активное участие в транспорте веществ. Морфологическая дифференциация этих клеток усиливается на последующих этапах развития семени (в период раннего эмбриогенеза и эндоспермогенеза).

Мы не проводили специальных исследований по процессу оплодотворения. Однако в завязях раскрытых цветков *B. falcata* во всех семязачатках уже наблюдалось развитие зиготы или 2-клеточного зародыша и присутствовали 2–4 ядра эндосперма, что указывает на нормальное протекание процесса оплодотворения у этого вида. К сожалению, у *B. stricta* стадий развития зародыша и эндосперма не было обнаружено, по причине малого количества зафиксированного материала в период цветения.

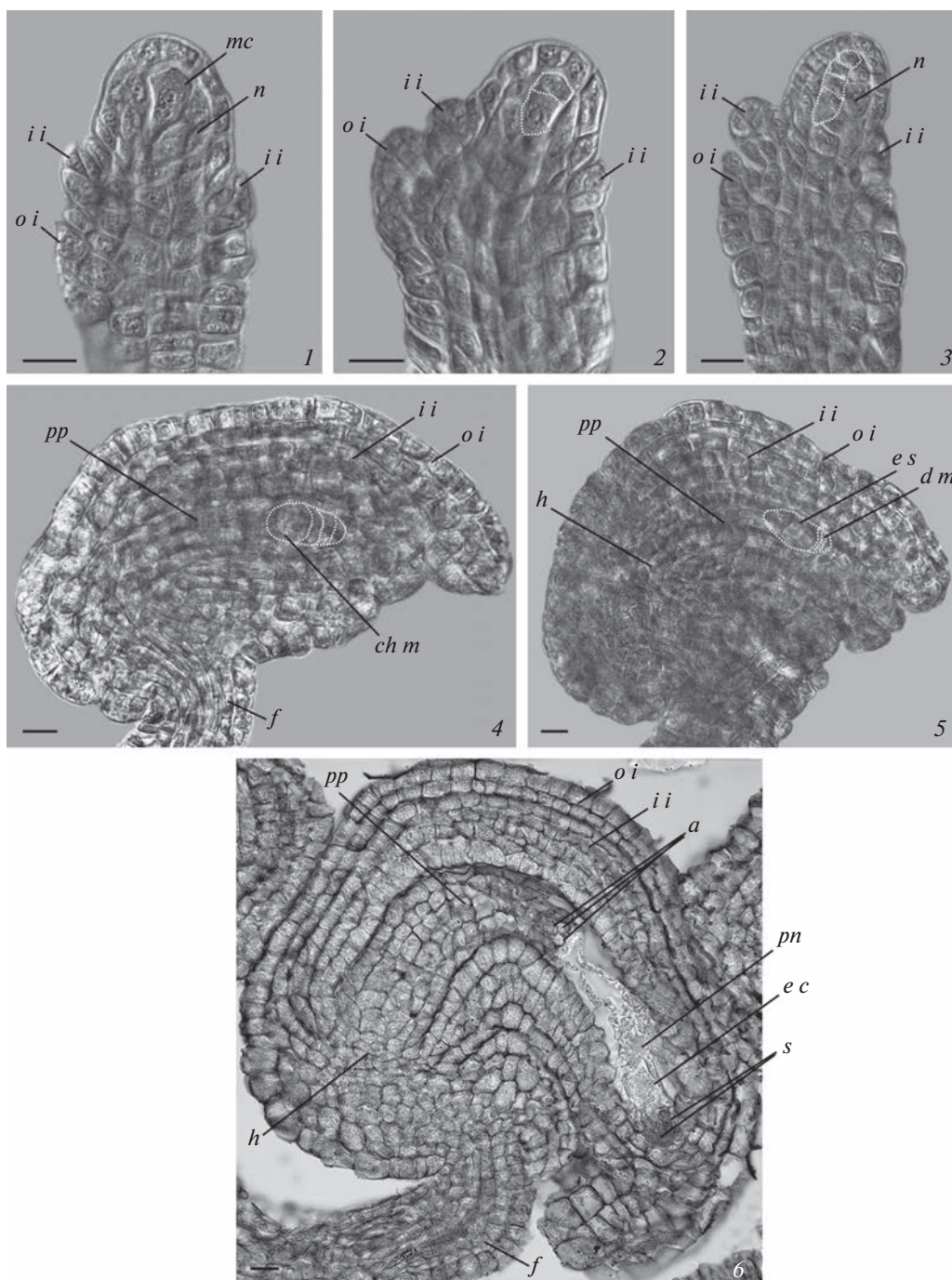


Рис. 2. Развитие семязачатка и женского гаметофита у *Boechea stricta*. 1–6 – строение семязачатка на стадии мегаспороцита (1); диады клеток, сформированных после первого мейоза (2); тетрады мегаспор (3); дифференциации халазальной мегаспоры (4); двуядерного зародышевого мешка (5), видны дегенерирующие микропиларные клетки тетрады; зрелого зародышевого мешка (6), на микропиларном полюсе которого расположен яйцевой аппарат с двумя синергидами и яйцеклеткой, а также вторичное ядро центральной клетки, на халазальном – три антиподы. 1–5 – DIC, 6 – CM. *a* – антипода, *ch m* – халазальная мегаспора, *dm* – дегенерирующие мегаспоры, *ec* – яйцеклетка, *es* – зародышевый мешок, *f* – фуникулус, *h* – гипостаз, *ii* – внутренний интегумент, *mc* – мегаспороцит, *n* – нуцеллус, *oi* – наружный интегумент, *pn* – полярное ядро, *pp* – постамент-подиум, *s* – синергида. Масштабная линейка: 10 мкм.

Fig. 2. Development of the ovule and female gametophyte in *Boechea stricta*. 1–6 – structure of the ovule at the stage of megasporocyte (1); dyad of cells resulted from the first meiotic division (2); tetrad of megaspores (3); differentiation of the chalazal megaspore (4); binucleate embryo sac (5), degenerating micropylar cells of the tetrad are visible; mature embryo sac (6), on the micropilar pole there is an egg apparatus with two synergids and an egg cell, as well as a secondary polar nucleus of the central cell, on the chalazal pole there are three antipodals. 1–5 – DIC, 6 – LM. *a* – antipodals, *ch m* – chalazal megaspore, *dm* – degenerating megaspores, *ec* – egg cell, *es* – embryo sac, *f* – funiculus, *h* – hypostase, *ii* – inner integument, *mc* – megasporocyte, *n* – nucellus, *oi* – outer integument, *pn* – polar nucleus, *pp* – postamentum-podium, *s* – synergid. Scale bar: 10 μ m.

*Развитие женских репродуктивных структур
у линии М4В*

Развитие структур семязачатка у линии М4В происходит таким же образом, как у *B. falcata* и *B. stricta*. Отличительной особенностью является преобладание апомиктического способа репродукции, что связано с образованием диплоспорического нередуцированного зародышевого мешка и партеногенетическим развитием зародыша (что также было показано при анализе семян методом проточной цитометрии — неопубл. данные).

Вступление мегаспороцита в мейоз у этой линии происходит так же рано, как и у *B. falcata* и *B. stricta*, когда в семязачатке только начинается развитие интегументов (рис. 3, 1, 2). Нормальное протекание мейоза и образование редуцированных мегаспор в семязачатках линии М4В наблюдалось относительно редко (6.7%) и происходило с образованием триады мегаспор в результате отсутствия второго деления мейоза в микропилярной клетке диады (рис. 3, 3). Нарушение мейоза, проявляющееся в формировании реституционного ядра в первом его делении и образовании диады нередуцированных клеток после второго деления (Тагахасит-тип диплоспории) отмечено более часто (35.6%) (рис. 3, 4). Также следует отметить, что большая часть мегаспороцитов у линии М4В не завершала мейоз (57.7% всех исследованных мегаспороцитов) (рис. 3, 5). Кроме того, в некоторых семязачатках мегаспороцит, а также диады имели признаки деструкции (пикноз ядер, сжатие цитоплазмы, деформация клетки) (рис. 3, 6). Количественное соотношение присутствующих на данной стадии мегаспороцитов, диад и триад показано в таблице 1.

Происхождение зародышевого мешка у М4В (из халазальной клетки триады, сформированной путем нормального мейоза, или халазальной клетки диады, образовавшейся в результате диплоспорического развития) на ценоцитной стадии трудно определить, так как располагающиеся над 2-ядерным зародышом мешком остатки мегаспор невозможно подсчитать из-за их практической полной деструкции (рис. 3, 7). Однако, учитывая малую долю формирования в семязачатках триад мегаспор после мейоза у этой линии, можно предположить, что большинство развивающихся зародышевых мешков имеют апомиктическую природу.

Следует подчеркнуть, что в нашем материале завязи линии М4В характеризовались высокой степенью остановки развития женского гаметофита на стадиях мегаспороцита, диады или 2-ядерного зародышевого мешка (табл. 1). Например, в завязи длиной 2.4 мм наблюдалось примерно равное количество 2-ядерных зародышевых мешков (21) и диад (20), оставшиеся семязачатки из 55 исследованных содержали мегаспороциты (14),

остановившиеся в развитии, из которых 11 имели явные признаки деструкции. В завязи 3.0 мм из 23 исследованных семязачатков 17 содержали 2-ядерный зародышевый мешок, 3 — 4-ядерный зародышевый мешок, 2 — дегенерирующую диаду клеток, 1 — дегенерирующий мегаспороцит. Несмотря на присутствие в семязачатках разных стадий развития гаметофита, внешне семязачатки были одинаковыми и не уступали друг другу в степени развития (рис. 3, 7, 8). Однако, следует отметить, что часть семязачатков с отстающими в развитии мегаспороцитами или диадами отличалась от других более коротким внутренним интегументом, который обрастал нуцеллус не полностью (рис. 3, 9). Возможно, это связано с нарушениями в развитии гаметофита (остановкой развития и последующей дегенерацией). В некоторых случаях недоразвитие внутреннего интегумента сопряжено с нарушениями полярности 2-ядерного зародышевого мешка, который разрастался в микропилярной части семязачатка до наружного интегумента (рис. 3, 10). По-видимому, частая остановка развития гаметофита, приводящая к его дегенерации (рис. 3, 11), значительно снижает число жизнеспособных семязачатков на ранних этапах их развития.

Сформированный и зрелый зародышевый мешок у линии М4В имеет такую же структурную организацию, как у *B. falcata* и *B. stricta*. В качестве отличительной особенности можно выделить лишь очень раннюю дегенерацию антипод (в зрелом зародышевом мешке наблюдаются лишь остатки этих клеток). Также следует отметить, что в некоторых сформированных семязачатках отмечались зародышевые мешки, расширенные в своей микропилярной части и находящиеся в этой области в контакте с наружным интегументом (нуцеллус к этому времени разрушен) по причине недоразвития внутреннего интегумента. В ходе созревания уже сформированные зародышевые мешки в ряде семязачатков подвергаются деструкции, что снижает общую численность жизнеспособных семязачатков. Так, в завязях из раскрытых цветков из 148 исследованных семязачатков только у 79 наблюдались зрелые зародышевые мешки, в остальных наблюдались дегенерирующие гаметофиты на ценоцитной стадии, диады и мегаспороциты (табл. 1). Кроме того, в 5 семязачатках наблюдался 2-клеточный зародыш и 4–6-ядерный эндосперм; в одном семязачатке — зародыш в отсутствии эндосперма (присутствовало вторичное ядро центральной клетки), что, вероятно, указывает на его партеногенетическое происхождение, поскольку при нормальном развитии семени после оплодотворения эндосперм всегда развивается раньше зародыша (Poddubnaya-Arnoldi, 1976; Shishkinskaya et al., 2004). Эндосперм, вероятно, формировался в результате оплодотворения, так как завязи данной длины были выделены из рас-

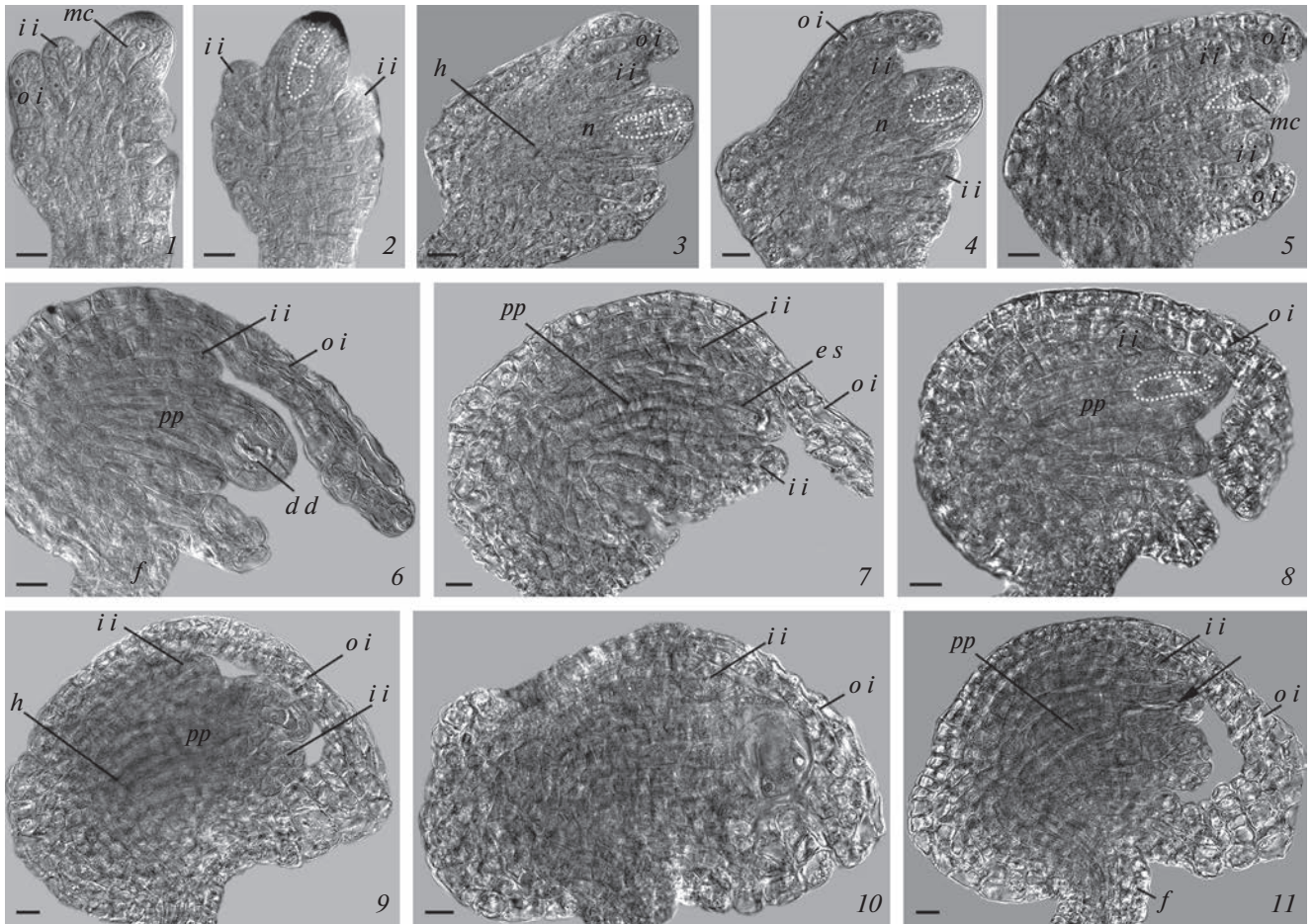


Рис. 3. Варианты развития зародышевого мешка у апомиктической линии *Boecherha*—M4B. 1–4 — строение семязчатка на стадии мегаспороцита (1); диады клеток, сформированных после деления мегаспороцита (2); триады мегаспор, сформированных после мейоза (3); диады клеток, сформированных после апомейоза (4); 5 — остановка развития мегаспороцита при продолжающемся росте семязчатка; 6 — дегенерирующие клетки диады в семязчатке; 7 — семязчаток на стадии двуядерного зародышевого мешка; 8 — остановка развития гаметофита на стадии диады при продолжающемся росте семязчатка; 9 — диада клеток в семязчатке с коротким внутренним интегументом; 10 — двуядерный зародышевый мешок с нарушенной полярностью в семязчатке с коротким внутренним интегументом; 11 — дегенерация гаметофита (показан стрелкой) в продолжающем развитии семязчатке. 1–11 — DIC. *es* — зародышевый мешок, *f* — фуникулус, *h* — гипостаза, *ii* — внутренний интегумент, *mc* — мегаспороцит, *n* — нуцеллус, *oi* — наружный интегумент, *pp* — постаменто-подиум. Масштабная линейка: 10 мкм.

Fig. 3. Variants of embryo sac development in the apomictic accession *Boecherha*—M4B. 1–4 — structure of the ovule at the stage of megasporocyte (1); dyad of cells formed after the megasporocyte division (2); triad of megasporocytes formed after meiosis (3); diploporous dyad formed after apomeiosis (4); 5 — arrest of megasporocyte development with continuing growth of the ovule; 6 — degenerating cells of the dyad in the ovule; 7 — ovule at the stage of binucleate embryo sac; 8 — arrest of gametophyte development at the dyad stage with continuing growth of the ovule; 9 — dyad of cells in the ovule with a short inner integument; 10 — binucleate embryo sac with disturbed polarity in the ovule with a short inner integument; 11 — degeneration of the gametophyte (indicated by the arrow) in the ovule continuing development. 1–11 — DIC. *es* — embryo sac, *f* — funiculus, *h* — hypostase, *ii* — inner integument, *mc* — megasporocyte, *n* — nucellus, *oi* — outer integument, *pp* — postamentopodium. Scale bar: 10 μ m.

крывшихся цветков, в которых пыльники были частично вскрыты. Происхождение зародыша в семенах с эндоспермом установить сложно, поскольку он может развиваться и партеногенетически (в случае развития диплоспорического зародышевого мешка) или после оплодотворения (в случае формирования редуцированного зародышевого мешка после мейоза). Специальных исследований развития семян не проводилось. В отсут-

ствии эндосперма семена не завершают свое развитие: зародыш дегенерирует и семена прекращают свой рост, внутренние и наружные ткани семени также подвергаются деструкции. Процесс оплодотворения полярных ядер зародышевого мешка и дальнейшее развитие эндосперма, вероятно, в целом, является триггером для развития семени, поскольку семязчатки, в которых зародышевый мешок не переходит к формированию зародыша и

Таблица 1. Количественное соотношение семязачатков/семян на разных стадиях развития женского гаметофита в процессе роста завязи у апомиктичной линии *Boecheira* — M4B
Table 1. Quantitative ratio of ovules/seeds at different stages of female gametophyte development during ovary growth in the apomictic accession *Boecheira* — M4B

Длина завязи (мм) Ovary length (mm)	Количество исследованных завязей (шт.) Number of studied ovaries (pcs.)	Количество исследованных семязачатков (шт.) Number of studied ovules (pcs.)	Количество семязачатков/семян (шт.) Number of ovules/seeds (pcs.)						
			с мegasporocyte with megasporeocyte	с диадой клеток with dyad of cells	с триадой мegaspor with triad of megaspores	с 2- или 4-ядерным зародышевым мешком with bi- or four-nucleate embryo sac	со зрелым зародышевым мешком with mature embryo sac	с зародышем и эндоспермом with embryo and endosperm	с зародышем и без эндосперма with embryo, without endosperm
0.6–1.0	3	89	89	0	0	0	0	0	0
1.5–2.0	5	239	138 (6*)	85 (5*)	16	0	0	0	0
2.4–3.0	2	78	15 (12*)	22 (2*)	0	41	0	0	0
3.2–3.5	2	69	19*	10*	0	7*	33	0	0
4.4–6.3	4	148	25*	16*	0	23*	79	4	1
8.3–12.0	5	319	51*	17*	0	47*	161	26	16
20.2–28.6	2	108	0	0	0	0	95*	7	6

Примечание: звездочкой (*) указано количество дегенерирующих клеток от числа мегаспороцитов и клеток диад на данной стадии.
Note: the asterisk (*) indicates the number of degenerating cells from the number of megaspores and dyad cells at the corresponding stage.

эндосперма, прекращают свой рост. Так, в плодах (стручках) длиной 8.3–12.0 мм, наблюдалась большая доля (86.8%) не завязавшихся семян, которые не содержали зародышей (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что в целом развитие семязачатка у видов *Boechea* происходит сходно с таковым у других изученных видов Brassicaceae (Iljina, 1962; Rodionova, 1966, 1979; Shamrov, 2002a), и сформированный семязачаток имеет однотипное строение, за исключением более массивного по толщине внутреннего интегумента у некоторых родов (*Lunaria* L., *Eruca* Mill., *Hesperis* L. — Belyaeva, Rodionova, 1983). Сформированный семязачаток у исследованных видов орто-кампилотропный, медионуцеллятный, битегмальный (по типизации И.И. Шамрова — Shamrov, 2008; 2017). В более ранних исследованиях семязачатки у видов Brassicaceae (*Brassica campestris* L. — Ahuja, Bhaduri, 1956; *Brassica juncea* Czern et Coss. — Sulbha, 1957; *Diplotaxis tenuifolia* DC. — Belyaeva et al., 1978; *Berteroa incana* (L.) DC. — Belyaeva, Fursa, 1979) относили к tenuинуцеллятному типу. Однако, И.И. Шамров (Shamrov, 2002a, b) на примере *Capsella bursa-pastoris* показал, что семязачаток у представителей Brassicaceae относится к медионуцеллятному типу, так как у него присутствует более одного слоя клеток в латеральной части нуцеллуса и развивается относительно массивная базальная часть (как у крассинуцеллятных семязачатков), преобразующаяся в постамент-подиум; для tenuинуцеллятных семязачатков, как правило, характерно наличие однослойного нуцеллуса, окружающего зародышевый мешок (Shamrov, 2008).

Некоторые авторы указывают на наличие тенденции к крассинуцеллятному типу семязачатка в трибе Boecheae (Mandáková et al., 2020), так как у растений этой трибы на ранних стадиях развития семязачатка (во время дифференциации мегаспороцита) иногда образуется париетальная клетка. Авторы подчеркивают, что париетальная клетка формируется не во всех семязачатках и частота ее появления может варьировать. Например, у видов *Phoenicaulis* париетальная клетка была отмечена у 70% семязачатков (Mandáková et al., 2021), а у видов *Boechea* эта клетка встречается у менее, чем 50% семязачатков (Naumova et al., 2001; Carman et al., 2019). У исследованных нами видов *Boechea* также иногда происходило образование париетальной клетки (менее, чем у 5% исследованных семязачатков).

Появление париетальной клетки в отдельных семязачатках завязи характерно и для других родов Brassicaceae — *Lunaria*, *Eruca*, *Hesperis*, *Macropodium* R. Br. (Rodionova, 1966a, b, 1971a, c, 1976), *Alliaria* Kuntze (Belyaeva, Fursa, 1982), *Brassica* L.

(Sulbha, 1957, Iljina, 1962), причем авторы также подтверждают непостоянство ее образования. Г.Б. Родионова (Rodionova, 1966a, 1971a, 1978) предполагала, что наличие париетальной клетки связано с выборочностью дифференциации спорогенной клетки (мегаспороцита) в нуцеллусе на самых ранних стадиях ее развития, то есть деление субэпидермальной клетки в некоторых случаях приводило к образованию париетальной клетки и расположенной под ней спорогенной, либо, наоборот, после деления расположенная под эпидермой клетка становилась спорогенной, а ниже лежащая становилась клеткой нуцеллуса; в последнем варианте париетальная клетка, как таковая, не формировалась. Такое предположение было сделано на основании данных по развитию семязачатка у *Hesperis steveniana* DC, у которого в некоторых случаях развивались два мегаспороцита, лежащие не рядом друг с другом (как у других представителей Brassicaceae), а один над другим.

Сложно сказать, насколько верно данное предположение. Возможно, за париетальную клетку можно принять микропилярную клетку диады, сформированную после первого асимметричного деления мейоза. Как показывают наши данные по развитию семязачатка, у *Boechea* мегаспорогенез начинается очень рано, когда интегументы только начинают формироваться и еще не доходят до середины нуцеллуса. Первое деление мейоза, как известно, проходит очень быстро, и, как было показано нами у *Boechea falcata*, структура семязачатка практически не меняется со времени присутствия в нем мегаспороцита до образования тетрады мегаспор. Клетки нуцеллуса на этой стадии довольно крупные, в результате чего высока вероятность спутать клетки диады (клетки, расположенные одна под другой) с мегаспороцитом и находящейся над ним париетальной клеткой. Идентификация с помощью окраски на каллозу, окружающую мегаспороцит и продукты мейоза, возможно, будет не совсем точна, так как слой каллозы часто имеет прерывистую структуру и ее отложение может варьировать у разных мегаспороцитов, что было показано у *Boechea stricta* (Rojek et al., 2018). Поэтому, однозначный ответ на вопрос о присутствии париетальной клетки над мегаспороцитом у видов *Boechea* и других Brassicaceae может дать только применение маркеров, точно идентифицирующих спорогенные клетки, которых в настоящее время еще очень мало (Tucker et al., 2012; Lora et al., 2017) и, возможно, они не будут универсальными для всех видов.

Образование двух мегаспороцитов отмечалось, как в нашем материале, так и у других видов *Boechea* (Carman et al., 2019). По-видимому, это свойственно большинству представителей семейства Brassicaceae, так как формирование 2–3 спорогенных клеток отмечено для ряда видов *Brassica*

(Iijina, 1962) и *Hesperis* (Rodionova, 1966), а для некоторых родов (*Cardamine* L., *Sysimbrium* Pall., *Erysimum* L.) описан многоклеточный археспорий (Vandendries, 1909, 1912; Rodionova, 1971b). В редких случаях отмечалось формирование двух зародышевых мешков, например, у ряда видов *Arabis* (Czapik, 1974), происхождение которых осталось неустановленным. По предположению автора, они могут быть производными дополнительных мегаспороцитов или результатом развития нескольких мегаспор. У *Boecheira* развитие нескольких мегаспор тоже возможно, у *B. falcata* нами было отмечено длительное сохранение одной из микропилярных мегаспор, а также наличие 2-ядерных клеток в тетраде мегаспор. Двух зрелых зародышевых мешков мы не наблюдали в нашем исследовании, но нельзя исключать возможность их развития.

Зародышевый мешок у исследованных видов *Boecheira* развивается, как и у других исследованных видов Brassicaceae согласно моноспорическому Polygonum-типу. Зрелый зародышевый мешок 7-клеточный, 7-ядерный, типичного строения для многих Brassicaceae. Однако следует обратить внимание на некоторые различия в поведении антипод у исследованных нами видов: тогда как у *B. stricta* и *B. falcata* антиподы сохраняются относительно долго (у *B. falcata* они еще присутствуют на стадии 2–4-ядерного эндосперма), у апомиктической линии М4В антиподы разрушаются еще до стадии зрелого зародышевого мешка. Возможно, это связано с гибридной природой этой линии или диплоспорическим развитием большинства развивающихся зародышевых мешков.

Для нормального формирования зародышевого мешка очень важна скоррелированность процессов его развития с окружающими тканями спорофита (Gerassimova-Navashina, 1958; Batygina, 2002). Об этом свидетельствуют полученные данные по развитию женских репродуктивных структур у *Boecheira*. Наиболее выраженные корреляции можно наблюдать на следующих стадиях:

1) Стадия мегаспорогенеза, заканчивающаяся образованием тетрады (триады), проходит очень быстро и соответствует, как правило, незначительному росту семязачатка (базальная часть еще не изгибается, интегументы не достигают середины нуцеллуса). Наличие у апомиктической линии на этой стадии диады клеток не всегда означает, что она сформирована без редукционного деления.

2) Стадия тетрады является достаточно продолжительной и сопровождается значительными структурными преобразованиями в семязачатке, связанными с ростом нуцеллуса и интегументов. Только на этой стадии, когда интегументы полностью обрастают нуцеллус, можно определить, какой зародышевый мешок будет развиваться — диплоспорический (если на этой стадии присут-

ствует диада клеток) или половой (если формируется тетрада/триада мегаспор).

Очень важной особенностью развития семязачатка является сопряженное развитие интегументов и гаметофита. Нарушения в развитии внутреннего интегумента, выявленные у апомиктической линии М4В, по-видимому, приводят к остановке развития мегаспороцита, так как в семязачатке с коротким интегументом чаще наблюдалась дегенерация мегаспороцита, хотя остальные ткани семязачатка (нуцеллус и наружный интегумент) продолжали расти, и в целом не отличались по размерам от других семязачатков завязи. В некоторых семязачатках с коротким внутренним интегументом развитие гаметофита может продолжаться, в таких семязачатках наблюдались диады клеток (часто тоже с признаками дегенерации), или 2-ядерные зародышевые мешки с нарушением размеров и полярности ядер, или даже зрелые зародышевые мешки с разросшейся микропилярной частью и клетками яйцевого аппарата аномальной формы и топографии. О скоррелированности этих процессов и важности развития внутреннего интегумента для развития женского гаметофита свидетельствуют и данные по мутантам *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *bel*, *ino*, *ant*, *sin 1*, которые показали, что гены, участвующие в регуляции развития интегументов, оказывают влияние на развитие мегаспороцита, который у данных мутантов не способен развиваться и вступать в мегаспорогенез (Ray et al., 1996; Sieber et al., 2004; Wang et al., 2008). Следует подчеркнуть, что среди исследованных нами видов *Boecheira* такие нарушения были отмечены только у апомиктической гибридной линии М4В, что, вероятно, может указывать на сопряженность апомиксиса (отсутствия мейоза) и процессов формирования семязачатка, в частности, развития внутреннего интегумента.

Диплоспорическое развитие зародышевого мешка (апомиксис) среди исследуемых нами видов было отмечено только у линии М4В с частотой 35.6%), у видов *B. falcata* и *B. stricta* нарушений в мейозе и развитии зародышевого мешка не отмечалось. Хотя некоторые авторы полагают, что даже у половых видов (например, *B. stricta*) в редких случаях могут проявляться признаки апомиксиса: диплоспория и партеногенез (Aliyu et al., 2010; Rojek et al., 2018).

Хотя у линии М4В преобладает гаметофитный апомиксис в форме диплоспории, половой способ репродукции также присутствует (в некоторых семязачатках происходит редукционное деление), что свидетельствует о неполной пенетрантности апомиксиса в этой линии. Кроме того, была отмечена частая остановка развития гаметофита, что, возможно, связано не с апомиктическим способом репродукции, а с гибридной

природой этой линии. Также для этой линии характерна низкая завязываемость семян, что связано не только с большим процентом дегенерации гаметофита в ходе развития (особенно на ранних стадиях), но, по-видимому, и с отсутствием эндосперма, для развития которого необходимо оплодотворение полярных ядер (псевдогамия). Хотя некоторые исследователи отмечали возможность автономного развития эндосперма у апомиктических линий *Boecheira* (Naumova et al., 2001; Voigt et al., 2007; Aliyu et al., 2010), у линии М4В такого не наблюдалось. Однако, для однозначного ответа о независимом от оплодотворения развитии эндосперма необходимо специальное исследование, направленное на изучение процессов развития семени при наличии и отсутствии опыления/оплодотворения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследование показало, что низкая завязываемость семян у апомиктической линии М4В может быть связана с рядом факторов, действующих при развитии семязачатка и семени. Наиболее важные из них следующие: 1) неспособность некоторых мегаспороцитов вступать или завершать мейоз (что, вероятно, коррелирует с нарушениями в развитии внутреннего интегумента); 2) неспособность некоторых апомиктических диад мегаспор продолжать развитие; 3) нарушение полярной миграции ядер в ценоцитном гаметофите и закономерностей их делений; 4) отсутствие тройного слияния и образования эндосперма в семенах.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках государственного задания Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН № 122011900036-5 “Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, естественные и искусственные модели их реализации” (2019–2023 гг.) и гранта РФФИ № 20-54-46002-Ст “Филогенетический и функциональный анализ генов, ассоциированных с апомиксисом у представителей рода *Boecheira*” (2020–2023 гг.). Техническая часть исследования проведена на оборудовании ЦКП “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ahuja Y.R., Bhaduri P.N. 1956. The embryology of *Brassica campestris* var. *toria*. — *Phytomorphology*. 6: 63–67.
- Alexander P.J., Windham M.D., Beck J.B., Al-Shehbaz I.A., Allphin L., Bailey C.D. 2013. Molecular phylogenetics and taxonomy of the genus *Boecheira* and related genera (Brassicaceae: Boecheerae). — *Syst. Bot.* 38 (1): 192–209.
<https://doi.org/10.1600/036364413x661917>
- Alexander P.J., Windham M.D., Beck J.B., Al-Shehbaz I.A., Allphin L., Bailey C.D. 2015. Weaving a tangled web: divergent and reticulate speciation in *Boecheira fendleri sensu lato* (Brassicaceae; Boecheerae). — *Syst. Bot.* 40 (2): 572–596.
<https://doi.org/10.1600/036364415x688745>
- Aliyu O.M., Schranz E., Sharbel T.F. 2010. Quantitative variation for apomixis components in the genus *Boecheira*. — *Am. J. Bot.* 97 (10): 1719–1731.
<https://doi.org/10.3732/ajb.1000188>
- Aliyu O.M., Seifert M., Corral J.M., Fuchs J., Sharbel T.F. 2013. Copy number variation in transcriptionally active regions of sexual and apomictic *Boecheira* demonstrates independently derived apomictic lineages. — *The Plant Cell*. 25 (10): 3808–3823.
<https://doi.org/10.1105/tpc.113.113860>
- Al-Shehbaz I.A. 2005. Nomenclatural notes on Eurasian *Arabis* (Brassicaceae). — *Novon*. 15 (4): 519–524.
- Asker S.E., Jerling L. 1992. Apomixis in Plants. Boca Raton, FL. 320 p.
- Bakin E., Sezer F., Özbilen A., Kilic I., Uner B., Rayko M., Taşkin K.M., Brukhin V. 2022. Phylogenetic and expression analysis of *CENH3* and *APOLLO* genes in sexual and apomictic *Boecheira* species. — *Plants (Basel)*. 11 (3): article 387 (P. 1–17).
<https://doi.org/10.3390/plants11030387>
- [Barykina et al.] Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. 2004. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М. 312 с.
- Batygina T.B. 2002. Ovule and seed viewed from reliability of biological systems. — In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Vol. 1. Generative organs of flower. Enfield (NH, USA). P. 214–217.
- Beck J.B., Alexander P.J., Allphin L., Al-Shehbaz I.A., Rushworth C., Bailey C.D. et al. 2012. Does hybridization drive the transition to asexuality in diploid *Boecheira* (Brassicaceae)? — *Evolution*. 66 (4): 985–995.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01507.x>
- Beilstein M.A., Nagalingum N.S., Clements M.D., Manchester S.R., Mathews S. 2010. Dated molecular phylogenies indicate a Miocene origin for *Arabidopsis thaliana*. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107 (43): 18724–18728.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0909766107>
- [Belyaeva et al.] Беляева Л.Ю., Чайка К.А., Фурса М.С. 1978. Розвиток півляка, насінного зачатка і гаметогенез *Diploaxis tenuifolia* DC. — *Укр. бот. журн.* 35 (2): 175–179.
- [Belyaeva, Fursa] Беляева Л.Е., Фурса Н.С. 1982. Эмбриология *Alliaria officinalis* (Brassicaceae). I. Формирование мужских и женских структур цветка и изучение состава их флавоноидов. — *Бот. журн.* 67 (7): 959–968.
- [Belyaeva, Fursa] Беляева Л.Ю., Фурса М.С. 1979. Формування чоловічих і жіночих структур квітки *Berteroa incana* (L.) DC. — *Укр. бот. журн.* 36 (6): 574–577.

- [Belyaeva, Rodionova] Беляева Л.Е., Родионова Г.Б. 1983. Семейство Brassicaceae. — В кн.: Сравнительная эмбриология цветковых растений. Phytolaccaceae — Thymelaeaceae. Л. С. 154–164.
- Böcher T.W. 1951. Cytological and embryological studies in the amphiapomictic *Arabis holboellii* complex. — Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab. Biol. Skrif. 6: 1–59.
- Brukhin V. 2017. Molecular and genetic regulation of apomixis. — Russian Journal of Genetics. 53 (9): 943–964. <https://doi.org/10.1134/S1022795417090046>
- Brukhin V., Osadtchii J.V., Florez-Rueda A.M., Smetanin D., Bakin E., Nobre M.S. et al. 2019. The *Boechera* genus as a resource for apomixis research. — Front. Plant Sci. 10: article 392 (P. 1–19). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00392>
- Carman J.G., Mateo de Arias M., Gao L., Zhao X., Kowallis B., Sherwood D.A., et al. 2019. Apospory in addition to diplospory is common in *Boechera* where it may facilitate speciation by recombination-driven apomixis-to-sex reversals. — Front. Plant Sci. 10: article 724 (P. 1–14). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00724>
- Corral J.M., Vogel H., Aliyu O.M., Hensel G., Thiel T., Kumlehn J., et al. 2013. A conserved apomixis-specific polymorphism is correlated with exclusive exonuclease expression in premeiotic ovules of apomictic *Boechera* species. — Plant Physiol. 163 (4): 1660–1672. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222430>
- Czapik R. 1974. Embryology of five species of the *Arabis hirsuta* complex. — Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 17: 13–25.
- [Gerassimova-Navashina] Герасимова-Навашина Е.Н. 1958. О гаметофите и об основных чертах развития и функционирования воспроизводящих элементов у покрытосеменных растений. — Проблемы ботаники. 3: 125–167.
- Hendriks K.P., Kiefer C., Al-Shehbaz I.A., Bailey C.D., van Huysduynen A.H., Nikolov L.A. et al. 2023. Global Brassicaceae phylogeny based on filtering of 1,000-gene dataset. — Current Biology. 33 (19): 4052–4068. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.08.026>
- [Il'ina] Ильина Г.М. 1962. Эмбриологическое исследование горчицы *Brassica juncea* (L.) Czern. — Вестник Моск. ун-та. 1: 34–45.
- Jordon-Thaden I.E., Al-Shehbaz I.A., Koch M.A. 2013. Species richness of the globally distributed, arctic–alpine genus *Draba* L. (Brassicaceae). — Alpine Bot. 123: 97–106. <https://doi.org/10.1007/s00035-013-0120-9>
- Kantama L., Sharbel T.F., Schranz M.E., Mitchell-Olds T., de Vries S., de Jong H. 2007. Diploid apomicts of the *Boechera holboellii* complex display large-scale chromosome substitutions and aberrant chromosomes. — Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104 (35): 14026–14031. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706647104>
- Kiefer C., Dobeš C., Koch M.A. 2009. *Boechera* or not? Phylogeny and phylogeography of eastern North American *Boechera* species (Brassicaceae). — Taxon. 58 (4): 1109–1121. <https://doi.org/10.1002/tax.584005>
- Kliver S., Rayko M., Komissarov A., Bakin E., Zhernakova D., Prasad K. et al. 2018. Assembly of the *Boechera retrofracta* genome and evolutionary analysis of apomixis-associated genes. — Genes (Basel). 9 (4): article 185 (P. 1–16). <https://doi.org/10.3390/genes9040185>
- Koch M.A., Bishop J., Mitchell-Olds T. 1999. Molecular systematic and evolution of *Arabidopsis* and *Arabis*. — Plant Biol. 1 (5): 529–537. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1999.tb00779.x>
- Koch M.A., Haubold B., Mitchell-Olds T. 2000. Comparative evolutionary analysis of chalcone synthase and alcohol dehydrogenase loci in *Arabidopsis*, *Arabis*, and related genera (Brassicaceae). — Mol. Biol. Evol. 17 (10): 1483–1498. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026248>
- Koch M.A., Dobeš C., Mitchell-Olds T. 2003. Multiple hybrid formation in natural populations: Concerted evolution of the internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA (ITS) in North American *Arabis divaricarpa* (Brassicaceae). — Mol. Biol. Evol. 20 (3): 338–350. <https://doi.org/10.1093/molbev/msg046>
- Li F.W., Rushworth C.A., Beck J.B., Windham M.D. 2017. *Boechera* microsatellite website: an online portal for species identification and determination of hybrid parentage. — Database. 2017: baw169. <https://doi.org/10.1093/database/baw169>
- Lora J., Herrero M., Tucker M.R., Hormaza J.I. 2017. The transition from somatic to germline identity shows conserved and specialized features during angiosperm evolution. — New Phytol. 216 (2): 495–509. <https://doi.org/10.1111/nph.14330>
- Löve A., Löve D. 1976. Nomenclatural notes on arctic plants. — Bot. Not. 128: 497–523.
- Mandáková T., Schranz M.E., Sharbel T.F., de Jong H., Lysak M.A. 2015. Karyotype evolution in apomictic *Boechera* and the origin of the aberrant chromosomes. — Plant J. 82 (5): 785–793. <https://doi.org/10.1111/tpj.12849>
- Mandáková T., Hloušková P., Windham M.D., Mitchell-Olds T., Ashby K., Price B., Carman J., Lysak M. 2020. Chromosomal evolution and apomixis in the cruciferous tribe Boechereae. — Front. Plant Sci. 11: article 514 (P. 1–17). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00514>
- Mandáková T., Ashby K., Price B.J., Windham M.D., Carman J.G., Lysak M.A. 2021. Genome structure and apomixis in *Phoenicautis* (Brassicaceae; Boechereae). — J. Syst. Evol. 59 (1): 83–92. <https://doi.org/10.1111/jse.12555>
- Mateo de Arias M., Gao L., Sherwood D.A., Dwivedi K.K., Price B.J., Jamison M. et al. 2020. Whether gametophytes are reduced or unreduced in angiosperms might be determined metabolically genes. — Genes. 11: article 1449 (P. 1–38). <https://doi.org/10.3390/genes11121449>
- Mau M., Corral J.M., Vogel H., Melzer M., Fuchs J., Kuhlmann, M., et al. 2013. The conserved chimeric transcript *UPGRADE2* is associated with unreduced pollen formation and is exclusively found in apomictic *Boechera* species. — Plant Physiol. 163 (4): 1640–1659. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222448>

- Mau M., Liiving T., Fomenko L., Goertzen R., Paczesniak D., Böttner L. et al. 2021. The spread of infectious asexuality through haploid pollen. — *New Phytol.* 230 (2): 804–820.
<https://doi.org/10.1111/nph.17174>
- Mau M., Mandáková T.M., Ma X., Ebersbach J., Zou L., Lysak M.A., Sharbel T.F. 2022. Evolution of an apomixis-specific allele class in supernumerary chromatin of apomictic *Boechera*. — *Front. Plant. Sci.* 13: article 890038 (P. 1–17).
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.890038>
- Mosquin T., Hayley D.E. 1966. Chromosome numbers and taxonomy of some Canadian arctic plants. — *Can. J. Bot.* 44 (9): 1209–1218.
<https://doi.org/10.1139/b66-132>
- Mulligan G.A. 1966. Chromosome numbers of the family Cruciferae III. — *Can. J. Bot.* 44(3): 309–319.
<https://doi.org/10.1139/b66-037>
- Mulligan G.A., Findlay J.N. 1970. Sexual reproduction and agamospermy in the genus *Draba*. — *Can. J. Bot.* 48 (2): 269–271.
<https://doi.org/10.1139/b70-040>
- Naumova T.N., van der Laak J., Osadtchiy J., Matzk F., Kravtchenko A., Bergervoet J., et al. 2001. Reproductive development in apomictic populations of *Arabis holboellii* (Brassicaceae). — *Sex. Plant Reprod.* 14 (4): 195–200.
<https://doi.org/10.1007/s00497-001-0118-0>
- Nikolov L.A., Shushkov P., Nevado B., Ga X., Al-Shehbaz I.A., Filatov D., et al. 2019. Resolving the backbone of the Brassicaceae phylogeny for investigating trait diversity. — *New Phytol.* 222 (3): 1638–1651.
<https://doi.org/10.1111/nph.15732>
- [Osadtchiy] Осадчий Я.В., Наумова Т.Н., Брюхин В.Б. 2017. Апомиксис в роде *Boechera* (Brassicaceae): текущее состояние проблемы. — *Бот. журн.* 102 (12): 1587–1607.
- [Pausheva] Паушева З.П. 1980. Практикум по цитологии растений. М. 255 с.
- [Podubnaya-Arnoldi] Поддубная-Арнольди В.А. 1976. Цитозмбриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. М. 508 с.
- Ray A., Lang J.D., Golden T., Ray S. 1996. *SHORT IN-TEGUMENT (SINI)*, a gene required for ovule development in *Arabidopsis*, also controls flowering time. — *Development.* 122 (9): 2631–2638.
<https://doi.org/10.1242/dev.122.9.2631>
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1966a. Мегаспорогенез у *Hesperis steveniana* DC. — *Вестник Моск. ун-та.* 5: 68–72.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1966b. Эмбриологическое исследование *Eruca sativa* Lam. — *Вестник Моск. ун-та.* 1: 61–68.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1971a. Эмбриологическое исследование *Hesperis steveniana* DC. — В кн.: Морфология цветковых растений. М. С. 34–54.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1971b. Эмбриологическое развитие *Erysimum rannonicum* Crantz. — *Вестник Моск. ун-та.* 5: 52–57.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1971c. Эмбриология *Lunaria annua* L. — *Вестник Моск. ун-та.* 4: 59–63.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1976. Эмбриологическое развитие *Macropodium* (Pall.) R. Вг. из семейства крестоцветных. — В кн.: Рост растений и пути его регулирования. М. С. 126–139.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1978. О развитии кроющих клеток в семействе крестоцветных. — В кн.: Тезисы докладов VI Делегатского съезда ВБО. Л. С. 110.
- [Rodionova] Родионова Г.Б. 1979. Развитие женских эмбриональных структур, эндосперма и зародыша у свербиги восточной. — *Бюл. Гл. бот. сада.* 113: 90–96.
- Rojek J., Kapusta M., Kozieradzka-Kiszkurno M., Majcher D., Gorniak M., Sliwiska E., et al. 2018. Establishing the cell biology of apomictic reproduction in diploid *Boechera stricta* (Brassicaceae). — *Ann. Bot.* 122 (4): 513–539.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcy114>
- Rushworth C.A., Windham M.D., Keith R.A., Mitchell-Olds T. 2018. Ecological differentiation facilitates fine-scale coexistence of sexual and asexual *Boechera*. — *Am. J. Bot.* 105 (12): 2051–2064.
<https://doi.org/10.1002/ajb2.1201>
- Rushworth C.A., Mitchell-Olds T. 2021. The evolution of sex is tempered by costly hybridization in *Boechera* (rock cress) — *J. Heredity.* 112 (1): 67–77.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esaa041>
- Schmidt A., Schmid M.W., Klostermeier U.C., Qi W., Guthörl D., Sailer C. et al. 2014. Apomictic and sexual germline development differ with respect to cell cycle, transcriptional, hormonal and epigenetic regulation. — *PLoS Genet.* 10 (7): article e1004476 (P. 1–21).
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004476>
- Schranz M.E., Dobes C., Koch M.A., Mitchell-Olds T. 2005. Sexual reproduction, hybridization, apomixis, and polyploidization in the genus *Boechera* (Brassicaceae). — *Am. J. Bot.* 92 (11): 1797–1810.
<https://doi.org/10.3732/ajb.92.11.1797>
- Schranz M.E., Kantama L., De Jong H., Mitchell-Olds T. 2006. Asexual reproduction in a close relative of *Arabidopsis*: a genetic investigation of apomixis in *Boechera* (Brassicaceae). — *New Phytol.* 171 (2): 425–438.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01765.x>
- Schranz M.E., Windsor A.J., Song B.H., Lawton-Rauh A., Mitchell-Olds T. 2007. Comparative genetic mapping in *Boechera stricta*, a close relative of *Arabidopsis*. — *Plant Physiol.* 144 (1): 286–298.
<https://doi.org/10.1104/pp.107.096685>
- [Shamrov] Шамров И.И. 2002a. Морфогенез семязачатка и семени у *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) в связи с особым способом формирования эндотелия. — *Бот. журн.* 87(2): 1–18.
- Shamrov I.I. 2002b. Ovule and seed study in *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) with a peculiar endothelium formation pattern. — *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* 44: 79–90.
- [Shamrov] Шамров И.И. 2008. Семязачаток цветковых растений: структура, функции, происхождение. М. 350 с
- [Shamrov] Шамров И. И. 2017. Морфологические типы семязачатков цветковых растений. — *Бот. журн.* 102 (2): 129–146.

- Sharbel T.F., Voigt M.L., Mitchell-Olds T., Kantama L., De Jong H. 2004. Is the aneuploid chromosome in an apomictic *Boechera holboellii* a genuine B chromosome? — Cytogenet. Genome Res. 106 (2–4): 173–183. <https://doi.org/10.1159/000079284>
- Sharbel T.F., Mitchell-Olds T.M., Dobes C., Kantama L., de Jong H. 2005. Biogeographic distribution of polyploidy and B chromosomes in the apomictic *Boechera holboellii* complex. — Cytogenet. Genome Res. 109 (1–3): 283–292. <https://doi.org/10.1159/000082411>
- Sharbel T.F., Voigt M.L., Corral J.M., Thiel T., Varshney A., Kumlehn J. et al. 2009. Molecular signatures of apomictic and sexual ovules in the *Boechera holboellii* complex. — Plant J. 58 (5): 870–882. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2009.03826.x>
- Sharbel T.F., Voigt M.L., Corral J.M., Galla G., Kumlehn J., Klukas C. et al. 2010. Apomictic and sexual ovules of *Boechera* display heterochronic global gene expression patterns. — Cell. 22 (3): 655–671. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072223>
- [Shishkinskaya et al.] Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тырнов В.С. 2004. Популяционная эмбриология и апомиксис у злаков. Саратов. 145 с.
- Sieber P., Gheyselinck J., Gross-Hardt R., Laux T., Grossniklaus U., Schneitz K. 2004. Pattern formation during early ovule development in *Arabidopsis thaliana*. — Dev. Biol. 273 (2): 321–334. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.05.037>
- Sulbha K. 1957. Embryology of *Brassica juncea* Czern & Coss. — J. Indian Bot. Soc. 36 (3): 292–301.
- Tucker M.R., Okada T., Hu Y., Scholefield A., Taylor J.M., Koltunow A.M. 2012. Somatic small RNA pathways promote the mitotic events of megagametogenesis during female reproductive development in *Arabidopsis*. — Development. 139 (8): 1399–1404. <https://doi.org/10.1242/dev.075390>
- Taşkın K.M., Turgut K., Scott R.J. 2004. Apomictic development in *Arabis gunnisoniana*. — Israel J. Plant Sci. 52 (2): 155–160. <https://doi.org/10.1560/L3DE-FMVY-1XCQ-QRY5>
- Vandendries R. 1909. Contribution à l'étude du développement de l'ovule dans les Crucifères. — Cellule. 25: 412–459.
- Vandendries R. 1912. Contribution à l'étude du développement de l'ovule dans les Crucifères. 2. L'archesporium dans le genre *Cardamine*. — Cellule. 28: 215–225.
- Voigt M.L., Melzer M., Rutten T., Mitchell-Olds T., Sharbel T.F. 2007. Gametogenesis in the apomictic *Boechera holboellii* complex: the male perspective. — In: Apomixis: Evolution, mechanisms and perspectives. Rugell: A.R.G. Gantner Verlag. P. 236–257.
- Voigt-Zielinski M.L., Piwczynski M., Sharbel T.F. 2012. Differential effects of polyploidy and diploidy on fitness of apomictic *Boechera*. — Sex. Plant Reprod. 25 (2): 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00497-012-0181-8>
- Wang H., Liu Y., Bruffett K., Lee J., Hause G., Walker J.C., Zhang S. 2008. Haplo-insufficiency of *MPK3* in *MPK6* mutant background uncovers a novel function of these two MAPKs in *Arabidopsis* ovule development. — Plant Cell. 20 (3): 602–613. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058032>
- Windham M.D., Beck J.B., Li F.-W., Allphin L., Carman J.G., Sherwood D.A. et al. 2015. Searching for diamonds in the apomictic rough: a case study involving *Boechera lignifera* (Brassicaceae). — Syst. Bot. 40 (4): 1031–1044. <https://doi.org/10.1600/036364415x690076>

DEVELOPMENT OF FEMALE REPRODUCTIVE STRUCTURES IN *BOECHERA* (BRASSICACEAE) SPECIES UNDER SEXUAL AND APOMICTIC REPRODUCTIVE MODES

G. Yu. Vinogradova^{a, #}, N. V. Sinelnikova^{b, ##}, K. M. Taşkın^{c, ###}, and V. B. Brukhin^{a, ####}

^aKomarov Botanical Institute of RAS
Prof. Popova Str., 2, St. Petersburg, 197022, Russia

^bInstitute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch of RAS
Portovaya Str., 18, Magadan, 685000, Russia

^cÇanakkale Onsekiz Mart University Çanakkale, 17100, Turkey

[#]e-mail: vinogradova-galina@binran.ru

^{##}e-mail: meks_mag@mail.ru

^{###}e-mail: kmtaskin@comu.edu.tr

^{####}e-mail: vbrukhin@gmail.com

The results of comparative embryological study of the two species from the genus *Boechera* (*B. falcata* and *B. stricta*), which are characterized by a sexual mode of reproduction, and the apomictic M4B accession, an ancient natural hybrid of *B. stricta* × *B. retrofracta*, are presented. A detailed description of the ovule development of the studied plants is described. A significant similarity of the ovule development has been shown; a general plan of the ovules structure is ortho-campylotropic, bitegmal, medionucellate. The development of the embryo sac in *B. falcata* and *B. stricta* corresponds to the monosporic Polygonum type; in the ovules of the M4B accession, an apomictic unreduced female gametophyte is predominantly formed as a result of Taraxacum-type diplospory. However, in this accession apomixis is facultative, since a small amount of the

ovules in the ovary forms a reduced embryo sac with participation of meiosis, but unlike *B. falcata* and *B. stricta*, after the second meiotic division, a triad of megaspores is formed, of which the chalazal one is functional. In the ovules of the apomictic M4B accession, underdevelopment of the inner integument was often observed, which, apparently, correlates with arrest of the megasporocyte and embryo sac development, since destruction was often observed in ovules with a short inner integument. This abnormality is likely due to the hybrid nature of the M4B accession rather than apomixis. In this accession, the embryo is formed parthenogenetically, but its development requires endosperm, which apparently develops by pseudogamy, only after triple fusion (fertilization of the fused polar nuclei by sperm). In the absence of endosperm, the embryo perishes, and seed development is arrested.

Keywords: *Boecheira*, Brassicaceae, apomixis, diplospory, ovule, parthenogenesis

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was carried out within the framework of the state assignment No. 122011900036-5 to the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg) and was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), research grant No. 20-54-46002 CT_a to V.B.; TÜBITAK research grant 119N384 and research grant No. FHD-2016-1038 from Çanakkale Onsekiz Mart University BAP to K.M.T. The research was done using equipment of The Core Facilities Center “Cell and Molecular Technologies in Plant Science” at the Komarov Botanical Institute RAS (St. Petersburg, Russia).

REFERENCES

- Ahuja Y.R., Bhaduri P.N. 1956. The embryology of *Brassica campestris* var. *toria*. — *Phytomorphology*. 6: 63–67.
- Alexander P.J., Windham M.D., Beck J.B., Al-Shehbaz I.A., Allphin L., Bailey C.D. 2013. Molecular phylogenetics and taxonomy of the genus *Boecheira* and related genera (Brassicaceae: Boecheareae). — *Syst. Bot.* 38 (1): 192–209.
<https://doi.org/10.1600/036364413x661917>
- Alexander P.J., Windham M.D., Beck J.B., Al-Shehbaz I.A., Allphin L., Bailey C.D. 2015. Weaving a tangled web: divergent and reticulate speciation in *Boecheira fendleri* sensu lato (Brassicaceae; Boecheareae). — *Syst. Bot.* 40 (2): 572–596.
<https://doi.org/10.1600/036364415x688745>
- Aliyu O.M., Schranz E., Sharbel T.F. 2010. Quantitative variation for apomixis components in the genus *Boecheira*. — *Am. J. Bot.* 97 (10): 1719–1731.
<https://doi.org/10.3732/ajb.1000188>
- Aliyu O.M., Seifert M., Corral J.M., Fuchs J., Sharbel T.F. 2013. Copy number variation in transcriptionally active regions of sexual and apomictic *Boecheira* demonstrates independently derived apomictic lineages. — *The Plant Cell*. 25 (10): 3808–3823.
<https://doi.org/10.1105/tpc.113.113860>
- Al-Shehbaz I.A. 2005. Nomenclatural notes on Eurasian *Arabis* (Brassicaceae). — *Novon*. 15 (4): 519–524.
- Asker S.E., Jerling L. 1992. Apomixis in Plants. Boca Raton, FL. 320 p.
- Bakin E., Sezer F., Özbilen A., Kilic I., Uner B., Rayko M., Taşkın K.M., Brukhin V. 2022. Phylogenetic and expression analysis of *CENH3* and *APOLLO* genes in sexual and apomictic *Boecheira* species. — *Plants (Basel)*. 11 (3): article 387 (P. 1–17).
<https://doi.org/10.3390/plants11030387>
- Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G., Dzhali-lova H.H., Ilina G.M., Chubatova N.V. 2004. Spravochnik po botanicheskoi microtechnike. Osnovy I metody [Manuals for botanical microtechnonoly. Basis and metods]. Moscow. 312 p. (In Russ.).
- Batygina T.B. 2002. Ovule and seed viewed from reliability of biological systems. — In: Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Vol. 1. Generative organs of flower. Enfield (NH, USA). P. 214–217.
- Beck J.B., Alexander P.J., Allphin L., Al-Shehbaz I.A., Rushworth C., Bailey C.D. et al. 2012. Does hybridization drive the transition to asexuality in diploid *Boecheira* (Brassicaceae)? — *Evolution*. 66 (4): 985–995.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01507.x>
- Beilstein M.A., Nagalingum N.S., Clements M.D., Manchester S.R., Mathews S. 2010. Dated molecular phylogenies indicate a Miocene origin for *Arabidopsis thaliana*. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107 (43): 18724–18728.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0909766107>
- Belyaeva L.E., Chajka E.A., Fursa N.S. 1978. Development of anther, ovule and gametogenesis of *Diploaxis tenuifolia* DC. — *Ukr. Bot. Zhurn.* 35 (2): 175–179 (In Ukr.).
- Belyaeva L.E., Fursa N.S. 1982. The embryology of *Alliaria officinalis* (Brassicaceae). I. Formation of male and female flower structures and the study of the flavonoid composition. — *Bot. Zhurn.* 67 (7): 959–968 (In Russ.).
- Belyaeva L.E., Fursa N.S. 1979. Formation of male and female structures of *Berteroa incana* (L.) DC. flower. — *Ukr. Bot. Zhurn.* 36 (6): 574–577 (In Ukr.).
- Belyaeva L.E., Rodionova G.B. 1983 Family Brassicaceae. — In: Comparative embryology of flowering plants. Phytolaccaceae — Thymelaeaceae. Leningrad. P. 154–164 (In Russ.).
- Böcher T.W. 1951. Cytological and embryological studies in the amphiapomictic *Arabis holboellii* complex. — *Det. Kongelige Danske Videnskabernes Selskab. Biol. Skrif.* 6: 1–59.
- Brukhin V. 2017. Molecular and genetic regulation of apomixis. — *Russian Journal of Genetics*. 53 (9): 943–964.
<https://doi.org/10.1134/S1022795417090046>

- Brukhin V., Osadtchiy J.V., Florez-Rueda A.M., Smetanin D., Bakin E., Nobre M.S. et al. 2019. The *Boecheira* genus as a resource for apomixis research. — *Front. Plant Sci.* 10: article 392 (P. 1–19). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00392>
- Carman J.G., Mateo de Arias M., Gao L., Zhao X., Kowallis B., Sherwood D.A., et al. 2019. Apospory in addition to diplospory is common in *Boecheira* where it may facilitate speciation by recombination-driven apomixis-to-sex reversals. — *Front. Plant Sci.* 10: article 724 (P. 1–14). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00724>
- Corral J.M., Vogel H., Aliyu O.M., Hensel G., Thiel T., Kumlehn J., et al. 2013. A conserved apomixis-specific polymorphism is correlated with exclusive exonuclease expression in premeiotic ovules of apomictic *Boecheira* species. — *Plant Physiol.* 163 (4): 1660–1672. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222430>
- Czapik R. 1974. Embryology of five species of the *Arabis hirsuta* complex. — *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* 17: 13–25.
- Gerassimova-Navashina E.N. 1958. O gametofite i ob osnovnykh chertah razvitiya i funktsionirivaniya vosproizvodyaschih elementov u pokrytosemennykh rastenii [About gametophyte and main signs of development and functioning reproductive elements in Angiosperms]. — *Problemy botaniki.* 3: 125–167 (In Russ.).
- Hendriks K.P., Kiefer C., Al-Shehbaz I.A., Bailey C.D., van Huysduynen A.H., Nikolov L.A. et al. 2023. Global Brassicaceae phylogeny based on filtering of 1,000-gene dataset. — *Current Biology.* 33 (19): 4052–4068. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.08.026>
- Ilijina G.M. 1962. Embriologicheskoe issledovanie gorchitsy *Brassica juncea* (L.) Czern. (Embryological study of mustard, *Brassica juncea* (L.) Czern. — *Vestnik Moscow State University.* 1: 34–45 (In Russ.).
- Jordon-Thaden I.E., Al-Shehbaz I.A., Koch M.A. 2013. Species richness of the globally distributed, arctic–alpine genus *Draba* L. (Brassicaceae). — *Alpine Bot.* 123: 97–106. <https://doi.org/10.1007/s00035-013-0120-9>
- Kantama L., Sharbel T.F., Schranz M.E., Mitchell-Olds T., de Vries S., de Jong H. 2007. Diploid apomicts of the *Boecheira holboellii* complex display large-scale chromosome substitutions and aberrant chromosomes. — *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104 (35): 14026–14031. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706647104>
- Kiefer C., Dobeš C., Koch M.A. 2009. *Boecheira* or not? Phylogeny and phylogeography of eastern North American *Boecheira* species (Brassicaceae). — *Taxon.* 58 (4): 1109–1121. <https://doi.org/10.1002/tax.584005>
- Kliver S., Rayko M., Komissarov A., Bakin E., Zhernakova D., Prasad K. et al. 2018. Assembly of the *Boecheira retrofracta* genome and evolutionary analysis of apomixis-associated genes. — *Genes (Basel).* 9 (4): article 185 (P. 1–16). <https://doi.org/10.3390/genes9040185>
- Koch M.A., Bishop J., Mitchell-Olds T. 1999. Molecular systematic and evolution of *Arabidopsis* and *Arabis*. — *Plant Biol.* 1 (5): 529–537. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1999.tb00779.x>
- Koch M.A., Haubold B., Mitchell-Olds T. 2000. Comparative evolutionary analysis of chalcone synthase and alcohol dehydrogenase loci in *Arabidopsis*, *Arabis*, and related genera (Brassicaceae). — *Mol. Biol. Evol.* 17 (10): 1483–1498. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026248>
- Koch M.A., Dobeš C., Mitchell-Olds T. 2003. Multiple hybrid formation in natural populations: Concerted evolution of the internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA (ITS) in North American *Arabis divaricarpa* (Brassicaceae). — *Mol. Biol. Evol.* 20 (3): 338–350. <https://doi.org/10.1093/molbev/msg046>
- Li F.W., Rushworth C.A., Beck J.B., Windham M.D. 2017. *Boecheira* microsatellite website: an online portal for species identification and determination of hybrid parentage. — *Database.* 2017: baw169. <https://doi.org/10.1093/database/baw169>
- Lora J., Herrero M., Tucker M.R., Hormaza J.I. 2017. The transition from somatic to germline identity shows conserved and specialized features during angiosperm evolution. — *New Phytol.* 216 (2): 495–509. <https://doi.org/10.1111/nph.14330>
- Löve A., Löve D. 1976. Nomenclatural notes on arctic plants. — *Bot. Not.* 128: 497–523.
- Mandáková T., Schranz M.E., Sharbel T.F., de Jong H., Lysak M.A. 2015. Karyotype evolution in apomictic *Boecheira* and the origin of the aberrant chromosomes. — *Plant J.* 82 (5): 785–793. <https://doi.org/10.1111/tpj.12849>
- Mandáková T., Hloušková P., Windham M.D., Mitchell-Olds T., Ashby K., Price B., Carman J., Lysak M. 2020. Chromosomal evolution and apomixis in the cruciferous tribe Boecheireae. — *Front. Plant Sci.* 11: article 514 (P. 1–17). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00514>
- Mandáková T., Ashby K., Price B.J., Windham M.D., Carman J.G., Lysak M.A. 2021. Genome structure and apomixis in *Phoenicaulis* (Brassicaceae; Boecheireae). — *J. Syst. Evol.* 59 (1): 83–92. <https://doi.org/10.1111/jse.12555>
- Mateo de Arias M., Gao L., Sherwood D.A., Dwivedi K.K., Price B.J., Jamison M. et al. 2020. Whether gametophytes are reduced or unreduced in angiosperms might be determined metabolically genes. — *Genes.* 11: article 1449 (P. 1–38). <https://doi.org/10.3390/genes11121449>
- Mau M., Corral J.M., Vogel H., Melzer M., Fuchs J., Kuhlmann M., et al. 2013. The conserved chimeric transcript *UPGRADE2* is associated with unreduced pollen formation and is exclusively found in apomictic *Boecheira* species. — *Plant Physiol.* 163 (4): 1640–1659. <https://doi.org/10.1104/pp.113.222448>
- Mau M., Liiving T., Fomenko L., Goertzen R., Paczesniak D., Böttner L. et al. 2021. The spread of infectious asexuality through haploid pollen. — *New Phytol.* 230 (2): 804–820. <https://doi.org/10.1111/nph.17174>
- Mau M., Mandáková T.M., Ma X., Ebersbach J., Zou L., Lysak M.A., Sharbel T.F. 2022. Evolution of an apomixis-specific allele class in supernumerary chromatin

- of apomictic *Boecheera*. — Front. Plant. Sci. 13: article 890038 (P. 1–17).
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.890038>
- Mosquin T., Hayley D.E. 1966. Chromosome numbers and taxonomy of some Canadian arctic plants. — Can. J. Bot. 44 (9): 1209–1218.
<https://doi.org/10.1139/b66-132>
- Mulligan G.A. 1966. Chromosome numbers of the family Crucifereae III. — Can. J. Bot. 44 (3): 309–319.
<https://doi.org/10.1139/b66-037>
- Mulligan G.A., Findlay J.N. 1970. Sexual reproduction and agamospermy in the genus *Draba*. — Can. J. Bot. 48 (2): 269–271.
<https://doi.org/10.1139/b70-040>
- Naumova T.N., van der Laak J., Osadtschiy J., Matzk F., Kravtchenko A., Bergervoet J., et al. 2001. Reproductive development in apomictic populations of *Arabis holboellii* (Brassicaceae). — Sex. Plant Reprod. 14 (4): 195–200. <https://doi.org/10.1007/s00497-001-0118-0>
- Nikolov L.A., Shushkov P., Nevado B., Ga X., Al-Shehbaz I.A., Filatov D., et al. 2019. Resolving the backbone of the Brassicaceae phylogeny for investigating trait diversity. — New Phytol. 222 (3): 1638–1651.
<https://doi.org/10.1111/nph.15732>
- Osadtschiy J.V., Naumova T.N., Brukhin V.B. 2017. Apomixis in the genus *Boecheera* (Brassicaceae): the current state of the problem. — Bot. Zhurn. 102 (12): 1587–1607 (In Russ.).
- Pausheva Z.P. 1980. Praktikum po tsitologii rastenii [Manuals for plant cytology]. Moscow. 255 p. (In Russ.).
- Poddubnaya-Arnoldi V.A. 1976. Tsitoembriologiya pokrytosemennyykh rasteniy. Osnovy i perspektivy [Cytoembryology of angiosperms. Basis and perspectives]. Moscow. 508 p. (In Russ.).
- Ray A., Lang J.D., Golden T., Ray S. 1996. *SHORT IN-TEGUMENT (SINI)*, a gene required for ovule development in *Arabidopsis*, also controls flowering time. — Development. 122 (9): 2631–2638.
<https://doi.org/10.1242/dev.122.9.2631>
- Rodionova G.B. 1966a. Megasporogenez u *Hesperis steveniana* DC. (Megasporogenesis in *Hesperis steveniana* DC.). — Vestnik Moscow State University. 5: 68–72 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1966b. Embriologicheskoe issledovanie *Eruca sativa* Lam. (Embryological study of *Eruca sativa* Lam.). — Vestnik Moscow State University. 1: 61–68 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1971a. Embriologicheskoe issledovanie *Hesperis steveniana* DC. (Embryological study of *Hesperis steveniana* DC.). — In: Morfologiya tsvetkobykh rasteniy (Morphology of flowering plants). Moscow. P. 34–54 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1971b. Embriologicheskoe razvitiye *Erysimum pannonicum* Crantz. (Embryological development of *Erysimum pannonicum* Crantz.). — Vestnik Moscow State University. 5: 52–57 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1971c. Embriologiya *Lunaria annua* L. (Embryology of *Lunaria annua* L.). — Vestnik Moscow State University. 4: 59–63 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1976. Embriologicheskoe razvitiye *Macropodium* (Pall.) R. Br. iz semeistva rhtstotsvetnykh (Embryological development of *Macropodium* (Pall.) R. Br. from Brassicaceae). — In: Rost rasteniy i puti ego regulirovaniya (Plant growth and its regulation). Moscow. P. 126–139 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1978. O razvitiye kroyuschikh kletok v semeystve krestotsvetnykh (About development of parietal cells in Brassicaceae). — In: Tezisy dokladov VI Delegatskogo C'ezda VBO (Proceedings of Delegates Congress of Soviet Botanical Society). Leningrad. P. 110 (In Russ.).
- Rodionova G.B. 1979. Razvitiye zhenskikh embrionalnykh struktur, endosperma i zarodysha u sverbigi vostochnoi (Development of female embryological structures, endosperm and embryo in *Bunias orientalis*). — Bull. Glavnogo Bot. Sada. 113: 90–96 (In Russ.).
- Rojek J., Kapusta M., Kozieradzka-Kiszkurno M., Majcher D., Gorniak M., Sliwinska E., et al. 2018. Establishing the cell biology of apomictic reproduction in diploid *Boecheera stricta* (Brassicaceae). — Ann. Bot. 122 (4): 513–539.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcy114>
- Rushworth C.A., Windham M.D., Keith R.A., Mitchell-Olds T. 2018. Ecological differentiation facilitates fine-scale coexistence of sexual and asexual *Boecheera*. — Am. J. Bot. 105 (12): 2051–2064.
<https://doi.org/10.1002/ajb2.1201>
- Rushworth C.A., Mitchell-Olds T. 2021. The evolution of sex is tempered by costly hybridization in *Boecheera* (rock cross) — J. Heredity. 112 (1): 67–77.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esaa041>
- Schmidt A., Schmid M.W., Klostermeier U.C., Qi W., Guthörl D., Sailer C. et al. 2014. Apomictic and sexual germline development differ with respect to cell cycle, transcriptional, hormonal and epigenetic regulation. — PLoS Genet. 10 (7): article e1004476 (P. 1–21).
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004476>
- Schranz M.E., Dobes C., Koch M.A., Mitchell-Olds T. 2005. Sexual reproduction, hybridization, apomixis, and polyploidization in the genus *Boecheera* (Brassicaceae). — Am. J. Bot. 92 (11): 1797–1810.
<https://doi.org/10.3732/ajb.92.11.1797>
- Schranz M.E., Kantama L., De Jong H., Mitchell-Olds T. 2006. Asexual reproduction in a close relative of *Arabidopsis*: a genetic investigation of apomixis in *Boecheera* (Brassicaceae). — New Phytol. 171 (2): 425–438.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01765.x>
- Schranz M.E., Windsor A.J., Song B.H., Lawton-Rauh A., Mitchell-Olds T. 2007. Comparative genetic mapping in *Boecheera stricta*, a close relative of *Arabidopsis*. — Plant Physiol. 144 (1): 286–298.
<https://doi.org/10.1104/pp.107.096685>
- Shamrov I.I. 2002a. Ovule and seed morphogenesis in *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) in connection with peculiar mode of endothelium formation. — Bot. Zhurn. 87 (2): 1–18 (In Russ.).
- Shamrov I.I. 2002b. Ovule and seed study in *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) with a peculiar endothelium formation pattern. — Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 44: 79–90.
- Shamrov I.I. 2008. Ovule of flowering plants: structure, functions, origin. Moscow. 350 p. (In Russ.).
- Shamrov I. I. 2017. Morphological types of ovules in flowering plants. — Bot. Zhurn. 102 (2): 129–146 (In Russ.).

- Sharbel T.F., Voigt M.L., Mitchell-Olds T., Kantama L., De Jong H. 2004. Is the aneuploid chromosome in an apomictic *Boechera holboellii* a genuine B chromosome? — Cytogenet. Genome Res. 106 (2–4): 173–183. <https://doi.org/10.1159/000079284>
- Sharbel T.F., Mitchell-Olds T.M., Dobes C., Kantama L., de Jong H. 2005. Biogeographic distribution of polyploidy and B chromosomes in the apomictic *Boechera holboellii* complex. — Cytogenet. Genome Res. 109 (1–3): 283–292. <https://doi.org/10.1159/000082411>
- Sharbel T.F., Voigt M.L., Corral J.M., Thiel T., Varshney A., Kumlehn J. et al. 2009. Molecular signatures of apomictic and sexual ovules in the *Boechera holboellii* complex. — Plant J. 58 (5): 870–882. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2009.03826.x>
- Sharbel T.F., Voigt M.L., Corral J.M., Galla G., Kumlehn J., Klukas C. et al. 2010. Apomictic and sexual ovules of *Boechera* display heterochronic global gene expression patterns. — Cell. 22 (3): 655–671. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072223>
- Shishkinskaya N.A., Yudakova O.I., Tyrnov V.S. 2004. Population embryology and apomixis in cereals. Saratov. 145 p. (In Russ.).
- Sieber P., Gheyselinck J., Gross-Hardt R., Laux T., Grossniklaus U., Schneitz K. 2004. Pattern formation during early ovule development in *Arabidopsis thaliana*. — Dev. Biol. 273 (2): 321–334. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.05.037>
- Sulbha K. 1957. Embryology of *Brassica juncea* Czern & Coss. — J. Indian Bot. Soc. 36(3): 292–301.
- Tucker M.R., Okada T., Hu Y., Scholefield A., Taylor J.M., Koltunow A.M. 2012. Somatic small RNA pathways promote the mitotic events of megagametogenesis during female reproductive development in *Arabidopsis*. — Development. 139 (8): 1399–1404. <https://doi.org/10.1242/dev.075390>
- Taşkın K.M., Turgut K., Scott R.J. 2004. Apomictic development in *Arabis gunnisoniana*. — Israel J. Plant Sci. 52 (2): 155–160. <https://doi.org/10.1560/L3DE-FMVY-1XCQ-QRY5>
- Vandendries R. 1909. Contribution à l'étude du développement de l'ovule dans les Crucifères. — Cellule. 25: 412–459.
- Vandendries R. 1912. Contribution à l'étude du développement de l'ovule dans les Crucifères. 2. L'archesporium dans le genre *Cardamine*. — Cellule. 28: 215–225.
- Voigt M.L., Melzer M., Rutten T., Mitchell-Olds T., Sharbel T.F. 2007. Gametogenesis in the apomictic *Boechera holboellii* complex: the male perspective. — In: Apomixis: Evolution, mechanisms and perspectives. Rugell: A.R.G. Gantner Verlag. P. 236–257.
- Voigt-Zielinski M.L., Piwczynski M., Sharbel T.F. 2012. Differential effects of polyploidy and diploidy on fitness of apomictic *Boechera*. — Sex. Plant Reprod. 25 (2): 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00497-012-0181-8>
- Wang H., Liu Y., Bruffett K., Lee J., Hause G., Walker J.C., Zhang S. Haplo-insufficiency of *MPK3* in *MPK6* mutant background uncovers a novel function of these two MAPKs in *Arabidopsis* ovule development. — Plant Cell. 20 (3): 602–613. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.058032>
- Windham M.D., Beck J.B., Li F.-W., Allphin L., Carman J.G., Sherwood D.A. et al. 2015. Searching for diamonds in the apomictic rough: a case study involving *Boechera lignifera* (Brassicaceae). — Syst. Bot. 40 (4): 1031–1044. <https://doi.org/10.1600/036364415x690076>