

Е.Л. КОРДЮМ

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

E-mail: cell@svitonline.com

ДВОЙНОЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЕ У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ: 1898–2008



Дан краткий обзор результатов исследований в области эмбриологии растений, непосредственно связанных с открытием С.Г. Навашиным в 1898 г. двойного оплодотворения, *in vivo* и *in vitro* с использованием методов электронной и флюоресцентной микроскопии, цитофотометрии, культуры изолированных семяночек, спермиев, яйцеклеток и центральных клеток зародышевых мешков. Рассматриваются вопросы происхождения женского гаметофита цветковых растений, двойного оплодотворения и эндосперма. Подчеркивается, что прогресс в этой области связан с изучением, в первую очередь, молекулярных процессов, контролирующих развитие и функционирование женского гаметофита и спорофита на ранних этапах онтогенеза.

© Е.Л. КОРДЮМ, 2008

«Новые наблюдения над оплодотворением у *Fritillaria tenella* и *Lilium martagon*» – сообщение, сделанное профессором Киевского университета им. Святого Владимира Сергеем Гавриловичем Навашиным 24 августа по ст. ст. (6 сентября по нов. ст.) 1898 г. на X съезде русских естествоиспытателей и врачей в Киеве, обессмертило его имя. В виде кратких тезисов С.Г. Навашиным были изложены следующие положения: 1) из пыльцевой трубки вступают в зародышевый мешок не одно, а оба генеративных ядра; 2) генеративные ядра имеют червеобразную форму и, по-видимому, способны к червеобразному движению; 3) одно из ядер проникает в яйцеклетку, другое же копулирует с верхним полярным ядром зародышевого мешка; 4) только после этого сливаются друг с другом верхнее и нижнее полярные ядра, продукт слияния этих трех ядер делится, как обыкновенно, давая начало эндосперму; 5) таким образом эндосперм происходит, как и зародыш, путем слияния половых ядер: одного мужского с производным ядра яйца, т.е. с другим женским ядром; 6) половое происхождение эндосперма автор стремится объяснить, производя это явление от полиэмбрионии, т.е. рассматривая эндосперм как второй, только уклонно развивающийся зародыш. Сообщение напечатано на немецком языке в журнале «Известия Академии наук» (Bull. Acad. Sci. St.-Petersburg, vol. 9, N 4, Novembre 1898 г., p. 377–382) под заглавием «Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgänge bei *Lilium martagon* und *Fritillaria tenella*». Открытие С.Г. Навашина вскоре было подтверждено у *Lilium martagon* и *L. pirenaisicum* [1, 2]. На английском языке термин «double fertilization» (двойное оплодотворение) впервые появился в заголовке статьи Thomas [3] и в тексте статьи Sargent [4]. Результаты дальнейших исследований С.Г. Навашиным процесса оплодотворения у двудольных и однодольных растений опубликованы в работах «Об оплодотворении у сложноцветных и орхидных», «О процессах оплодотворения у некоторых двудольных», «О самостоятельной подвижности мужских половых ядер у некоторых покрытосеменных растений», «Подробности об образовании мужских половых ядер у *Lilium martagon*», «К истории развития халацогамных *Juglans nigra* и *Juglans regia*» (совместно с В.В. Финном), «Опыт структурного изображения свойств половых ядер» [5].

В этих работах рассматриваются вопросы о сущности слияния второго спермия с центральной клеткой зародышевого мешка, о природе эндосперма, движении спермиев, строении половых элементов в связи с их функциями.

Открытие С.Г. Навашиным двойного оплодотворения и дальнейшее установление его почти у всех исследованных в этом отношении видов покрытосеменных показало общность и уникальность явления двойного оплодотворения для цветковых растений [6–13]. Оно оказало глубокое влияние на ботаническую науку в целом и способствовало всестороннему развитию эмбриологии и цитологии растений. Достаточно вспомнить, что уникальность явления двойного оплодотворения для покрытосеменных стала одним из основных аргументов в пользу взглядов о монофилетическом происхождении этого наиболее высокоорганизованного отдела растительного мира.

Следует подчеркнуть использование для исследования этого процесса в последующие годы методов электронной и флюоресцентной микроскопии, иммуноцитохимии, цитофотометрии и, особенно, методов культуры изолированных семязачек, а позднее – изолированных спермиев, яйцеклеток и даже центральных клеток зародышевых мешков с успешным осуществлением оплодотворения *in vitro*, что стало возможным благодаря разработке соответствующих сред и приемов изоляции мужских и женских структур [14–16]. Первые эксперименты в культуре *in vitro* были проведены с изолированными семязачками *Papaver somniferum* [17] – пыльца проросла, пыльцевые трубки проникали в зародышевые мешки, происходило двойное оплодотворение, образование зародыша и эндосперма. В последнее время удалось осуществить оплодотворение центральной клетки в культуре изолированных мужских и женских структур у *Zea mays* и *Nicotiana tabacum* [18]. Усовершенствованная техника «оплодотворения в пробирке» широко используется для преодоления нескрещиваемости при отдаленной гибридизации и самонесовместимости [19, 20]. Именно такой подход открывает новые возможности для изучения роли молекул узнавания при слиянии спермия с яйцеклеткой и при слиянии полярных ядер со спермием, механизма, препятствующего по-

лиспермии, а также для понимания молекулярной биологии двойного оплодотворения, формирования зародыша и эндосперма на ранних стадиях [14, 21].

Ниже кратко остановимся на результатах исследований, которые были инициированы открытием двойного оплодотворения и проведены в последующие годы, в направлении поиска ответов на поставленные С.Г. Навашиным вопросы.

Типы двойного оплодотворения

Многочисленными наблюдениями, проведенными над разными видами покрытосеменных, было установлено, что двойное оплодотворение в норме осуществляется в зародышевых мешках всех типов независимо от числа сливающихся со вторым спермием полярных ядер или пloidности вторичного ядра центральной клетки зародышевого мешка, например, восемь полярных ядер в зародышевом мешке *Peperomia magnolifolia*, четыре у *Euphorbia procera*, одно у *Oenothera biennis*. Спермий только тесно соприкасается с полярными ядрами, но не сливается с ними лишь у некоторых видов орхидных (эндосперм у этих видов не образуется).

На основании светооптических исследований особенностей поведения ядер спермиев после их проникновения в яйцеклетки выделены три типа оплодотворения – премитотический, постмитотический и промежуточный [22–24]. При *премитотическом* типе оплодотворения слияние ядра спермия с ядром яйцеклетки происходит непосредственно после проникновения спермия в яйцеклетку. Хромосомы спермия деспирализуются в ядре яйцеклетки, образуется ядрышко, которое большей частью сливается с ядрышком ядра яйцеклетки до начала митоза. При *постмитотическом* типе ядро спермия не сливается с ядром яйцеклетки до начала митоза. Деспирализация хромосом происходит в ядре спермия, находящегося в тесном контакте с ядром яйцеклетки. Объем ядра спермия увеличивается, достигая объема ядра яйцеклетки, выделяется ядрышко. Объединение хромосом спермия и яйцеклетки происходит после дезинтеграции ядерной оболочки в поздней профазе или метафазе митоза. *Промежуточный* тип, как указывает само название, представляет собой пе-

реход между двумя основными типами — пре- и постмитотическим. Слияние ядра спермия с ядром яйцеклетки не заканчивается до начала митоза, а завершается в профазе. Этот тип оплодотворения, скорее всего, следует рассматривать как премитотический тип, но проходящий несколько медленнее, возможно, под влиянием изменения окружающих условий, например температуры. У искусственно полученных тетраплоидов, например у видов рода *Crepis* [24], процесс сингамии осуществляется по промежуточному типу, т.е. замедлен по сравнению с исходными диплоидными формами, для которых характерен премитотический тип.

В развитие этих представлений предложены три механизма кариогамии у семенных растений, основанные на данных о содержании ДНК в ядрах сливающихся клеток и зиготе, а также формально связанные с определенной фазой клеточного цикла [25–27]: 1) кариогамия осуществляется в фазе G_1 клеточного цикла, т.е. ядра гамет сливаются непосредственно после контакта и последующие фазы клеточного цикла S и G_2 осуществляются уже в ядре зиготы; 2) синтез ДНК (фаза S) происходит синхронно в ядрах яйцеклетки и спермия, находящиеся в контакте, т.е. предшествует слиянию гамет; 3) синтез ДНК происходит в ядрах гамет еще до их контакта (ядра сливаются в фазе G_2). Таким образом, в первом случае ядра гамет сливаются в гаплоидном состоянии, во втором и третьем — в диплоидном. Было показано, что у *Nicotiana tabacum* синтез ДНК начинается в ядрах спермиев после излияния содержимого пыльцевой трубки в синергиду, одновременно содержание ДНК увеличивается в ядре яйцеклетки и через 48 ч после опыления находится между $1C$ и $2C$, что указывает на синхронность фаз клеточного цикла в гаметах перед их слиянием [28].

Ультраструктура спермиев и яйцелеток

Половые клетки, или гаметы (яйцеклетки и спермин), покрытосеменных представляют собой высокодифференцированные клетки и обладают рядом характерных для них морфологических и физиологических особенностей, в частности, специфическим обменом веществ по сравнению с соматическими клетками, га-

плоидным набором хромосом, измененными ядерно-цитоплазматическими отношениями и т.д.

Спермии. Описание С.Г. Навашиным в начале 20-х годов ядер спермиев, погруженных в цитоплазму пыльцевой трубки и лишенных собственной цитоплазмы у *Lilium martagon* [29], положило начало продолжавшейся в течение десятилетий дискуссии о строении спермиев покрытосеменных. В 1912 г. С.Г. Навашин, обсуждая совместно с В.В. Финном вопрос о происхождении и судьбе цитоплазмы мужских гамет у семенных растений, высказывает мнение о ясно выраженной эволюционной тенденции к редукции мужских гамет до ядра, что ведет к устранению мужской цитоплазмы от участия в половом процессе. В редукции мужских гамет очень важную роль сыграла двухъядерная генеративная клетка, со времени появления которой у голосеменных (*Abietinae*, некоторые *Taxaceae*, *Gnetinae*) началось прогрессирующее разрушение мужской цитоплазмы, приведшее в конце концов к голым мужским ядрам высших покрытосеменных [30].

В.В. Финн вносит поправку в предложенную концепцию о постепенной редукции цитоплазмы мужских гамет от подвижных сперматозоидов до бесплазменных спермиев в процессе эволюции от голосеменных к покрытосеменным. Работами Финна [31], Кострюковой [32], Руденко [33] и др. было убедительно доказано существование клеток-спермиев у ряда видов покрытосеменных — в семействах *Asclepiadaceae*, *Apocynaceae*, *Convolvulaceae*, *Cuscutaceae*, *Campanulaceae*, *Cyperaceae*, *Caryophyllaceae*, *Amaryllidaceae*, *Lamiaceae*, *Orobanchaceae*, *Scrophulariaceae*.

Наличие в пыльцевых зернах и пыльцевых трубках спермиев-клеток подтверждено исследованиями на субмикроскопическом уровне, начиная с 60-х годов XX столетия. У исследованных покрытосеменных, например, видов родов *Clivia*, *Gossypium*, *Beta*, *Lilium*, *Hordeum*, *Plumbago*, *Zea* [34–40], спермин представляют собой клетки, ограниченные цитоплазматической мембраной. Цитоплазма спермия располагается весьма тонким слоем по бокам ядра и более обильна на концах клетки. Хроматин ядра спермия находится в конденсиро-

ванном состоянии. Цитоплазма спермиев содержит обычные клеточные органеллы, как правило, за исключением пластид; на срезах наблюдаются митохондрии с многочисленными кристами, диктиосомы и пузырьки Гольджи, цистерны эндоплазматического ретикулума, большей частью гранулярного типа, рибосомы, липидные капли и микротельца 0,3–0,4 мкм в диаметре. Размер и форма вакуолей спермия варьируют. Кроме того, в спермиях ряда видов обнаружены микротрубочки, что предполагает участие элементов цитоскелета в активном движении (если таковое существует) спермиев или изменении их формы [36, 41].

Впервые наличие тесной ассоциации между двумя спермиями и одного из спермиев с ядром вегетативной клетки в пыльцевом зерне и позднее в пыльцевой трубке было обнаружено у *Plumbago zeylanica* [37, 38, 42]. Открытие такого тройственного комплекса у многих исследованных в этом отношении видов легло в основу концепции о его функциональной роли в узнавании и слиянии с женскими клетками-мишенями в процессе двойного оплодотворения как единой передаточной единицы в воспроизведении мужского начала у покрытосеменных растений [43]. У некоторых видов был описан диморфизм спермиев по размеру и количеству органелл [40, 44]. Экспериментально было показано, что оба спермия способны сливаться с яйцеклеткой [45]. В целом размер спермиев варьирует у различных видов покрытосеменных. Форма их может быть округлой, овальной, удлинённой или червеобразной. Вариабельность формы спермиев у одних и тех же видов, возможно, связана с разновозрастностью спермиев, различной ориентацией их в пыльцевом зерне и физиологическим состоянием.

Одной из отличительных черт ультраструктурной организации цитоплазмы спермиев и генеративной клетки большинства исследованных видов покрытосеменных является отсутствие пластид [34, 36, 46–48]. В то же время пластиды в цитоплазме генеративной клетки наблюдали, в частности, у *Linum usitatissimum* [49], *Oenothera hookeri* [50], *Pelargonium zonale* [51], спермиев – у *Oenothera erythrosepala* [52] и *Plumbago zeylanica* [43].

Яйцеклетка. Особенности ультраструктурной организации яйцеклетки покрытосемен-

ных исследованы у ряда видов, в частности у видов родов *Gossypium* [53], *Linum* [54], *Petunia* [55], *Capsella* [56], *Lilium* [57], *Calendula* [58], *Plumbago* [59], *Quercus* [60], *Helianthus* [61], *Stipa* [62], *Spinacia* [63], *Aconitum*, *Alcea*, *Valeriana* [64], *Cynara* [65]. В зародышевом мешке покрытосеменных яйцеклетка граничит с синергидами и центральной клеткой зародышевого мешка. Как правило, ядро яйцеклетки располагается в ее апикальной части, над ядром находится крупная вакуоль. Микропилярный конец яйцеклетки примерно от $1/2$ до $2/3$ ее длины окружен полисахаридной оболочкой так же, как и синергиды. В апикальной части цитоплазма яйцеклетки и синергид ограничена только цитоплазматической мембраной. В яйцеклетке покрытосеменных обнаружены обычные клеточные органеллы – митохондрии, диктиосомы, пластиды, микротельца, эндоплазматический ретикулум гранулярного и агранулярного типов. У многих исследованных видов покрытосеменных удлинённые цистерны эндоплазматического ретикулума наиболее часто расположены в периферической цитоплазме яйцеклетки. Ядро яйцеклетки окружено оболочкой из двух мембран с многочисленными порами, обычно содержит одно крупное ядрышко (реже 2–3) с различным соотношением гранулярного и фибриллярного компонентов. Митохондрии многочисленные, с хорошо развитыми кристами и электронно-прозрачным матриксом, большей частью округлой или удлинённой формы.

Пластиды яйцеклетки представлены в основном лейкопластами со слабо развитой внутренней мембранной системой и одним–несколькими крахмальными зёрнами, последние могут и отсутствовать. Количество пластид на срезах варьирует у разных видов, и, как и в цитоплазме вегетативной клетки пыльцевых зёрен, наблюдается определенная корреляция между накоплением крахмала в пластидах и количеством липидных капель. Так, у *Zea mays* [66] в пластидах образуется значительное количество крахмала, но липидные капли встречаются относительно редко. Для яйцеклетки *Quercus gambelii* [60] характерно обилие липидных капель, а пластиды довольно редки.

Вакуолярный аппарат яйцеклетки представлен одной крупной вакуолью и более мел-

кими, образованными часто расширенными цистернами эндоплазматического ретикула; в процессе созревания яйцеклетки наблюдаются определенные изменения вакуолярного аппарата. Следует отметить, что у *Plumbago micrantha* (тетраспорический зародышевый мешок без синергид) оболочка в микропилярной части яйцеклетки образует впячивания в цитоплазму (нитчатый аппарат), которые характерны также для синергид других типов зародышевых мешков [59].

Опыление и оплодотворение

Развиты представления о многоступенчатости процесса оплодотворения цветковых растений, которые освещают ряд генетических явлений и учитываются в селекционной практике, особенно в гибридизационной работе [67]. Выделены три фазы процесса оплодотворения у цветковых растений: 1) прогамная фаза, начинающаяся со взаимодействия пыльцы и тканей рыльца и продолжающаяся в тканях столбика и завязи вплоть до подхода пыльцевых трубок к семязпочкам; 2) фаза гамогенеза, заключающаяся во взаимодействии пыльцевых трубок с тканями семязпочек, включая и важнейшее явление двойного оплодотворения; 3) постгамная фаза, заключающаяся во взаимодействии развивающегося зародыша и всего формирующегося семени с проникшими в завязь (чаще всего в избыточном количестве) мужскими оплодотворяющими элементами. Взаимодействие это, носящее прямой или косвенный (опосредованный материнскими тканями) характер, продолжается до момента созревания семян.

Согласно доминирующим представлениям спермии лишены собственной подвижности и передвигаются пассивно токами цитоплазмы пыльцевой трубки [68–70]. М.С. Навашин [68] рассматривал пыльцевую трубку как полярно-дифференцированную систему, которая обеспечивает «проведение оплодотворяющих элементов к женским половым клеткам, являясь характернейшим и важнейшим эволюционным приобретением высшей группы растений» [68, с. 145].

Для покрытосеменных в целом характерен достаточно короткий промежуток времени между опылением и оплодотворением. Так, у

ряда видов сложноцветных сингамиию и тройное слияние наблюдали уже через 15–30 мин после опыления, например у *Taraxacum kok-saghyz* [71]. Весьма непродолжительна прогамная фаза процесса оплодотворения у злаков, например у пшеницы — 15 мин [72]. У ряда видов лютиковых, например у *Consolida arvensis* и *Ranunculus polyanthemus*, прогамная фаза процесса оплодотворения более растянута — до 3–12 ч после опыления [73]. У видов *Lilium* этот период удлиняется в среднем до 84 ч. От одного до четырех месяцев длится прогамная фаза у ряда видов березовых, у *Vanda suavis* (*Orchidaceae*) — шесть месяцев и более [74], причем тесной зависимости между продолжительностью прогамной фазы процесса оплодотворения и типом пыльцевых зерен (двуклеточным или трехклеточным) не наблюдается.

Анализируя приведенные данные, можно предположить, что одними из основных причин растянутости прогамной фазы процесса оплодотворения являются, с одной стороны, асинхронность в развитии мужского и женского гаметофитов, с другой — отсутствие корреляции между выделением секрета рыльцем, что необходимо для осуществления процесса опыления, и развитием, а также созреванием женского гаметофита, в частности гамет. Так, у ряда сложноцветных и злаковых, для которых характерен сравнительно короткий промежуток времени между опылением, сингамией и тройным слиянием, в момент опыления (рыльца готовы к восприятию пыльцы) в зародышевых мешках яйцевой аппарат морфологически полностью дифференцирован. У *Lilium regale* в момент созревания рыльца и обильного выделения секрета основная масса семязпочек в завязи находится на стадии вторично четырехъядерных зародышевых мешков или же на различных фазах митоза их ядер. Зрелые зародышевые мешки обнаруживаются обычно через 72–84 ч после опыления.

Пыльцевая трубка проникает в зародышевый мешок через одну из синергид, где вскрывается, в результате чего спермии попадают в щель между яйцеклеткой и центральной клеткой зародышевого мешка [5, 14, 63, 70]. Признаки дегенерации одной из синергид, через которую проникает пыльцевая трубка, обнаруживаются вскоре после опыления. Принято

считать, что нитчатый аппарат, находящийся в микропилярной части синергиды и состоящий из выростов ее полисахаридной оболочки, принимает участие во вхождении пыльцевой трубки в синергиду. Интересно отметить, что в отсутствие синергид в зародышевом мешке *Plumbago zeylanica* пыльцевая трубка проникает в него через нитчатый аппарат яйцеклетки [37]. Обсуждается также возможная природа сигнала для проникновения пыльцевой трубки в зародышевый мешок, который, как предполагается, генерируется неповрежденной или дегенерирующей синергидой. В качестве возможного хемотропного сигнала, привлекающего пыльцевую трубку, рассматриваются ионы кальция, поскольку была обнаружена высокая концентрация этого иона в синергидах ряда видов покрытосеменных [75]. Исследование процесса слияния изолированных спермиев и яйцеклеток кукурузы, т.е. оплодотворения *in vitro*, показало повышение концентрации цитоплазматического Ca^{2+} после слияния гамет [76, 77]. Предполагается также, что, помимо ионов кальция как общего аттрактанта пыльцевых трубок, синергиды могут выделять видоспецифичные молекулы, действующие на коротком расстоянии, химическая природа которых пока неизвестна [78].

Выдвинутое С.Г. Навашиным положение об энантиоморфизме (зеркальном подобии) спермиев, возникающем в результате клеточного деления, послужило созданию ряда новых гипотез о природе и источниках движения спермиев в зародышевом мешке, т.е. о расхождении спермиев в противоположных направлениях после попадания в щель между яйцевым аппаратом и центральной клеткой. Взгляды о сохранении спермиями митотической активности получили дальнейшее развитие в митотической гипотезе Герасимовой-Навашиной [79, 24], согласно которой расхождение спермиев обусловлено «взаимным отталкиванием двух мужских групп хромосом подобно тому, как это наблюдается в анателофазных ядрах и остается еще некоторое время после окончания митоза между двумя сестринскими ядрами в любой делящейся клетке» [24, с. 1064].

Представления о механизмах расхождения спермиев к яйцеклетке и центральной клетке зародышевого мешка дополнены новыми

данными об участии актиновых филаментов в этом процессе. В находящемся между яйцеклеткой и центральной клеткой содержимом дегенерирующей синергиды и пыльцевой трубки формируются два скопления актиновых микрофиламентов, определяемые как актиновые «короны», которые, вероятно служат проводниками расходящихся спермиев [80, 81]. Конформационные изменения актиновых микрофиламентов в яйцевом аппарате до и после оплодотворения, а также формирование актиновых «корон» в течение оплодотворения и их исчезновение после его завершения указывают на участие актина во вхождении пыльцевой трубки и в процессе оплодотворения. Обсуждаются представления об активном участии в процессе двойного оплодотворения не только двух спермиев, но и яйцеклетки, а также центральной клетки [81, 82]. Сравнительные исследования мутанта *snp* (мутация непосредственно зародышевого мешка) и дикого типа *Arabidopsis thaliana* показали, что женский гаметофит контролирует доставку мужских гамет в течение оплодотворения [70]. Данные электронно-микроскопического исследования двойного оплодотворения у *Gossypium hirsutum* [83], *Hordeum vulgare* [84, 85], *Linum usitatissimum* [86], *Spinacea oleracea* [63], *Plumbago zeylanica* [87, 88], *Triticum aestivum* [89, 90], *Triticale* [91], *Populus deltoides* [92], *Nicotiana tabacum* [93, 94] не вызывают сомнения, что в процессе сингамии и тройного слияния происходит объединение цитоплазмы мужских гамет с женскими клетками (плазмोगамия) в результате лизиса мембран в месте контакта цитоплазматических мембран и позднее слияние их ядер – кариогамия [37, 42, 95, 94]. Под локальным лизисом мембран и образованием оболочки зиготы следует понимать их сложные физико-химические перестройки. Имеются сообщения о проникновении в женские клетки только ядер мужских гамет [14], что естественно вызывает сомнения в свете современных данных о структуре и природе цитоплазматической мембраны. Доказательством участия цитоплазмы спермия в оплодотворении яйцеклетки является передача признаков пестролистности по отцовской линии, например, при опылении пылью пестролистной формы *Pelargonium zonale* растений того же вида с зеле-

ными листьями [51]. Пластиды материнской и отцовской форм, различающиеся по величине и содержанию крахмала, описаны в зиготе *Oenothera erythrosepala* [52].

Эндосперм

Полиплоидная природа эндосперма покрытосеменных была установлена благодаря открытию С.Г. Навашиным двойного оплодотворения. Взгляды С.Г. Навашина о сущности двойного оплодотворения легли в основу дальнейшего развития представлений о биологической роли эндосперма в формировании семени и плода. В частности, они позволили объяснить возникновение ксений у кукурузы.

В настоящее время четко установлено формирование у покрытосеменных трех типов эндосперма – нуклеарного (ядерного), целлюлярного (клеточного) и гелобиального. Основные отличия между тремя типами эндосперма заключаются преимущественно в различной последовательности митоза и цитокинеза на начальных этапах развития эндосперма, а также в различном поведении двух клеток, возникающих в результате первого деления вторичного ядра с одновременным цитокинезом центральной клетки (последнее относится к эндосперму целлюлярного и гелобиального типов). Последующие стадии развития эндосперма (образование и накопление в нем запасных питательных веществ, присутствие эндосперма в зрелых семенах или его резорбция в процессе созревания зародыша и некоторые другие) не обнаруживают какой-либо прямой связи с типом развития эндосперма. Различный уровень пloidности эндосперма зависит от типа зародышевого мешка, пloidность эндосперма может варьировать от $2n$ (*Oenothera*-тип) до $14n$ (*Pereskia*-тип зародышевого мешка). Его трофическая и физиологическая роль независимо от типа развития эндосперма и пloidности в формировании зародыша, семени и плода в основном одинакова, что было показано многочисленными исследованиями эмбриологии и биологии процесса созревания семян у ряда культурных видов покрытосеменных в естественных и экспериментальных условиях. Попытки сопоставить тот или иной тип развития эндосперма с формой и размерами зародышевых мешков, а также скоростью разви-

тия зародыша не дали положительных результатов. В литературе известны случаи наличия переходных форм между различными типами эндосперма.

Вопросы происхождения зародышевого мешка (женского гаметофита) покрытосеменных, двойного оплодотворения и эндосперма

Прежде всего хотелось бы отметить, что современное состояние ботанических знаний позволяет присоединиться к неоднократно высказывавшемуся в литературе мнению о том, что появление покрытосеменных было крупнейшим арогенезом, и развитие покрытосеменных почти с самого начала шло многими ветвями с ярко выраженной гетерохронностью эволюции их органов.

Одним из таких кардинальных изменений в строении репродуктивных органов предков покрытосеменных было появление покрытосемянности (образование плодолистиками-макроспорофиллами закрытой полости завязи, в которой формировались семяпочки), что, согласно гипотезе Голенкина [96], явилось решающим условием быстрого расселения и завоевания покрытосеменными растениями самых различных экологических ниш в условиях увеличивающейся сухости атмосферы в определенные геологические периоды Земли. Дифференциация плодолистиков, формирующих пестики, на завязь, столбик и рыльце обусловила также изменение условий прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок, т.е. условий, обеспечивающих доставку мужских гамет к женским и процесс оплодотворения. Осуществление функций мужского и женского гаметофитов в новых условиях неизбежно вызывало структурные перестройки в их организации, направленные на оптимизацию прохождения процесса оплодотворения, к созданию новых коррелятивных связей и более точному согласованию во времени созревания мужского и женского гаметофитов. Последнее легче осуществимо при более совершенной их организации, достигаемой путем более короткого и упрощенного развития, т.е. сокращением онтогенеза в целом.

Характерной чертой полового процесса у голо- и покрытосеменных растений является независимость осуществления оплодотворения

от воды, в отличие от всех остальных высших растений, у которых оплодотворение совершается только в присутствии воды, необходимой для передвижения сперматозоидов к яйцеклеткам. Именно в совершенствовании приспособлений, обеспечивающих процесс оплодотворения в новых условиях, и заключалось основное направление дальнейшей эволюции полового процесса в широком понимании этого слова.

В результате формирования пестика и попадания пыльцевых зерен на рыльце создались новые условия для прорастания пыльцы (в первую очередь отсутствие специфической пыльцевой камеры, в которой происходит прорастание пыльцевых зерен голосеменных и дальнейшее развитие мужского гаметофита в течение сравнительно длинного периода времени), не защищенной, таким образом, от непосредственного влияния окружающей среды. В этих условиях прорастание пыльцевых зерен и рост пыльцевых трубок должны были осуществляться в течение значительно более короткого времени, и, следовательно, после опыления мог иметь место только конечный этап развития мужского гаметофита – образование гамет, что и наблюдается у видов покрытосеменных с двухклеточным типом пыльцевых зерен (при трехклеточном типе все развитие мужского гаметофита завершается в микроспорангии).

У покрытосеменных пыльцевая трубка в период между опылением и оплодотворением теряет гаусториальные функции. Потеря пыльцевой трубкой у покрытосеменных гаусториальных функций, с одной стороны, и сокращение развития мужского гаметофита, с другой, взаимосвязаны и, очевидно, обусловлены спецификой условий прорастания пыльцевых зерен, роста пыльцевых трубок в столбике пестика и более быстрыми темпами формирования женского гаметофита.

Вопрос о происхождении зародышевого мешка (женского гаметофита) покрытосеменных, тесно связанный с проблемой происхождения покрытосеменных растений (эту проблему мы не рассматриваем в настоящей статье), и особенностях его строения, не встречающегося у всех остальных групп высших растений, остается нерешенным и дискуссионным до настоящего времени. На основании положе-

ния о том, что зародышевый мешок является гомологом женского гаметофита голосеменных (Porsch, 1907; Fagerlind, 1944, 1946; Favre-Duchartre, 1971; Cocucci, 1973, цит. по [97]), предложены архегониальная гипотеза Порша и Фавр-Дюшартра, гнетовая гипотеза Фагерлинда, неоднократно обсуждавшиеся в литературе, но не получившие всеобщего признания. Коультер высказал идею о постепенной редукции архегония, которая начинается еще у голосеменных и завершается у покрытосеменных полным исчезновением стенки архегония, от которого остается только половая структура – яйцеклетка. Гофмейстер и Страсбургер рассматривали элементы зародышевого мешка покрытосеменных как начальные этапы развития женского гаметофита, фактически до образования архегониев (наподобие *Gnetum*). Четко сформулированная гипотеза неотенического происхождения зародышевого мешка покрытосеменных была предложена независимо друг от друга Романовым в 1944 г. (цит. по [98]) и Тахтаджяном [99]. Дифференциация яйцеклетки наступает на очень ранних стадиях развития женского гаметофита (самое позднее после третьего деления ядра макроспоры), что исключает, естественно, образование архегония. Герасимова-Навашина [23], развивая эти взгляды, также рассматривает женский гаметофит покрытосеменных как сильно сокращенный в развитии гаметофит-предшествующих форм, в развитии которого проявляются общие закономерности, управляющие ходом развития и организацией любой клетки, поставленной в определенные условия.

Дискуссионность вопроса о происхождении зародышевого мешка затрудняет филогенетическую оценку типов зародышевого мешка. В настоящее время наиболее полной классификацией типов зародышевых мешков является классификация Романова [98]. В основу типа развития зародышевого мешка положены следующие три признака: 1) число макроспор, образующих зародышевый мешок; 2) число митозов, происходящих в течение развития зародышевого мешка; 3) поведение ядер, определяющее организацию зародышевого мешка. Всего Романовым выделено 13 типов. Превалирует точка зрения, согласно которой Polygonum-тип зародышевого мешка – моноспо-

рический, трехмитозный, восьмиядерный, семиклеточный — рассматривается как основной исходный, остальные типы, представляющие собой различные вариации основного типа, — как производные. Менее распространенным является мнение о большей примитивности или независимом возникновении от *Polygonum*-типа других типов зародышевых мешков, например тетраспорического 16-ядерного зародышевого мешка. По мнению Модилевского [6], моно-, би- и тетраспорические зародышевые мешки имеют общее происхождение, но с самого начала своего становления различались моментом заложения и темпами формирования, являясь, таким образом, своеобразными и равноценными вариантами одного общего типа. Это предположение основано на наличии у *Gnetum ovalifolium* тетраспорического женского гаметофита, а также на формировании 16-ядерных зародышевых мешков в ряде семейств покрытосеменных, например, *Euphorbiaceae* и *Apiaceae*, среди типичного для этих семейств *Polygonum*-типа и, наконец, на образовании в разных семязпочках одного и того же вида, например *Erigeron elatius*, моно-, би- и тетраспорических зародышевых мешков при преобладании биспорического зародышевого мешка. Показано наличие четырехклеточного зародышевого мешка у *Nuphar polysepalum*, а также у видов родов *Nymphaea*, *Cabomba*, *Schisandra* и *Illicium*, которые в настоящее время рассматриваются согласно кладистическому анализу как исходные виды в системе покрытосеменных [100]. Однако у одного из таких видов — *Amborella trichopoda* обнаружен семиклеточный зародышевый мешок *Polygonum*-типа [101]. К этому можно добавить, что четырехклеточный зародышевый мешок, т.е. *Oenothera*-тип [98], характерен для семейства *Onagraceae*. Имеющиеся в настоящее время данные по сравнительной морфологии и эмбриологии видов рода *Gnetum* не дают оснований рассматривать организацию женского гаметофита гнетовых исходной для организации покрытосеменных, а скорее как один из далеких в прошлом и сохранившихся до наших дней вариантов возникновения покрытосемянности и женского гаметофита, который не получил дальнейшего развития и в настоящее время представляет тупиковую линию эволюции.

В сопряженной цепи ароморфозов внутренних структур генеративных органов покрытосеменных (возникновение своеобразного женского и мужского гаметофитов, двойного оплодотворения и полиплоидного эндосперма) завершающий этап представляет собой полиплоидный эндосперм, образующийся в результате слияния спермия с полярными ядрами центральной клетки зародышевого мешка. Обсуждение вопросов об эволюции и гомологии эндосперма покрытосеменных в основном базируется на двух альтернативных гипотезах, активно обсуждавшихся в прошлом и получивших новое развитие в связи с данными кладистического анализа относительно исходных видов покрытосеменных, а также случаями оплодотворения вторым спермием женских клеток у видов родов *Ephedra* и *Gnetum* [25, 100, 102–106]: 1) эндосперм гомологичен зародышу, т.е. может возникать от трансформации развития дополнительного зародыша в результате второго акта оплодотворения, впервые происшедшего у предков покрытосеменных; 2) эндосперм гомологичен женскому гаметофиту, т.е. может быть продуктом измененного онтогенеза женского гаметофита нецветковых семенных растений, позднее сексуализированного. По мнению Хохлова [107], происхождение двойного оплодотворения — это проблема происхождения тройственного слияния: двух полярных ядер и спермия. Вероятно, что тройственное слияние возникло не сразу, а по крайней мере в два этапа.

У *E. nevadensis* и *E. trifurca* описаны случаи проникновения двух спермиев из пыльцевой трубки в центральную клетку архегония [102, 103], один из которых сливается с ядром яйцеклетки, второй — с брюшным канальцевым ядром, результатом чего является образование двух зигот и как следствие — дополнительного зародыша. По мнению Friedman [104], этот факт может поддерживать точку зрения, что переходной стадией в эволюции эндосперма явилось формирование дополнительных зародышей с модифицированной эндоспермальной функцией для улучшения условий развития сестринского зародыша. У *G. gnemon*, для которого характерно отсутствие архегониев [108], также описано слияние каждого из двух спермиев с отдельными женскими клетками в

микропилярной части женского гаметофита [105]. На основе этих наблюдений вновь возродилась гипотеза о происхождении голо- и покрытосеменных от общего предка [109, 110]. Признание потенциальной гомологии репродуктивных признаков *Gnetales* и покрытосеменных является ключевым моментом гипотезы эволюции двойного оплодотворения от их общего предка. Однако результаты современных молекулярно-филогенетических исследований, как и более ранние морфологические исследования (о чем уже упоминалось), не поддерживают эти представления, а свидетельствуют о том, что *Gnetales* являются монофилетической группой, близкородственной хвойным [111, 112]. Надо также отметить, что результатом дополнительного оплодотворения у видов гнетовых является образование второй зиготы; обе зиготы дают начало идентичным многоклеточным зародышам, что может рассматриваться как явление полиэмбрионии.

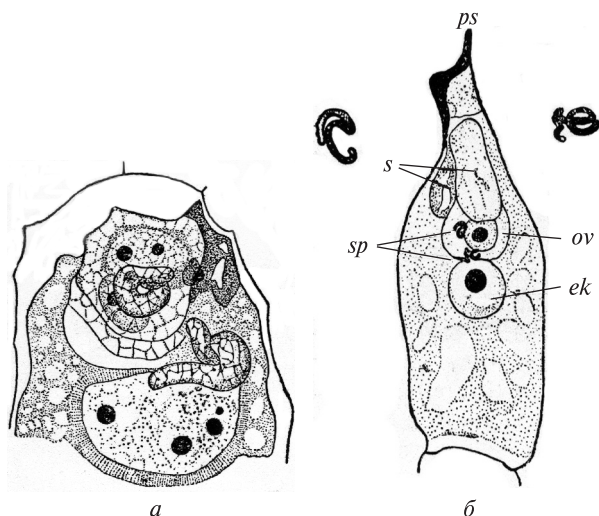
Особенности возникновения и генетическая конституция эндосперма голосеменных и покрытосеменных не дают нам оснований считать их гомологичными образованиями, хотя функция последних после оплодотворения одинакова. У голосеменных эндосперм представляет собой вегетативные клетки женского гаметофита, развитие которого начинается при прорастании макроспоры, т.е. макроспора является первой клеткой женского гаметофита, и, таким образом, эндосперм голосеменных в своей основе состоит из гаплоидных клеток. Развитие эндосперма покрытосеменных происходит, как правило, только после тройного слияния, т.е. слияния спермия с полярными ядрами центральной клетки зародышевого мешка, в результате чего образуется первичное ядро эндосперма. Таким образом, эндосперм покрытосеменных полиплоидной природы, в большинстве случаев триплоидной. Накопление запасных веществ в клетках эндосперма голосеменных начинается, как и у покрытосеменных, во время эмбриогенеза. Поэтому можно четко говорить о конвергентном сходстве эндосперма покрытосеменных растений и женского гаметофита голосеменных после оплодотворения в процессе созревания семян, но не об их гомологии, причем конвергенция имеет место в основном на

уровне тканей и клеток, сходных в функциональном отношении.

Типы эндосперма значительно варьируют в отдельных таксонах покрытосеменных, занимающих различные места в системе. Если для одних семейств характерен один тип эндосперма, то для других — ядерный и клеточный у разных видов, независимо от типа семяпочек: крассинуллитных, например, семейства *Magnoliaceae* и *Lauraceae* или tenuинуцеллитных, например, *Asteraceae* и *Chenopodiaceae*. В семействе *Borraginaceae* описаны все три типа эндосперма — ядерный, клеточный и гелобильный [113].

В последние годы вопрос о происхождении эндосперма дискутируется с использованием данных кладистического анализа. Обсуждается возможная первичность диплоидного эндосперма, поскольку показано его наличие у ранних покрытосеменных, хотя наряду с триплоидным [100], характерным, как хорошо известно, для большинства видов покрытосеменных растений, рассматривается возможность двукратного возникновения диплоидного эндосперма от исходного триплоидного в разных кладах, а также триплоидного эндосперма, например, у *Amborella* с семиклеточным зародышевым мешком и у общего предка однодольных, настоящих магнолиевых, и двудольных с исходным диплоидным эндоспермом.

Таким образом, вопрос о происхождении женского гаметофита покрытосеменных и эндосперма остается открытым, а многочисленные гипотезы об исходном типе зародышевого мешка и эндосперма и их производных у ныне существующих покрытосеменных растений носят во многом дискуссионный характер. Основная трудность в освещении этих вопросов заключается прежде всего в отсутствии палеоботанических данных, касающихся различных этапов формирования генеративных органов высших растений. Поэтому при филогенетической оценке признаков неизбежно в той или иной степени проявляются элементы субъективного характера, зависящие как от состояния научных знаний в определенный период, так и от взглядов исследователя. Были высказаны опасения наличия «замкнутого круга» в оценке примитивности или подвижности морфологических (в широком понима-



Двойное оплодотворение у *Lilium martagon* (а) и *Helianthus annuus* (б) по С.Г. Навашину (перепечатано из [5]): *ps* – пыльцевая трубка, *s* – синергиды, *ov* – яйцеклетка, *sp* – спермии, *ek* – ядро центральной клетки зародышевого мешка

нии этого слова) признаков – в целом ряде случаев те или иные признаки рассматриваются как показатель примитивной исходной организации в зависимости от положения организма в системе; в то же время положение организма в системе определено этими же признаками. Кладистика и молекулярно-биологические подходы не устраняют существующих трудностей, хотя позволяют обсудить «старые» проблемы с новых позиций, расширяя границы познания и подтверждая достигнутое или опровергая его, что неизбежно поднимает новые дискуссионные вопросы в такой сложной проблеме, как проблема истории и эволюции уникальных особенностей генеративных органов покрытосеменных растений.

В заключение надо отметить, что в настоящее время накоплен обширный материал по эмбриологии растений и достаточно широко освещены цитологические аспекты полового процесса в широком понимании этого слова у покрытосеменных растений. Однако очень мало известно о молекулярных процессах, контролирующих развитие и функционирование женского гаметофита и спорофита на ранних этапах онтогенеза. В последние годы проводятся работы по идентификации генов, экспрессирующихся в процессах микро- и мак-

рогаметогенеза, оплодотворения и формирования семени и регуляции их активности с использованием мутантов *Arabidopsis thaliana*, методов изоляции мужских и женских структур и культуры *in vitro* [94, 114, 115]. Именно в изучении молекулярных механизмов, которые лежат в основе репродукции растений, можно ожидать значительного прогресса в ближайшие годы.

Е.Л. Кордюм

DOUBLE FERTILIZATION IN FLOWERING PLANTS: 1898–2008

A short review of the results of investigations in the field of plant embryology *in vivo* and *in vitro* which are directly connected with the discovery of double fertilization in flowering plants by S.G. Navashin is presented. These results have been obtained by using the methods of electron and fluorescence microscopy, cytophotometry, cultures of isolated ovules, sperms, eggs, and embryo sac central cells. The question on an origin of the female gametophyte of flowering plants, double fertilization, and endosperm are discussed. It is emphasized that the progress in this field is connected mostly with the study of molecular processes which control the development and functioning of a female gametophyte and sporophyte at the early stages of ontogenesis.

Е.Л. Кордюм

ПОДВІЙНЕ ЗАПЛІДНЕННЯ У КВІТКОВИХ РОСЛИН: 1898–2008

Надано короткий огляд результатів досліджень в галузі ембріології рослин, безпосередньо пов'язаних з відкриттям подвійного запліднення С.Г. Навашиним у 1898 р., *in vivo* та *in vitro* з використанням методів електронної та флуоресцентної мікроскопії, цитофотометрії, культури ізольованих насінних зачатків, спермій, яйцеклітин та центральних клітин зародкових мішків. Розглядаються питання походження жіночого гаметофіта квіткових рослин, подвійного запліднення та ендосперма. Підкреслюється, що прогрес в цій галузі пов'язаний з вивченням, в першу чергу, молекулярних процесів, які контролюють розвиток та функціонування жіночого гаметофіта та спорофіта на ранніх етапах онтогенезу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Guignard J.L. Sur les anthérozoïdes et la double copulation sexuelle chez les végétaux angiospermes // C.R. Acad. Sci., Paris. – 1899. – 128. – P. 864–871.
2. Guignard J.L. Sur les anthérozoïdes et la double copulation sexuelle chez les végétaux angiospermes // Rev. Gén. Bot. – 1899. – 11. – P. 129–135.
3. Thomas E.N. Double fertilization in a dicotyledon *Caltha palustris* // Ann. Bot. – 1900. – 14. – P. 527–535.
4. Sargent E. Recent work on the results of fertilization in

- angiosperms // *Ann. Bot.* – 1900. – **14**. – P. 689–712.
5. Навашин С.Г. Избранные труды. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. – Т. 1. – 361 с.
 6. Модилевский Я.С. Эмбриология покрытосеменных растений. – Киев : Изд-во АН УССР, 1953. – 244 с.
 7. Магешвари П. Эмбриология покрытосеменных. – М.: Изд-во иностр. лит., 1954. – 454 с.
 8. Davis G.L. Systematic Embryology of the Angiosperms. – New York : Wiley, 1966. – 528 p.
 9. Поддубная-Арнольди В.А. Характеристика семейств покрытосеменных растений по эмбриологическим признакам. – М.: Наука, 1982. – 352 с.
 10. Сравнительная эмбриология цветковых растений. – Л.: Наука, 1981–1990. – Т. 1–4.
 11. Jensen W.A. Double fertilization: a personal view // *Sex. Plant Reprod.* – 1998. – **11**. – P. 1–5.
 12. Erdelská O., Dubová J. Double fertilization of angiosperms 1899–2000 // *Biologia.* – 2000. – **55**. – P. 311.
 13. Koul A.K. Double fertilization: changing frontiers // *Phytomorphology.* – 2001. – **51**. – P. 237–250.
 14. Raghavan V. Some reflections on double fertilization, from its discovery to the present // *New Phytol.* – 2003. – **159**. – P. 565–583.
 15. Hudson L.C., Stewart C.N. Effects of pollen-synthesized green fluorescent protein on pollen grain fitness // *Sex. Plant Reprod.* – 2004. – **17**. – P. 49–53.
 16. Uchiumi T., Komatsu S., Koshiha T., Okamoto T. Isolation of gametes and central cells from *Oryza sativa* L. // *Sex. Plant Reprod.* – 2006. – **19**. – P. 37–45.
 17. Kanta K., Ranga Swamy N.S., Maheshwari P. Test-tube fertilization in a flowering plant // *Nature.* – 1962. – **194**. – P. 1214–1217.
 18. Sun M.X., Moscatelli A., Yang H.Y., Cresti M. In vitro double fertilization in *Nicotiana tabacum* L.: fusion behaviour and gamete interaction traced by video-enhanced microscopy // *Sex. Plant Reprod.* – 2000. – **12**. – P. 267–275.
 19. Zenkteleer M. In vitro fertilization and wide hybridization in higher plants // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 1990. – **9**. – P. 269–279.
 20. Wang Y.Y., Kuang A., Russell S.D. In vitro hybridization as a tool for understanding sexual reproduction of angiosperms // *Sex. Plant Reprod.* – 2006. – **19**. – P. 103–115.
 21. Scholten S., Kranz E. In vitro fertilization and expression of transgenes in gametes and zygotes // *Sex. Plant Reprod.* – 2001. – **14**. – P. 35–40.
 22. Герасимова-Навашина Е.Н. Оплодотворение как онтогенетический процесс // *Бот. журн.* – 1957. – **42**. – С. 1654–1674.
 23. Герасимова-Навашина Е.Н. Двойное оплодотворение покрытосеменных и некоторые теоретические аспекты // *Проблемы эмбриологии.* – Киев : Наук. думка, 1971. – С. 133–152.
 24. Герасимова-Навашина Е.Н. Оплодотворение у покрытосеменных растений // *Бот. журн.* – 1990. – **8**. – С. 1061–1071.
 25. Carmichael J.S., Friedman W.E. Double fertilization in *Gnetum gnemon*: the relationship between the cell cycle and sexual reproduction // *Plant Cell.* – 1995. – **7**. – P. 1975–1988.
 26. Mogensen H.L., Holm P.B. Dynamics of nuclear DNA quantities during zygote development in barley // *Plant Cell.* – 1995. – **7**. – P. 487–494.
 27. Mogensen H.L., Ledus N., Matthys-Rochon E., Dumas C. Nuclear DNA amounts in the egg and zygote in maize (*Zea mays* L.) // *Planta.* – 1995. – **197**. – P. 641–645.
 28. Tian H.Q., Yuan T., Russell S.D. cDNA microarray analysis of gene expression changes during pollination, pollen-tube elongation, fertilization, and early embryogenesis in rice pistils // *Sex. Plant Reprod.* – 2005. – **17**. – P. 269–275.
 29. Навашин С.Г. Подробности об образовании мужских половых ядер у *Lilium martagon* // *Зап. Киев. об-ва естествоиспытателей.* – 1911. – **21**. – С. 119–132.
 30. Навашин С.Г., Финн В.В. К истории развития халацогамных *Juglans nigra* и *Juglans regia* // *Зап. Киев. об-ва естествоиспытателей.* – 1912. – **22**. – С. 1–86.
 31. Финн В.В. Мужские гаметы у покрытосеменных растений // *Докл. АН СССР.* – 1941. – **30**. – С. 454–457.
 32. Кострюкова К.Ю. Мужской гаметофит *Amaryllidaceae* // *Сов. ботаника.* – 1945. – **13**. – С. 33–52.
 33. Руденко Ф.Е. Развитие мужского гаметофита покрытосеменных // *Проблемы современной эмбриологии.* – Л., 1956. – С. 58–63.
 34. Larson D.A. Fine structural changes in the cytoplasm of germinating pollen // *Amer. J. Bot.* – 1965. – **52**. – P. 30–54.
 35. Jensen W.A., Fisher D.B. Cotton embryogenesis: the sperm // *Protoplasma.* – 1968. – **65**. – P. 277–286.
 36. Hoefert L.L. Fine structure of sperm cells in pollen grain of *Beta* // *Protoplasma.* – 1969. – **68**. – P. 237–240.
 37. Russell S. D., Cass D.D. Ultrastructure of the sperms of *Plumbago zeylanica*. 1. Cytology and association with the vegetative nucleus // *Protoplasma.* – 1981. – **107**. – P. 85.
 38. Russell S.D. Ultrastructure of the sperm of *Plumbago zeylanica*. 2. Quantitative cytology and three-dimensional organization // *Planta.* – 1984. – **162**. – P. 385–391.
 39. Mogensen H.L. Ultrastructure of fertilization in barley // *XI Int. Symp. Embryology and Seed Reproduction.* – Leningrad, 1990. – P. 104.
 40. Mogensen H.L. The male germ unit: concept, composition, and significance // *Int. Rev. Cytol.* – 1992. – **140**. – P. 129–147.
 41. Cass D.D. An ultrastructural and Nomarski-interference study of the sperms of barley // *Can. J. Bot.* – 1973. – **51**. – P. 601–605.
 42. Russell S.D. Double fertilization // *Int. Rev. Cytol.* – 1992. – **140**. – P. 357–388.

43. Knox R.B., Singh M.B. New perspectives in pollen biology and fertilization // Ann. Bot. — 1987. — **60**, Suppl. 4. — P. 5–37.
44. Saito C., Nagata N., Sakai A., Mori K., Kuroiwa H., Kuroiwa T. Unequal distribution of DNA-containing organelles in generative and sperm cells of *Erythrina cristagalli* (Fabaceae) // Sex. Plant Reprod. — 2000. — **12**. — P. 296–301.
45. Faure J.E., Rusche M.L., Thomas A., Keim P., Dumas C., Mogensen H.L., Rougier M., Chaboud A. Double fertilization in maize: the two male gametes from a pollen grain have the ability to fuse with egg cells // Plant J. — 2003. — **33**. — P. 1051–1062.
46. Heslop-Harrison J. Synchronous pollen mitosis and the formation of the generative cell in massulate orchids // J. Cell Sci. — 1968. — **3**. — P. 457–465.
47. Dupuis F. Evolution of the plastidial system during the microsporogenesis in *Impatiens balsamina* L. // Fertilization in Higher Plants. — Amsterdam, 1974. — P. 65–72.
48. Van Went J.L. The ultrastructure of *Impatiens* pollen // Fertilization in Higher Plants. — Amsterdam, 1974. — P. 97–104.
49. Vazart B. Structure et évolution de la cellule génératrice du Lin (*Linum usitatissimum* L.) au cours de premier stades de la maturation du pollen // Rev. Cytol. Biol. Veg. — 1969. — **32**. — P. 101–114.
50. Diers L. Elektromikroskopische Beobachtungen an der generativen Zellen von *Oenothera hookeri* Torr et Gray // Z. Naturforsch. — 1963. — **180**. — P. 562–566.
51. Lombardo G., Gerola F.M. Cytoplasmic inheritance and ultrastructure of the generative cell of higher plants // Planta. — 1968. — **82**. — P. 105–110.
52. Meyer B., Stubbe W. Das Zahlenverhältnis von mütterlichen und väterlichen Pastiden in den Zygoten von *Oenothera erythrosepala* Borbas (syn *Oe. lamarckiana*) // Ber. Dtsch. Bot. Ges. — 1974. — **87**. — P. 29–38.
53. Jensen W.A. The ultrastructure and composition of the egg and central cell of cotton // Amer. J. Bot. — 1965. — **52**. — P. 781–797.
54. Vazart B., Vazart J. Infrastructure du sac embryonnaire du Lin (*Linum usitatissimum* L.) // Rev. Cytol. Biol. Veg. — 1966. — **29**. — P. 251–266.
55. Van Went J.L. The ultrastructure of the egg and central cell of *Petuni* // Acta Bot. Neer. — 1970. — **19**. — P. 313–322.
56. Schulz R., Jensen W.A. *Capsella* embryogenesis: the egg, zygote and young embryo // Amer. J. Bot. — 1968. — **55**. — P. 807–819.
57. Mikulska E., Rodkiewicz B. Ultrastructure of the maturing embryo sac of *Lilium regale* // Acta Soc. Bot. Pol. — 1967. — **36**. — P. 555–566.
58. Плиско М.А. Электронно-микроскопическое исследование особенностей мегагаметогенеза *Calendula officinalis* L. // Бот. журн. — 1971. — **56**. — С. 582–598.
59. Cass D.D. Ultrastructure of the egg of *Plumbago zeylanica* // Amer. J. Bot. — 1972. — **59**. — P. 648.
60. Mogensen H.L. Fine structure and composition of the egg apparatus before and after fertilization in *Quercus gambelii*: the functional ovule // Amer. J. Bot. — 1972. — **59**. — P. 931–941.
61. Newcomb W. The development of the embryo sac of sunflower *Helianthus annuus* L. before fertilization // Can. J. Bot. — 1973. — **51**. — P. 863–878.
62. Maze J., Lin S.C. A study of the mature megagametophyte of *Stipa elmeri* // Can. J. Bot. — 1975. — **53**. — P. 2958–2977.
63. Wilms H.J. Pollen tube penetration and fertilization in spinach // Acta bot. neer. — 1981. — **30**. — P. 101–122.
64. Жукова Г.Я. Ультраструктурные и функциональные особенности яйцеклетки цветковых // Материалы VIII Всесоюз. совещания по эмбриологии растений. — Ташкент, 1982. — С. 30–31.
65. Figueiredo R., Duarte P., Pereira S., Pissarra J. The embryo sac of *Cynara cardunculus*: ultrastructure of the development and localization of the aspartic proteinase cardosin B // Sex. Plant Reprod. — 2006. — **19**. — P. 93–101.
66. Diboll A.G., Larson D.A. An electron microscopic study of the mature megagametophyte in *Zea mays* // Amer. J. Bot. — 1966. — **53**. — P. 391–402.
67. Поляков И.М. Оплодотворение цветковых растений как многоступенчатый физиологический процесс // Материалы Всесоюз. симпозиума по эмбриологии растений. — Киев, 1968. — С. 172–173.
68. Навашин М.С. Пыльцевая трубка покрытосеменных растений как полярно-дифференцированная система // Материалы Всесоюз. симпозиума по эмбриологии растений. — Киев, 1968. — С. 141–146.
69. Коробова С.Н. Современное состояние вопросов о движении спермиев в процессе оплодотворения // Материалы Всесоюз. симпозиума по эмбриологии растений. — Киев, 1968. — С. 101–104.
70. Rotman N., Rozier F., Boavida L., Dumas C., Berger F., Faure J.E. Female control of male gamete delivery during fertilization in *Arabidopsis thaliana* // Cur. Biol. — 2003. — **13**. — P. 432–436.
71. Поддубная-Арнольди В.А., Дианова В.И. Характер размножения некоторых каучуконосных и некаучуконосных видов рода *Taraxacum* L. // Бот. журн. — 1937. — **22**. — С. 267–296.
72. Оксюк П.Ф., Худяк М.И. Новые данные об оплодотворении у пшеницы // Докл. АН СССР. — 1955. — **105**. — С. 835–838.
73. Кордюм Е.Л. Процес запилення — запліднення у деяких представників родини жовтецевих // Укр. бот. журн. — 1960. — **17**. — С. 66–75.
74. Поддубная-Арнольди В.А. Общая эмбриология покрытосеменных растений. — М.: Наука, 1964. — 482 с.
75. Chaubal R., Reger B.J. Relatively high calcium is local-

- ized in synergid cells of wheat ovaries // *Sex. Plant Reprod.* – 1990. – **3**. – P. 98–102.
76. Antoine A.F., Faure J.E., Dumas C., Feijo J.A. Differential contribution of cytoplasmic Ca²⁺ and Ca²⁺ influx to gamete fusion and egg activation in maize // *Nature Cell Biol.* – 2001. – **3**. – P. 1120–1123.
 77. Digonnet C., Aldon D., Leduc N., Dumas C., Rougier M. First evidence of a calcium transient in flowering plants at fertilization // *Development.* – 1997. – **15**. – P. 2867–2874.
 78. Higashiyama T., Kuroiwa H., Kuroiwa T. Pollen-tube guidance: beacons from the female gametophyte // *Cur. Opinion Plant Biol.* – 2003. – **6**. – P. 35–41.
 79. Герасимова-Навашина Е.Н. Развитие зародышевого мешка, двойное оплодотворение и вопрос о происхождении покрытосеменных // *Бот. журн.* – 1954. – **39**. – С. 655–681.
 80. Huang B.Q., Russell S.D. Fertilization in *Nicotiana tabacum*: cytoskeletal modifications the embryo sac during synergid degeneration // *Planta.* – 1994. – **194**. – P. 200–214.
 81. Ye X.L., Yeung E.C., Zee S.Y. Sperm movement during double fertilization of a flowering plant *Phaius tankervillea* // *Planta.* – 2002. – **215**. – P. 60–66.
 82. Shimizu K.K., Okada K. Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in *Arabidopsis thaliana* pollen tube guidance // *Development.* – 2000. – **27**. – P. 4511–4518.
 83. Jensen W.A., Fisher D.B. Cotton embryogenesis: double fertilization // *Phytomorphology.* – 1967. – **17**. – P. 261–269.
 84. Cass D.D., Jensen W.A. Fertilization in barley // *Amer. J. Bot.* – 1970. – **57**. – P. 2–70.
 85. Mogensen H.L. Exclusion of male mitochondria and plastids during syngamy in barley as a basis for maternal inheritance // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1988. – **85**. – P. 2594–2597.
 86. D'Alascio Deschamps R. Etude ultrastructurale de la double fecondation chez le *Linum catharticum* L. // *C.R. Acad. Sci. Paris.* – 1974. – **279D**. – P. 263–265.
 87. Russell S.D. Fertilization in *Plumbago zeylanica*: entry and discharge of the pollen tube in the embryo sac // *Can. J. Bot.* – 1982. – **60**. – P. 2219–2230.
 88. Russell S.D. Fertilization in *Plumbago zeylanica*: gametic fusion and fate of the male cytoplasm // *Amer. J. Bot.* – 1983. – **70**. – P. 416–434.
 89. You R., Jensen W.A. Ultrastructural observations of the mature megagametophyte and the fertilization in wheat (*Triticum aestivum*) // *Can. J. Bot.* – 1985. – **63**. – P. 163–178.
 90. Gao X., Francis D., Ormrod J.C. Bennett M.D. An electron microscopic study of double fertilization in allohexaploid wheat *Triticum aestivum* L. // *Amer. J. Bot.* – 1992. – **70**. – P. 561–568.
 91. Hause G., Schröder M.B. Reproduction in *Triticale*. 2. Karyogamy // *Protoplasma.* – 1987. – **139**. – P. 100–104.
 92. Russell S.D., Rougier M., Dumas C. Organization of the early post-fertilization megagametophyte of *Populus deltoides*. Ultrastructure and implications for male cytoplasmic transmission // *Protoplasma.* – 1990. – **155**. – P. 153–165.
 93. Yu H.S., Huang B.Q., Russell S.D. Transmission of male cytoplasm during fertilization in *Nicotiana tabacum* // *Sex. Plant Reprod.* – 1994. – **7**. – P. 313–323.
 94. Drews G.N., Yadegari R. Development and function of the angiosperm female gametophyte // *Annu. Rev. Genet.* – 2002. – **36**. – P. 99–124.
 95. Cass D.D. Structural relationships among central cell and egg apparatus of barley as related to transmission of male gametes // *Acta Soc. Bot. Pol.* – 1981. – **50**. – P. 177–179.
 96. Голенкин М.И. Победители в борьбе за существование. – М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1927. – 101 с.
 97. Кордюм Е.Л. Эволюционная цитозембриология покрытосеменных растений. – Киев: Наук. думка, 1978. – 219 с.
 98. Романов И.Д. Типы развития зародышевого мешка покрытосеменных растений // *Проблемы эмбриологии.* – Киев, 1971. – С. 72–113.
 99. Тахтаджян А.Л. Основы эволюционной морфологии растений. – М. – Л.: Наука, 1964. – 236 с.
 100. Williams J.H., Friedman W.E. Identification of diploid endosperm in an early angiosperm lineage // *Nature.* – 2002. – **415**. – P. 522–526.
 101. Tobe H., Jaffre T., Raven P.H. Embryology of *Amborella* (*Amborellaceae*): descriptions and polarity of character states // *J. Plant Res.* – 2000. – **113**. – P. 171–280.
 102. Friedman W.E. Sexual reproduction in *Ephedra nevaliensis* (*Ephedraceae*): further evidence of double fertilization in a non-flowering seed plant // *Amer. J. Bot.* – 1990. – **77**. – P. 1582–1598.
 103. Friedman W.E. Double fertilization in non-flowering seed plants and its relevance to the origin of flowering plants // *Int. Rev. Cytol.* – 1992. – **140**. – P. 319–355.
 104. Friedman W.E. Organismal duplication, inclusive fitness theory, and altruism understanding the evolution of endosperm and the angiosperm reproductive syndrome // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1995. – **92**. – P. 3913–3917.
 105. Carmichael J.S., Friedman W.E. Double fertilization in *Gnetum gnemon* (*Gnetaceae*): its bearing on the evolution of sexual reproduction within the *Gnetales* and the Anthophyte clade // *Amer. J. Bot.* – 1996. – **83**. – P. 767–780.
 106. Floyd S.K., Friedman W.E. Evolution of endosperm developmental patterns among basal lowering plants // *J. Plant Sci.* – 2000. – **161**. – P. 57–81.
 107. Хохлов С.С. Некоторые закономерности эволю-

- ции двойного оплодотворения и проблема апомиксиса // Материалы Всесоюз. симпоз. по эмбриологии растений. — Киев, 1968. — С. 236–239.
108. Vasil V. Morphology and embryology of *Gnetum* // Phytomorphology. — 1959. — 9. — P. 167–215.
109. Friedman W.E., Carmichael J.S. Double fertilization in *Gnetales*: implication for understanding reproductive diversification among seed plants // Int. J. Plant Sci. — 1996. — 157. — P. 77–94.
110. Friedman W.E. The evolution of double fertilization and endosperm: an «historical» perspective // Sex. Plant Reprod. — 1998. — 11. — P. 6–16.
111. Chaw S.M., Parkinson C.I., Cheng Y., Vincent T.M., Palmer J.D. Seed plant phylogeny inferred from all three plant genomes: monophyly of extant gymnosperms and origin of *Gnetales* from conifers // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2000. — 97. — P. 4086–4091.
112. Bowe L.M., Coat G., de Pamphills C.W. Phylogeny of seed plants based on all three genomic compartments: extant gymnosperms are monophyletic and *Gnetales*' closest relative are conifers // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2000. — 97. — P. 4092–4097.
113. Модилевский Я.С. Цитоэмбриология покрытосеменных. — Киев : Изд-во АН УССР, 1963. — 370 с.
114. Kranz E., Kumlehn J. Angiosperm fertilization, embryo and endosperm development *in vitro* // Plant Sci. — 1999. — 142. — P. 83–197.
115. Yoshida K.T., Endo M., Nakazono M., Fukuda H., Demura T., Tsuchiya T., Watanabe M. Relationship between double fertilization and the cell cycle in male and female gametes of tobacco // Sex. Plant Reprod. — 2005. — 17. — P. 243–252.

Поступила 30.05.07