

На правах рукописи

ЖАРКОВ Николай Александрович

**ХАРАКТЕР ПРОЯВЛЕНИЯ МОНОСОМНОГО СОСТОЯНИЯ
ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ У TRITICUM AESTIVUM L.
И ЕГО СВЯЗЬ С МЕХАНИЗМАМИ МЕЙОТИЧЕСКИХ ПРО-
ЦЕССОВ**

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

03.02.07 – Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Новосибирск – 2018

Работа выполнена в лаборатории генетики в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» (ФГБНУ «СибНИИСХ»)

Научный консультант: доктор биологических наук

Цильке Регинальд Александрович
профессор кафедры селекции, генетики
и лесоводства Новосибирского государственного
аграрного университета

Официальные оппоненты:

Муратова Елена Николаевна
доктор биологических наук, профессор
зав. лабораторией лесной генетики и селекции
Институт леса им. В.Н. Сукачева
Сибирского отделения Российской академии
наук, г. Красноярск

Родионов Александр Викентьевич
доктор биологических наук, профессор,
зав. лабораторией биосистематики и цитологии
Ботанического института им. В.Л. Комарова,
г. Санкт-Петербург

Степочкин Петр Иванович
доктор сельскохозяйственных наук,
ведущий научный сотрудник
лаборатории генофонда растений СибНИИРС,
филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

Ведущая организация –

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова, г. Москва

Защита состоится « ____ » _____ 2018 года на утреннем заседании диссертационного совета Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», в конференц-зале Института по адресу: пр. академика Лаврентьева 10, г. Новосибирск, 630090. тел. (383) 363-49-06 (1321); факс: (383) 333-12-78, e-mail: dissov@bionet.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института: www.bionet.nsc.ru

Автореферат разослан“ ____ ” _____ 2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор биологических наук Т.М.

Хлебодарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Мейоз является одним из основных механизмов, обеспечивающих преемственность между поколениями при половом размножении. На его основе базируется вся современная рекомбинационная селекция. Поэтому актуальность изучения мейотических процессов не вызывает сомнений.

Открытие мейоза (Van-Beneden, 1884) привлекло к себе внимание многих исследователей. За прошедший период были достигнуты большие успехи в изучении мейоза, полученные на основе цитологических, цитогенетических и молекулярных методах исследований. Однако, не смотря на это, целый ряд вопросов, связанных с отдельными этапами мейотического цикла, остается еще не решенным. Касаясь рассматриваемой в предлагаемой работе тематики, следует отметить следующие три основных момента.

1. Накопленные экспериментальные данные не дают полного представления о системе цитогенетического контроля синапсиса хромосом и связанных с этим процессов сближения и распознавания гомологов, предотвращения синапсиса гомеологов у аллополиплоидных видов растений.

2. До настоящего времени практически отсутствуют какие-либо положения, объясняющие механизм перехода хромосом от митоза к мейозу.

3. Остаются до конца не выясненными механизмы конъюгации хромосом.

Особый интерес в решении многих вопросов, связанных с мейотическим делением клеток, представляют анеуплоидные линии, созданные по аллополиплоидным видам растений (Clausen, 1941a, 1941b; Sears, 1954). Их ценность определяется тем обстоятельством, что наблюдения за характером поведения унивалента при редукционном делении клеток позволяют выявлять те элементы мейотического процесса, которые в обычном эуплоидном состоянии генотипа остаются для наблюдателя незамеченными. Однако для этого необходим цитологический анализ мейоза полной серии моносомных линий с большим объемом выборки анализируемого материала и менделевский подход к результатам проведенных исследований. Что и было сделано.

Цель исследований – определить наличие возможной связи между характером проявления моносомного состояния хромосом в мейозе и механизмами мейотических процессов у аллополиплоидного вида пшеницы *Triticum aestivum* L.

Задачи исследований:

- изучить состав популяции серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553;

- изучить влияние дозового состояния хромосом на характер проявления конъюгации хромосом в метафазе I мейоза;

- изучить характер поведения унивалента в анафазе I у полной серии моносомных линий пшеницы;
- провести цитологический анализ диад на стадии телофазы I и профазы II;
- изучить характер проявления моносомного состояния хромосом в метафазе и анафазе мейоза II;
- провести тетрадный анализ у полной серии моносомных линий;
- путем статистического анализа полученных экспериментальных данных выявить наличие определенных связей между характером проявления моносомного состояния хромосом на различных этапах мейотического процесса;
- провести цитологические исследования мейоза у межвидовых гибридов пшеницы.

Научная новизна исследований. Впервые проведен анализ характера проявления моносомного состояния хромосом в мейозе на полной цитологически идентифицированной серии моносомных линий пшеницы. На основании проведенных исследований метафазы I у моносомных растений и сестринских дисомиков представлена в развернутом виде система цитогенетического контроля конъюгации хромосом. Проведена идентификация хромосом по их вкладу в процессы синапсиса гомологов и гомеологов.

Впервые показано, что поведение хромосом в гемизиготном состоянии при редукционном делении клеток подчиняется общим механизмам мейотических процессов.

Впервые предложен механизм перехода хромосом от митоза к мейозу. Показано, что пусковым механизмом данного процесса является коориентация центромер в зоне исходного полюса одного гаплоидного набора хромосом.

Впервые демонстрируется тот факт, что при переходе хромосом от митоза к мейозу между гомологами существует распределение функций, где коориентация одного из них осуществляется динамикой структурных изменений зоны исходного полюса, а другого через синапсис, прерывание и восстановления связи центромер с полюсом. При этом установлено, что вероятность того, какой из двух гомологов окажется в той или иной позиции, составляет 50 на 50 процентов. Установленный характер поведения унивалента в анафазе I показывает, что синапсис хромосом проходит при фиксированном положении центромер одного из гомологов.

Впервые дается статистически и цитологически доказуемый механизм предотвращения синапсиса гомеологов у аллогексаплоидного вида пшеницы. Взамен общепризнанной теории поиска и захвата кинетохор микротрубочками центрального веретена деления предлагается концепция «разводящих нитей».

Впервые при цитологическом анализе характера поведения унивалент-

ной хромосомы и ее производных в мейозе II была продемонстрирована их дифференциация по геномной принадлежности. На основании проведенных цитологических наблюдений за профазой II предлагается механизм автоориентации хромосом при их переходе от редукционного типа деления к эквационному, основанный на предложенной концепции «разводящих нитей».

Впервые для мягкой пшеницы показано наличие в хромосоме 3D гена (генов) осуществляющего (-их) контроль над связью кариокинеза и цитокинеза во времени и пространстве.

Впервые выявлен мейотический ген, неаллельный базисному гену-промотору синапсиса хромосом рода *Triticum*.

Теоретическая значимость работы. Получены экспериментальные данные, подтверждающие полигенную систему контроля конъюгации хромосом. Согласно результатам проведенных исследований, она включает в себя гены промоторы и супрессоры, гены с различной экспрессивностью и гены, обладающие различным типом действия и взаимодействия.

Учитывая то, что мейоз явление универсальное, предложенная модель перехода хромосом от митоза к мейозу у мягкой пшеницы может иметь более общее положение у высших организмов. Роль зоны исходного полюса в поведении хромосом, в качестве которого может служить определенный участок оболочки ядра или митотический центр, заслуживает более пристального внимания ученых при проведении исследований клеточного цикла, митоза и мейоза. Подход с позиций полюсной детерминации сегрегации хромосом может объяснить многие явления, которые до сих пор не находили своего должного понимания.

Обнаружение дополнительного гена, контролирующего синапсис хромосом, который не аллелен базисному гену рода *Triticum*, открывает дополнительные возможности в изучении процессов, связанных с их конъюгацией.

Практическая значимость работы. Получена и поддерживается новая серия моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы, которая может быть использована и используется для проведения цитогенетических исследований отдельных признаков и свойств пшеницы, осуществления межсортового замещения отдельных хромосом. Разработан способ получения растений с двумя замещенными хромосомами (А.С. №1009349).

Использование в цитогенетических исследованиях, кроме моносомных растений, и сестринские дисомики предлагается как способ получения дополнительной информации при изучении мейотических признаков.

Выявленный новый ген синапсиса хромосом у коммерческого сорта яровой пшеницы, который занял большие площади под посевы, может представлять особый интерес для практической селекции.

Проведение дополнительных цитогенетических исследований полюсной детерминации деления клеток может оказаться полезным в решении проблем, связанных с преодолением нескрещиваемости видов и с онкологией.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Отклонения сестринских дисомиков от своего рекуррентного родителя у серии моносомных линий мягкой пшеницы по мейотическим признакам связано с переопределением генетических связей, вызванных эффектом моносомии, для восстановления которых требуется от 1 до нескольких поколений.

2. Использование сравнительного моносомно-дисомного анализа растений серии анеуплоидных линий пшеницы позволяет не только выявлять дополнительные гены, контролирующие мейотические признаки, но и устанавливать характер их действия и взаимодействия.

3. Характер поведения унивалента в анафазе I определяется механизмами мейотических процессов, связанных с переходом хромосом от митоза к мейозу, процессами конъюгации гомологов и реализацией механизма предотвращения синапсиса гомологов у аллогексаплоидного вида пшеницы *Triticum aestivum* L.

4. Сегрегация хромосом в анафазе I мейоза осуществляется путем разведения кинетохорных нитей веретена и встраиванием их в центральное веретено деления с последующей реализацией свойств кинетического порядка. Перед этим в прометафазе редукционного деления формируется трехполюсное веретено.

5. Особенности проявления моносомного состояния хромосом в мейозе II полностью зависят от характера поведения унивалента в анафазе I. При этом наблюдается дифференциация хромосом по их геномной принадлежности.

6. Мягкая пшеница имеет ген (гены) осуществляющий (-ие) контроль над связью кариокинеза и цитокинеза во времени и пространстве.

7. Контроль за синапсисом гомологов у одного из коммерческих сортов яровой мягкой пшеницы осуществляется геном, который не аллелен, но идентичен по своей экспрессивности базисному гену рода *Triticum*.

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы были доложены:

На заседании диссертационного совета Д. 120.32.01 при Новосибирском государственном аграрном университете (1997); на Всесоюзной генетической школе: “Научно-методические вопросы повышения эффективности селекции сельскохозяйственных растений” (г. Новосибирск, 1979); на совещании ВОГиС (г. Омск, 1989); на научно-методической конференции по растениеводству, селекции и семеноводству, посвященной 170-летию опытного дела (г. Омск, 30-31 июля 1998); на научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов “ОмГАУ – исторический опыт, про-

блемы и пути развития АПК Сибири ” /К 80-летию ВУЗА/ (Омск, 11-24 февраля 1998); на седьмой генетико-селекционной школе-семинаре: “Задачи селекции и пути их решения в условиях социально-экономического кризиса” (г. Новосибирск, 1999); на 11-ой конференции EWAS, посвященной памяти О.И. Майстренко (Новосибирск 2000); на девятой генетико-селекционной школе-семинаре: “Актуальные задачи селекции и семеноводства сельскохозяйственных растений на современном этапе” (г. Новосибирск, 2004); на международной научной конференции «Актуальные вопросы науки и образования», посвященной 20-летию Российской Академии Естествознания (Москва, Российская Академия Наук, 19-23 мая, 2015).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 работ, в том числе 10 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных исследований на соискании ученой степени доктора биологических наук. Получен один патент СССР на изобретение, два свидетельства на рационализаторское предложение.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 277 страницах, включая 47 рисунков, 31 таблицу, список литературы, содержащий 427 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В качестве основного объекта проводимых исследований был взят сорт яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 и созданная по нему полная серия цитологически идентифицированных моносомных линий (21 линия).

Закладка и проведение опыта по изучению характера проявления моносомного состояния хромосом в мейозе осуществлялась в строго контролируемых условиях (теплица) в зимне-весенний период. Посев семенного материала проводился в сосуды. Повторность четырехкратная. По каждому варианту в повторности высевали 20 зерен (по 5 зерен в сосуд). Сосуды в пределах линии располагались в один ряд (по 4 сосуда). Ряды по стеллажу размещались рендомизированно. Кроме моносомных линий в качестве контроля был посеян исходный сорт Мильтурум 553.

Растения выращивали при 17 часовом освещении. Дополнительное досвечивание осуществляли лампами ДРЛФ-400. В процессе вегетации освещенность увеличивали с 8-10 тысяч люкс (посев - всходы) до 12-18 тысяч люкс (цветение – восковая спелость). Температурный цикл поддерживался в начальный период 18/16⁰С, на более поздних этапах развития – 22/18⁰С. Полив осуществлялся через день, до полного насыщения почвы. Влажность воздуха поддерживалась в пределах 50 – 70%.

В межфазный период выход в трубку – колошение проводили фиксацию

микроспороцитов. Для этого с каждого растения брали по одному колосу. В качестве фиксаторов использовали смеси Ньюкомера и Навашина (Паушева, 1974; Wada, Kusunoki, 1964). Цитологические исследования мейоза осуществлялись на временных давленных ацетокарминовых препаратах с помощью микроскопа МБИ-3. Микрофотосъемку проводили под микроскопом МБИ-11, снабженным микрофотонасадкой МФН-12У4.2. Линзы и оптические узлы очищали от пыли и жировых налетов по специально разработанной методике (Жарков, 1986). Для анализа брали только первые и вторые цветки нижней части колоса. При этом анализировали как моносомные растения, так и сестринские дисомики.

При цитологическом анализе мейоза изучали метафазу I, анафазу I, диады, метафазу II, анафазу II и тетрады. Исследования метафазы I проводили при увеличении 90x10, всех остальных фаз при увеличении 20x10. В метафазе I определяли общее количество хромосом, подсчитывали количество палочковидных и кольцевых бивалентов, число хиазм на клетку и на бивалент. В анафазе I клетки идентифицировали по характеру поведения унивалента. При этом отмечали количество клеток без отстающих элементов, клетки с отстающей целой хромосомой, хроматидами и отдельных плеч хромосом. В метафазе и анафазе второго мейотического деления также отмечали клетки без отстающих элементов, клетки с отстающими хромосомами и хроматидами. Диады и тетрады идентифицировали по наличию микроядер. Полученные экспериментальные данные подвергались статистическим методам анализа, разработанным для качественных признаков (Доспехов, 1979).

Кроме серии моносомных линий для проведения цитогенетических исследований мейоза использовались межвидовые гибриды пшеницы, полученные от скрещивания *Triticum aestivum* L. с *Triticum durum* Desf. Опыты по изучению межвидовых гибридов проводили в течение пяти лет (2006 – 2010 гг.). Гибриды первого поколения были получены в 2006 году. Изучение характера расщепления популяции межвидовых гибридов F₂ по уровню ploидности их генотипов и стабильности прохождения мейоза проводили в 2008 и 2009 годах.

Закладку полевых опытов осуществляли в оптимальные сроки по пару. При этом гибриды F₁ высевали в трехкратной повторности с площадью питания растений 10x20 см. Количество зерен, закладываемых по каждому варианту в повторности, равнялось 10. Закладка опытов по изучению гибридов F₂ проводилась по той же технологии что и F₁, с той лишь разницей, что общее количество высеваемого материала по каждой гибридной комбинации составляло, в данном случае, 100 зерен.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Серия моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553.

Серия моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 создана путем возвратных скрещиваний Мильтурум 553 с моносомными растениями каждой линии сорта Чайниз Спринг. Авторы: Р.А. Цильке, И.А. Цильке, Н.А. Жарков, Л.П. Присяжная. Первый цикл гибридизационных работ был проведен в 1969 году и завершен к 1980 году. Насыщающие скрещивания проводили до получения 8-9 беккроссов. Для идентификации созданной серии, моносомики каждой линии скрещивали с соответствующей дителлоцентрической линией Чайниз Спринг.

После завершения создания серии моносомных линий был проведен цитологический анализ морфологических признаков хромосом, находящихся в гемизиготном состоянии, на стадиях метафазы I и анафазы II и проведена оценка их степени соответствия имеющимся данным литературы. Морфология каждой хромосомы на стадии метафазы I и анафазы II представлены на рисунке 1.

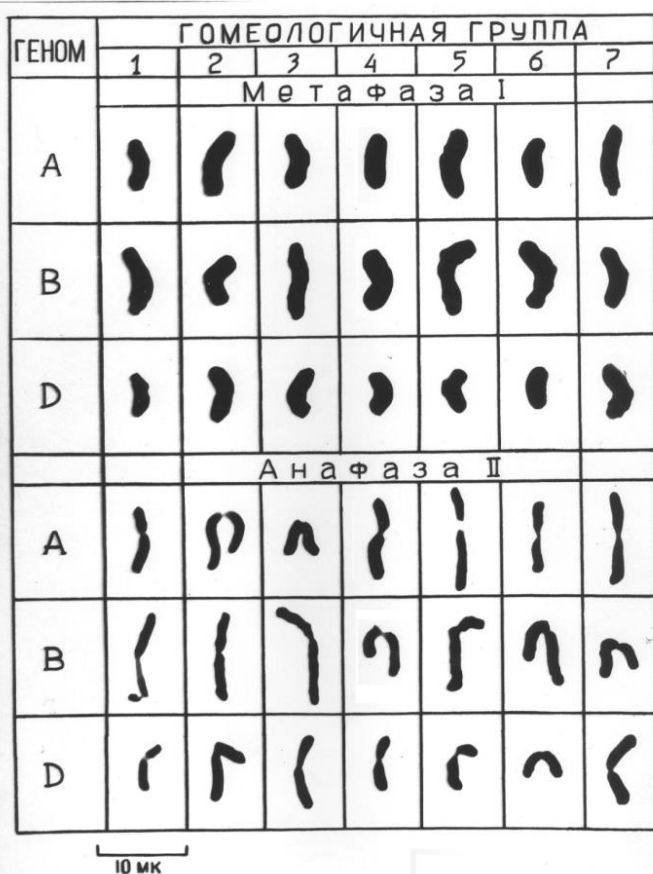


Рисунок 1. Морфология хромосом пшеницы Мильтурум 553 в метафазе I и анафазе II мейоза.

Как и ожидалось, унивалентные хромосомы моносомных линий по своим морфологическим признакам в метафазе I и анафазе II соответствуют своей предполагаемой символики и исходной моносоме Чайниз Спринг. Также как и у других представителей данного вида, у Мильтурум 553 самыми крупными хромосомами являются 3B и 5B, а самыми мелкими – 1D и 6D. При этом к числу равноплечих (метацентрических) можно отнести все хромосомы шестой и

седьмой гомеологичных групп. Наличие спутников постоянно демонстрировали (как в метафазе I, так и в анафазе II) хромосомы 1В и 6В. Образования, похожие на спутник, просматривались у хромосом 1А, 2А, 3А, 6А, 7А, 5В, 5D и 7D.

По результатам проведенных исследований, серия моносомных линий Мильтурум 553 наряду с общими закономерностями формирования различных анеуплоидных форм в самоопыленном потомстве имеет и свои особенности.

В отличие от аналогичной серии сорта Чайниз Спринг, моносомная серия Мильтурум 553 обладает несколько иным характером распределения частот выщепления анеуплоидов по линиям. Наличие нуллисомиков в популяциях варьировало от 0 до 21,3%, 41-хромосомных форм – от 38,7% (4В) до 84,2% (3D). Дисомные растения выщеплялись в среднем по серии с частотой 22,1%. Кроме этого в состав популяции моносомной серии Мильтурум 553 входили растения с телоцентрической хромосомой, гипо- и гиперанеуплоиды.

Проявление эффекта дозового состояния хромосом в метафазе I мейоза.

Идентификация негомологичного синапсиса хромосом у сорта пшеницы Мильтурум 553. Взятый в качестве объекта исследования сорт яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 характеризуется стабильным прохождением мейоза. На стадии метафазы I микроспороциты имели в основном 21 бивалент с преобладанием конфигураций закрытого типа. Наличие унивалентов в метафазных клетках отмечалось с частотой 1,08%. Количество палочковидных бивалентов на клетку составило 0,78, а число хиазм на бивалент – 1,998. Кроме бивалентных ассоциаций хромосом наблюдались и тетраваленты. Доля клеток с подобного рода образованиями в общем объеме изученного материала не превышало 1% (0,93 %).

Анализ микроспороцитов у моносомных растений показал, что в метафазе I мейоза преобладали клетки с нормальным синапсисом хромосом, имеющие характерные для них конфигурации, состоящие из 20 бивалентов и 1 унивалента. Однако в ряде случаев наблюдались клетки с тремя и более унивалентами, а также – с мультивалентами. Большинство моносомных линий имели тот же уровень образования тетравалентов, что и исходный сорт. Исключение составили линии, моносомные по хромосомам 2А, 1В, 3В, 2D и 7В (табл. 1).

Отсутствие одной дозы хромосом 1В и 3В вызывало достоверное увеличение частоты образования тетравалентов, 7D – снижение, а в случае гемизиготного состояния 2А и 2D хромосомные ассоциации подобного рода в метафазе I не наблюдались. В данных случаях вместо тетравалентов формировались триваленты, что указывает на образование тетравалентов у исходного сорта Мильтурум 553 за счет синапсиса двух пар гомеологичных хромосом: 2А и 2D. Характер отклонения анализируемого признака у моносомиков по хромосомам

1В и 3В свидетельствует о наличии в них генов-ингибиторов синапсиса гомеологов.

Таблица 1. Образование мультивалентов в метафазе I мейоза у моносомиков и сестринских дисомиков по «критическим» хромосомам сорта Мильтурум 553

Хромосома	Моносомик			Сестринский дисомик	
	количество изученных клеток	процент клеток с		количество изученных клеток	клеток с тетравалентами, %
		тетравалентами	тривалентами		
2А	1312	0,00±0,00***	0,08±0,08	861	1,16±0,36
6А	1464	0,75±0,22	0,07±0,07	681	0,00±0,00*
1В	1427	2,45±0,41**		646	1,39±0,46
3В	1154	1,99±0,41*		370	0,54±0,38
2D	1344	0,00±0,00***	0,82±0,25	816	0,61±0,27
7D	1175	0,26±0,15*	0,08±0,08	486	1,03±0,46
M553	1392	0,93±0,26		1392	0,93±0,26

Достоверно отличаются от сорта при: *P ≤ 0,05 – 0,01; **P ≤ 0,01 – 0,001; ***p = 0,001.

Цитогенетический контроль конъюгации гомологичных хромосом у мягкой пшеницы. По результатам проведенных цитологических исследований нарушение синапсиса гомологичных пар вызвало отсутствие одной дозы по следующим 10 хромосомам: 3А, 4А, 7А, 1В, 2В, 3В, 4В, 2D, 4D и 5D. При этом только по хромосоме 5D эффект моносомии проявился с положительным знаком, что указывает на присутствие в ней гена(ов)-ингибитора(ов). Действие же остальных 9 хромосом было связано с наличием в них генов-промоторов синапсиса гомеологов.

Существенное влияние моносомия оказала и на конъюгацию отдельных хромосомных плеч. Достоверное отклонение по частоте формирования палочковидных бивалентов наблюдалось у растений, моносомных по пяти хромосомам генома А (все, кроме 1А и 6А), шести хромосома генома В (все, кроме 5В) и трем хромосомам генома D (2D, 4D, 6D). Во всех случаях утрата одной дозы хромосомы приводило к увеличению количества палочковидных бивалентов на клетку, что указывает на наличие в них генов-промоторов синапсиса отдельных плеч хромосом.

По частоте формирования хиазм в бивалентах достоверное отклонение от контроля было получено по 12 хромосомам. В их число вошли 1А, 2А, 4А, 5А, 7А, 1В, 4В, 5В, 7В, 2D, 4D и 6D. С положительным знаком эффект моносомии проявился только по хромосомам 1А, 5В и 7В, демонстрируя тем самым наличие в них генов-ингибиторов хиазмообразовательного процесса.

Проведенный цитологический анализ метафазы I мейоза показал, что, как для моносомной части популяции, так и для дисомной одинаково характерно варьирование анализируемых признаков по линиям. Если отклонение моносом-

ных растений от своего рекуррентного родителя может быть связано с исключением части генетической информации из генотипа, то это же явление у сестринских дисомиков требует своего объяснения.

Для выяснения причин, обуславливающих отклонения дисомных растений от исходного сорта по отдельным признакам, был проведен специальный опыт. Для этого из популяции ряда моносомных линий отобрали сестринские дисомики и при строгой изоляции получили от них потомство трех поколений. Результаты анализа двух таких наборов (4А и 3В), имеющих прямое отношение к рассматриваемым признакам, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Процесс стабилизации метафазы I мейоза в потомстве самоопыленных сестринских дисомиков.

Анализируемый признак	Хромосома	Моносомик	Сестринский дисомик	Самоопыленное потомство сестринских дисомиков			Сорт М 553
				1	2	3	
I. Частота образования клеток с асиноптическими хромосомами							
1. Количество изученных клеток	4А 3В	1119 1154	489 370	512 1376	1196	1613	1392
Количество клеток с унивалентами, %	4А 3В	3,13*** 4,68***	2,86** 5,95***	0,78 4,08***	2,29*	1,74	1,08
II. Частота образования палочковидных бивалентов и хиазм							
Количество изученных клеток	4А 3В	272 265	102 102	112 202	187	150	161
Количество палочковидных бивалентов на клетку, %	4А 3В	6,35*** 7,40***	6,43*** 7,76***	3,33 4,76*	4,48	3,33	3,71
3. Число хиазм на бивалент	4А 3В	1,97** 1,99	1,97* 1,97**	2,10*** 2,01	2,01	2,03**	2,00

Примечание. Отклонения от сорта Мильтурум 553 достоверны при: *P = 0,05 – 0,01; **P = 0,01 – 0,001; ***P ≤ 0,001.

Согласно представленным в таблице 2 экспериментальным данным, для возврата генотипа к исходному состоянию в ряде случаев требуется несколько поколений, что определяется особенностями генетического содержания той или иной хромосомы. Следовательно, отклонения сестринских дисомиков от рекуррентного родителя обусловлены последствиями моносомного состояния хромосомы в материнском растении. Данное обстоятельство делает целесообразным использование дисомной части популяции моносомных линий в проводимых цитогенетических исследованиях, так как оно позволяет определять характер взаимодействия генов анализируемой хромосомы с генофоном при ее восстановлении. Кроме того, сравнительный моносомно-дисомный анализ дает возможность выявлять хромосомы, сохраняющие свою эффективность в гемизиготном состоянии. Так, при изучении мейоза у сестринских дисомиков, удалось обнаружить наличие генов в хромосомах 5В и 6В, контролирующих синапсис

гомологов, 5В, 5D, 6А – конъюгацию отдельных хромосомных плеч, 6А - частоту образования хиазм в бивалентах и синапсис гомологов (табл. 1).

Характер поведения унивалента при мейотическом делении клеток у *Triticum aestivum* L.

Специфика поведения унивалента в анафазе I как результат проявления механизмов перехода хромосом от митоза к мейозу и синапсиса гомологичных пар. Характер поведения унивалента со всеми модификациями достаточно хорошо идентифицируется по его полюсной ориентации. На этой основе было выделено следующие три типа его поведения:

1. Униполярный, когда унивалент отходил вместе с другими хромосомами без дополнительного расщепления к одному из противоположных полюсов.

2. Биполярный, когда его сестринские центромеры оказывались задействованы между двумя полюсами, что приводило к расщеплению унивалента на составляющие элементы (хроматиды, телоцентрики).

3. Аполярный. В данном случае унивалентная хромосома не взаимодействовала с полюсами и давала начало формированию микроядра в диадах.

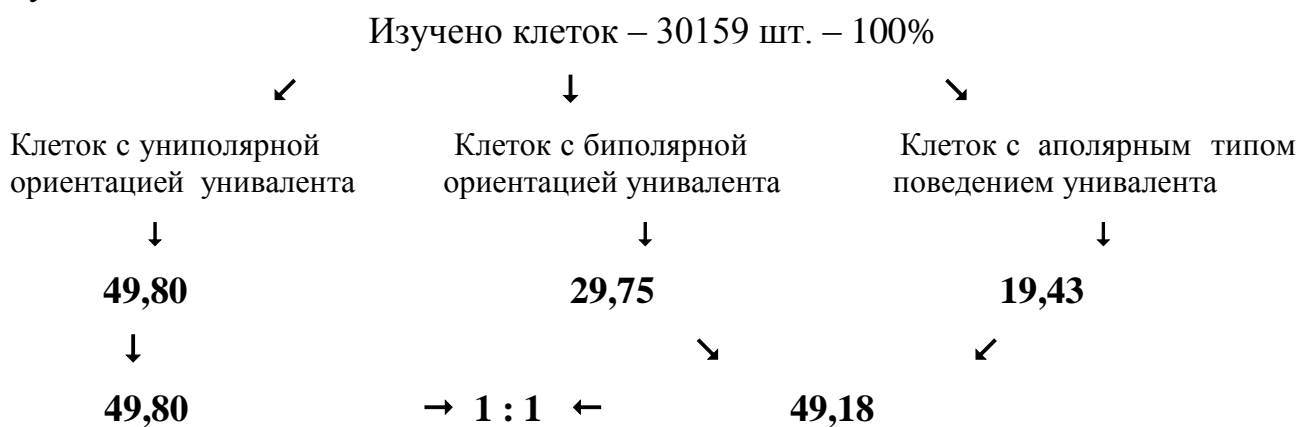
Соотношение частот трех типов поведения унивалента у анализируемого материала существенно варьировало по линиям (табл. 3).

Таблица 3. Частота различного характера поведения унивалента в анафазе I мейоза у серии моносомных линий пшеницы Мильтурум 553, %

Хромосома	Изучено клеток, шт.	Тип поведения унивалента			
		униполярный	биполярный	аполярный	неидентифицируемый
1А	1274	48,74	29,44	21,04	0,78
2А	2081	56,85	10,57	31,91	0,67
3А	1953	49,51	34,51	13,98	2,00
4А	1176	54,00	33,10	12,33	0,57
5А	1572	43,32	37,59	18,45	0,64
6А	1756	58,94	28,25	12,47	0,34
7А	1432	44,90	47,56	6,84	0,70
1В	1069	48,27	30,78	20,02	0,93
2В	1243	40,79	46,82	11,10	1,29
3В	1444	44,60	30,75	22,99	1,66
4В	1751	39,46	34,84	24,21	1,48
5В	1337	48,77	35,30	15,41	0,52
6В	1193	53,23	18,86	27,07	0,84
7В	1090	52,84	28,35	18,07	0,64
1D	1084	52,58	12,02	33,58	2,12
2D	1624	62,99	15,15	20,57	1,29
3D	1148	53,83	27,11	18,55	0,52
4D	1434	50,14	30,83	17,78	1,25
5D	1348	50,15	40,36	9,12	0,37
6D	1540	54,29	30,97	13,83	0,91
7D	1610	39,69	23,30	35,40	1,61
X сред.	30159	49,80	29,75	19,43	1,02

Относительно высокая частота и постоянство проявления трех типов поведения унивалента в анафазе I по всем моносомным линиям исключает возможность рассматривать их как проявление своего рода аномалий. Другим существенным моментом представленного цифрового материала является тот факт, что в каждом конкретном случае мы анализируем поведение хромосомы, находящейся в одной дозе. Следовательно, в целом по серии моносомных линий мы получаем результаты анализа поведения хромосом одного гаплоидного набора. В связи с этим на данном этапе особого внимания заслуживают усредненные показатели, отражающие характер поведения хромосом данного ряда.

Для лучшего понимания характера распределения полученных экспериментальных данных по типам поведения унивалента, представим их в виде следующей схемы:



При сопоставлении двух альтернативных групп поведения унивалента (униполярный и биполярный + аполярный) видно, что их соотношение оказалось близким к соотношению 50:50%, или 1:1 ($\chi^2 = 1,17$).

Полученное соотношение 1:1 показывает, что унивалентная хромосома лишь в 50% случаев обладала свойством униполярной ориентации. В остальных 50% всех изученных клеток она, в отсутствие своего гомолога, не в состоянии была перейти на иной тип ориентации и либо продолжала делиться эквационно, либо не взаимодействовала с полюсами. Напрашиваются два очень важных вывода:

- 1) хромосомы гомологичных пар имеют два различных механизма перехода с биполярной ориентации на униполярную;
- 2) относительной автономностью коориентации связи центромер с полюсом (положение 1) обладает один из гомологов, в то время как второму гомологу для этого требуется наличие партнера, т.е. конъюгация (положение 2).

По результатам проведенных исследований, поведение унивалента в анафазе I мейоза в целом подчинялось одному из основных законов теории вероятности, т.е. вероятности появления двух равновероятных взаимоисключающих событий. Иначе говоря, вероятность того, окажется ли унивалентная хромосома

при смене полюсной ориентации в положении 1 или 2, составляет 50 : 50 %. Способность унивалентной хромосомы с частотой, близкой к 50%, вести себя по мейотическому типу показывает, что, как считалось ранее, не бивалентное состояние гомологов определяет их редукционный тип деления, а, наоборот, смена полюсной ориентации одного из гомологов определяет начало синапсиса хромосом.

Полученное соотношение 1:1, кроме усредненной величины распределения частот двух классов различного типа поведения унивалента каждой хромосомы, отражает и характер проявления в анафазе I мейоза гемизиготного состояния всего гаплоидного ряда, представленного в виде серии моносомных линий (моно-1А, моно-2А и т.д.). Согласно результатам проведенных цитологических исследований, данный ряд лишь в 50% случаев имел коориентацию связи центромер с полюсом в положении 1. В переводе на обычный эуплоидный уровень это означает, что с такой же частотой его гомологи (второй гаплоидный ряд) должны производить смену полюсной ориентации в положении 2. Соответственно, когда анализируемый ряд при переходе хромосом от одного типа деления к другому оказывается в положении 2, то их гомологи должны быть задействованы в положении 1. В итоге мы имеем два гаплоидных набора, различающихся между собой способом смены полюсной ориентации. Из вышесказанного следует, что относительной автономностью коориентации связи хромосом с полюсом обладает один гаплоидный ряд, в то время как второму гаплоидному ряду для этого требуется наличие гомологов, т.е. спаривания, синапсиса, конъюгации. При этом данный гаплоидный ряд хромосом, согласно закону независимого распределения, не совпадает с их изначальной принадлежностью к исходному ряду родителей.

Способность унивалента с частотой около 50% устанавливать униполярную ориентацию при отсутствии синапсиса, равно как и весь характер его поведения в анафазе I, так или иначе предполагает наличие связи хромосом с зоной исходного полюса в предмейотический период, до начала процессов сближения и распознавания гомологов (Benavente, Orellano, 1986; Schwarzacher, 1997). Для того чтобы в этом убедиться, проведем следующие логические построения, используя при этом элементы подхода от общего к частному и от частного к общему.

Прежде всего, следует иметь в виду, что зоной исходного полюса может служить митотический центр, определенный участок оболочки ядра или иное структурное образование (Picket-Heapsetal., 1982; Чубыкин, 2009). Соответственно связь хромосом с полюсом также может осуществляться с помощью пучка тонких филаментов (Picket-Heapsetal., 1982), микротрубочек, непосредственного контакта центромер с зоной исходного полюса. Поскольку в данном

случае детализация схемы не имеет принципиального значения для лучшего понимания сущности происходящих явлений, представим зону исходного полюса в виде замкнутой плоскости, к которой крепятся нити, соединяющие ее с центромерами хромосом (рис. 2). Так как отдельно взятая хромосома перед началом деления состоит из двух сестринских хроматид с реплицированной центромерой (Кикнадзе, Высоцкая, 1975; Мэзия, 1963; Босток, Самнер, 1981 и др.), то крепление ее к полюсу должно осуществляться с помощью двух связующих нитей, фиксирующих каждую хроматиду в отдельности и хромосому – в целом. При этом точки их фиксации находятся на некотором удалении друг от друга, образуя своеобразный коридор. Теперь, если деление зоны исходного полюса проводить по данному коридору (рис. 2), то при расхождении образовавшихся частей в противоположные стороны и разведении связующих нитей с последующим их сокращением будет получено продольное расщепление хромосом по типу митоза. Очевидно, именно по этому сценарию происходит сегрегация хромосом при плевромитозе (Райков, 1978).

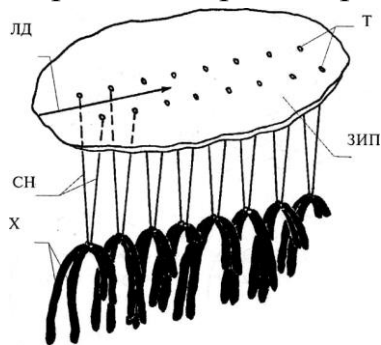


Рис. 2. Схема фиксации хромосом в зоне исходного полюса при полюсной детерминации типа деления клеток: ЗИП — зона исходного полюса; СН — связующие нити; Т — точки фиксации связующих нитей в зоне исходного полюса; ЛД — линия деления полюса; Х — хроматиды хромосом.

Для перехода на редуционный тип деления точки фиксации соединяющих нитей центромер хромосомы либо путем разворота, либо каким-то другим способом должны быть выведены процессами, связанными со структурными изменениями зоны исходного полюса за пределы разделяющей линии так, как это показано на рисунке 3. По имеющим данным литературных источников (Jasencakova et al., 2001; Stewart, Dawson, 2008 и др.) подобного рода манипуляции у мягкой пшеницы, очевидно, осуществляются при непосредственном контакте центромер с оболочкой ядра.

Согласно полученным экспериментальным данным, активно задействованным (положение 1) оказывается только один гаплоидный набор, в то время как второй гаплоидный набор сохраняет свою прежнюю биполярную ориентацию (рис. 3, б). При этом вероятность того, какой из двух гомологов будет находиться в той или иной позиции, составляет в среднем по генотипу 50:50%. Таким образом, используя метод «от обратного», можно сказать, что если точки фиксации центромер унивалентной хромосомы попадают в положение 1, она ведет себя по типу редуционного деления (sintelic), если же в положение 2, то

эквационное деление унивалента становится неизбежным, что по данным Giraldes и Lacadena (1976) идентифицируется как amphitelic.

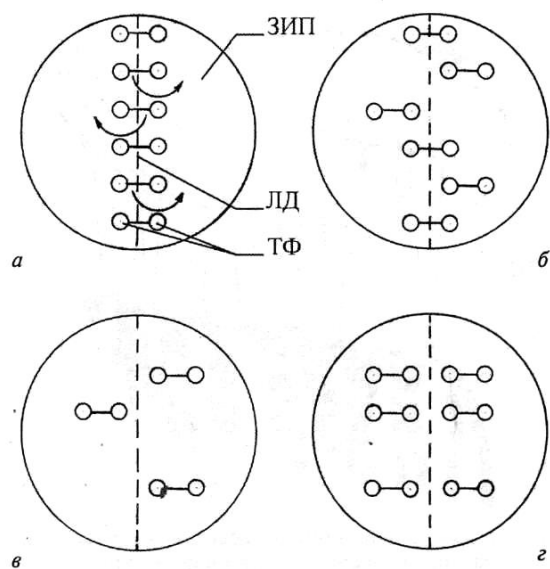


Рис. 3. Схема коориентации связи центромер с полюсом при переходе хромосом от эквационного типа деления (митотического) к редукционному (мейотическому): а — исходное (митотическое) положение; б — расположение точек фиксации центромер после коориентации одного гаплоидного набора; в — сохранение связи центромер с полюсом в период синapsиса одним гаплоидным набором хромосом после утраты ее их гомологами; г — расположение точек фиксации центромер по редукционному типу на заключительном этапе коориентации хромосом; ЗИП — зона исходного полюса; ТФ — точки фиксации дублированной центромеры хромосом; ЛД — линия деления зоны исходного полюса

Однако, как показывают результаты цитологических наблюдений, моносома вела себя по типу митоза лишь в $29,75 \pm 0,26\%$ от всего количества проанализированных клеток, что составляет от совокупности клеток с отстающими элементами $58,66 \pm 0,63\%$. В остальных $19,43 \pm 0,23\%$ (или в $41,34 \pm 0,25\%$) она не взаимодействовала с полюсами и формировала микроядро в диадах. Полученное соотношение между двумя альтернативными группами (униполярный и биполярный + аполярный) близко 1 к 1 показывает, что аполярный тип поведения унивалента является частным проявлением гомологичного ряда хромосом, находящихся в положении 2. Сам факт наличия подобного рода феномена может быть интерпретирован следующим образом.

Очевидно, смена полюсной ориентации точек фиксации центромер одного гаплоидного набора приводит в соответствие пространственную ориентацию гомологичных хромосом в ядре, что является пусковым механизмом начала синapsиса. Хромосомы, которые до сих пор сохраняли прежнюю биполярную ориентацию (рис. 3, б), после первого контакта гомологов и включения процессов формирования синаптонемального комплекса утрачивают свою связь с полюсом (рис. 3, в) и восстанавливают ее при завершении конъюгации в последовательности, обеспечивающей редукционный тип деления хромосом (рис. 3, г). Именно актом естественного прерывания связи центромер с полюсом обусловлена аполярность поведения унивалента в анафазе I. Иначе говоря, хромосома, будучи в гемизиготном состоянии, занимая в зоне исходного полюса положение 2 и не имея другого пути перехода на иной тип ориентации, сохраняет свои потенциальные возможности в плане обособления, которые, не смотря на отсутствие гомолога и процессов синapsиса, довольно часто реализуются.

Сохранение связи центромер с полюсом одним гаплоидным набором и утрата ее вторым имеет два очень важных момента. В первом случае клетка приобретает средство для управления синапсисом хромосом, во втором - облегчается сам процесс конъюгации гомологов. Кроме того, сохранившиеся связи с полюсом одного из гомологов, очевидно, являются направляющими элементами в смене полюсной ориентации его партнера. В данном случае становится понятен смысл гипотезы Б.Ф. Чадова (1981, 1986) «постконъюгационного синапсиса центромер», согласно которой правильному расхождению гомологов способствует синапсис центромерных участков. Дальнейшие события связаны с делением зоны исходного полюса, расхождением образовавшихся двух дочерних полюсов в противоположные стороны, разведением кинетохорных нитей и их встраиванием в центральное веретено с последующим проявлением свойств кинетического порядка (McIntosh, 1985). В данном случае, взамен общепризнанной теории поиска и захвата кинетохор полюсными микротрубочками, предлагается концепция «разводящих нитей». Следуя логике дальнейших построений, основанных на результатах проведенных исследований и имеющихся данных литературных источников (Bruce Nicklas 1971), есть все основания считать, что построение центрального веретена и кинетохорного происходит раздельно, во всяком случае, у мягкой пшеницы.

Раздельное построение центрального и кинетохорного веретена предполагает присутствие на определенном этапе профазы мейоза I трех полюсов. По данным Н.В. Шаминой (1989), их наличие часто наблюдается у растений при нормальных мейотических процессах. Проведенные нами дополнительные исследования показали, что в прометафазе мейоза у мягкой пшеницы действительно имеет место формирование достаточно симметричного трехполюсного веретена (рис. 4).

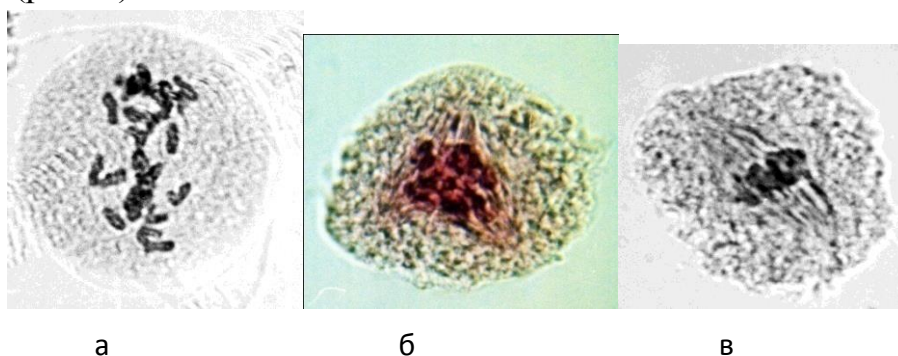


Рисунок 4. Процесс формирования веретена при первом мейотическом делении клеток у мягкой пшеницы: а – профазы; б – прометафазы; в – метафаза I. Ув. 60x10.

Наличие трех полюсов в прометафазе мейоза (рис. 4, б) дает основание предполагать, что два полюса принадлежат центральному веретену, а третий - кинетохорному. Последний, сформированный кинетохорами и зоной исходного

полюса, согласно предлагаемой схеме разводящих нитей, расщепляется на две составляющие части, которые при расхождении в противоположные стороны разводят кинетохорные нити и встраивают их в центральное веретено. В связи с уже произошедшей коориентацией центромер при запуске мейоза и синапсисе гомологов, разделение хромосом при реализации кинетических свойств микротрубочек будет происходить по типу редукционного деления. Нечто аналогичное было описано Б. Льюин с соавторами (2011).

Исходя из предложенной модели перехода хромосом от митоза к мейозу и концепции «разводящих нитей», становится понятен механизм поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы (misdivision). Результаты проведенных исследований показывают, что структурно-функциональные изменения в зоне исходного полюса проходят недостаточно корректно. Это, в свою очередь, вызывает смещение точек фиксации центромер хромосомы, находящейся в положении 2 (митотическом), в зону деления. В результате, сформировавшийся пучок кинетохорных микротрубочек при сегрегации зоны исходного полюса подвергается продольному расщеплению, что, в конечном итоге, и приводит к поперечному делению центромеры с различными модификациями его фенотипического проявления. При обычном эуплоидном состоянии генотипа подобного рода погрешности легко устраняются путем прерывания и восстановления связи центромер с полюсом группой хромосом, сохраняющих в переходный период свою прежнюю биполярную (митотическую) ориентацию.

Как следует из результатов проведенных исследований, полученное соотношение двух классов различного типа поведения унивалента близкое один к одному отражает лишь общую закономерность, присущую генотипу *Triticum aestivum* L. Конкретное же выражение этих пропорций в сильной степени зависело от принадлежности унивалента к той или иной хромосоме (Таблица 3).

По результатам проведенных цитологических исследований, чаще всего по униполярному типу вела себя моносома 2D (62,29 %), реже – 4В (39,46 %). Следовательно, согласно предложенной модели, коориентация центромер унивалента 2D в своем гаплоидном наборе чаще других осуществлялась динамическими изменениями исходного полюса (положение 1), а точки фиксации центромер его гомолога должны были оставаться в прежнем митотическом положении (положение 2). Что же касается хромосомы 4В, то здесь, наоборот, ее унивалент обладал наибольшей степенью вероятности оказаться в положении 2, а гомолог – в положении 1.

Индивидуальность поведения хромосом в моносомном состоянии может быть обусловлена эффектом положения точек фиксации центромер на полюсе и вызвана проявлением защитных механизмов, предотвращающих возможность

синапсиса гомеологов. Основанием для подобного рода предположения является, прежде всего, оценка критерием χ^2 гомеологических групп хромосом по частоте униполярной ориентации унивалента.

Согласно проведенным расчетам по шести группам гомеологов (все, кроме первой) в отношении рассматриваемого признака доказана их неоднородность. При более детальном анализе цифровых данных видно, что уровень значимости различия между ними определяется либо всеми представителями гомеологической группы, либо явным отличием одного из них. В этом плане не составляла исключения и первая гомеологическая группа, где при попарном сравнении 1D достоверно отличается от двух других своих гомеологов.

Оценка ранжированного ряда хромосом на их однородность по частоте униполярного типа поведения унивалента показала, что все они делятся на пять отдельных блоков (таблица 4).

Как видно из таблицы 4, хромосомы одного блока (кроме V) имеют близкие по значению показатели. Однако различия частот униполярной ориентации унивалентных хромосом двух смежных блоков оказываются высокодостоверными и определяются в пределах 1/16 части от 100 %. При этом в состав I, II и V входит по три хромосомы, III и IV – по шесть хромосом или по две группы, состоящие из трех хромосом.

Смысл подобного рода их распределения станет понятен, если принять во внимание пространственную гипотезу Фельдмана (Feldman, 1966; Feldman et al., 1966). Для этого ранжированный ряд представим в виде графика, вершину которого определяет хромосома с максимальным выражением признака, в то время как значения остальных хромосом равномерно распределяются по обе стороны в порядке их убывания (рисунок 5).

Таким образом, связь специфики поведения унивалента в анафазе I мейоза с принадлежностью его к той или иной гомеологической группе становится более чем очевидной. Как уже было сказано, униполярный тип поведения унивалента, так же как и биполярный, определяется характером прохождения динамических процессов в зоне исходного полюса. Согласно законам статистики (Гмурман, 1963; Колмогоров и др., 1982), вероятность того, у какого из двух гомологов точки фиксации центромер окажутся активно задействованы, во всех случаях должно составлять 50:50 %.

Как видно из таблицы 4 и рисунка 5, б, отсутствие проявления вмешательства генетического фактора наблюдалось по двум хромосомным ассоциациям, принадлежащим блоку III. В ассоциации же блока II, в среднем на 5,64 %, унивалентная хромосома реже вела себя по униполярному типу. Так как из-за различной жизнеспособности гамет с 20 и 21 хромосомами (Sears, 1953) у са-

моопыленного потомства моносомных растений в гемизиготном состоянии оказывается в основном хромосома отцовского родителя, можно сказать, что в данном случае чаще динамическими процессами исходного полюса была задействована зона точек фиксации хромосом материнского родителя. Еще более существенное отклонение в этом направлении имели хромосомы южной ассоциации. Их различия со смежной группировкой определялись в пределах 4,34 %, а максимальный отрыв от исходного (50 %) уровня достигал 10,56 %.

Таблица 4. Оценка ранжированного ряда хромосом на их однородность по частоте униполярной ориентации унивалента в анафазе I мейоза

Блок	Группа	Хромосома	Частота униполярной ориентации унивалента, %	Значение χ^2 при оценке хромосом			
				группы	блока	двух смежных групп	двух смежных блоков
I	1	4B	39,46				
		7D	39,69	0,57	0,57		
		2B	40,79				
						17,43*	17,43*
II	2	5A	43,32				
		3B	44,60	0,80	0,80		
		7A	44,90				
						15,47*	27,35*
III	3	1B	48,27				
		1A	48,74	0,10			
		5B	48,77				
						1,55	1,55
	4	3A	49,51				
		4D	50,14	0,17			
5D		50,15					
						7,08*	25,98*
IV	5	1D	52,58				
		7B	52,84	0,10			
		6B	53,23				
						1,21	0,98
	6	3D	53,83				
		4A	54,00	0,05			
6D		54,29					
						25,81*	42,94*
V	7	2A	56,85				
		6A	58,94	14,39*	14,39*		
		2D	62,99				
		X сред.	49,80				

Различия достоверны при $*p \leq 0,01$

Нечто аналогичное наблюдалось у хромосомных ассоциаций, расположенных на графике выше 50%-ной отметки, с той лишь разницей, что в этом случае смещение распределения частот проявления положения 1 при коориентации связи хромосом с полюсом происходит в сторону отцовского гомолога

(унивалентной хромосомы). Максимальная степень отклонения от 50%-ного уровня вероятности составила здесь 12,99 %. Общий размах изменчивости рассматриваемого признака по хромосомам анализируемого сорта достигает 23-24 %, что составляет $\frac{1}{4}$ часть от 100 %. Так как различия между смежными ассоциациями определяются в пределах 4-7 %, есть основания считать, что в 1/16 части всех возможных вариантов взаимного расположения хромосом в ядре возникает критическая ситуация для синапсиса гомеологов из двух смежных ассоциаций, которая не может быть устранена без вмешательства дополнительного генетического фактора.

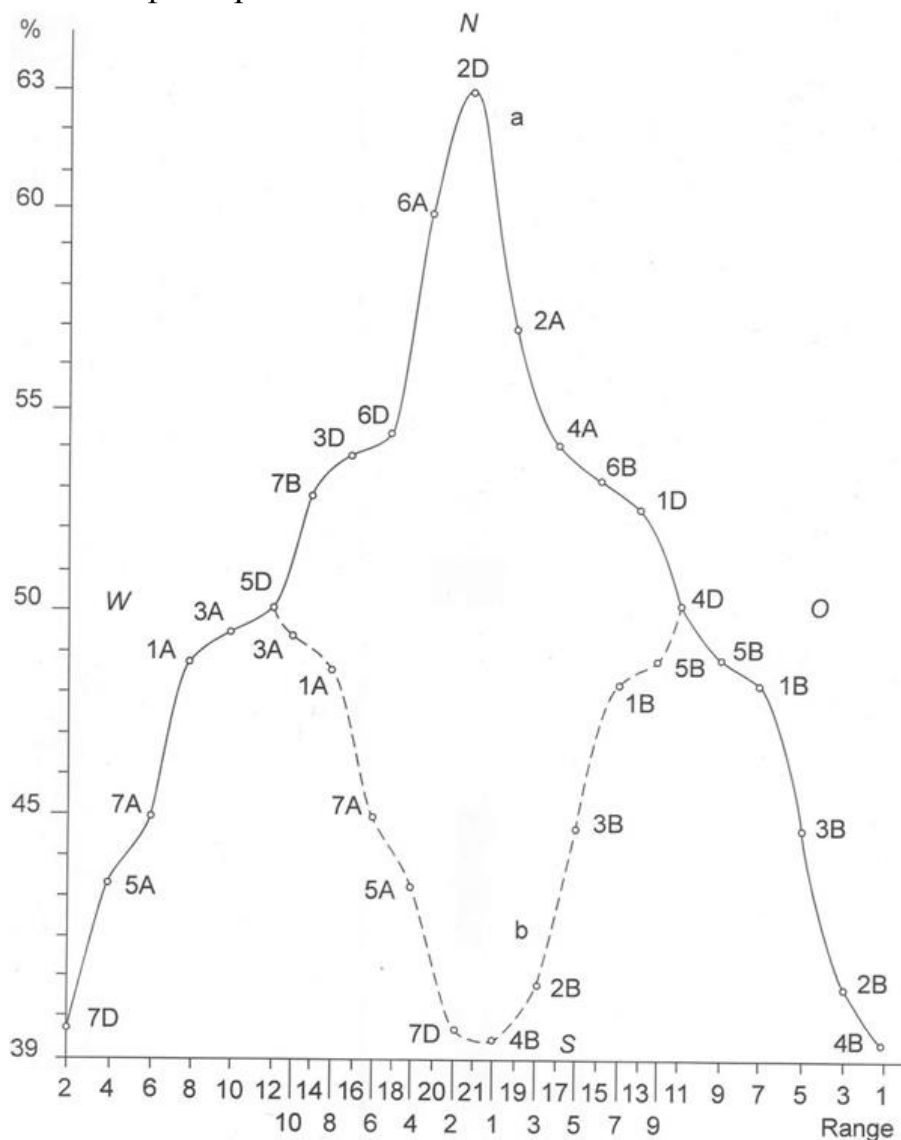


Рисунок 5. Кривая ранжированного распределения хромосом по частоте униполярной ориентации унивалента (а) и модель пространственного разведения хромосом по данному признаку (б). Условные обозначения: С – север; Ю – юг; З – запад; В – восток.

Как показывают результаты проведенных исследований, действие дополнительного генетического фактора направлено на замену участия в положении 1 перехода хромосом от эквационного типа деления к редукционному одного

гомолога на другой. Очевидно, организация хромосомно-полюсных связей в предмейотический период устроена таким образом, что при их коордации одновременно происходит сближение гомологов и разведение гомеологов. Поскольку, из-за сохранения одним гаплоидным набором связи с полюсом, процессы синапсиса проходят практически при фиксированном положении его центромер, то определяющую роль в предотвращении синапсиса гомеологов будет играть не столько пространственная разобщенность самих хромосом в ядре, сколько их прицентромерных районов. Если для теломерных участков, обладающих большей степенью свободы, спаривание гомеологов становится возможным, то по мере продвижения к центромерным зонам будет сказываться фактор их удаленности, препятствующий завершению построения совместного синаптонемального комплекса. Вполне вероятно, что распад мультивалентов на биваленты, имеющий место на ранних этапах мейотических преобразований (Hobolth, 1981; Jenkins, 1983; Holm, 1986), является следствием данного обстоятельства.

Результаты проведенных исследований показывают, что специфика организации пространственной изоляции гомеологов во многом зависит от того, точки фиксации центромер какого из двух гомологов будут активно задействованы структурно-динамическими изменениями зоны исходного полюса на первом этапе их коордации. К сожалению, мы не располагаем возможностью математической проработки ее модели. На данном этапе ясно одно, что в основе механизма предотвращения синапсиса гомеологов лежит пространственная их изоляция. При этом механизм включает в себя два основных элемента. Во-первых, это сам феномен пространственного разведения центромер при коордации полюсной связи хромосом одного гаплоидного набора и во-вторых – регулирование участия в этом процессе того или иного гомолога. Второй фактор не срабатывает, если ассоциации хромосом при разведении оказываются надежно пространственно защищены. В этом случае они составляют единый функциональный блок и фактически не различаются между собой по частоте униполярной ориентации унивалента (рис. 5, табл.5). Однако действие генетического фактора достоверно проявляется не только в отношении хромосом двух смежных ассоциаций, но и внутри ассоциации при наличии в ней гомеологов (северная ассоциация).

При разведении хромосом на графике по частоте униполярной ориентации унивалента (рис. 5) в двух случаях (6D и 6A, 2D и 2A) гомеологи оказываются в непосредственной близости друг от друга. Причем в одном из них (2D и 2A) особенность взаимного расположения точек фиксации центромер в зоне исходного полюса существенным образом ограничивает возможность их пространственного разобщения без дополнительного вмешательства второго гене-

тического фактора. При нарушениях в проявлении защитных его функций, связанных с заменой при коордации центромер в положении 1 одного гомолога на другой, существует реальная возможность для конъюгации хромосом 2A и 2D с образованием в метафазе I тетравалентов. Связь специфики поведения унивалента в анафазе I мейоза с проявлением механизма стабилизации аллополиплоидного генотипа пшеницы подтверждается результатами цитологического анализа метафазы I (табл. 1), согласно которым именно синапсисом этих двух гомеологичных хромосом обусловлено формирование тетравалентов у исходного сорта пшеницы Мильтурум 553.

Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе II

Переходной стадией от первого мейотического деления ко второму является интеркинез или профазы II. Именно в данный период происходят все необходимые структурные изменения, обеспечивающие в дальнейшем эквационное деление хромосом. При редукционном делении сестринские центромеры хромосом имеют смежное расположение (Paliulis, Nicklas, 2005) и униполярную ориентацию. При этом они сохраняют свою связь с полюсом после завершения телофазы I.

В ходе анализа диад, фиксированных в смеси Навашина (Wada, Kusunoki, 1964), часто наблюдались клетки со светлыми округлыми зонами у клеточной перегородки со стороны обеих монад (рис. 6, а). Вполне возможно, что именно в данном месте начинает свое формирование центральное веретено. Сам факт возможности обособленного его образования подтверждается более поздними наблюдениями за диадами, когда хромосомы оказывались вне зоны центрального веретена (рис. 6, б).

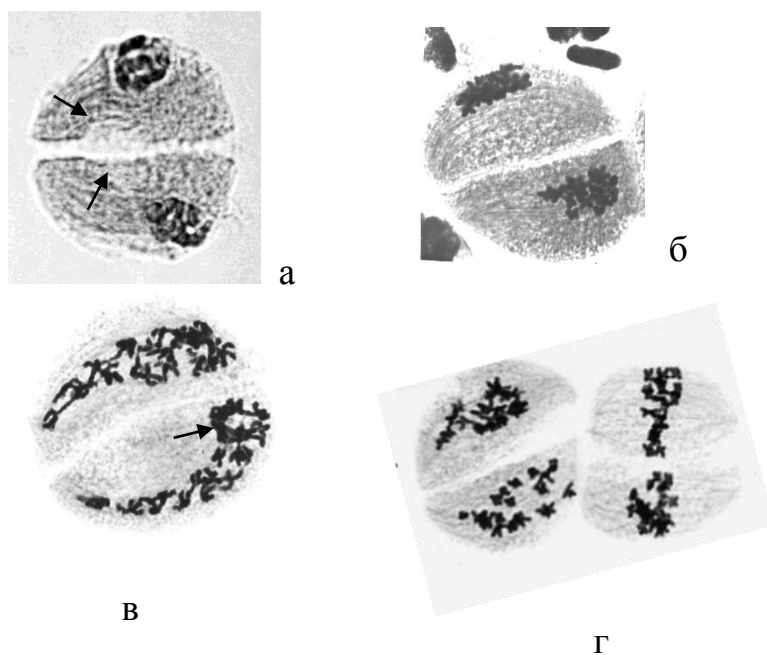


Рисунок 6. Интеркинез: а – наличие светлых зон в монадах у клеточной перегородки, ядра смещены к периферии клеток; б – построение центрального веретена деления; в – взаимодействие кинетохорных систем микротрубочек с центральным веретеном деления; г – построение хромосом в экваториальной зоне, метафаза II. Ув. 60x10.

Дальнейшее развитие событий в профазе II показало, что сохранившееся кинетохорное веретено взаимодействует с одним из противоположных полюсов центрального веретена с последующим разведением кинетохорных микротрубочек в противоположные стороны (рис. 6, в). Взаимодействия же двух систем микротрубочек, в конечном итоге, определяет расположение хромосом в экваториальной зоне (рис. 6, г).

Проявление моносомного состояния хромосом в метафазе II мейоза.

По результатам цитологических наблюдений, у моносомных линий в метафазе II преобладали нормальные клетки без отклонений. Однако, наряду с этим, отмечались конфигурации с отброшенной целой хромосомой, либо с одной или двумя хроматидами. В среднем по серии моносомных линий доля клеток без отклонений составила 74,43%. Характерно, что в метафазе II в среднем по серии моносомных линий существенно снизилась доля клеток с отброшенной целой хромосомой (10,34%) по сравнению с количеством анафазных клеток первого мейотического деления с аполярным типом поведения унивалента (19,43%). Данное обстоятельство указывает на возможность хромосомы, утратившей свою связь с зоной исходного полюса при редукционном делении, восстанавливать ее в профазе II. Тем не менее, проведенные соответствующие расчеты выявили слабую положительную корреляционную зависимость между двумя рассматриваемыми признаками ($r = 0,32$), что указывает на происходящие существенные изменения в перестройке хромосомной организации в ходе интеркинеза.

Наличие в метафазе II вне зоны экватора хроматид может быть связано, прежде всего, с поведением унивалента, имеющего в анафазе I биполярный тип ориентации. По усредненным данным присутствие в метафазе II двух отброшенных хроматид отмечалось с частотой 5,24 %, одной хроматиды – 8,77 %, при варьировании их параметров от 1,07% (7B) до 13,24% (4B) и от 3,52% (6B) до 19,59% (5D) соответственно.

Характер проявления моносомного состояния хромосом в анафазе II мейоза.

Из всей совокупности изученных клеток большая их часть в анафазе II не имела каких-либо отклонений. В среднем по серии их количество у моносомных растений составило 68,85 %. Размах изменчивости по линиям определялся от 51,11 % (5D) до 83,93 % (2D).

Стабильность прохождения анафазы II во многом определялась характером проявления моносомного состояния хромосом в анафазе I и метафазе II. По усредненным данным, доля клеток без отстающих элементов в анафазе II, по сравнению с анафазой I, увеличилась на 19,05%, а по сравнению с метафазой II снизилась на 5,05%. Проведенный корреляционный анализ между отдельными периодами мейотического процесса показал, что стабилизация анафазы II была

вызвана не только отсутствием отклонений в метафазе II и частотой униполярного поведения унивалента при редукционном делении, но и конкретным проявлением двух других типов поведения моносомы (аполярный и биполярный).

Наличие в межполюсной зоне целой унивалентной хромосомы в анафазе II наблюдалось относительно редко. Его среднее значение по серии моносомных линий составило 1,06%. Максимальное количество клеток с подобной конфигурацией (3,07%) наблюдалось у моносомных растений по хромосоме 7D, а минимальное (0,25%) – 6D.

Вторым существенным отклонением прохождения анафазы II у моносомных растений, как уже отмечалось ранее, является наличие одной или двух отстающих хроматид. По данным статистического анализа, присутствие двух хроматид значительно чаще наблюдалось в разных дочерних клетках, чем в одной. Последнее может быть связано с задержкой продольного расщепления унивалентной хромосомы, имеющей в анафазе I аполярный тип поведения. Статистический анализ количества клеток с отстающими хроматидами (за минусом случаев присутствия двух хроматид в одной клетке) показал широкий спектр варьирования его показателя по линиям. Их наличие, в среднем по серии моносомных линий, отмечалось с частотой 27,36%. При этом больше всего клеток с хроматидами было зарегистрировано у растений, моносомных по хромосоме 5D (45,90%), а минимальное их количество - по хромосоме 2D (13,32%).

При анализе полученных экспериментальных данных обращает на себя внимание, в отношении рассматриваемого признака, наличие некоторой дифференциации хромосом по их геномной принадлежности. Так, по данным статистического анализа, в пределах генома А коэффициент парной корреляции по наличию клеток с отстающими хроматидами между анафазой II и анафазой I составил 0,92, между анафазой и метафазой второго мейотического деления $r=0,13$, а анафазой I и метафазой II $r=0,16$. При этом характер варьирования рассматриваемого признака в пределах каждой фазы мейоза имел определенные признаки случайного распределения (рис.7).

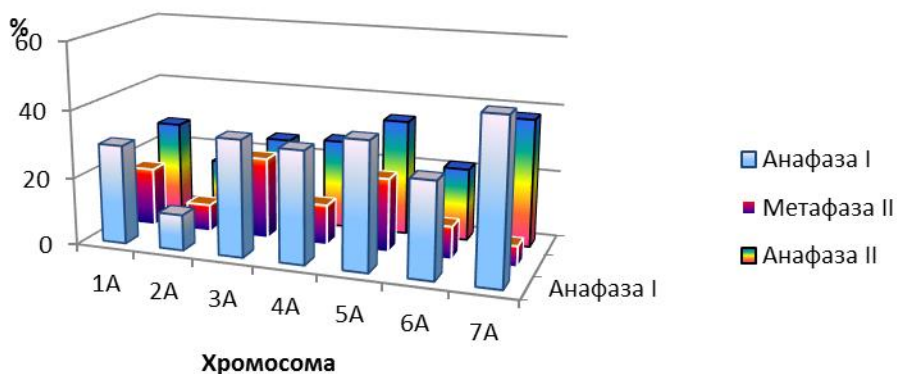


Рисунок 7. Гистограмма распределения частоты клеток с отстающими хроматидами на разных фазах мейотического деления по хромосомам генома А.

Несколько иная ситуация складывалась по хромосомам генома В (рис. 8). По данным, представленным на гистограмме, видно, что варьирование анализируемого признака по хромосомам было близким в анафазе II и анафазе I и имело волнообразный характер перехода от одной смежной хромосоме к другой. В этом плане существенно отличается динамика поведения хроматид по хромосомам в метафазе II. Доля клеток с отброшенными хроматидами сначала плавно возрастает при переходе от одной хромосомы к другой, а затем также плавно снижается. Вершину этой кривой представляет хромосома 4В (15,05%), а ее основаниями являются соответственно 1В (4,74%) и 7В (5,64%). Следует отметить, что хромосомы 7В и 7А в данном случае имели близкие по значению показатели (5,64 и 6,18% соответственно).

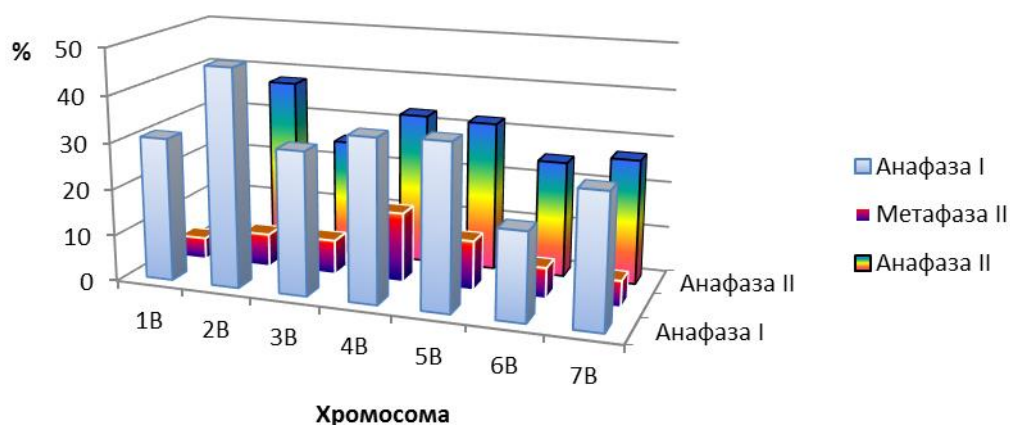


Рисунок 8. Гистограмма распределения частоты клеток с отстающими хроматидами на разных стадиях мейотического деления по хромосомам генома В.

По данным корреляционного анализа, одновременная связь анафазы II с анафазой I и метафазой II по частоте проявления наличия хроматид в пределах хромосом генома В оказалась не столь значительной, как это проявилось по геному А. Ее коэффициент множественной корреляции ($R_{y.xz}$) составил 0,41. Однако частный коэффициент корреляционной зависимости между анафазами первого и второго мейотического деления по рассматриваемому признаку был равен 0,91. При этом связь между анафазой и метафазой мейоза II имела среднее значение ($r_{yz.x} = 0,34$).

Своеобразно проявилась частота клеток с отстающими хроматидами среди хромосом генома D (рис. 9). Прежде всего, между всеми рассматриваемыми фазами мейоза (анафаза I, метафаза и анафаза II) при попарном сравнении наблюдалась тесная корреляционная зависимость. Их коэффициент корреляции находился в пределах 0,91 – 0,95. Следовательно, изменчивость признака в пределах каждой последующей мейотической фазы на 80 – 90 % определялась изменчивостью признака в предыдущей фазе мейоза. При этом коэффициент

множественной корреляционной зависимости характера прохождения анафазы II от анафазы I и метафазы II составил 0,94. Для хромосом генома D по каждой из рассматриваемых фаз мейоза оказалось характерным проявление тенденции характера распределения частот по типу нормального распределения.

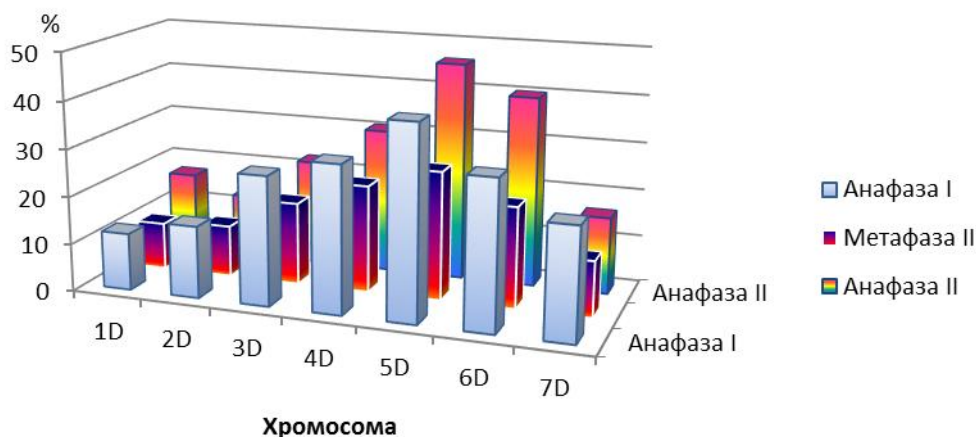


Рисунок 9. Гистограмма распределения частоты клеток с отстающими хроматидами на разных фазах мейотического деления по хромосомам генома D.

При сопоставлении гистограмм, представленных на рисунках 8, 9 и 10, достаточно хорошо просматривается дифференциация геномов по проявлению частоты наличия отстающих хроматид на различных этапах мейоза. Подобная геномная дифференциация хромосом в отношении анализируемого признака могла быть связана с эволюционной спецификой вхождения геномов в состав генотипа *Triticum aestivum* L.

Тетрадный анализ моносомных линий сорта пшеницы Мильтурум 553. Наличие отстающих элементов в анафазе II является прямым источником формирования микроядер в тетрадах. По данным цитологического анализа, большинство тетрад не имели каких-либо отклонений. Наряду с этим отмечались тетрады с одним, двумя, тремя и более микроядрами. Чаще всего имело место присутствие в тетрадах одного микроядра (21,85 %). Наличие двух микроядер в тетрадах в среднем отмечалось с частотой 10,30 %. При этом микроядра располагались в основном в разных микроспорах. Присутствие же двух микроядер в одной микроспоре было зарегистрировано лишь в 0,68 % случаев. Относительно редко (1,72 %) наблюдались тетрады с тремя и более микроядрами.

По данным корреляционного анализа, частота формирования микроядер в тетрадах определялась главным образом характером поведения унивалента в мейозе I и, в частности, его биполярным типом, приводившим к образованию в анафазе I хроматид и телоцентрических хромосом ($r = 0,89$). При сравнительном анализе анафазы II с отстающими элементами и тетрад с микроядрами оказалось, что, несмотря на высокую корреляционную зависимость ($r = 0,84$), раз-

личия между ними не всегда имели одинаковое значение. В ряде случаев количество тетрад с микроядрами существенно превышало теоретически ожидаемое, исходя из наличия отстающих элементов в анафазе II. Подобного рода изменения процентного соотношения, установленного в анафазе II, в пользу увеличения количества тетрад с микроядрами могут быть вызваны тем обстоятельством, что хроматида или ее фрагмент (телоцентрик) оказывались в положении merotelic. В этом случае они будут передвигаться к полюсу с наибольшей силой приложения (натяжения). При их достижении и демонтажа основных несущих элементов конструкции связующих нитей до уровня необходимой достаточности для поддержания связи центромеры с полюсом срабатывает нить противоположной силы натяжения, которая практически на завершающей стадии телофазы II выдергивает данную хроматиду или ее телоцентрик из состава ядра, увеличивая тем самым количественный состав тетрад с микроядрами.

По данным тетрадного анализа, мейотический индекс исходного сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 составил 97,8 %. Его средний показатель у моносомных растений был равен 66,12 %. При этом мейотический индекс существенно варьировал по линиям. Оценка хромосом семи гомеологичных групп показала их достоверные различия.

Генетическая функция хромосомы 3D в определении стабильности прохождения отдельных фаз мейоза.

У растений, моносомных по хромосоме 3D, начиная с профазы II, наблюдались нарушения цитокинеза. В одной или сразу двух сестринских клетках диады имело место преждевременное формирование перегородки. Аналогичное явление происходило и в метафазе II. При завершении цитокинеза на данной стадии формировались тетрады, отдельные микроспоры которых имели по два ядра, в то время как другие ядер не имели.

Нарушения пространственной ориентации цитотомии наиболее наглядно проявилось в анафазе II, когда в одной из сестринских клеток зона расположения перегородки значительно отклонялась от экваториальной плоскости. Возникновение дополнительных перегородок наблюдалось и в микроспорах тетрад.

Кроме этого в отдельных микроспорах сформировавшихся тетрад имело место дополнительное деление гаплоидных ядер. Нарушения цитотомии и карิโอкинеза приводили к формированию полиад различной конфигурации. Частота образования клеток с аномалиями мейоза составила 2,3%. Их отсутствие у исходного сорта и остальных 20 моносомных линий дает основания считать, что хромосома 3D обладает способностью регулировать связь цитокинеза с карิโอкинезом во времени и пространстве. Очевидно, она содержит ген (гены) осуществляющий (-ие) точку контроля (checkpoint) данных процессов.

Асинаптический мейоз у межвидовых гибридов пшеницы (*Triticum aestivum* L. x *Triticum durum* Desf.)

При скрещивании мягкой пшеницы с твердой, гибриды F₁ в метафазе I имеют 14 бивалентов и 7 унивалентов. Гибриды F₂ представляют собой популяцию растений с различным уровнем ploидности их генотипов. При этом выщепляются формы, имеющие в метафазе I от 21 до 14 бивалентов и соответственно от 0 до 7 унивалентов.

За период проводимых исследований по изучению мейоза, у межвидовых гибридов пшеницы F₂ было проанализировано 15 гибридных комбинаций. У 13 из них мейоз проходил относительно нормально. Однако в гибридных комбинациях, где в качестве материнского родителя использовался сорт яровой мягкой пшеницы Омская 36, выщеплялись растения с асинаптическим мейозом. По результатам цитологического анализа, в метафазе I и диакинезе вместо бивалентов наблюдались униваленты. Причем общее количество хромосом у растений с асинаптическим мейозом варьировало от 28 до 35.

Статистический анализ полученных экспериментальных данных показал, что по всем трем критическим гибридным комбинациям наблюдалось дигенное расщепление. При этом фактическое соотношение растений с нормальным мейозом и асинаптическим оказалось близким к теоретически ожидаемому соотношению 13:3. Отклонение фактического расщепления (13:3) от теоретически ожидаемого 15:1 могло быть получено в данном случае при неодинаковой экспрессивности генов, когда один из них, будучи в моногетерозиготном состоянии, не мог в полной мере обеспечить нормальное прохождение мейоза.

Результаты проведенных цитологических исследований метафазы I у сортов Омская 36 и Мильтурум 553 показали, что анализируемый сорт обладал достаточно стабильным прохождением мейоза. Омская 36 уступала Мильтурум 553 по количеству кольцевых бивалентов на клетку, но превосходила по числу хиазм на бивалент. Полученные экспериментальные данные показывают, что сорт Омская 36 обладает достаточно эффективным геном детерминации синапсиса хромосом, который идентичен по своему действию аналогичному базисному гену рода *Triticum*. Очевидно, при создании рассматриваемого сорта произошла транслокация, в результате которой базисный ген, контролирующий синапсис гомологичных хромосом, был перемещен с одной хромосомы на другую. Наличие растений с асинаптическим мейозом при гемизиготном состоянии всех хромосом генома D показывает, что обмен участками между хромосомами мог произойти только в пределах двух геномов – A и B. На основании результатов проведенных исследований, есть основания считать, что их функция связана с детерминацией ориентации центромер при переходе хромосом от митоза к мейозу. В связи с этим локусы двух анализируемых генов

могут быть обозначены символами *Coor1* и *Coor2* (co-orientation) соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что использование полной серии моносомных линий пшеницы обладает достаточно высокой разрешающей способностью в изучении мейоза. Включение в проводимые исследования, кроме моносомных растений, сестринские дисомики значительно расширяет возможности цитогенетического анализа отдельных мейотических признаков, позволяя не только дополнительно выявлять контролирующие гены, но и устанавливать характер их действия и взаимодействия.

Проведенный анализ анафазы I у моносомных растений и соответствующий статистический анализ полученных экспериментальных данных убедительно показали, что характер поведения унивалента на данной стадии полностью подчиняется тем механизмам мейотических процессов, которые имеют место при обычном эуплоидном состоянии генотипа. Наблюдения за поведением каждой хромосомы в гемизиготном состоянии позволили выявить те мейотические процессы, которые остаются незамеченными в случае полного набора хромосом.

Весьма эффективным оказалось исследование мейоза у межвидовых гибридов пшеницы. Именно пентаплоидное состояние генотипа в первом поколении позволило выявить в F_2 новый мейотический ген синапсиса хромосом, который не аллелен базисному гену рода *Triticum*.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что отклонения сестринских дисомиков от рекуррентного родителя обусловлены переопределением генетических связей, вызванных моносомным состоянием хромосом. Для полного восстановления генотипа в ряде случаев требуется несколько регенераций. Использование сестринских дисомиков в цитогенетических исследованиях может быть принято как способ, позволяющий устанавливать характер действия и взаимодействия генов, контролирующих мейотические признаки.

2. Установлено, что конъюгация хромосом контролируется большим количеством генов, включающих гены промоторы и ингибиторы, гены с автономной функциональной активностью и с сопряженным типом действия, обладающие и не обладающие одинаковой экспрессивностью в одной и двух дозах.

3. Изучение анафазы I у моносомных линий анализируемой серии показало, что характер поведения унивалента подчиняется механизмам мейотических процессов, имеющим место в нормальном эуплоидном генотипе.

4. Способность унивалента с частотой 50% вести себя по типу редукционного деления показывает, что пусковым механизмом перехода хромосом от

митоза к мейозу является смена полюсной ориентации центромер в зоне исходного полюса одного гаплоидного набора хромосом, в то время как второй гаплоидный набор сохраняет свою прежнюю биполярную (митотическую) ориентацию.

5. Проявление аполярного типа поведения унивалента в анафазе I свидетельствует о том, что после начала синапсиса хромосом те из гомологов, которые до сих пор сохраняли свою прежнюю митотическую ориентацию центромер, утрачивают свою связь с зоной исходного полюса и восстанавливают ее по завершению конъюгации, но не в прежнем митотическом порядке, а в последовательности, соответствующей редукционному типу деления.

6. По результатам проведенного статистического анализа вариационного ряда частоты униполярного типа поведения унивалента в анафазе I и соответствующих графических построений установлено, что предотвращение синапсиса гомологов у аллогексаплоидного вида пшеницы достигается путем пространственного их разведения и вмешательства генетического фактора, осуществляющего при полюсной коориентации центром в предмейотической интерфазе замену одного гомолога на другой. Сохранение пространственной изоляции гомологов во время конъюгации обеспечивается тем обстоятельством, что синапсис хромосом проходит при фиксированном положении центромер одного гаплоидного набора.

7. Сегрегация хромосом в мейозе I, согласно предлагаемой концепции «разводящих нитей», осуществляется путем разведения кинетохорного веретена, встраивание его в центральное веретено деления с последующей реализацией свойств кинетического порядка. При этом формирование центрального и кинетохорного веретена происходит раздельно, образуя в прометафазе I трехполюсное веретено.

8. Согласно результатам проведенных цитологических наблюдений, в профазе II центральное веретено деления формируется в автономном режиме. Дальнейшая сегрегация хромосом осуществляется путем взаимодействия кинетохорных нитей с центральным веретеном.

9. Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе II определяется спецификой поведения унивалента в анафазе I. При этом в метафазе и анафазе второго деления наблюдается дифференциация хромосом по их геномной принадлежности.

10. По данным цитологического анализа хромосома 3D мягкой пшеницы обладает геном (генами), контролирующим (-ими) связь кариокинеза и цитокинеза во времени и пространстве. Кроме того, хромосома 3D определяет момент завершения кариокинеза и цитокинеза на заключительном этапе микроспорогенеза.

11. На основании проведенного цитогенетического анализа мейоза у межвидовых гибридов пшеницы было установлено, что синапсис хромосом коммерческого сорта Омская 36 определяется геном, который по своей экспрессивности идентичен, но не аллелен базисному гену рода *Triticum*.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и зарубежных изданиях

1. Жарков, Н.А. Анеуплоидная модель механизмов мейотических преобразований у пшеницы. 1. Механизм перехода хромосом от митоза к мейозу. – Цитология и генетика. – 2001. – Т.35, № 4. – С. 18-24.

2. Жарков, Н.А. Анеуплоидная модель механизмов мейотических преобразований у пшеницы. 2. Предотвращение синапсиса гомеологов. – Цитология и генетика. – 2001. – Т.35, № 4. – С. 25-32.

3. Жарков, Н.А. Характер поведения унивалента у серии моносомных линий сорта пшеницы Мильтурум 553 во втором мейотическом делении микроспорцитов. – Цитология и генетика. – 2003. – Т.37, № 5. – С. 41-48.

4. Серюкова Е.Г., Дорогова Н.В., Жарков Н.А., Шамина Н.В. Нарушения прометафазы, приводящие к реституции ядер. – Цитология. – 2003.- Т.45, №3.- С. 244-248.

5. Жарков, Н.А. Разрешающая способность анализа моносомных линий в цитогенетических исследованиях мягкой пшеницы. – Цитология и генетика. – 2004. – Т.38, №3. – С.22-28

6. Shamina N.V., Zharkov N.A., Omelyanchuk L.V. Feed-back regulation of successive meiotic cytokinesis. - Cell Biol. Int. – 2009. – 33(3). - P. 393-401.

7. Жарков, Н.А. Механизм поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы у *Triticum aestivum* L. – Эл. Журнал Современные проблемы науки и образования. – 2013. - №1(45).

8. Жарков, Н.А. Асинаптический мейоз у межвидовых гибридов пшеницы //Фундаментальные исследования. - 2013. - №8 (часть 6). – С. 1390-1394.

9. Жарков, Н.А. Автоориентация хромосом в мейозе II у *Triticum aestivum* L. –Эл. Журнал Современные проблемы науки и образования. – 2015. - №1(57). URL: www.science.education.ru/121-18329.

10. Жарков, Н.А. Состав популяции серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 - Эл. журнал Современные проблемы науки и образования. – 2016. - № 6.URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25503> (дата обращения: 16.11.2016).

Материалы международных и всероссийских съездов, совещаний и конференций

11. Zharkov, N.A. Pattern of common wheat chromosome univalent meiotic behavior as an exhibition of the special cell division organization. - Ewac newsletter (Proceedings of the 11th EWAC Conference). 2001. - P. 180-183.

12. Цильке Р.А., Цильке И.А., Жарков Н.А., Присяжная Л.П. Новая серия анеуплоидов мягкой яровой пшеницы. – Тезисы докладов международного генетического конгресса. – М.д. 97к. – С.303.

13. Жарков, Н.А. Поведение унивалента хромосом мягкой пшеницы в мейозе как проявление особой организации клеточного деления // Тез. докл. 11-й конф. Европейского об-ва по анеуплоидам пшеницы, посвящ. Памяти О.И. Майстренко (24-28 июля 2000 г., г. Новосибирск, Россия). Новосибирск, 2000. – С 102.

14. Жарков, Н.А. Характер поведения унивалента в анафазе I у серии моносомных линий пшеницы как проявление механизмов мейотических процессов /Н.А. Жарков// Всероссийская конференция «50 лет ВОГиС: успехи и перспективы»: тез. докл. – Москва, 8-10 ноября 2016. – С. 156

Материалы региональных конференций и совещаний

15. Жарков, Н.А. Цитогенетический контроль мейотических и хозяйственно ценных признаков яровой мягкой пшеницы // Материалы научно-методической конференции по растениеводству, селекции, биотехнологии и семеноводству, посвященной 170-летию опытного дела (г. Омск, 30-31 июля 1998) / Пути стабилизации урожая и повышение качества сельскохозяйственной продукции. – 1998. – С. 44-46.

16. Жарков, Н.А., Кубрина Л.В. Цитологическая идентификация межвидовых гибридов *T. aestivum* L. x *T. durum* Desf. // Сибирские ученые - аграрно-промышленному комплексу: Мат. докл. конф. ученых, посвященной 30-летию Селекционного центра СибНИИСХ (г. Омск, 15 декабря 2000 г.) – Омск, 2000. – С. 47-48.

17. Жарков, Н.А. Анеуплоидная модель механизма перехода хромосом от митоза к мейозу // Доклады и сообщения генетико-селекционной школы (19-23 апреля 1999 г.) / Задачи селекции и пути их решения в Сибири. – 2000. – С.195-197.

Статьи в аналитических сборниках

18. Кубрина Л.В., Жарков Н.А. Характер расщепления межвидовых гибридов (*T. aestivum* L. x *T. Durum* Desf.) в F_2 и BC_1 по числу хромосом // Естественные науки и экология: Сб. науч. Тр. – Омск: Изд-во ОмГПУ, 2000. – Вып.5. – С. 34-36.