

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
СИБИРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОГО
ХОЗЯЙСТВА
(ФГБНУ «СИБНИИСХ»)

На правах рукописи

ЖАРКОВ НИКОЛАЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

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

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

03.02.07 – Генетика

Диссертация
На соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант –
доктор биологических наук, профессор
Р.А. Цильке

Омск 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
1 Клеточный цикл. Митоз. Мейоз (обзор литературы)	13
1.1 Клеточный цикл, митоз	13
1.2 Мейоз.....	35
1.2.1 Морфология мейоза.....	35
1.2.2 Генетический контроль мейотических признаков	48
1.2.3 Специфика мейоза у <i>Triticum aestivum</i> L.	53
2 Материал, условия и методика проведения исследований	63
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	67
3 Серия моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553.....	67
3.1 Краткая история создания серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553	68
3.2 Морфология хромосом сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553	69
3.3 Состав популяции серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553	73
4 Проявление эффекта дозового состояния хромосом в метафазе I мейоза	84
4.1 Идентификация негомологичного синапсиса хромосом у сорта пшеницы Мильтурум 553.....	85
4.2 Цитогенетический контроль конъюгации гомологичных хромосом у мягкой пшеницы.....	89
5 Характер поведения унивалента при мейотическом делении клеток у <i>Triticum aestivum</i> L.	115
5.1 Специфика поведения унивалента в анафазе I как результат проявления механизмов перехода хромосом от митоза к мейозу и синапсиса гомологичных пар.....	116
5.2 Формирование диад у серии моносомных линий сорта	

яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553.....	160
5.3 Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе II.....	163
5.3.1 Проявление моносомного состояния хромосом в метафазе II мейоза.....	166
5.3.2 Характер проявления моносомного состояния хромосом в анафазе II мейоза.....	174
5.3.3 Тетрадный анализ моносомных линий сорта пшеницы Мильтурум 553.....	193
6 Генетическая функция хромосомы 3D в определении стабильности прохождения отдельных фаз мейоза	203
7 Асинаптический мейоз у межвидовых гибридов пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L. X <i>Triticum durum</i> Desf.)	209
Заключение	217
Выводы	224
Список публикации по теме	226
Список цитируемой литературы	229
Приложения	271

Введение

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 внимание многих исследователей. Для его изучения использовались цитологические и генетические методы. Основные этапы исследования мейоза достаточно подробно изложены А.А. Прокофьевой-Бельговской во введении к книге: «Цитология и генетика мейоза» (1975).

В цитогенетической практике для изучения мейоза привлекаются самые различные представители растительного и животного мира. Наиболее эффективно в качестве моделей используются дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*), нематоды (*Caenorhabditis elegans*), дрозофила (*Drosophila melanogaster*), арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*), кукуруза (*Zea mays*) и другие (Богданов, 2003). При этом исследования проводятся с привлечением отдаленных гибридов, аллоплазматических линий, гаплоидов, полиплоидов, мутантных форм. Последние использовались наиболее эффективно в изучении генетического контроля мейотических процессов. Так, на основе полученных мутаций у кукурузы, были выявлены гены, осуществляющие запуск мейоза (*am1*), регуляцию первого деления мейоза (*afd1*), расхождение гомологичных хромосом (*dv1*, *ms43*, *seg 513*), синапсис хромосом (*dsy1-dsy4*) и ряда других мейотических признаков (Голубовская, 1997). Особый вклад в дело изучения синапсиса хромосом внесли исследования, проводимые на спонтанных мейотических мутантах ржи (*Secale cereale*), выделенных с использованием метода инбридинга (Соснихина и др., 2003). Составленная коллекция включает 15 синаптических мутантов, обозначенных символами *su* с порядковыми номерами (Соснихина и др., 1994). На основании проведенных исследований было

сделано заключение, что синапсис хромосом определяется большим числом генов.

В последние два десятилетия внимание ученых было обращено на изучение молекулярных механизмов мейоза (Богданов, 2000). Основные направления проводимых исследований достаточно четко были определены Ю.Ф. Богдановым (Богданов, 2003). Прежде всего, это изучение молекулярных и ультраструктурных механизмов мейотической рекомбинации. Так было доказано, что основным фактором инициирующим рекомбинацию является ферментативный разрыв двух нитей ДНК, интерпретируемый как double strand breaks, или DSBs (Богданов, 2003; Miller et al., 2012; Greer et al. 2012; Naranjo, 2012). Второе направление сводится к изучению структуры и функции белков мейотических хромосом (Miller et al., 2012; Naranjo, 2012; Greer et al. 2012). И третье направление связано с исследованиями движения мейотических хромосом (Miller et al., 2012; Gloria, Amon, 2008). Установлено, что особую роль в клеточном цикле, митозе и мейозе играют циклины и циклин-зависимые киназы (Омельянчук, 2002; Омельянчук и др., 2004; Miller et al., 2012; Greer et al. 2012; Naranjo, 2012; Cimini et al., 2003; Chan et al., 2005; Biedermann et al., 2009; Von Stetina et al., 2011 и др.).

Однако, не смотря на достигнутые успехи, целый ряд вопросов, связанных с отдельными этапами мейотического цикла, остаются еще не решенными. Касаясь рассматриваемой в предлагаемой работе тематики, следует отметить следующие два 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 периода практически отсутствуют какие-либо положения, объясняющие механизм перехода хромосом от митоза к мейозу.

Для решения этих и других вопросов мейотического деления клеток особое место занимают 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 анализировать те элементы мейотического процесса, которые в обычном эуплоидном состоянии генотипа остаются для наблюдателя незамеченными. В данном случае одним из основных моментов является правильный методологический подход к проводимым исследованиям. В своих опытах над растительными гибридами Г. Мендель (Мендель, 1965) показал, что основные законы наследования подчиняются статистическим законам распределения вероятности появления двух равновероятных событий и двух равновероятных взаимоисключающих событий. Передача же наследственной информации в ряду поколений связана с передачей хромосом, в которых расположены гены. Распределение же хромосом по дочерним клеткам при гаметогенезе представляет основу менделевского закона независимого наследования признаков (Sutton, 1902; Morgan et al., 1915). Таким образом, характер поведения хромосом в мейозе подчиняется тем же статистическим законам вероятности распределения двух событий. Следовательно, изучение мейотических процессов у анеуплоидов следует вести, исходя из менделевского подхода к анализу характера поведения унивалента в мейозе. Однако те возможности, которые предоставляет серия моносомных линий в изучении мейотических процессов так и не были до конца использованы. Проводимые исследования на моносомных линиях обычно имели фрагментарный характер и ограничивались не полным их набором с минимальной выборкой анализируемых клеток (Sears, 1952; Morrison, 1953; Лбова, 1973). При этом они носили чаще всего описательный характер.

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

vit 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, включающая в себя совокупность генов промоторов и ингибиторов, гены с автономной функциональной активностью и гены с сопряженным типом действия, обладающие и не обладающие одинаковой эффективностью в двух и одной дозах. 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 гомологов 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 унивалентной 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 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. 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, 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 посевами, 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 связаны 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 за 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 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, проблемы 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); на Всероссийской конференции «50 лет ВОГиС: успехи и перспективы», Москва (8-10 ноября, 2016).

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.

Работа была выполнена в Сибирском научно-исследовательском институте сельского хозяйства (г. Омск).

Автор выражает особую благодарность своим родителям: отцу Жаркову Александру Архиповичу и маме Жарковой Анне Дмитриевне, администрации института «СИБНИИСХ» за предоставленную возможность реализации наме-

ченной программы научно-исследовательской работы, своим учителям и наставникам Р. А. Цильке и И.А. Цильке, а также Л.П. Присяжной (Россеевой) за оказанную помощь в выполнении экспериментальной части работы. Автор также выражает благодарность своим оппонентам.

Глубочайшую признательность автор выражает своему сын Жаркову Сергею и снохе Жарковой Светлане за оказанную помощь в освоении навыков работы с компьютером и корректировке стилистического построения текста диссертации.

1 КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ, МИТОЗ, МЕЙОЗ (Обзор литературы)

В царстве эукариотов, к которому относятся животные и растения, существует два основных типа деления клеток: митоз и мейоз. Основной функцией митоза является пропорциональное распределение удвоенного генетического материала между дочерними клетками. При мейозе происходит перераспределение данного генетического материала между дочерними клетками с уменьшением количества хромосом вдвое. При этом митотическое деление клеток предшествует мейотическому. Принято считать, что мейоз возник из митоза, на основе преобразования митотического аппарата деления, становления процессов рекомбинации и формирования на молекулярном уровне синаптонемного комплекса (Богданов, 2008; Богданов, Коломиец, 2007; Марков, 2008; Торгашева, 2013). Таким образом, митоз и мейоз оказываются связанными между собой не только своей преемственностью, но и наличием между ними общих или близких по содержанию процессов клеточного деления. Таким образом, исходя из вышесказанного и учитывая специфику выносимых на защиту положений, в данном случае целесообразен обзор литературы не только по мейозу, но и по клеточному циклу, включающему митоз.

1.1 Клеточный цикл, митоз

С момента слияния женских и мужских гамет и до начала мейоза происходит достаточно большое количество клеточных циклов, сопровождаемых дифференциацией и специализацией клеток. В клеточном цикле различают две стадии – период клеточного роста (интерфаза) и период клеточного деления (митоз). Интерфаза состоит из нескольких фаз: G_1 , S и G_2 (Cooper, 2000). Дифференцированные клетки, которые больше не делятся, находятся в фазе покоя G_0 .

Пресинтетическая фаза G_1 следует сразу после деления клеток и характеризуется их ростом и накоплением запасных веществ. В данный период наблюдается деление структур, способных к ауторепродукции (митохондрий, хлоро-

пластов). В синтетическую фазу S происходит удвоение генетического материала с образованием двойной спирали ДНК. Фаза G₂ характеризуется процессами, связанными с исправлением погрешностей при синтезе ДНК в S период. Кроме того, в данный момент имеет место накопление энергии и питательных веществ, синтез ядерных белков. Основным же событием клеточного цикла является репликация ДНК и сегрегация дублированных хромосом между дочерними клетками. Ошибки во время данных процессов могут привести к врожденным аномалиям.

В результате ряда проведенных оригинальных исследований было показано, что переход от одной фазы клеточного цикла к другой является генетически контролируемым. При этом два основных класса молекул - циклины и циклин-зависимые киназы (CDKs) определяют прохождение клетки через клеточный цикл (Nigg, 1995). Leland H. Hartwell, R. Timothy Hunt и Paul M. Nurse получили в 2001 году Нобелевскую премию по физиологии и медицине за открытия этих центральных молекул (Омельянчук, 2002).

Циклин-зависимые киназы были сначала обнаружены генетическими и биохимическими исследованиями на модельных организмах, таких как дрожжи и лягушки (Malumbres, Barbacid, 2005). Так, Л. Хартвеллом с сотрудниками (Hartwell et al., 1974) у *Saccharomyces cerevisiae* были выявлены гены *cdc7* и *cdc28* (*cell division cycle*), продукты которых участвуют в контроле перехода от фазы G₁ к S, интерпретируемый как “Старт”.

Гены, контролирующие переход от G₂ к M, были также обнаружены на основе анализа размера клеток у мутаций *wee*, *cdc25* и *cdc2* делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* (Russell, Nurse, 1987). В опытах с ооцитами выявлен переход клеток к митозу при отсутствии гормона прогестерона. Данный фактор был обозначен как MPF (Maturation promoting Factor). Установлено, что MPF кроме каталитической субъединицы (аналог Cdc2) содержит циклин B, который синтезируется и периодически распадается в клеточном цикле (Evans et al., 1983; Pines, Hunt, 1987). Таким образом, MPF является гетеродимером, состав-

ленный из одной молекулы циклина В и одной из *Cdc2* (*cell division cycle*). Позже, *Cdc2* стал известным как *Cdk1*, так как на Колд-Спринг-Харборском симпозиуме по клеточному циклу в 1991 году было предложено киназы, которые связаны с циклинами, обозначить как "циклин-зависимые киназы" или Cdk's (Doree & Hunt, 2002). Таким образом, основными компонентами регуляции клеточного цикла являются протеинкиназы, циклины, CDK-активирующие киназы, фосфатазы, ингибиторы циклиновых киназ.

Циклин-зависимые киназы (CDKs) - относительно маленькие белки, с молекулярными массами в пределах от 34 - 40 килодальтонов, и содержат в себе немного больше, чем область киназы (Morgan, 2007). Известно несколько циклин-киназ, которые по большей части своей гомологичны и отличаются между собой в первую очередь конфигурацией сайта связывания циклинов. Однако каждая из них выполняет свои определенные функции. Каждая из CDK активируется одним или несколькими циклинами и иными подобными молекулами. При групповом активировании CDK протеинкиназа передается от одного к другому циклину, поддерживая тем самым ее активность на протяжении G1- и S-фаз.

Циклины включают в себя около 30 белков с массой от 35 до 90 килодальтонов (Malumbres, 2014). Структурной особенностью циклинов является наличие циклинового бокса, включающего в свою полипептидную цепь около 100 последовательностей аминокислот. У многих из них есть два циклиновых бокса. Один амино-терминальный бокс, осуществляющий связь циклина с CDKs, другой – карбокси-терминальный, который требуется для надлежащего сворачивания циклиновой молекулы. По характеру своего поведения в клеточном цикле циклины могут быть разделены на четыре класса: G1/S, S, G2 и M. Однако подразделение циклинов по фазам клеточного цикла не универсально, поскольку у некоторых циклинов существуют различные функции. Поэтому была предложена иная классификация циклинов, включающая следующие основные группы: I (циклины группы В: А-, В-, D-, Е-, F-, G, J, I и O; II (циклины

группы Y); III (циклины группы C: C-, H-, K-, L- и T). Группа I играет ключевые роли в клеточном цикле, группа II различается по специфике действия в царстве эукариотов (растения, грибы, животные), группа III участвует в процессах транскрипции (Ma et al., 2013; Cao et al., 2014).

Установлено, что циклины при соединении с циклин-зависимыми киназами образуют активные гетеродимеры, которые выполняют общую биохимическую реакцию, названную фосфорилированием. При этом они активируют или инактивируют целевые белки, чтобы организовать скоординированный вход в следующую фазу клеточного цикла. Различные cyclin-CDK комбинации определяют последующее предназначение белков. CDKs образуют свою экспрессию в клетках тогда, когда циклины синтезируются на определенных стадиях клеточного цикла, в ответ на различные молекулярные сигналы (Robbins and Cotran, 2004). Конкретным сочетанием циклинов и циклин-зависимых киназ в комплексах определяется их функция на различных стадиях клеточного цикла. Однако в клетках млекопитающих CDK1, с его партнерами cyclin A2 и B1, один может вести клеточный цикл (Satyanarayana, Kaldis, 2009).

Для полной активации циклин-зависимых протеинкиназ должно произойти соответствующее фосфорилирование и дефосфорилирование определенных аминокислотных остатков (сайтов) полипептидной цепи комплекса, подобно тому, как это происходит с киназой cdc2 у дрожжей. Одним из ферментов, осуществляющим подобные реакции, является киназа САК (CDK activating kinase).

АТФ-связывающим участком всех киназ является расселина между маленькой амино-терминальной долей и большой карбоксил-терминальной долей (Morgan, 2007). Изучение структуры человеческого Cdk2 показало, что у CDKs есть модифицированный АТФ-связывающий участок, который может быть отрегулирован закреплением циклина. Фосфорилирование CDK-активирующей киназой (САК) в Thr 161 на T-петле усиливает активность комплекса. Без циклина гибкая петля, названная петлей активации или T-петлей, блокирует расселину, и положение нескольких ключевых остатков аминокислоты оказывается

не оптимальным для АТФ-закрепления (Malumbres, 2014). У циклина С две альфа-спирали (завитка) изменяют положение, чтобы разрешить закрепление АТФ. Одна из них, спираль L12, которая прибывает как раз перед Т-петлей в начале последовательности оснований, становится β -берегом и помогает перестроить Т-петлю, таким образом, что она больше не блокирует активный сайт. Другая альфа-спираль названная спиралью PSTAIRE перестраивает и помогает изменить положение ключевых остатков аминокислоты в активном месте. По данным литературных источников (Morgan, 1997; Malumbres, 2014) закрепление циклинов определяет специфику циклин-CDK комплекса по отношению к особым субстратам.

Кроме активации фосфорилирования белков, большое значение в регулировании клеточного цикла имеет и ее запрещение. Различные киназы и фосфатазы регулируют данный процесс. Активность *cdc2* у дрожжей определяется отсутствием фосфорилирования тирозина (Tyr15 или Y-сайта). Одной из киназ, которая имеет фосфат тирозина, является Wee1. Делящиеся дрожжи *S. pombe* также имеют вторую киназу Mik1, обладающую способностью фосфорилировать тирозин. Второй киназой у позвоночных животных является Myt1, которая связана с Wee1, но может фосфорилировать и треонин и тирозин. Фосфатазы же семейства Cdc25 дефосфорилируют и треонин и тирозин, активизируя тем самым протеинкиназы (Morgan, 2007).

В состав киназ, регулирующих клеточный цикл, входят циклин-зависимые киназы ингибиторы (CKI). CKI представляет собой белок, который взаимодействует с циклин-CDK комплексом, чтобы заблокировать деятельность киназы, обычно во время G1 или в ответ на внешние сигналы от поврежденной ДНК (Morgan, 2007). В клетках животных выделяют два семейства белков CKI: INK4 и CIP/KIP. Семейство белков INK4 относится к строго запрещающим. Анализ кристаллической структуры CDK6-INK4 комплекса показал, что закрепление INK4 скручивает CDK и тем самым искажает закрепление циклина и деятельность киназы. Белки семейства CIP/KIP связываются с циклин-

CDK комплексами и могут быть ингибиторами и активаторами. В частности белки CIP/KIP активируют циклин D и CDK4 или CDK6 комплексы.

У дрожжей и дрозифилы SKIs являются сильными ингибиторами CDK, управляющими S и M фазами клеточного цикла. В то же время они не подавляют CDKs, регулирующие переход от G1 к S (G1/S-CDKs). Во время G1 высокие уровни SKIs препятствуют нарушению прохождения клеточного цикла, но не препятствует переходу через контрольно-пропускной пункт, «Старт» которого начат через G1/S-CDKs.

Циклин-зависимые киназы, непосредственно участвующие в регулировании клеточного цикла, часто связываются с маленькими белками (9-13 кДа), обозначенными как Suk1 и Sks (Morgan, 1997). Эти белки требуются для функционирования CDK, но их точная роль до конца не известна.

Некоторые CDKs не требуют фосфорилирования в сегменте их активации и киназы могут принять правильную структуру через другие взаимодействия. Так активаторами CDK6 могут быть вирусы (Nebreda, 2006), а в отношении CDK5 - негомологичные семейству циклинов специфические белки типа p35 и p36 (Mouron et al., 2010).

Важным моментом клеточного цикла является тот факт, что пространственная локализация белков-регуляторов клеточного деления обеспечивает его временной контроль (Омельянчук и др., 2004).

На основании анализа мутации *rad9* был сделан вывод, что переход G2-M занимает особое место в клеточном цикле, так как он представляет собой точку контроля (checkpoint). По определению, данному Л. Омельянчук с соавторами (2004), "точки контроля" клеточного цикла представляют собой сигнальные системы, с помощью которых клетка контролирует завершение одних событий и готовность перехода к другим событиям цикла. При этом различают сигналы о повреждении ДНК, репликации ДНК, целостности митотического аппарата. Важная функция многих контрольно-пропускных пунктов заключается в оценке размера ущерба ДНК, который был обнаружен механизмами дат-

чика. Когда повреждение найдено, контрольно-пропускной пункт использует механизм сигнала для того чтобы остановить клеточный цикл, пока проводится ремонт или, если ремонт не может быть осуществлен, чтобы разрушить клетку через апоптоз (механизм исполнительного элемента). Все контрольно-пропускные пункты, которые оценивают размер ущерба ДНК, используют в основном тот же самый сигнал датчика – механизм исполнительного элемента.

Контрольно-пропускной пункт повреждения ДНК всегда активен. Тем не менее, при дифференциации клеток возникает необходимость выхода их из клеточного цикла. В клеточном цикле существует стадия, на которой клетка чувствительна к действию ростовых факторов. Идентифицируется она как точка рестрикции (restriction point, RP) и находится в поздней фазе G1. В данном пункте ограничения (RP или контрольно-пропускной пункт ограничения) клетки, которые должны прекратить деление, выходят из клеточного цикла и входят в G₀. Обратное же вхождение в клеточный цикл возможно только в случае преодоления RP. По данным M.D. Planas-Silva и R.A. Weinberg (1997) точка рестрикции не совпадает с точкой контроля перехода G1 в S.

Точки контроля, на которых осуществляется задержка прохождения по циклу, вызванная нарушениями, находятся на стадиях перехода G1 –S, G2 –M, M–A. В опытах с мутаген-чувствительными мутациями *S. cerevisiae* по морфологическим признакам было выделено два класса. Мутации класса *rad52* нарушают репарацию ДНК, но не затрагивают механизм обратной связи, который обеспечивает задержку клеток. В результате останавливается движение клеток по циклу развития, но продолжается процесс ее роста. Нечто аналогичное наблюдалось нами и при микроспорогенезе, когда клетка на стадии метафазы I приобретала фантастические размеры (рис. 1.1).

Торможение клеток при переходе от G2 фазы к M может быть вызвано различными факторами, включая мутагены и действие экстремальных температур. Основным фактором задержки клеточного цикла в данном случае является поломка нитей ДНК. С помощью анализа мутантных форм *Sch. pombe* были вы-

явлены гены, кодирующие белки, которые участвуют в репликации ДНК. Целостность же ДНК у *Sch. pombe* при переходе G1-S в норме контролируют следующие гены: *rad3*, *rad9*, *rad17*, *hus1*, *cdc18*, *cdt1*, *cut5*, *rum1*.

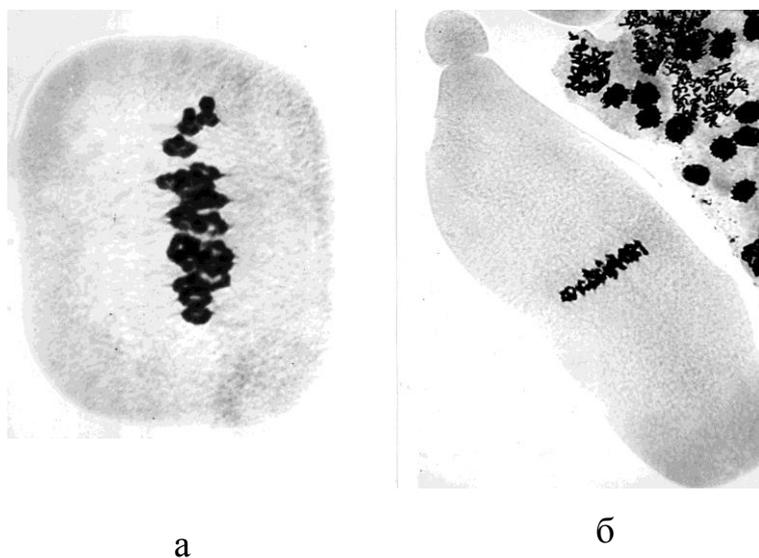


Рисунок 1.1 - Клетки микроспороцитов *Triticum aestivum* L. на стадии метафазы I мейоза: а – нормального размера; б – увеличенного размера.

Система точек контроля включает в себя белки-сенсоры и эффекторы. Белки-сенсоры контролируют завершение событий клеточного цикла и посылают соответствующие сигналы, которые принимаются эффекторами. Последние же осуществляют задержку перехода клеток к следующему циклу (Murray, 1992). К сенсорам повреждений можно отнести белки, кодируемые генами *rad1*, *rad9*, *cdc18*, *rad17*, *rad24* и другие (Murray, 1992; Lydall, Weinert, 1995; Weinert et al., 1994; Sanchez et al. 1999). Механизмы активации и передачи сигналов о задержке клеточного цикла в точке контроля достаточно сложны и во многом связаны с процессами фосфорилирования (Омельянчук и др., 2004).

В клеточном цикле кроме правильного прохождения репликации ДНК большое значение имеет нормальное расхождение хромосом (сегрегация). Точки контроля перехода метафазы в анафазу (М-А) определяют правильность сборки веретена деления и прикрепления его нитей к хромосомам. В случае нарушения веретена под действием реагентов, MPS1 передает сигналы на ветви Mad2 и Bub2 (Alexandru et al., 1999; Fraschini et al., 1999; Feaquet et al., 1999).

Взаимодействие белков в точке контроля метафаза-анафаза имеет так же достаточно сложную цепь передачи (Омельянчук, 2004). В качестве эффекторов (исполнителей) перехода из метафазы в анафазу служат белки Pds1 (сепарин) и MPF. Для перехода из метафазы в анафазу необходима инактивация Pds1, отвечающего за спаренность хромосом и деструкция фактора MPF, которая требуется для нормального прохождения анафазы и телофазы (Sanchez et al., 1999). При этом завершение митоза сопровождается протеолизом циклинов (Elledge, 1998).

Есть данные о том, что клетки осуществляют контроль над количеством и состоянием кинетохор до вступления их в анафазу (Murray, Hunt, 1993). В связи с этим следует отметить, что белки, вовлеченные в функционирование метафазной точки контроля, связаны с кинетохорами, центросомами и микротрубочками (Walters et al., 1998; Jin D.Y. et al., 1998; Taylor, McKeon, 1997; Davidson, Niehrs, 2010).

Как уже отмечалось ранее, протеинкиназы сами по себе не активны. Для их активации требуется связывание со специальными белками – циклинами (Cyc). Сформировавшийся комплекс C-Cdk каждой последующей стадии цикла должен инактивировать комплекс предыдущей стадии, стимулировать события своей стадии и способствовать образованию или стимуляции комплекса следующей стадии. Запуск клеточного цикла осуществляют комплексы CycD(1-3)-Cdk4 и 6. Данные гетеродимеры функционируют на начальном этапе после митоза (G1) и вызывают целый ряд процессов, связанных с ростом клеток, синтезом белков для репликации и т.д. Для осуществления митотического деления необходимо действие внешних стимуляторов, в качестве которых могут быть специфические факторы роста (митогены). Факторы роста, реагируя на соответствующие рецепторы клеток, активируют целый ряд специфических ферментов и тем самым приводят к запуску транскрипционного ряда генов.

Действие комплексов G1 периода осуществляется следующим образом. Белок pRb (ретинобластома) ингибирует комплекс транскрипционных факторов

семейства E2F и DP. Его действие определяется сродством в нефосфорилированном состоянии с комплексом транскрипционных факторов. Под действием активных комплексов CysD/Cdk4 и CysE/Cdk2 (CysD-Cdk4,6) белки семейства Rb фосфорилируются, обеспечивая тем самым освобождение факторов транскрипции (Dataretal., 2000; Dyson 1998; Malumbres, Barbacid, 2001). В результате их активации запускаются в работу гены ключевых ферментов репликации ДНК, гены транскрипционных факторов стимулирующих экспрессию гена циклина В, гены компонентов комплексов последующих стадий клеточного цикла. В конце периода G1 фосфорилируются ингибиторы и клетка входит в S-фазу.

Основными комплексами S-периода являются CysA-Cdk2 и CysB-Cdk2. Они стабильны в интерфазе и быстро разрушаются в митозе (Glitzler et al. 1991). Их основной задачей является обеспечение нормального прохождения репликации ДНК. В конце G1-периода при освобождении от ингибирования активизируются комплексы S-фазы, которые фосфорилируют белки репликации. При этом изменяется конфигурация этих белков и репликативный комплекс начинает работать. Примечательно, что в фосфорилированном состоянии репликативный комплекс может связаться с точкой начала репликации (ТНР) только один раз. Переход из G2 в М регулируется CysA/Cdk1 (Pines, Hunter, 1995). Кроме репликации ДНК в S- и G2-периоды должно произойти образование MPF (mitosis-promoting factor), удвоение центриолей и синтез тубулина для образования веретена деления.

Митотическое деление клеток у растений и животных наиболее полно было описано W. Flemming (1882) и E. Strasburger (1882), хотя его ранее наблюдали и другие исследователи.

Митоз является процессом клеточного цикла, при котором хромосомы в ядре делятся на два идентичных набора хромосом, каждый из которых образует свое собственное ядро. Митоз сопровождается цитокинезом, который делит цитоплазму и входящие в нее органоиды и клеточную мембрану на две равные доли (Carter, 2014). Митоз и цитокинез вместе определяют митотическую (М)

фазу клеточного цикла и составляют около 20% всего клеточного цикла.

Митотический цикл деления клетки включает в себя ряд последовательных событий, разделенных на следующие стадии: профазы, прометафаза, метафаза, анафаза, телофаза. В растительной клетке перед профазой выделяют еще предшествующую ей стадию препрофазы (Lackie, 2013). В клетках растений из-за наличия вакуоли ядро располагается на периферии. Однако для начала митотических процессов оно должно мигрировать в центр клетки. Это достигается посредством формирования особой поперечной пластины цитоплазмы – фрагмосомы, которая, пересекая вакуоль в экваториальной плоскости, определяет место будущего деления клетки (Льюин и др., 2011). При этом ядро оказывается в центре данной фрагмосомы. В дополнение к последней, в препрофазе формируется кольцо микротрубочек и активизируются филаменты под мембраной вокруг экваториальной зоны. Весь этот комплекс исчезает после распада ядерной оболочки в прометафазе (Raven et al., 2005).

Началом профазы условно принято считать возникновение микроскопически видимых хромосом, образующихся вследствие конденсации хроматина. В данном процессе особую роль играет митоз-стимулирующий фактор MPF (mitosis-promoting factor). MPF представляет собой комплекс Cdc2-Cdk1, который образуется в период G1. Данный гетеродимер фосфорилирует гистон H1 и другие белки. В результате эти белки изменяют свою конфигурацию и становятся способными связываться с ДНК, производя ее конденсацию. В результате снижается транскрипционная активность хроматина. Кроме этого инактивируются ядрышковые гены и большая часть их белков диссоциирует. На ранней стадии профазы сестринские хроматиды с помощью белков-когезинов остаются спаренными по всей длине. Однако к концу профазы связь между хроматидами сохраняется только в зоне центромеры. К этому времени на каждой центромере формируются кинетохоры (Ченцов, 2004).

В профазе также начинает формироваться митотическое веретено, в образовании которого принимают участие полярные тельца, микротрубочки и ки-

нетохоры (Ченцов, 2004). При этом существенно меняются динамические свойства микротрубочек. Сокращая длительность своего существования, они существенно увеличивают скорость роста (Албертс и др., 1993; Ченцов, 2004). В этот период реплицированные в S-фазе centrosомы расходятся в противоположные направления. Своими минус-концами микротрубочки погружаются в аморфное тело centrosом, а плюс-концами, за счет их полимеризации, достигают экваториальной зоны клетки. Параллельно с формообразующими процессами в профазе происходит фрагментация эндоплазматического ретикула, рибосомы теряют связь с мембранами ЭР, цистерны аппарата Гольджи меняют свою околядерную локализацию (Ченцов, 2004).

Следующая фаза, прометафаза начинается с распада ядерной мембраны (Morgan, 2007). Данный процесс определяется действием MPF, который катализирует фосфорилирование остатков серина промежуточных филаментов ядерной ламины и конструкция разрушается (Ченцов, 2004). После разрушения ядерной оболочки хромосомы хаотично располагаются в области ядра. При открытом митозе в этот период микротрубочки проникают в зону ядра. При закрытом митозе (грибы, морские водоросли и другие), где оболочка ядра сохраняется, веретено формируется в ядре или его микротрубочки проникают через микропоры (Heuwood, 1978; Ribiero et al., 2002). Эти микротрубочки связываются с хромосомами и перемещают их в экваториальную зону. На данном этапе клетка достигает метафазы.

В метафазе хромосомы выравниваются в середине веретена деления, формируя метафазную пластину. В данный период наступает стадия ожидания сигнала перехода метафазы в анафазу. Считается, что этот период является наиболее критическим событием клеточного цикла (Reis et al., 2012). В анафазе сестринские хроматиды расходятся к противоположным полюсам. Заключительной стадией митоза является телофаза, когда демонтируется веретено, хромосомы деконденсируют и вновь образуется ядерная оболочка. Материалом для формирования мембран служат фрагменты изначально распавшейся ядерной мембра-

ны материнской клетки и элементы эндоплазматического ретикула (Алов, 1972). В это время вновь появляются ядрышки, хромосомы деконденсируют. После этого наступает цитокинез, который может проходить путем формирования перетяжки (у животных) или путем образования клеточной перегородки (у растений). В результате делится цитоплазма и образуется две независимые дочерние клетки (Reis et al., 2012).

Управление митотическими процессами базируется главным образом на механизмах фосфорилирования и протеолиза (Nigg, 2001). С помощью фосфорилирования осуществляется контроль над обратимыми процессами, а протеолиза – необратимыми. MPF (mitosis-promoting factor), состоящий из одной молекулы циклина В и одной молекулы циклин-зависимой киназы Cdk1, управляет входом в митоз (Masui & Markert, 1971). Его накопление и последующая активация приводит к фосфорилированию нескольких оснований, ответственных за морфологические изменения, которые происходят на ранних стадиях митоза. В частности - разрушение ядерной оболочки, разделение центросомы, сборка веретена, уплотнение хромосом, фрагментация эндоплазматического ретикула и аппарата гольджи. Однако протеолиз или разборка cyclin-Cdk1 требуется для выхода из митоза и цитокинеза. Кроме того протеолиз вызывает некоторые ключевые события, такие как разделение сестринских хроматид при переходе метафазы в анафазу.

В сегрегации хромосом и делении клеток важную роль играет веретено деления, представляющее собой динамическую структуру. Веретено образуют три структурных элемента: микротрубочки, полюса деления и хромосомы. Организаторами полюсов деления у животных являются центросомы, содержащие центриоли. У растений центросомы отсутствуют, и образуется ацентросомальное веретено с широкими полюсами (Redei, 2008). Между полюсами располагаются конденсированные хромосомы, состоящие из двух сестринских хроматид, скрепленных в области центромер. На центромерах формируются кинетохоры, обеспечивающие прикрепление хромосом к микротрубочкам веретена

(Льюн и др., 2011).

Митотическое веретено представляет собой симметрическую веретенообразную структуру, состоящую из микротрубочек. Микротрубочки являются гетеродимерами, составленными из α - и β -тубулина. При этом β -тубулин располагается в одном конце микротрубочки (плюс-конец), а α -тубулин – в другом (минус-конец) (Desai & Mitchison, 1997). В зависимости от положения плюс концов микротрубочки могут быть разделены на три группы: звездные или астральные (Льюн и др., 2011), межполюсные и кинетохорные (Reis & Voesbaa, 2012). Звездные микротрубочки происходят от полюсов веретена, распределяются по цитоплазме и взаимодействуют плюс концами с клеточной оболочкой. Межполюсные микротрубочки распространяются от полюсов веретена до средней зоны экватора, где они, взаимодействуя между собой, образуют достаточно жесткое соединение. Кинетохорные микротрубочки соединяют полюса веретена с хромосомами. Причем минус концы конденсируются у полюсов, а плюс концы - у кинетохоров.

Сборка веретена деления инициируется в профазе. В клетках животных оно начинается с разделения и расхождения пары центросом, которое обеспечивается моторными белками динеинами и их последующей связи с астральными микротрубочками.

У растений отсутствуют центриоли. Поэтому роль центра организатора микротрубочек в профазе выполняет ядерная оболочка. Микротрубочки собираются вблизи поверхности ядра и затем ориентируются вдоль оси будущего веретена (Evert, Eichhorn, 2013).

Для растений характерна самоорганизация компонентов веретена деления при его сборке, которая происходит при участии трех групп моторных белков (Morgan, 2007; Льюн и др., 2011). Белки семейства кинезин-5 (K₅) связываются с двумя противоположно ориентированными микротрубочками, производят сортировку и их «сшивание» в районе плюс-концов. Белки семейства кинезин-4 и -10 (хромкинезины), локализованные на плечах хромосом, связывают вбли-

зи находящиеся к хромосомам микротрубочки и перемещаются к их плюс-концу. В результате плечо хромосомы оказывается связано с плюс-концом, а минус конец - дистанцирован. Цитоплазматические динеины, кинезин-14 принимает участие в фокусировке полюсов деления.

Весьма примечательно происходит сборка веретена деления с участием центросом. При этом, в зависимости от времени их расхождения относительно распада ядерной оболочки, выделяют два механизма его образования (Льюн и др., 2011).

1. При распаде ядерной оболочки до начала расхождения центросом, высвободившиеся хромосомы образуют «однополярное» веретено с микротрубочками, расходящимися от спаренных центросом. Дальнейшее образование двухполюсного веретена происходит в результате разведения центриолей, вызванных силами отталкивания перекрывающихся микротрубочек и под действием тянущих сил астральных микротрубочек.

2. Расхождение центросом и образование первичного веретена до разрушения оболочки ядра. В данном случае веретено образуется за счет тянущих сил астральных микротрубочек. Первичное веретено нестабильно и для придания его устойчивости необходимо взаимодействие с кинетохорами хромосом.

Кинетохоры представляют собой достаточно сложную белковую структуру, которая формируются на хромосомах и являются важным пунктом их контакта с микротрубочками митотического веретена (McAinsh et al., 2003; Nauf, Watanabe, 2004; Chan et al., 2005; Reis, Bousbaa, 2012). В настоящее время выделяют три различных типа кинетохор (Cleveland et al., 2003; Dernburg, 2001). Маленькие кинетохоры у почкующих дрожжей, которые связываются с единственной микротрубочкой. Эти кинетохоры состоят из 60 подъединиц, организованных во множество подкомплексов (McAinsh et al., 2003). У многих других организмах кинетохоры составляют от 100-500 нм в диаметре и связывают от 3 до 20 микротрубочек. У некоторых растений и животных есть так называемые голоцентрические хромосомы, кинетохоры которых располагаются

по всей хромосоме (Dernburg, 2001).

В организмах с моноцентрической хромосомой сборка кинетохоров осуществляется на специализированном участке хромосомы, центромере. У почкующих дрожжей центромера определяется в пределах 125 последовательностей bp (basepair) ДНК. У высших эукариотов количество последовательностей нуклеотидных пар намного больше (примерно около 1 Mbp) и состоит в основном из повторных элементов, главным образом гетерохроматина (Amor et al., 2004; Biggins & Walczak, 2003). В данном регионе присутствуют специализированные нуклеосомы, в которых гистон H3 заменен на CENP-A (Центромерный протеин А). Считается, что CENP-A важен для определения места формирования кинетохора. Однако его роль в данном процессе еще до конца не ясна (Bowers, Mellone, 2011). Были получены экспериментальные данные, свидетельствующие как о недостаточности CENP-A для построения функционального кинетохора (Van Hooser et al., 2001; Gascoigne et al., 2011), так и его достаточности (Barnhart et al., 2011; Guse et al., 2011). В центромерах позвоночных кроме CENP-A присутствуют и другие белки, названные как образующая сеть центромерной ассоциации или CCAN (Cheeseman, Desai, 2008). Количественный и качественный состав белков в процессе клеточного цикла, определяющий формирование кинетохора, оказывается весьма динамичным, что указывает на существование достаточно сложного регулирующего процесса (Reis, Bousbaal, 2012).

На молекулярном уровне состав кинетохор представлен большим количеством белков. Кинетохоры многоклеточных организмов собраны из повторных подъединиц (Zinkowski, 1991), где каждое повторение могло бы отразить модуль единицы кинетохора дрожжей. По данным электронной микроскопии кинетохор имеет трехслойную структуру и располагается на противоположных сторонах центромерного гетерохроматина митотической хромосомы (Brinkley, Stubblefield, 1966). Она состоит из электронно-плотной внутренней пластины, расположенной на поверхности центромерного гетерохроматина, электронно-

плотной внешней пластины и более легкого среднего слоя (Reis, Bousbaa, 2012). Рабочая зона (волокнистая корона) располагается на поверхности внешней пластины и содержит большинство известных белков взаимодействующих с микротрубочками (CENP-E, динеин и другие), а также белк контрольно-пропускного пункта (Bub1, BubR1, Mad 1, Mad2, Mps1 Nuf2 Zwint-1 и другие). Временной порядок локализации белков может быть представлен следующим образом: hBub1 – CENP-F– hBubR1 – CENP-E (Chan et al., 2005). В целом же сбор белка на кинетохорах зависит от многих ветвей и является взаимосвязанным.

Считается, что успех точной сегрегации хромосом в митозе во многом определяется их надлежащим прикреплением к микротрубочкам митотического веретена (Reis, Bousbaal, 2012; Cimini et al., 2003; Chan et al., 2005). Соответственно кинетохор является той структурой, которая обеспечивает место фиксации полимеров микротрубочек. Сам механизм контакта кинетохор-микротрубочки зависит от способа формирования митотического веретена (Gadde, Heald, 2004). При наличии в клетках centrosom, которые являются центром организации веретена деления, присоединение кинетохор к микротрубочкам осуществляется путем «поиска и захвата» (Kirshner, Mitchison, 1986). При этом данный процесс управляется Ran-GTP градиентом, концентрирующим вокруг хромосомы (Clarke, Zhang, 2008; Wollman et al., 2005; Weaver et al., 2015). Динамические непостоянные микротрубочки исследуют пространство («поиск») и стабилизируются после контакта с кинетохорами («захват»). Примечательно, что при нормальной ориентации хромосом присоединение сестринских кинетохор к противоположным полюсам веретена происходит практически одновременно (Hauf, Watanabe, 2004). В большинстве же случаев хромосома сначала закрепляется одним из кинетохоров к одному полюсу, а затем второй кинетохор захватывает микротрубочки от другого полюса. При этом взаимодействие кинетохор-микротрубочки может иметь пошаговое развитие, в прометафазе (шаги 1-3), метафазе (шаг 4) и анафазе (шаг 5) (Tanaka, 2010). Кинетохоры

первоначально взаимодействуют с боковой поверхностью микротрубочек полюсного веретена (решеткой). Данный процесс часто облегчается контактом кинетохорных микротрубочек с микротрубочками центрального веретена (Kitamura et al., 2010). Вопрос о прикреплении одного или обоих сестринских кинетохор во время бокового приложения остается открытым. Шаг 2 характеризуется транспортировкой кинетохора (скольжение) к полюсу веретена. Во время ассоциации кинетохора с решетчатой конструкцией микротрубочек устанавливается приращение кинетохора к плюс-концам микротрубочек (лобовое приложение), с помощью которых осуществляется дальнейшее движение хромосом к полюсу. Лобовое приложение считается более предпочтительным для би-ориентации, чем боковое (Joglekar et al., 2010). В то же время механизм преобразования бокового приложения в лобовое остается не ясным. Примечательно, что в зависимости от вида предлагаются различные белки, необходимые для подобного рода манипуляции (Gassmann et al., 2008; Gaitanos et al., 2009; Tanaka, 2010).

Дальнейшие шаги контакта двух составляющих комплексов митотического веретена деления связывают с приращением к сестринским кинетохорам полюсных микротрубочек, исправлением допущенных ошибок (шаг 3), создание напряженности приводящей к би-ориентации хромосом (шаг 4), сегрегация сестринских хроматид к противоположным полюсам (шаг 5) (Tanaka, 2010).

Считается, что хромосома достигает полюса веретена одним кинетохором, когда его сестринский кинетохор остается неприкрепленным (Hauf, Watanabe, 2004; Морган, 2007; Reis, Bousbaal, 2012). Подобного рода фиксация хромосомы идентифицируется как монотелик (monotelic). Соответственно, изначальная ориентация кинетохор «спина к спине» обеспечивает захват свободного кинетохора ищущими микротрубочками от противоположного полюса. В результате достигается би-ориентация хромосомы или амфителик (amphitelic) приложение.

Кроме вышеуказанной модели существует и альтернативная модель при-

соединения кинетохоров к веретену, которая подходит как для клеток с центриолями, так и лишенных аналогичных структур. В данном случае вблизи хромосом происходит нуклеация коротких микротрубочек. Своим плюс-концом микротрубочки встраиваются в кинетохоры с последующим их регулируемым ростом (полимеризацией). Удлиняющиеся минус-концы с помощью моторных белков фокусируются в области полюсов. При наличии centrosом они способствуют присоединению кинетохорных микротрубочек к полюсам деления (Morgan, 2007).

Согласно литературным источникам (Hauf, Watanabe, 2004; Gregan et al., 2011; Reis, Vossbaal, 2012), стохастическая природа механизма поиска и захвата часто приводит к неправильному соединению кинетохора с микротрубочками. При митотическом делении клеток может произойти два типа нарушений: *sin-telic* приложения, когда оба сестринских кинетохора оказываются фиксированными микротрубочками от одного полюса и *merotelic*, где один из кинетохоров связан с обоими полюсами веретена. Правильность соединения кинетохор-микротрубочки контролируется системой контроля сборки веретена или SAC (Spindle assembly checkpoint). В случае *sin-telic* приложения нарушение обнаруживается по отсутствию напряжения на кинетохоре. При *merotelic* ориентации кинетохора отклонения не всегда выявляются, что в конечном итоге приводит к анеуплоидии (Cimini, 2001). J. Gregan соавторами (Gregan et al., 2011) выделяют три основных причины, вызывающие неправильное присоединение кинетохор к микротрубочкам:

1. Нарушение организации центрального гетерохроматина;
2. Отсутствие полного уплотнения хромосомы;
3. Нарушение сборки биполярного веретена.

В проведенных исследованиях D. Cimini с соавторами (Cimini et al., 2003) было показано, что меротелик ориентация кинетохора происходит очень часто во время раннего митоза в тканях млекопитающих. Так на стадии прометафазы приблизительно в 30% клеток Ptk1 кинетохоры имели меротелик ориентации.

Стабильность же митотического деления клеток достигается благодаря существованию механизмов исправления неправильного прикрепления микротрубочек к кинетохорам (Cimini et al., 2003; Chan et al., 2005; Hauf, Watanabe, 2004; Gregan et al., 2001; Reis, Bousbaa, 2012). По данным В. Nicklas и S. Ward (1994) исправление определенных ошибок в митозе требует захвата и освобождения кинетохор микротрубочками. При этом неверно прикрепленные микротрубочки должны быть освобождены, а новые кинетохорные трубочки захвачены. Примечательно, что авторы, указывая на невероятность происходящих событий, отмечают, что захват и освобождение совпадают по времени (Nicklas, Ward, 1994). По мнению D. Cimini с соавторами (Cimini et al., 2003) механизм исправления неправильного присоединения кинетохор перед анафазой связан с увеличением отношения кинетохорных микротрубочек, прикрепленных к правильному полюсу против неправильного. В свою очередь данное обстоятельство может привести к переориентации кинетохор. Увеличение соотношения микротрубочек к противоположным полюсам – основа для второго механизма, активного в анафазе, который способствует сегрегации хромосом к своим полюсам (меротелик ориентация). По мнению исследователей митотического веретена деления, кинетохор контролирует ориентацию и присоединение микротрубочек, исправляет любые ошибки, которые происходят (Overview: The Mitotic Spindle, 2007).

Кинетохоры многоклеточных содержат моторные белки CENP-E, динеин/динактин и KinI кинезин MCAK (Yen et al., 1992; Pfarr et al., 1990; Steuer et al., 1990; Wordeman, Mitchison, 1995) и связующие белки микротрубочек CLIP170, CLASP/Orbit, EB1, Sgo1 и APC (Chan et al., 2005). Белки CLIP170, CLASP/Orbit, Sgo1 связываются с кинетохором независимо от микротрубочек. Фиксация же EB1 и белков APC зависит от микротрубочек. Механические взаимодействия между кинетохором и веретеном контролируются белками: Mad1, Mad2, Mad3, Bub1, Bub3, Mps1. У млекопитающих, кроме всего прочего, способствует контрольно-пропускному пункту (checkpoint) и белок Rael, кото-

рый структурно связан с Bub3. BubR1 (гомолог Mad3) локализован на внешней пластине кинетохора и действует как механический сенсор, контролирующий деятельность CENP-E (Chan et al., 1999). Для объяснения механизма действия контрольно-пропускного пункта было предложено несколько моделей, основанных, главным образом, на динамических свойствах Mad 2 (Chan et al., 2005).

Анафазы промотор комплекс (APC/C) активируется циклин-зависимой киназой Cdc20. Mad2 связывается с Cdc20 и тем самым препятствует активации APC (Chan, Yen, 2003; Hoyt, 2001). Mad2 может принимать открытую O-Mad2 и закрытую C-Mad2 формы (Luo et al., 2002; Luo et al., 2004). При этом C-Mad2 является более мощным ингибитором APC/C, так как он обладает большей близостью к Cdk20, чем открытая форма O-Mad2. На основании проведенных наблюдений Luo с соавторами была предложена “Обменная модель”. Согласно данной модели кинетохор-направляющий Mad1 продвигает изменение O-Mad2 до C-Mad2. Из-за подобия связующих участков Mad2, Mad1 и Cdk20, то Cdk20 конкурирует с Mad1 за C-Mad2. Предполагается, что при наличии одиночных неприкрепленных кинетохоров продуцируется достаточное количество C-Mad2, чтобы заблокировать Cdk20, а, следовательно, и APC/C.

Согласно другой модели, обозначенной как “Модель Template”, Mad1 и C-Mad2 образуют устойчивый комплекс, который присоединяет O-Mad2, присутствующий в цитозоле. После закрепления с комплексом O-Mad2 преобразуется в C-Mad2, который освобождается после соединения с Cdk20.

Для обеих моделей “Exchange” и “Template” неприкрепленный кинетохор – предлог, чтобы преобразовать цитозольный бассейн Mad2 в форму, которая может изолировать Cdc20, предотвращая активацию APC/C. Альтернативное представление о механизме контрольно-пропускного пункта предлагает “Двух-ступенчатая модель” (кинетохор зависимый и кинетохор не зависимый контроль), согласно которой кинетохоры могут не иметь непосредственного руководства ингибирования APC/C. Эта модель была предложена на основании открытия митотического комплекса контрольно-пропускного пункта (MCC) (Su-

dakin et al., 2001). МСС состоит из BubR1, Bub3, Cdc20, Mad2 и обладает более мощным действием при запрещении APC/C, чем рекомбинантный Mad2. На основании того, что МСС может присутствовать и проявлять свою активность в интерфазе, делается вывод о независимой функции данного комплекса от кинетохоров (Chan et al., 2005). Роль же кинетохора отводится к обеспечению сигнала, который определяет взаимосвязь между МСС и APC/C (Sudakin et al., 2001).

Таким образом, механизм формирования митотического контрольно-пропускного комплекса остается неясен. При этом, как было отмечено ранее, конкурируют две теории: за кинетохор-зависимое и кинетохор-независимое формирование. Тем не менее, ведущей моделью является “MAD2-матричная модель”, которая зависит от кинетохорной динамики MAD2. Исходя из кинетохор-зависимой теории дается объяснение механизму исправления меротелик прикрепления микротрубочек к кинетохору, когда он оказывается закрепленным между двумя полюсами (Gregan et al., 2011). Предполагается, что центральную роль в исправлении ошибок играет AuroraB (Knowlton et al., 2006; Gimini et al., 2006; Hauf et al., 2007; Lampson, Cheeseman, 2011). В их основу положены те факты, что при нарушениях наблюдается повышенное содержание в кинетохорах данной киназы и при ее ограничении увеличивается частота неправильного прикрепления микротрубочек (Knowlton et al., 2006; Gimini et al., 2006).

Aurora B граничит с внутренней центромерой, а ее противостоящая фосфатаза локализована на внешнем кинетохоре (Liu et al., 2009, 2010). Это позволяет Aurora B производить фосфорилирование, происходящее от центромеры. В отсутствие высокой напряженности она в состоянии достигнуть своих кинетохорных оснований, которые приводят к дестабилизации кинетохорных микротрубочек. При восстановлении нормального приложения, силы веретена отделяют кинетохор от внутренней центромеры, делая его вне досягаемости Авроры В.

После коррекции би-ориентации сестринских хроматид должна произойти дезактивация контрольно-пропускного пункта сборки веретена, обозначенного как SAC (Spindle Assembly Checkpoint). Для этого предлагается несколько механизмов. Один из них механизм демонтажа через динеин-динеин моторное комплексное соединение, которое транспортирует белки контрольно-пропускного пункта веретена далеко от кинетохора (Musacchio, Salmon, 2007). Как дезактиватор SAC также может действовать белок p31^{comet}, который продвигает митотический ход путем закрепления с C-Mad2 и освобождением активатора APC/C - Cdc20 (Xia et al., 2004).

При активации APC/C одновременно происходит разрушение MPF (mitosis promoting factor) и клетки входят в стадию анафазы. В функциональном плане APC представляет собой убиквитинлигазу и катализирует реакции присоединения молекул убикватина к определенным целевым молекулам белка, которые в итоге подвергаются протеолизу (Morgen, 2007). Одной из таких его мишеней является белок секьюрин. При его разрушении освобождается сепараза, которая является протеолитическим ферментом, обеспечивающим ликвидацию когезии сестринских хроматид. При распаде связующих белков сестринские хроматиды под действием сил натяжения расходятся к противоположным полюсам. При расхождении хромосом выделяют два независимых процесса, идентифицируемых как анафаза А и анафаза В. Анафазу А связывают с процессами расхождение самих хромосом, а анафазу В – с расхождением самих полюсов (Morgen, 2007). После достижения хромосомами своих полюсов клетки переходят на стадию телофазы, которая завершается цитокинезом (Ченцов, 2004, Алов, 1972, Албертс и др., 1993).

1.2 Мейоз

1.2.1 Морфология мейоза

В отличие от митоза в мейозе один акт репликации ДНК сопровождается двумя последовательными делениями, в результате которых количественный состав хромосом в сформировавшихся гаметах уменьшается вдвое. Мейоз явля-

ется универсальным биологическим процессом (Feldman, 1966; Голубовская, 1997) и многие из них, обнаруженные на одном объекте, находят свое идентичное проявление и на других.

Мейоз включает в себя два деления: первое – редукционное (мейоз I), второе – эквационное (мейоз II). Однако мейотический цикл начинается с премейотической S фазы, когда происходит удвоение хромосом, в результате которого каждая хромосома состоит из двух хроматид. Первое мейотическое деление начинается с профазы, которая, в свою очередь, состоит из следующих шести стадий: прелептотена, лептотена, зиготена, пахитена, диплотена, диакинез (Кикнадзе, Высоцкая, 1975).

В прелептотене наблюдается своеобразная укладка хромосом в виде «прохромосом» у животных и стадия профазной спирализации (*spiral prophase stage*) у растений. Данное состояние хромосом сменяется их полной деконденсацией в лептотене.

Лептотена, или стадия тонких нитей, во многом напоминает состояние хромосом в ранней профазе митоза. Хромосомы в данный период очень тонкие. При этом их длина значительно уступает длине соответствующих хромосом в митозе. В лептотене каждая хромосома удвоена и состоит из двух сестринских хроматид. В результате их общий количественный состав равен $4n$.

На стадии зиготены происходит притягивание и конъюгация гомологичных хромосом. В данный период хромосомы начинают сворачивание в спираль. Их уплотнение может инициироваться хроматиновым протеином, в частности, мейотином – 1 (Qureshi et al., 1995). Особую роль в уплотнении хромосом во время мейоза играет *condensing* комплекс (Yuan and Koshland, 2003; Chan et al., 2004).

Конъюгация – многоступенчатый процесс и включает в себя три стадии: распознавание, выравнивание и синапсис (Schwarzacher, 1997). Считается, что распознавание происходит еще в интерфазе и начинается оно с гомологичных доменов у центромеры. Выравнивание имеет место на стадиях лептотены и

ранней зиготены. При этом рассматриваются три возможных механизма: домейотические ассоциации, специфические взаимодействия в профазу, случайные контакты (Loidl, 1990). В настоящее время поддерживается третья модель, согласно которой случайные контакты инициируют синапсис (Kelly Dawe, 1998).

В период лептотена – зиготена наблюдается особое состояние хромосом, именуемое фигурой «букета». Ранее считалось, что данная конфигурация совокупности хромосом характерна для мейотических клеток животных. У растений этот период характеризовался как сжатие хромосом в клубок, т.е. синезис (Кикнадзе, Высоцкая, 1975). Однако в настоящее время доказано, что формирование букета является активным процессом и у растений (Bass et al., 1997; Dawe et al., 1994; Thomas, 1976).

В интерфазном ядре хромосомы обычно имеют организацию Rabl, при которой центромерные районы собраны на одном полюсе ядра, а теломерные – на другом (Cowan et al., 2001). Однако в интерфазе и ранней лептотене теломеры распределяются случайно. В предзиготене теломерные концы хромосом перемещаются на небольшой участок оболочки ядра, ориентируясь на один из его полюсов (Bass et al., 1997; Dawe et al., 1994). Во время стадии букета центросомы в клетках занимают смежное положение с ассоциацией теломер (Вильсон, 1936; Cowan et al., 2002). При этом наблюдается скопление микротрубочек, сосредоточенных на поверхности ядерной оболочки напротив теломер. В это время ядерные поры оказываются сгруппированными в ограниченной области поверхности оболочки ядра, которые также расположены напротив теломер (Cowan et al., 2002). Очевидно стадия «букета» является одним из первых шагов в процессе конъюгации. По данным литературы (Loidl, 1990) существует два мнения относительно ее роли:

1. Инициация синапсиса, при которой трехмерная проблема конъюгации сводится к двум измерениям в пределах плоскости ядерной оболочки;
2. Сближение теломер на поверхности ядра сводит ранее удаленные друг от друга хромосомы, повышая вероятность контакта гомологов.

Синапсису хромосом предшествует досинаптическое выравнивание, которое приводит к выравниванию осевых элементов (Dawe, 1998). На стадии тонких нитей в лептотене начинается формирование осевых структур, необходимых для построения синаптонемального комплекса. Синаптонемальный комплекс (СК) был впервые описан Мозесом (Moses, 1956). Он формируется между гомологичными хромосомами, находящимися в состоянии синапсиса. Синаптонемальный комплекс состоит из двух боковых элементов, каждый из которых контактирует со своим хроматином формирующегося бивалента. Соединяет между собой боковые элементы центральный элемент. По данным биохимических исследований синаптонемальный комплекс состоит в основном из белка, хотя в его состав могут входить ДНК и полисахариды (Богданов, 1975). Основой латеральных (боковых) элементов является комплекс из четырех белков когезинов (Богданов, 2008). В их числе Rec8, SMC1b, SCP2 и SCP3. Образование СК необходимо для обеспечения нормальной конъюгации гомологичных хромосом, кроссинговера и редукции числа хромосом (Богданов, 1975, 2008; Босток, Самнер, 1981). Присутствие синаптонемального комплекса значительно облегчает кроссинговер, но не является строго обязательным условием для его осуществления. Ряд примеров отсутствия прямой зависимости между двумя этими событиями приведены в работе Ю.Ф. Богданова (1975).

Следующая за лептотеной стадия пахитены характеризуется, прежде всего, максимальным развитием синаптонемального комплекса. На данной стадии происходит укорочение и утолщение сформировавшихся бивалентов. В пахитене центриоль делится и образовавшиеся две сестринские центриоли расходятся в противоположные стороны. При этом к противоположным полюсам ядра вместе с ними перемещаются и противоположные концы СК, контактирующие с ядерной мембраной (Moens, 1973; Cowan, 2002). В результате фигура «букета» исчезает. Пахитена самая длительная стадия. В ряде случаев она занимает до 50% времени профазы I. На данной стадии хорошо проявляется хромомерная структура хромосом, что позволяет составлять цитологические карты

пахитенных хромосом. В пахитене завершается конъюгация. В местах плотно соединяющихся гомологичных хромосом происходит кроссинговер (обмен участками гомологичных хромосом) и образуются хиазмы. По К. Дарлингтону (Darlington, 1931) хиазмы могут иметь случайное распределение, локализованы в центромерной области или в терминальных частях и, наконец, иметь полулокализованное распределение. Есть организмы, которым вообще не свойственно образование хиазм (ахиазматический мейоз).

На стадии диплотены происходит отталкивание хромосом, которое начинается в области центромер. Однако хромосомы в местах формирования хиазм остаются еще связанными. В данный период хорошо выявляются сестринские хроматиды. По мере дальнейшего укорочения бивалентов происходит терминализация хиазм, которая продолжается и в диакинезе.

В диакинезе хромосомы утрачивают свою связь с оболочкой ядра. Данная стадия является заключительной профазы мейоза.

В последнее десятилетие большое внимание уделяется характеру поведения центромер на ранних стадиях мейоза. Так, на дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* наблюдали перелокализацию центромер в процессе мейоза, при которой сгруппированные центромеры сначала становятся рассеянными вдоль линии, а в зиготене – в пределах ядра (Hayashi et al., 1998; Jin et al., 1998). В результате проведенных исследований на дрозофиле и дрожжах было высказано мнение, что мейотическое спаривание центромер необменных хромосом обеспечивает прикреплений микротрубочек к кинетохору от противоположных полюсов, обеспечивая тем самым правильную ориентацию хромосом (Kemp et al., 2004; Xiang, Hawley, 2006; Moore, 2008). При этом спаривание центромер не связано с формированием элементов синаптонемального комплекса (Kemp et al., 2004). По результатам исследований, проведенных на кукурузе (Zhang et al., 2013), центромеры связываются в лептотене до начала формирования букета. То, что клетки входят в мейоз со сгруппированными центромерами, было убедительно показано на пшенице (Jasencakova et al., 2001; Stewart, Dawson, 2008).

Ранние соединения центромер происходят между гетерологичными хромосомами (Maestra et al., 2002; Aragon-Alcaide et al., 1997; Martinez-Perez et al., 2003), которые распадаются на семь групп, соответствующие количеству гомеологичных групп хромосом у пшеницы (Stewart, Dawson, 2008; Moore, 2006; Prieto et al., 2005). После сортировки внутри этих групп центромеры распадаются на гомологичные пары (Martinez-Perez et al., 2001, 2003). Исследования, проведенные на дрожжах, показали, что первоначальное прикрепление микротрубочек к центромерам может корректироваться путем их перезакрепления (Meyer et al., 2013).

Согласно общепринятому мнению нити веретена деления формируются в конце профазы. При этом разрушаются ядерная мембрана и ядрышки. Затем наступает метафаза I, в которой биваленты выстраиваются вдоль экватора клетки. Однако ряд исследователей (Church, Lin, 1985; McKim, Hawley, 1995; Dawe, 1998 и другие) между диакинезом и метафазой I выделяют еще прометафазу. Именно на данный период мейотического цикла приходится формирование структур, обеспечивающих сегрегацию хромосом (Шамина, 2005). В прометафазе мейоза формируется центральное веретено деления и происходит фиксация микротрубочек в зоне кинетохора.

В метафазе I сформировавшиеся биваленты под действием сил натяжения нитей веретена деления выстраиваются в экваториальной плоскости. По форме бивалентов, которая определяется размером и морфологией хромосом их образующих, числом и положением хиазм К. Дарлингтон (Darlington, 1937) предложил следующую классификацию:

Прямой (открытый) бивалент – хиазмы локализованы только в одном плече бивалентов.

Кольцевой (закрытый) бивалент – хиазмы расположены терминально в обоих плечах.

Гетероморфный бивалент.

В цитологической практике вместо понятия прямой бивалент используется термин – палочковидный бивалент (Лбова, 1973; Гайдаленок, Майстренко, 1973; Гайдаленок, 1973).

В анафазе I гомологичные хромосомы, входящие в состав бивалентов, разъединяются и каждая хромосома движется к своему полюсу. На данной стадии хорошо видно, что отдельно взятая хромосома состоит из двух хроматид, соединенных между собой в зоне центромеры.

В телофазе I гомологи полностью расходятся к полюсам клетки. В результате дочерняя клетка получает по одному из гомологов каждой пары. В общем итоге формирующее ядро содержит только один гаплоидный набор хромосом. В большинстве случаев телофаза I завершается цитокинезом. После телофазы I следует интеркинез.

Интеркинез представляет собой короткий промежуток между двумя мейотическими делениями. В отличие от интерфазы в нем не происходит репликации ДНК, удвоение хромосом и структур, связанных с митотическим центром. Однако именно в данный период, очевидно, осуществляется автоориентация хромосом, то есть переход их от редукционного типа деления к эквационному. В процессе анафазы и телофазы I сестринские кинетохоры занимали униполярную ориентацию. Для перехода к делению хромосом по типу митоза необходимо изменить их положение с униполярного на биполярное. Механизм данного процесса также остается не известным. Однако L.V. Paliulis и R.V. Niclas (2005) отмечают, что для перестановки кинетохор в мейоз II требуется их закрепление к веретену деления. Для данного периода характерна частичная деспирализация хромосом и формирование ядерной оболочки (Кикнадзе, Высоцкая, 1975).

Второе деление мейоза интерпретируется как эквационное деление или мейоз II. Его сущность заключается в формировании четырех гаплоидных клеток с однохроматидными хромосомами. Второе мейотическое деление также включает в себя четыре фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу (Кикнад-

зе, Высоцкая, 1975).

Профаза II, в сущности, не отличается от профазы митоза. Хромосомы частично деспирализованы. В каждой из дочерних клеток формируется веретено деления.

В метафазе II хромосомы располагаются в зоне экватора. При этом их ориентация в каждой из дочерних клеток не зависит друг от друга. В данный период каждая хромосома представлена двумя хроматидами, соединенными между собой в зоне центромеры. Их разделение на отдельные хроматиды происходит в анафазе II. После расхождения к полюсам в каждой из дочерних клеток формируются ядра. После завершения цитокинеза в телофазе II образуются четыре клетки (тетрада) с гаплоидным количеством хромосом, представленных в виде хроматид. Содержание ДНК в данном случае становится минимальным и составляет 1с. После завершения микроспорогенеза наступает следующая за ним стадия микрогамитогенез, определяющая дальнейшее формирование гамет.

Таким образом, по определению, данному М.П. Миллером с соавторами (Miller et al., 2012), мейотический тип деления хромосом требует следующих трех необходимых изменений:

1. Взаимная рекомбинация между гомологичными хромосомами;
2. Способ удаления связи между сестринскими хроматидами, известными как когезия сестринских хроматид;
3. Манера, с которой хромосомы прикрепляются к мейотическому веретену.

Рекомбинация начинается запрограммированными двойными смежными разрывами (DSBs), которые катализируются Spo11 после предмейотической репликации ДНК (Keeney et al., 1997). Последующая репарация DSBs кроссоверных рекомбинантов производится физическим соединением между гомологичными хромосомами. Считается, что это, в свою очередь, позволяет гомологам прикрепляться в мейозе I к веретену таким образом, что сестринские хроматиды ориентированы к одному полюсу, а гомологи в биваленте – к противо-

положным полюсам. В данном случае сформировавшиеся в результате кроссинговера хиазмы обеспечивают связь между гомологами, которая важна для установления напряженности и стабилизации би-ориентации бивалента. В то же время эксперименты, проведенные с микроманипуляциями хромосом (Paliulis and Nicklas, 2000) показали, что специализированное их поведение в мейозе I может быть определено самими хромосомами, а не веретенем или другими цитоплазматическими факторами. Но при этом хромосомы должны обладать следующими особенностями (Hauf and Watanabe, 2004):

1. Два кинетохора располагаются в непосредственной близости сторон «бок-о-бок», что облегчает движение сестринских хроматид к одному полюсу.
2. Формирование хиазм при рекомбинации, которые обеспечивают физическую связь, необходимую для биполярного прикрепления гомологов.
3. Когезия плеч должна быть устранена в мейозе I, но сохранена в центромерном регионе, необходимая для би-ориентации в мейозе II.

Расположение сестринских кинетохор «бок-о-бок» было подтверждено электронно-микроскопическим анализом (Parra et al., 2004). Исследования, проведенные на дрожжах, дают некоторые объяснения молекулярным факторам, требуемым для моноориентации сестринских кинетохор. Прежде всего, было установлено, что для этого требуется наличие подъединицы мейотического когезина Rec8 (Watanabe, Nurse, 1999). При замене Rec8 на митотический аналог Rad21 монополярная ориентация сестринских хроматид не происходит, и поэтому они расходятся к противоположным полюсам (Yokobayashi et al., 2003). В отличие от Rad21 мейотический когезин, кроме плеч хромосом и прицентромерных районов, локализован в центральной области центромеры (Hauf and Watanabe, 2004). Для установления единства центромер данный когезин должен присутствовать на хроматине во время репликации ДНК, а для моноориентации хроматид – в предмейотической фазе S (Uhlmann and Nasmyth, 1998; Watanabe et al., 2001). Исследования, проведенные на митотических клетках дрожжей, показали, что для установления моноориентации хроматид наличие только

Rec8 оказывается недостаточно (Watanabe, Nurse, 1999; Yokobayashi et al., 2003). Данное обстоятельство дало основание предположить о возможности других аналогичных специфических факторов мейоза. Один такой фактор Mam1 был обнаружен у делящихся дрожжей, который локализован во внутреннем центромерном регионе от профазы до метафазы I. Однако опыты, проводимые со сверхэкспрессией Mam1 и Rec8 на митотических клетках, показали, что их действие оказывается еще не достаточным для моноориентации сестринских хроматид (Monje-Casas et al., 2007).

Тесная связь сестринских кинетохор в мейозе послужила основанием предположить, что этим они создают единую область контакта с микротрубочками (Duro and Marsten, 2015). Было установлено, что MIS12 и NDC80 кинетохорные компоненты стягивают сестринские центромеры, чтобы сформировать прямой мост поперечного соединения между сестринскими кинетохорами (Li and Dawe, 2009).

На основании проведенных исследований на дрожжах был сделан вывод о необходимости перестановки сестринских кинетохор и создания единой единицы связи с микротрубочками для коориентации хроматид (Winey et al., 2005). Крайне важным для такой перестановки оказался монополярный (monopolarin) комплекс. Путем функциональной геномики и протеомики были идентифицированы составляющие его четыре белка (Toth et al., 2000; Rabitsch et al., 2003; Petronczki et al., 2006).

Монополярный комплекс состоит из белка Mam1, киназы казеина Hgr25 и белков Csm1 и Lrs4 (Corbett et al., 2010). Данный комплекс связывается с кинетохорами от поздней профазы и до конца первого мейотического деления (Toth et al., 2000). Две дополнительные киназы (Cdc5, Dbf4) также играют важные роли в функции монополярного комплекса (Monje-Casas et al., 2007; Duro and Marsten, 2015). Как было уже отмечено ранее Mam1 локализован в центромере, а Csm1, Lrs4 и Cdc5 производятся и выпускаются в кариоплазму ядрышками.

Csm1 и Lrs4 формируют V-образный комплекс с шаровидными “головка-

ми”, содержащими димер областей C-терминала Csm1 (Duro and Marsten, 2015). Предполагается, что каждая “головка” связывается со своим сестринским кинетохором, вызывая их поперечное соединение. По результатам исследования Миллера с сотрудниками (Miller et al., 2012) моноориентация у почкующих дрожжей зависит от регулирования времени прикрепления микротрубочек к кинетохорам. Было показано, что проявление множества циклинов во время предмейотической фазы S и ранней профазы I (*CLB1*, *CLB3*, *CLB4* или *CLB5*), после выхода из пахитены вызывают преждевременные взаимодействия микротрубочек с кинетохорами. Это, в свою очередь, разрушает коориентацию сестринских кинетохор и защиту когезии центромер во время мейоза I, показывая, что временной контроль взаимодействий микротрубочки-кинетохор важен для морфогенеза хромосом мейоза I. На основании этого делается вывод, что монополярный комплекс не может связаться с кинетохорами после установления их связи с микротрубочками (Duro and Marsten, 2015).

Правильной ориентации гомологов в мейозе у грибов способствуют киназы Aurora - Ark1 и Ipl1 (Hauf et al, 2007; Monje-Casas et al., 2007). Их функция сводится к исправлению неправильного прикрепления микротрубочек к кинетохорам во время мейоза.

Важным моментом при клеточном делении по типу митоза или мейоза является образование тесной связи (когезии) между сестринскими хроматидами. В ее установлении участвуют более 10 разных белков, основу которых составляют следующие четыре белка: SMC1, SMC3, SCC1 (RAD21) и SCC3 (Гришаева, 2011). При этом ортологи SCC3 классифицируются как стромалины, а SCC1 – клейсины. Кроме того, что когезиновые кольца служат каркасом для комплектования специфических для мейоза белков, они также устанавливают монополярную ориентацию сестринских хроматид и поддерживают когезию кинетохор до второго мейотического деления у многих высших эукариотов (Ishiguro et al., 2011; Chelysheva et al., 2005). Несмотря на общность части когезиновых белков в митозе и мейозе, RAD21 в последнем случае заменен на

мейотическую форму REC8.

В отличие от митоза, в мейозе потеря когезии между хромосомами осуществляется пошагово. В первом делении расщепляются когезины хромосомных плеч. Связь между гомологичными хромосомами теряется и они расходятся к противоположным полюсам. Однако сестринские хроматиды остаются связанными между собой за счет сохранения когезинов в прицентромерном районе до второго деления. При мейозе особую роль в сохранении единства играет подъединица когезинового комплекса REC8. Исследования, проведенные на дрожжах, показали, что фосфорилирование REC8 делает его мишенью для сепаразы, которая разрушает когезию плеч хромосом и приводит к исчезновению хиазм (Ishiguro et al., 2010; Katis et al., 2010; Attner et al., 2013). Защиту распада когезина в прицентромерных районах осуществляют шугошины, которые привлекают к данному региону фосфатазу PP2A, производящую дефосфорилирование Rec8 и делая его тем самым невосприимчивым к сепаразе (Kitajima et al., 2006; Ishiguro et al., 2010; Katis et al., 2010). Остаток прицентромерного когезина должен обеспечить сопротивление силам приложения веретена во время мейоза II, где сестринские кинетохоры являются би-ориентированы в подготовке к митозо-подобной сегрегации хроматид (Duro and Marston, 2015).

Таким образом, проведенный обзор доступных литературных источников показал, что сегрегация хромосом в митозе и мейозе во многом полагается на проявления напряженности создаваемой силами натяжения нитей веретена деления и когезии сестринских хроматид и гомологов соответственно. При этом ориентация кинетохор сестринских хроматид определяется геометрией их расположения – “спина к спине” в митозе и мейозе II, “бок - о - бок” в мейозе I. Отмечается, что для противостояния силам натяжения веретена в мейозе сестринские хроматиды должны быть физически связаны. Обеспечивается это совместным действием когезинов и конденсинов, которые формируют кольцо и дают хромосомам их компактную структуру в форме прута, позволяющая их захват и передвижение (Marston, 2014; Hirano, 2012). Однако из представленно-

го обзора литературных данных следует, что, несмотря на достигнутые успехи в понимании сущности механизмов митотических и мейотических процессов, многие из них остаются еще до конца не раскрытыми. Так, есть данные об ограниченности функции монополярного комплекса, согласно которым он гарантирует ко-ориентацию сестринских хроматид в мейозе I у *Saccharomyces cerevisiae*, но его ортологи не способствуют этому у *Schizosaccharomyces pombe* (Corbett et al., 2010). При этом остается непонятным как монополярный комплекс и белки, которые регулируют его ассоциацию с кинетохорами, вызывают ко-ориентацию сестринских кинетохор (Monje-Casses et al., 2007).

Не совсем понятна функция белков Rec 8. Как было отмечено ранее, данный клеисин у моноцентрических хромосом исполняет роль когезии сестринских хроматид в мейозе. Однако при этом делеция гена, определяющего подъединицу когезина Rec8, у дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* вызывает отказ от рекомбинации и, как следствие, от образования хиазм. При этом сестринские кинетохоры оказываются би-ориентированы. Нечто аналогичное наблюдается и у арабидопсиса (Hauf et al., 2007; Chelysheva et al., 2005; Sakuna et al., 2009). В организмах с голоцентрическими хромосомами мутация *rec-8* также приводит к эквационному делению хромосом. Характерно, что при входе в мейоз I сестринские хроматиды оказывались заключены в кожух отдельно внешними кинетохорными белками (Schwarzstein et al., 2010).

Определенные сомнения вызывает и особая роль специфики ориентации кинетохор в митозе и мейозе. Так, в опытах с минихромосомой было показано, что ориентация кинетохор “спина-к-спине” не требуется для би-ориентации сестринских хроматид, по крайней мере, у почкующих дрожжей (Dewar et al., 2004). Перестановка же кинетохор с мейотического (редукционного) на митотическое (эквационное) в мейозе II требует их приложения к веретену (Paliulis, Nicklas, 2005).

В настоящее время среди ученых отсутствует единая точка зрения относительно механизма прикрепления микротрубочек к кинетохорам. Из ранее

предложенных двух моделей (Chan et al., 2005), преобладающей является модель “поиска и захвата”. Однако ее стохастическая природа прохождения порождает вероятность появления множества ошибок, которые приходится постоянно исправлять. Причем не все ошибки (такие как меротелик прикрепление микротрубочек) всегда могут быть исправлены (Gregan et al., 2011). Тем не менее, по данным литературных источников, при расхождении хромосом происходит одна ошибка на 10^5 делений (Албертс и др., 1987). Кроме того, проведенный обзор научной литературы показал, что на данный период практически отсутствуют какие-либо логические построения, объясняющие механизм перехода хромосом от митоза к мейозу. В этом плане было высказано лишь одно далеко идущее предположение, согласно которому пусковым механизмом такого перехода может быть генетическая регуляция сегрегации митотического центра (Щапова, Кравцова, 1990).

1.2.2 Генетический контроль мейотических процессов

Изучение генетики мейоза во многом затрудняется тем обстоятельством, что по большинству генов, контролирующих мейотические процессы (мейогены), в пределах одного вида отсутствует аллелизм. В настоящее время в генетическом анализе мейоза выделяют следующие пути подхода: описательный, сравнительно-эволюционный, планомерное выделение и анализ мейотических мутантов, одновременные цитогенетические и биохимические исследования (Голубовская, 1975). В генетической практике наиболее эффективным методом проводимых исследований оказалось выделение и изучение мутантных форм. Все выделенные мутации были классифицированы по характеру их действия на мейоз (Голубовская, 1975, 1997).

К первой группе можно отнести мутации, вызывающие отсутствие мейоза. Такая мутация была выделена Родсом (Rhoades, 1956) у кукурузы. Ее локус был обозначен *at* и локализован в коротком плече 5-й хромосомы. Проведенные цитологические исследования (Palmer, 1971) показали, что у растений, го-

мозиготных по данной генной мутации (*am/am*), после прохождения нормального митотического деления клетки не вступают в мейоз. В итоге процесс заканчивается дегенерацией микроспороцитов. Предполагается, что это связано с отсутствием у мутантных форм переключения синтеза ДНК с митотического типа на мейотический (Голубовская, 1975).

По своей последовательности происходящих мейотических процессов ко второй группе были отнесены мутации, регулирующие первое деление мейоза. Мутация, вызывающая отсутствие первого мейотического деления, контролируется рецессивным геном *afd-W 23*. Получена и выделена она была на кукурузе путем обработки семян мутагенами И.Н. Голубовской и А.С. Мешниковым (Голубовская, 1975). У данных мутантов наблюдается ранняя спирализация хромосом и отсутствие всех стадий профазы I. В MI – AI хромосомы делятся эквационно, с правильным расхождением хроматид к противоположным полюсам. В AII происходит случайное расхождение хроматид, что приводит к мужской и женской стерильности.

Наиболее обширную группу представляют мутанты с асинаптическим мейозом. Конъюгация хромосом является многоступенчатым процессом и включает в себя сближение и распознавание гомологов, спаривание, собственный синапсис с формированием синаптонемального комплекса (СК), формирование хиазм. Поэтому синапсис хромосом имеет полигенную систему своего контроля. Цитологическим проявлением нарушения синапсиса хромосом является наличие унивалентов в метафазе I мейоза.

Для изучения генетики синапсиса хромосом широко используются мутантные формы. Наиболее значимые их коллекции были получены по кукурузе (Golubovskaya, 2008), арабидопсису (Jones et al., 2003) и ржи (Соснихина и др., 2005). В первых двух случаях мутанты были созданы путем индуцированного мутагенеза, состав третьей группы представлен спонтанными мутантами. Все полученные мутантные формы по своему проявлению нарушения мейотических процессов были разделены на асинаптические и десинаптические. Для ци-

тологического проявления асинаптических мутантов характерно отсутствие конъюгации хромосом, отсутствие формирования синаптонемального комплекса, отсутствие образования хиазм, унивалентное состояние хромосом в метафазе I, проявление анеуплоидии при формировании гамет, стерильность растений. По классификации, данной И.Н. Голубовской (Голубовская, 1975), к истинным асинаптическим мутантам можно отнести два мутанта, выделенных на твердой пшенице (La et al., 1970), и два (*as3*, *as1*) у *Brassica campestris* (Stringam, 1970). У таких мутантов полностью отсутствует конъюгация гомологичных хромосом и в метафазе I они присутствуют в виде унивалентов. Расхождение хромосом в анафазе I нарушено, что приводит к его нарушению и в анафазе II. В результате вместо тетрад формируются полиады. Кроме того у мутантов униваленты могут в анафазе I расщепляться на хроматиды (*as3*), либо (*as1*) не иметь такого деления (Stringam, 1970). Аналогичные случаи были описаны у *Tr. monococcum* (Smith, 1936), *P. sativum* (Klein, 1969), *D. melanogaster* (Davis, 1971). Высказывается предположение, что данные биологические объекты кроме гена асинапсиса (десинапсиса) несут еще мутацию гена, отвечающего за преждевременное расхождение хроматид унивалента (Голубовская, 1975).

Гены нарушения синапсиса хромосом у ржи были обозначены символом *su* с номерами (Соснихина и др., 1994). Число синаптических генов достигает нескольких десятков. Все они также различаются на асинаптические и десинаптические. К первой категории можно отнести *su1* и *su9* (Соснихина и др., 1998). У данных мутантов отсутствует формирование синаптонемального комплекса. При этом наблюдаются только осевые элементы неспаренных хромосом.

У десинаптических мутантов конъюгация хромосом проходит до стадии диплотены профазы. К диакинезу формирующие пары распадаются на униваленты (псевдоуниваленты). В анафазе I образуется несколько групп хромосом, которые в последующем формируют макро- и микроядра. В некоторых случаях псевдоуниваленты в анафазе I расщепляются на сестринские хроматиды с правильным расхождением их к противоположным полюсам. Мутантные гены де-

синапсиса были получены у многих видов растений, которые чаще всего обозначаются символом *as* и *ds* (Голубовская, 1975), либо *su* с присвоением ему очередного номера (Голубцов и др. 2010). Проведенные исследования на *Vicia faba* (Sjodin, 1970) и кукурузе показали, что среди мутантов встречаются формы, имеющие различную степень выраженности десинапсиса, которая сохраняется в ряде поколений. Отмечено, что у асинаптических мутантов фигура «букета» может отсутствовать (*su9*), либо она на ранних стадиях профазы присутствует, но синапсис хромосом не иницируется (Соснихина и др., 1998). У десинаптических мутантов отмечается присутствие фигуры «букета» в зиготене профазы мейоза (Соснихина и др., 2007). По мнению авторов, дефект, связанный с синапсисом хромосом, может быть вызван нарушениями на этапе узнавания гомологов. Десинапсис хромосом приводит к снижению числа хиазм на клетку и на бивалент. Однако исследования, проведенные на *Ulmus glabra* (Ehrenberg, 1949), показали, что при десинапсисе количество хиазм на бивалент может сохраняться.

В работах С.П. Соснихиной с соавторами (Голубцов и др., 2010) в особую группу выделяются мутации, у которых в зиготене-пахитене наряду с гомологичным синапсисом хромосом наблюдается и гетерологический. По мнению авторов, причиной подобного рода аномалий также могут быть нарушения процесса узнавания.

Среди мутантов выделяются формы, у которых наблюдается слипание хромосом. При этом они образуют общий конгломерат. Иногда присутствуют отдельно лежащие хромосомы, которые конденсированы выше нормы. Мутации с подобного рода нарушениями были выделены у кукурузы (Beadl, 1937), лисохвоста (Johnson, 1944), ржи (Соснихина, 1973; Соснихина и др., 1994) и других видов.

Как уже отмечалось ранее, нарушения синапсиса хромосом приводит к нарушению их расхождения в анафазе I и анафазе II. Однако аномалии, связанные с расхождением хромосом могут быть вызваны другими механизмами дан-

ного процесса и, прежде всего, нарушениями аппарата веретена деления. Так, у кукурузы была выделена мутантная форма (ген *dv*), у которой в метафазе I биваленты правильно выстраивались в экваториальной зоне, но в анафазе I расходились на отдельные неравные группы, образуя, таким образом, вместо тетрады полиады (Clark, 1940). Аналогичная ситуация была отмечена у мутанта *ms 43* кукурузы (Голубовская, 1980). Гены *mei-1* и *mei-5*, выделенные у *P. anserine* (Simonet, Zicker, 1972), вызывают утолщение и искривление центросомальных пластинок, нарушают структуру микротрубочек. Различные аномалии в строении веретена были описаны Е. Лифшецом и С. Мейеером (Lifscheytz, Meyer, 1977) на *Drosophila melanogaster*. На основании ряда проведенных исследований (Мэзия, 1963; Vajer, Mole-Vajer, 1969, 1982) делается заключение о том, что движение хромосом в экваториальную плоскость в прометафазе и движение к полюсам в анафазе I обеспечивают кинетохоры (Голубовская, 1980). Слипание хромосом также объясняется нарушениями центрального веретена деления.

Среди мутантов были выделены гены, вызывающие выпадение второго деления мейоза. Так, у мутантной формы *Datura stramonium* с геном *dy* первое мейотическое деление клеток до стадии диад идет нормально. Однако второе деление выпадает. В результате вместо тетрад формируются диады с диплоидным набором хромосом (Satina, Blakeslee, 1935). Образование полиплоидных гамет отмечено и у кукурузы (Rhoades, 1956; Rhoades, Dempsey, 1966), но в данном случае второе мейотическое деление присутствует. Наличие же гамет с количеством хромосом, превышающим его гаплоидный набор, авторы объясняют отсутствием цитокинеза в телофазе II, либо дополнительной репликацией ДНК в интерфазе второго деления.

Таким образом, проведенный краткий анализ данных литературы показывает, что получение и выделение мутантных форм с последующим их цитогенетическим анализом является достаточно эффективным способом в изучении генетики мейоза. Прежде всего, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о наличии генетического контроля практически всех мейотических

признаков. Однако они не дают полного представления о механизме происходящих тех или иных мейотических процессов. Молекулярная генетика, не смотря на ее существенный вклад в дело изучения мейоза (Богданов, 2003), также не решает этих вопросов. Для их анализа необходимы иные подходы. Как уже отмечалось ранее, в этом плане особый интерес представляют аллополиплоидные виды растений и в частности мягкая пшеница *Triticum aestivum* L..

1.2.3 Специфика мейоза у *Triticumaestivum*L.

Как было установлено основное число хромосом у рода *Triticum* равно 7 (Sacamura, 1918; Sax, 1922). Данный род включает в себя три группы: диплоиды ($2n = 14$), тетраплоиды ($2n = 28$) и гексаплоиды ($2n = 42$). На первых этапах изучения эволюции пшеницы тщательному анализу подверглась тетраплоидная группа. Путем колхицинирования диплоидных видов и межвидовых скрещиваний было доказано, что виды, имеющие 28 хромосом, являются аллополиплоидами, возникшими в результате гибридизации между диплоидными видами с последующим удвоением числа хромосом (Sax, 1922; Kichara, 1924; Kichara, 1954; Kichara, Yamashita, 1956). С помощью цитологического анализа мейоза у гибридов F_1 , полученных от скрещивания *T. turgidum* ($2n = 28$) с *T. monococcum* ($2n = 14$) Sax (Sax, 1922) установил, что один из геномов был привнесен в *T. turgidum* *T. monococcum*. Kichara (Kichara, 1924) обозначил данный геном символом А. Однако, по мнению R. Riley и G. Bell (Riley, Bell, 1958), донором генома А мягкой пшеницы следует считать *T. thaoudar*. Позже Кэрби с соавторами (Kerbietal., 1988), на основании проведенных биохимических исследований, высказали мнение в пользу происхождения генома А от *T. monococcum*. Тем не менее, в качестве возможных источников данного генома приводятся также *T. boeoticum* и *T. urartum* (Гончаров, 2002).

Второй геном, отличный от А, был обозначен символом В (Kichara, Yamashita, 1956). Путем межвидовых скрещиваний пшениц группы спельта с группой полба было установлено, что *T. spelta*, кроме двух общих геномов А и В, имеет третий геном, обозначенный символом D. Считается, что предком

мягкой пшеницы является тетраплоидная пшеница, имеющая геном AABB (Ячевская, 1971). Для поиска источника генома D у мягкой пшеницы были привлечены различные виды рода *Aegilops*, имеющим родство с пшеницей (Сорокина, 1935а, б). Первоначально происхождение генома D отрабатывалось на аналогии *T. spelta* (Siers, 1939, 1941; Сорокина 1935,б; Kihara, Lilienfeld, 1949; Kihara et al., 1957). Полученные экспериментальные данные показали, что донором генома D является *Aegilops squarrosa*. Однако последнее доказательство в происхождении данного генома было получено после цитологического анализа мейоза у гибридов первого поколения от скрещивания сорта Чайниз Спринг с *Ae. squarrosa* (Riley, Chapman, 1960).

Таким образом, согласно обзору данных литературы по происхождению *Triticum aestivum* L., представленного А.А. Хан с соавторами (Khan et al., 2005), донорами геномов А и D являются *T. monococcum* ($2n = 14$, AA) и *Aegilops squarrosa* ($2n = 14$, DD).

Относительно происхождения генома В у мягкой пшеницы среди ученых нет единого мнения. По данным исследований Э. Сирса (Sears, 1956) вероятным донором данного генома может быть *Ae. speltooides*. Однако целый ряд исследователей (Yamashita et al., 1956; Larsen, Kimber, 1973, 1974) утверждают, что *Ae. speltooides* не может быть источником генома В. В настоящее время существует мнение, что донором генома В может быть исчезнувший, очень измененный или еще не обнаруженный вид (Khan et al., 2005). Кроме того, существует мнение, что тетраплоидные и гексаплоидные виды пшеницы имеют полифилетическое происхождение (Joshi et al., 1983; Metakovsky et al., 1989). На данный момент ясно одно, что мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) является аллогексаплоидом и включает в себя три генома: А, В и D. В состав каждого генома входит по семь пар хромосом. Общее количество хромосом у данного вида равно 42 ($2n = 42$).

Таким образом, мягкая пшеница является аллополиплоидом и для нее характерно наличие полигенных систем. Благодаря этому, в случае отклонения

количественного состава хромосом в генотипе, растения сохраняют свою жизнеспособность и фертильность. Появление анеуплоидов происходит из-за нарушения мейоза. Такие формы обычно имеют вместо 42 от 40 до 44 хромосом. В естественных условиях их появление наблюдается довольно редко. Поэтому для их получения Э. Сирс (Sears, 1954) использовал гаплоиды и нуллисомики по III хромосоме, отсутствие которой (нуллисомик) вызывает появление унивалентов в метафазе I. На основании анеуплоидных форм Э. Сирс смог получить растения, в генотипе которых присутствовала лишняя пара одной хромосомы и отсутствовала пара другой хромосомы (нулли-тетрасомик). Способность экстрадозы одной хромосомы компенсировать отсутствие другой свидетельствует о сходстве их генетической функции. В результате проведенных исследований было установлено, что по три хромосомы каждой группы обладают такой способностью. Такие хромосомы были названы гомеологичными. Последние менее родственны, чем гомологичные хромосомы, которые образуют пары в мейозе. Однако у гаплоидов мягкой пшеницы конъюгируют в основном гомеологи (Okamoto, Sears, 1962). На основании компенсационных эффектов все хромосомы были разбиты на семь гомеологичных групп. Дальнейшие скрещивания моносомиков с *T. dicoccum* ($2n = 28$) позволили определить, какие хромосомы относятся к геномам A, B или D (Okamoto, 1962).

Идентификацию хромосом геномов A и B проводили с использованием амфидиплоидов *T. aegilopoides* x *Ae. squarrosa* (AADD), которые скрещивались с растениями сорта мягкой пшеницы Чайниз Спринг, имеющими телоцентрические хромосомы двух вышеуказанных геномов. При конъюгации телоцентриков с нормальной хромосомой в метафазе I мейоза у гибридов F_1 наблюдался гетероморфный бивалент. Используя данный маркер, Э. Сирс и В. Окамото (Sears, Okamoto, 1958) смогли определить хромосомы, относящиеся к геномам A и B.

Первоначально хромосомы мягкой пшеницы обозначались римскими цифрами от I до XXI. Позднее их было предложено обозначать арабскими циф-

рами с указанием принадлежности к геному. Общая нумерация хромосом генома *Triticum aestivum* L. выглядит следующим образом:

Гомеологичная группа	A геном	B геном	D геном
1	1A – XIV	1B - I	1D - XVII
2	2A – XIII	2B - II	2D - XX
3	3A – XII	3B - III	3D - XVI
4	4A – IV	4B - VIII	4D - XV
5	5A – IX	5B - V	5D - XVIII
6	6A – VI	6B - X	6D - XIX
7	7A – XI	7B - VII	7D – XXI

Дальнейшие исследования генома мягкой пшеницы, проведенные с помощью гибридизации *in situ* (Rayburn, Gill, 1984, 1985), показали, что хромосома 4A получена от одного из видов *Aegilops* и что она принадлежит геному B. Позднее, хромосома 4A была переобозначена как 4B, а 4B – как 4A (Naranjo et al., 1988).

Как было установлено, основное число гаплоидного набора хромосом мягкой пшеницы равно 7. Отсюда $2n = 6x = 42$. Хромосомы, принадлежащие к разным геномам, но входящие в одну гомеологичную группу, обладают сходным генетическим материалом и способны в профазе мейоза конъюгировать между собой. Однако мягкая пшеница в мейозе ведет себя как обычный диплоид и в метафазе I наблюдается 21 бивалент, сформировавшийся в результате синапсиса гомологичных хромосомам.

В настоящее время установлено, что процесс диплоидизации полиплоидных пшениц обеспечивается сложным генетическим комплексом, в общей совокупности которого определяющая функция отводится хромосоме 5B. Ее влияние на мейоз было почти одновременно обнаружено М. Окамото (Okamoto, 1957), Б. Р. Райли и В. Чепманом (Riley, Cherman, 1958). При этом действие хромосомы 5B М. Окамото связывал с возможностью наличия в ней генов аси-

написиса. Р. Райли и В. Чепман отмечали появление большого числа мультивалентов при отсутствии в генотипе данной хромосомы. Дальнейшие исследования, проводимые с использованием различных форм мягкой пшеницы и их гибридов с другими видами и родами, позволили авторам сделать вывод о способности хромосомы 5В подавлять конъюгацию гомеологов (Sears, Okamoto, 1958; Riley, Kemrana, 1963; Riley, Cherman, 1964). Кроме того, было выяснено, что для обеспечения правильной бивалентной конъюгации хромосом достаточно наличие одной ее дозы (Riley, 1960a, b; Riley, Cherman, 1966; Riley, Law, 1965). На основании проведенного моносомного анализа было сделано предположение, что диплоидный характер поведения хромосом определяется одним геном (Riley, 1960; Kimber, 1966). Лocus, ответственный за данный процесс у гексаплоидной пшеницы, был обозначен символом Ph (Pairing homeology) и локализован в длинном плече 5В-хромосомы (Wall et al., 1971). Наличие в ней аналогичного гена установлено и у тетраплоидной пшеницы (Dvorak et al., 1984). В связи с тем, что ни один из диплоидных видов, от которых мог произойти ген В пшеницы, не оказывает на мейоз сходного влияния, сделано предположение о мутантной природе происхождения данного гена (Цитогенетика пшеницы..., 1971).

Для объяснения механизма действия хромосомы 5В в конце 60-х годов было сформулировано две гипотезы. Согласно пространственной гипотезе М. Фельдмана (Feldman, 1966; Feldman et al., 1966) 5В подавляет сближение гомеологов в соматических клетках предмейотического периода и стимулирует данный процесс для гомологов, что и определяет бивалентный тип спаривания у мягкой пшеницы.

Р. Райли с сотрудниками (Riley et al., 1966) выдвинули «тайминг гипотезу», которая основывается на представлении о двухэтапности процесса конъюгации (Faberge, 1942). Первый этап его включает стадию притяжения, а второй - стадию истинного синаписиса. По мнению авторов, хромосома 5В влияет на стадию притяжения, регулируя ее продолжительность. Данный период, в случае

отсутствия 5В, увеличивается настолько, что успевают конъюгировать не только гомологи, но и гомеологи и, наоборот, с возрастанием дозы хромосомы 5В он сокращается до уровня, когда не успевают сблизиться даже гомологи (Riley, Sherman, 1967a).

За прошедший период было накоплено большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих как в пользу гипотезы Фельдмана (Feldman, 1966, 1968; Feldman, Avivi, 1973, 1984, 1988; Yacobi, Feldman, 1983), так и гипотезы Р. Райли (Driscoll et al., 1979; Nobolth, 1981; Holm, 1986; Holm et al., 1988; Dvorak, Lukaszewski, 2000). Их подробный анализ представлен в работах Л. Тимофеевой (1990) и Л. Цаценко (2005). В работе Л. Цаценко (2005) кроме двух вышеуказанных гипотез выделяется и третья гипотеза, которая была предложена М. Урадхья с соавторами (Uradhya et al., 1967). Основывается она на том, что хромосома 5В определяет компактность хромосом при подготовке к конъюгации. В настоящее время гипотезы, которые объясняют действия гена Ph1, относят в основном к двум категориям (Feldman, 1993; Liu Den-Cai et al., 2003):

1. Локус Ph1 действует на предмейотических стадиях, управляя предмейотическим выравниванием гомологов и гомеологов.

2. Локус Ph1 включается в исправление гомеологического синапсиса и подавление кроссинговера между гомеологами.

Две эти категории оказываются, определенным образом, связаны между собой. Так П. Хоболт (Nobolth, 1981) и Г. Дженкинс (Jenkins, 1983) установили, что в зиготене спариваются гомеологи с образованием синаптонемального комплекса (СК). В пахитене они распадаются на биваленты. Кроссинговер задерживается. П. Холм (Holm, 1986) подтвердил это на распластанных ядрах. По данным Д. Ветстена (Wettsten et al., 1984) роль гена определяется задержкой кроссинговера до распада мультивалентов. Эта модель действия гена разновидность выбора временной гипотезы Р. Райли (Riley, 1968). Однако, тот факт, что спаривание не продолжается выше 1/3 всего возможного, Gillis (1987) интер-

претирует в пользу гипотезы Фельдмана (Feldman, 1968). Таким образом, механизм действия гена Ph1 на конъюгацию хромосом остается еще до конца не известен. J. Dvorak (Dvorak, Lukaszewski, 2000) на основании анализа результатов собственных исследований и данных литературы, предположил, что Ph1 является управляющим геном, а не структурным. По его мнению, именно данным обстоятельством может объясняться противоречивость некоторых результатов исследования и их толкование. При замещении хромосомы 5В мягкой пшеницы на 5В *T. turgidum*, 5G *T. Timopheevii* был установлен разный уровень конъюгации гомеологичных хромосом (низкий, ниже среднего, выше среднего). На этом основании делается заключение о возможности наличия аллельной изменчивости внутри локуса Ph (Ozkan, Feldman, 2001).

Кроме Ph-локуса хромосомы 5В у мягкой пшеницы обнаружено наличие еще двух супрессоров гомеологичной конъюгации, расположенных в коротком плече хромосом 3А и 3D (Mello-Sampayo, 1971; Mello-Sampayo, Canas, 1973; Driscoll, 1972; Mello-Sampayo, Lorente, 1968). После получения рецессивных форм и доказательства моногенности ингибирующих свойств хромосомы 3D, локус ее был обозначен символом Ph2 (Sears, 1982; McIntosh, 1988). Соответственно идентичный ген 5В хромосомы стал именоваться как Ph1 (McIntosh, 1988).

Действие супрессоров гомеологичной конъюгации 3А и 3D слабее Ph1 (Driscoll, 1972; Mello-Sampayo, Canas, 1973). При нормальном состоянии генотипа их проявление может быть взаимно подавлено. Кроме того, степень активности данных хромосом может находиться под контролем супрессирующих элементов 5В (Mello-Sampayo, Canas, 1973). В цитологической практике существует мнение о специфическом действии 3D-системы, поскольку оно распространяется только на геном D (Mello-Sampayo, 1967).

Из популяции растений мягкой пшеницы выделен третий ген, уменьшающий конъюгацию гомеологов, Ph3 (Viegas et al., 1980). Его происхождение связывают со спонтанной мутацией гена, расположенного в длинном плече

хромосомы 5D. По своим характеристикам он менее активен, чем предполагаемая гомеаллель Ph1. Наличие генов-супрессоров гомеологичного спаривания хромосом обнаружено также в коротком плече хромосомы 3B (Miller et al., 1983), в длинном плече хромосомы 2D (Ceoloni et al., 1986) и в хромосоме 2A (Apolinarska Barbara, Zukarzewski, 1980). Кроме того, в литературных источниках есть сведения о наличии минорных супрессоров в длинном плече хромосом 3A, 3D и в хромосоме 4D (Driscoll, 1973; Sears, 1976).

Таким образом, суммируя вышесказанное, можно сделать вывод, что кроме 5B способностью подавлять конъюгацию хромосом в мейозе, в той или иной степени, обладают хромосомы третьей гомеологичной группы, 2A, 2D и 4D. Однако регуляция мейотических процессов не ограничивается только супрессирующими факторами. По результатам цитогенетических исследований, мягкая пшеница обладает системой генов, имеющей противоположное действие на попарное спаривание гомологов и гомеологов. Так, у сорта пшеницы Kaixian-Luohanmai в 6A хромосоме был выявлен ген ph (phKL), который, по мнению авторов, усиливает синапсис чужеродных хромосом (Liu Deng-Ca et al., 1997, 2003). Часто гены с альтернативным проявлением оказываются в одной группе сцепления. При изучении ингибирующей способности 5B было установлено, что короткое плечо ее влияет на конъюгацию гомеологов в направлении, противоположном 5B^L (Riley, Cherman, 1967b; Feldman, Mello-Sampayo, 1967; Holm, 1988).

Кроме генов, подавляющих синапсис гомеологов, мягкая пшеница имеет комплекс генов, регулирующих осуществление нормального синапсиса гомологичных пар. Из вышеназванных хромосом наличие подобного рода генов-промоторов обнаружено в 3A (Mello-Sampayo, Canas, 1973; Miller et al., 1983), 3B (Sears, 1944, 1954; Li et al., 1945; Kempanna, Riley, 1962), 3D (Mello-Sampayo, 1971; Mello-Sampayo, Canas, 1973; Driscoll, 1972; Miller et al., 1983), 2A (Sears, 1954; Riley et al., 1960), 2D (Miller et al., 1983; Ceoloni et al., 1986). Присутствие промотора также установлено в 2B (Ceoloni et al., 1986). В пределах генотипа

мягкой пшеницы наиболее сильным стимулирующим эффектом обладает хромосома 3В. Отсутствие ее у растений вызывает появление большого количества унивалентов. По выражению Э. Сирса (Sears, 1976), 3В несет ген нормального синапсиса.

При изучении влияния внешних условий на частоту хиазмообразования у пшеницы, проводимого с использованием нуллитетрасомных линий, было обнаружено, что хромосома 5D имеет ген или гены, который (ые) обладает (ют) свойством стабилизировать конъюгацию хромосом при пониженных температурах (Riley, 1966; Hayter, Riley, 1967; Bayliss, Riley, 1972). Однако, несмотря на неоспоримость существования самого факта, ген (гены) его обуславливающий (-ие), из-за отсутствия альтернативных аллелей, идентифицирован не был. В литературных источниках приводятся сведения о наличии генов-промоторов в обоих плечах данной хромосомы (Sears, 1976; Feldman, 1968).

Кроме 5D способность снижать асинаптический эффект, вызванный изменением температуры, обладает и хромосома 5А (Hayter, Riley, 1967; Bayliss, Riley, 1972), которая действует в этих же границах, но обладает более слабым стабилизирующим эффектом. Локус, обуславливающий данное свойство, был обозначен символом *ltp* – low temperature pairing (Hayter, Riley, 1967; Chapman, Law, 1974). По данным А. Хейтера и Р. Райли (Hayter, Riley, 1967), у мягкой пшеницы этот ген находится в гомозиготном рецессивном состоянии, а у тетраплоидной пшеницы в гомозиготном доминантном. Промотор расположен в длинном плече хромосомы 5А (Feldman, 1993).

Таким образом, краткий анализ данных литературы показывает, что основную функцию в стабилизации мейотических процессов у мягкой пшеницы выполняют хромосомы пятой, третьей и второй гомеологических групп. Однако на процесс синапсиса и частоту образования хиазм могут оказывать влияние и другие хромосомы рассматриваемого генотипа. Так у сорта KogaII в хромосоме 7D обнаружен ген (гены), обеспечивающий (-ие) нормальную бивалентную конъюгацию (Law, Worland, 1974). При обобщении экспериментальных дан-

ных, полученных путем анализа мейоза у межсортовых, межвидовых и межродовых гибридов (Liang et al., 1972; Bannier, 1978; Denis et al., 1982; Ferrer et al., 1984; Thomas et al., 1983; Miller, Reader, 1985; Ganeva, Bochev, 1987; Vega et al., 1987; Shnaider, Priilin, 1983; Гайдаленок, Майстренко, 1973; Гайдаленок, 1973) видно, что в регуляции конъюгации гомологов принимает участие практически весь набор хромосом пшеничного растения. При этом результаты манипуляции различной дозой хромосом достаточно хорошо согласуются между собой. Это дает основание считать, что анализ мейоза у моносомных линий обладает определенной эффективностью в деле выяснения его цитогенетического контроля. Расширение сортового разнообразия пшеницы в проводимых исследованиях с привлечением дополнительных элементов анализа может дать новые сведения о регуляторных механизмах мейотических преобразований.

2 МАТЕРИАЛ, УСЛОВИЯ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объекта проводимых исследований взят сорт яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553, который был выведен в Сибирском научно-исследовательском институте сельского хозяйства (авторы: И.Н. Семченко и И.Н. Смирнов). Получен он методом индивидуального отбора из гибридной популяции Мильтурум 321 х Китченер. Разновидность Мильтурум. Семена имеют укороченную, округло-овальную форму. Масса 1000 зерен колеблется от 28 до 39 граммов.

Мильтурум 553 принадлежит к засухоустойчивым, позднеспелым сортам мягкой яровой пшеницы. Его яровой тип развития определяется доминантными генами Vrn2 и Vrn4, расположенными в хромосомах 5В и 2В соответственно. Кроме того, данный сорт имеет в хромосоме 7В ген скороспелости как таковой (Жарков, 1984).

Характерной особенностью сорта Мильтурум 553 является медленный темп развития от начала кущения до выхода в трубку. Совпадение по времени данного периода с наиболее засушливой первой половиной лета и эффективное использование осадков второй половины вегетации позволяет ему сформировать урожай в условиях с неблагоприятным гидротермическим режимом. Это свойство ставит Мильтурум 553 в более выгодные условия по сравнению с пшеницами ранней и средней групп спелости.

Анализируемый сорт относится к разряду высокорослых. Во влажные годы полегает. Зерно слабо прорастает на корню. При перестое склонен к осыпанию. Мукомольно-хлебопекарные качества удовлетворительные, а при более благоприятных условиях налива – хорошие. Устойчив к твердой головне и частично к пыльной. При ранних сроках посева относительно устойчив к корневым гнилям. Бурой и стеблевой ржавчиной поражается сильно. Значительно повреждается и скрытостебельными вредителями. В благоприятные годы урожай достигает 40 ц/га. Мильтурум 553 широко использовался в селекционных програм-

мах и программах генетического анализа мягкой яровой пшеницы. По данному сорту создана серия моносомных линий (21 линия), изучение которых легло в основу настоящих исследований.

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 с мульчированием верхнего слоя почвы. В качестве мульчи использовали торф с нейтральной кислотностью, бедным содержанием элементов питания (N, P, K, органические соединения). 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 были высеяны исходный сорт Мильтурум 553 и популяция семян сестринских дисомиков (F_1 сестринских дисомиков).

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 дисоммики.

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, разработанных для качественных признаков (Доспехов, 1979).

Кроме серии моносомных линий для проведения цитогенетических исследований мейоза использовались межвидовые гибриды пшеницы, полученные от скрещивания *Triticumaestivum* L. с *Triticum durum* Desf. При этом в качестве компонентов скрещивания использовались сорта яровой мягкой пшеницы: Памяти Азиева, ДИАС 2, Эритроспермум 59, Омская 36, Омская 37, линия Г695/01, твердой пшеницы – Ангел, Саратовская золотистая, Омская янтарная, Омский кристалл. Опыты по изучению межвидовых гибридов проводили в течение пяти лет (2005 – 2010 гг.). Гибриды первого поколения были получены в 2006 году. При этом гибридизацию проводили твелл-методом. В 2007 году был изучен характер наследования количественных признаков и получены гибридные зерна второго поколения. 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 F_1 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 F_2 проводилась по той же технологии что и F_1 , с той лишь разницей, что общее количество высеваемого материала по каждой гибридной комбинации составляла в данном случае 100 зерен.

В течение вегетации за посевами проводился тщательный уход (прополка, защита растений от вредителей). Фиксацию микроспороцитов осуществляли по вышеуказанной методике.

Цитологический анализ мейоза проводили на временных давленных ацетокарминовых препаратах с помощью светового микроскопа МБИ 3 при увеличениях 10x10, 20x10, 60x10 и 90x10. При этом у гибридов первого поколения анализировали метафазу I, анафазу I, метафазу II, анафазу II, тетрады. У гибридов второго поколения изучали только метафазу I. Полученные экспериментальные данные обрабатывали соответствующими методами статистического анализа (Доспехов, 1979).

Условия вегетации в 2008 году характеризовались недобором тепла в первой и третьей декадах мая, первой и второй декадах июня, а также первой декаде июля.

Достаточно теплая и дождливая погода отмечалась в мае 2009 года. Среднесуточная температура воздуха превышала среднюю многолетнюю на 1,0°C, а количество выпавших осадков составило 141% от нормы. Прохладная и дождливая погода установилась в июне, июле и первой декаде августа. Снижение интенсивности дождей отмечалось только во второй декаде последнего летнего месяца. В целом вегетационный период 2009 года можно охарактеризовать как прохладный и дождливый.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3. Серия моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

Созданная Э. Сирсом (Sears, 1954) серия анеуплоидных линий по сорту яровой мягкой пшеницы Чайниз Спринг широко использовалась в цитогенетической и селекционной практике. На ее основе были разработаны специальные методы, позволяющие решать ряд вопросов не только чисто теоретического плана, но и добиваться определенных успехов по улучшению отдельных признаков и свойств пшеничного растения путем межсортового и чужеродного замещения хромосом или их фрагментов. Свидетельством тому является работа Р. Райли (Riley, 1968), который сумел передать мягкой пшеницы устойчивость к *Puccinia striiformis* от *Aegilops comosa*. Полученный им сорт Compair имел 20 парных хромосом от пшеницы и одну хромосому 2M от *Ae. comosa*, успешно конъюгирующей с хромосомой 2D *Triticum aestivum* L.. Э. Сирс (Sears, 1956) и К. Дрисколл (Driscoll, 1968), используя методы дополненных линий и обработку пыльцы мутагенами, создали иммунные к грибковым заболеваниям сорта Transfer и Transec. В первом случае участок хромосомы эгилопса был встроен в 6В хромосому пшеницы, во втором - сегмент ржаной хромосомы транслоцирован на хромосому 4А. Возможности анеуплоидии не ограничиваются замещением отдельной хромосомы и ее фрагментов. В тех ситуациях, когда требуется улучшить несколько признаков либо один и тот же признак, контролируемый разными хромосомами, возникает необходимость их объединения. В цитогенетической практике разработаны способы, позволяющие получать растения с двумя и более замещенными хромосомами, открывающими перспективу целенаправленной реконструкции генотипа (Unrau et al., 1956; Жарков, 1981 (А.С. № 1009349)). Кроме всего прочего, моносомные и нуллисомные линии могут быть непосредственно вовлечены в селекционный процесс. Использование данных форм при гибридизации позволяет сохранить отдельные свойства рас-

тения одного из родителей и избежать возможности их дальнейшего расщепления.

Таким образом, наличие анеуплоидных линий, кроме всего прочего, открывает новые возможности для практической селекции, реализация которых требует глубоких знаний в области генетики и цитологии пшеницы. Очевидно, после создания Э. Сирсом (Sears, 1954) первой серии моносомных линий Чайниз Спринг данными перспективами определялась целесообразность получения аналогичного набора у других, наиболее приспособленных, высокоурожайных сортов, распространенных в разных природно-климатических зонах мира. Каталог моносомных серий пшеницы, составленный А. Ворландом (Worland, 1988), включает в себя список из 70 наименований сортов различного происхождения. В их число входит и Мильтурум 553.

3.1 Краткая история создания серии 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 1977 году. Насыщающие скрещивания проводили до получения 8-9 беккроссов. Для идентификации созданной серии моносомки каждой линии скрещивали с соответствующей дителлоцентрической линией Чайниз Спринг. Наличие или отсутствие «смены унивалента» определяли по метафазе I мейоза микроспороцитов гибридов первого поколения. Если моносома соответствовала хромосоме тестерной линии, то на данной стадии микроспорогенеза наблюдалось 20 бивалентов и одна телоцентрическая хромосома, если нет - то метафаза I имела 19 нормальных бивалентов, один гетероморфный бивалент и один унивалент.

Проверка «смены унивалента» показала, что из 21 моносомной линии – 7

не соответствовали своей предполагаемой символике. В их число вошли 1А, 2А, 3А, 7А, 7В, 2D и 6D. По трем линиям (2А, 7В и 2D) «смену унивалента» имели используемые моносомы Чайниз Спринг. Скрещивания по ним были начаты в 1975 году, после того как поступили семена исходных линий из института Цитологии и генетики СО АН СССР и проводились параллельно с получением основного набора анеуплоидов. По остальным четырем хромосомам (1А, 3А, 7А и 7D) в 1977 году пришлось вернуться к начальному этапу создания линий – получение гибридов F_1 . Используя теплицу и поле, в год проводили по три насыщающих скрещивания. В результате проделанной работы к 1980 году серия имела полный набор идентифицированных моносомных линий Мильтурум 553.

3.2 Морфология хромосом сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

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.

Первые исследования морфологии хромосом у разных видов пшеницы позволили разделить хромосомный набор *Triticum aestivum* L. на три генома (Bhatia, 1938; Левитский и др., 1939; Samara, 1935, 1943). Не смотря на то, что результаты исследования Г.А. Левитского с соавторами (1939) и А. Камара (Samara, 1935, 1943) существенно различались между собой, тем не менее их данные смогли убедительно доказать правильность предположений Х. Кихары (Kihara, 1924), Э. Гайнеса и Х. Ааса (Gaines, Aase, 1926) об аллополиплоидном происхождении мягкой пшеницы. Позднее, на базе серии анеуплоидных линий была проведена идентификация хромосом сорта Чайниз Спринг, в результате которой определена принадлежность каждой из них к тому или иному генному и определенной гомеологической группе.

Полученные таким образом результаты исследований показали, что среди гомеологических хромосом близки друг к другу по морфологии 2А и 2D; 6А и

6D; 7A, 7B и 7D. Р.Ф. Гайдаленок (1980), изучив анафазу II мейоза у сортов Саратовская 29, Диамант 2, Саратовская 210 и проанализировав данные литературы по хромосомам Чайниз Спринг и Вичита, выявила закономерность, согласно которой хромосомы одной и той же гомеологической группы имеют близкие отношения плеч. Все гомеологи пятой группы наиболее неравноплечие. Их плечевой индекс приближается к 2. Хромосомы первой группы имеют данный показатель близкий к 1,7; четвертой – к 1,5; третьей – к 1,3; шестой и седьмой – к 1. Геном В наиболее разнообразен по морфологическим признакам хромосом и общая длина их существенно превышает суммарную длину хромосом геномов А и D. Самыми крупными хромосомами являются 3B, 2A и 5B, самыми мелкими – 1D и 6D.

Согласно идеограмме, составленной Д. Моррисоном (Morrison, 1953) у *Triticum vulgare* спутники имеют I (1B) и X (6B) хромосомы. В других источниках (Гайдаленок, 1980; Цитогенетика пшеницы..., 1971) к числу спутничных хромосом относят и 5D. Р. Фламель (Flavel, 1974) в своем сообщении указывает о наличии ядрышковых организаторов в четырех хромосомах: 1A, 1B, 5D и 6B. По данным С. Вигес Ванда и Т. Мелло-Сампайе (VigesWanda, Mello-Sampayo, 1975) ядрышковая организация в роде *Triticum* контролируется девятью различными хромосомами. Дополнительно в этот список включены: 2A, 7A, 1D, 6D и 7D. Имеются сведения о наличии слабого (weak) ядрышкового организатора и в хромосоме 6A (Dervey, Driskol, 1974). В монографии В.Р. Челак (1991) у кариотипа *T. aestivum* var. *milturum* приводится 9 пар спутничных хромосом. В их число вошли II (2A), III (3B), V (5B), VII (7B), X (6B), XI (7A), XIII (2B), XIV (1A) и XIX (6D). При сопоставлении данного ряда с материалами других авторов видно, что они совпадают по хромосомам 1A, 2A, 7A, 6B, 7B и 6D.

Изучение морфологии соматических хромосом у набора сортов мягкой пшеницы выявило наличие существенных сортовых различий по кариотипу (Цитогенетика пшеницы..., 1971; Щапова, 1969). Так, по результатам исследования А.И. Щаповой (1969), Мильтурум 553 имеет максимальное (9) число пар

равноплечих хромосом. Кариотип его отличается от такового у Чайниз Спринг по шести хромосомам. Согласно составленной ей идеограммы Мильтурум 553 имеет две пары спутничных хромосом.

Таким образом, из вышесказанного следует, что морфологические признаки хромосом мягкой пшеницы и, в частности, интересующего нас сорта достаточно хорошо изучены. Однако, учитывая то, что хромосомы пшеницы в микроспорocyтах имеют иную структуру строения, чем в соматических клетках, мы сочли целесообразным, используя те возможности, которые дает нам наличие серии моносомных линий, провести дополнительные визуальные исследования кариотипа Мильтурум 553. Морфология каждой хромосомы на стадии метафазы I и анафазы II представлена на рисунке 3.1 и приложениях 1 и 2.

При сопоставлении рисунка, приведенного для Мильтурум 553, с аналогичной иллюстрацией, данной Р.Ф. Гайдаленок (1980) для Саратовской 29 и идиограммой Д. Моррисона (Morrison, 1953) видно, что идентичные хромосомы различных сортов мягкой пшеницы обладают определенной степенью сходства. Также как и у других представителей данного вида у Мильтурум 553 самыми крупными хромосомами являются 3В и 5В, а самыми мелкими – 1D и 6D. При этом к числу равноплечих (метацентрических) можно отнести все хромосомы шестой и седьмой гомеологичных групп. Что же касается остальных трех пар хромосом, идентифицируемые А.И. Щаповой (1969) как метацентрические, то в данном случае определить их визуально без дополнительного использования морфометрических методов довольно сложно. Тем более, что в анализируемых фазах мейоза размеры и форма унивалентной хромосомы во многом определялась эффектом ее пространственной ориентации (прил. 1 и 2). Однако отдельные морфологические признаки у ряда хромосом носили достаточно стабильное проявление. Так, у представителей пятой гомеологичной группы наблюдалось характерное искривление длинных плеч. 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 (прил. 1, 2). Данное обстоятельство дает основание предполагать о возможности наличия ядрышковых организаторов у Мильтурум 553 кроме 1В, 6В и в других хромосомах.

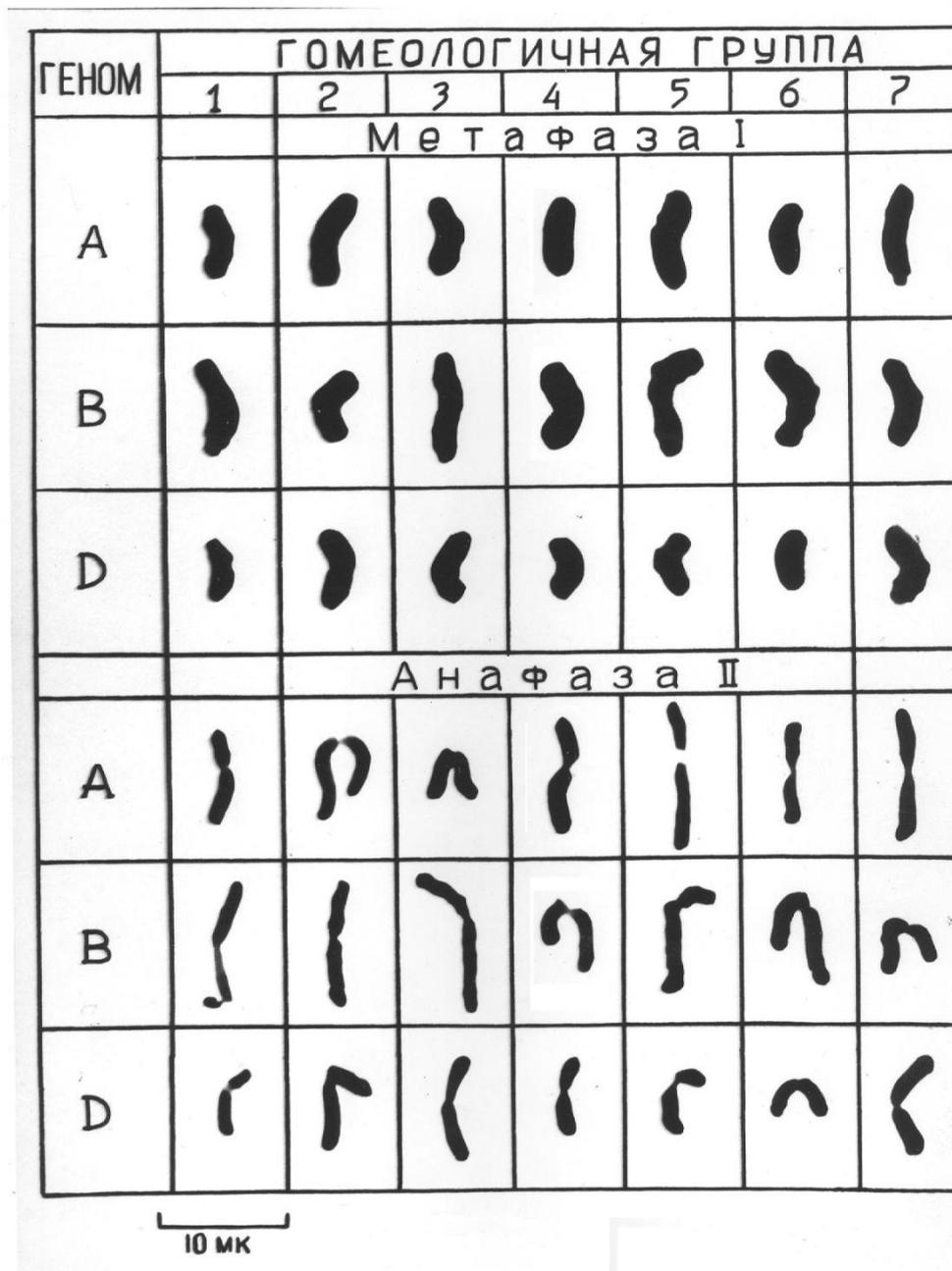


Рис. 3.1 - Морфология хромосом пшеницы Мильтурум 553 в метафазе I и анафазе II мейоза.

Результаты наших наблюдений совпадают с данными вышеназванных авторов по 9 хромосомам. Хромосома 3А упоминается впервые. В общем итоге созданная серия моносомных линий сорта Мильтурум 553 по морфологическим

признакам унивалентных хромосом соответствует проведенной классификации кариотипа мягкой пшеницы и, следовательно, может быть использована в дальнейших цитогенетических исследованиях.

3.3 Состав популяции серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

При самоопылении моносомных растений формируется два типа мужских и женских гамет: с 21 и 20 хромосомами. Их различное сочетание приводит к формированию смешенного потомства, состоящего из дисомиков ($2n = 42$), моносомиков ($2n-1$) и нуллисомиков ($2n-2$). Э. Сирс (Sears, 1953), анализируя функциональную активность нормальных и 20-хромосомных гамет, вычислил частоту появления данных форм, которая составила 24, 73 и 3 процента соответственно. К. Цуневаки (Tsunewaki, 1964), изучая выход моносомиков у Чайниз Спринг, установил, что линии существенно различаются между собой по этому показателю. Границы варьирования его при самоопылении определялись от 56,5% (2A) до 86,3% (6A), при перекрестном опылении – от 61,0% (6B) до 85,7% (1A). Аналогичные исследования, проведенные другими авторами (Стельмах, Буравкова, 1972; Использование..., 1976), показывают несколько иные результаты. Так, если по К. Цуневаки (Tsunewaki, 1964) наименьшей частотой моносомиков в потомстве обладает вторая гомеологичная группа, то в опытах Б.В. Ригина и З.Б. Гуляевой (Использование..., 1976) моносомные растения реже появлялись в потомстве моносомиков четвертой и седьмой гомеологичных групп. Самый низкий процент их выхода у Чайниз Спринг при самоопылении отмечали А.Ф. Стельмах и Л.К. Буравков (1972), который составил в среднем по серии 46,3%. Анализ экспериментальных данных трех вышеназванных работ показывает, что коэффициенты корреляции между ними определялись от среднего до самого низкого его уровня и составили соответственно 0,6; 0,3; 0,2 (Гончаров, 1992). Б.В. Ригин и З.Б. Гуляева (Использование..., 1976), на основании собственных наблюдений и данных других исследователей, делают вывод, что на степень передачи гамет с нехваткой хромосомы влияют отсутст-

вие определенной хромосомы и условия произрастания растений. Н.П. Гончаров (1991, 1992), анализируя данные литературы разных лет, усматривает тенденцию снижения выхода моносомиков в процессе длительного размножения анеуплоидных линий и объясняет это затуханием избирательной способности 20 хромосомных гамет.

Создание серий анеуплоидных линий по другим сортам позволило изучить роль генотипа в формировании жизнеспособных гамет с различным числом хромосом. Среди данных литературы отмечается как отсутствие влияния сорта на средний процент выхода 41-хромосомных растений (Бессараб, 1984), так и наличие факта существенного отклонения частоты нули-, моно- и дисомных растений от принятого стандарта (Яцевич, 1987 и др.)

Изучение потомства самоопыленных моносомных линий Мильтурум 553 показало, что частота появления моносомиков, дисомиков и нуллисомиков у данного сорта при включении в состав моносомиков растений с изо- и телоцентрической хромосомой, а в состав дисомиков – с гетероморфным бивалентом ($2n = 41+t$) оказалась близка к расчетным величинам Э. Сирса (Sears, 1953) и составила в среднем по серии 73,25; 22,08; 2,40 процентов соответственно. Кроме трех вышеуказанных форм в состав популяции моносомных линий входили и растения, которые по хромосомному составу можно отнести к гипо- и гиперанеуплоидам. На их долю приходится 2,27% общей совокупности популяции моносомных линий.

Моносомные растения по своим морфологическим признакам, как правило, не отличались от сестринских дисомиков и рекуррентного родителя Мильтурум 553. Исключение составили линии пятой гомеологической группы и линия 2А. Отсутствие одной дозы хромосомы 5А вызывало спельтоидность, а хромосом 5В и 5D – увеличение плотности колоса до уровня, улавливаемого визуально. Растения, моносомные по 2А хромосоме, имели более светлую окраску зерна.

Нуллисомные растения по сравнению с моносомниками и дисомниками об-

ладали определенной депрессией выраженности фенотипических признаков (рис. 3.2).



Рисунок 3.2 - Нуллисомные растения, выделенные цитологическим путем из популяции моносомных линий сорта Мильтурум 553.

Отсутствие одной пары хромосом, в подавляющем большинстве случаев, приводило к уменьшению толщины стебля и площади листовой пластинки, деформации колоса. Растения, нуллисомные по хромосоме 5А имели спельтоидную форму колоса с хорошо развитыми остями, что указывает на наличие в ней генов Q и ингибитора образования остей (В1). Выделенные 40-хромосомные формы в основном были стерильны.

Гипо- и гиперанеуплоиды по своим фенотипическим признакам существенно различались между собой. В зависимости от хромосомного состава они обладали сходством либо с нуллисомными растениями, либо с моносомниками и сестринскими дисомниками. В состав данной группы вошли трисомики ($2n=43$), двойные моносомники ($19'' + 2'$), нули-моносомники ($19'' + 1'$), растения, имеющие на фоне генотипа с 17 и 18 бивалентами тройной набор одной хромосомы

при гемизиготном состоянии двух других ($17'' + 1''' + 2'$ и $18'' + 1''' + 2'$). Кроме того, сюда же вошли два гаплоида, выделенные из моносомной популяции по хромосомам 7A и 5B. У одного из них (7A) $2n = 20$.

При анализе потомства моносомных линий Мильтурум 553 использован принцип, предложенный К. Цуневаки (Tsunewaki, 1964). Разницу в частоте между моносомными линиями рассматривали как разницу между тремя хромосомами одной и той же гомеологической группы и геномов в целом. Для сопоставления полученных экспериментальных данных с данными литературы, все анеуплоидные формы, в соответствии с методикой К. Цуневаки (Tsunewaki, 1964), были разделены на две альтернативные группы – моносомы и дисомы. Результаты такого подхода представлены в таблице 3.1. Кроме того, из-за значительной частоты выщепления aberrантных форм было целесообразным показать анализируемый материал в развернутом виде (таблица 3.2). Коэффициент корреляции по выходу моносомиков между данными двух таблиц оказался достаточно высоким и составил 0,83.

Как видно из таблиц 3.1 и 3.2 процентный состав моносомиков в популяциях значительно варьировал по линиям. Наибольшее их количество наблюдалось в потомстве растений, моносомных по хромосомам 3D, 4D и 6D, а наименьшее – 2A, 3A и 4B. Спутничные хромосомы 1B и 6B, имевшие «критическое» положение у сорта Чайниз Спринг (Tsunewaki, 1964), в данном случае занимали промежуточное положение.

По результатам сравнения гомеологических хромосом были обнаружены достоверные различия между ними в группах 3 и 4. В четвертой гомеологической группе моно-4B показала чрезвычайно низкую частоту передачи моносомиков, которая по данным таблицы 3.2 составила 38,7%, а формирование 20-хромосомных женских гамет в общем итоге определялось в пределах 64% (табл. 3.1). Подобная же ситуация наблюдалась и по хромосоме 3A. Интересно отметить, что самый высокий процент выхода анеуплоидов данного типа имели линии, принадлежащие к двум вышеуказанным анеуплоидным группам (3D и

4D).

Таблица 3.1 – Частота моносомиков в потомстве самоопыленных
моносомных линий Мильтурум 553

Линия, моносо- мная по хромосоме	Количес- тво проана- лизиро- ванных растений	Количество моносомиков, %		χ^2	Сравнение
		по линии	по гомеоло- гичной группе		
1A	76	76,3			
1B	71	83,1	76,9	2,70	
1D	74	71,6			
2A	71	66,2			
2B	68	77,9	71,7	2,37	
2D	73	71,2			
3A	72	66,7			
3B	77	79,2	76,9	6,76*	3A<3B, 3D
3D	76	84,2			
4A	74	71,6			
4B	75	64,0	73,2	7,79*	4B<4A, 4D
4D	75	84,0			
5A	70	74,3			
5B	70	83,4	78,2	1,07	
5D	71	78,9			
6A	72	77,8			
6B	78	76,9	79,0	0,78	
6D	74	82,4			
7A	73	80,8			
7B	74	83,8	82,5	0,23	
7D	76	82,9			
A	508	73,4			
B	513	78,3	77,1	5,91	
D	519	79,4			

*Достоверно на 5% уровне.

Таблица 3.2 – Частота и типы анеуплоидных форм в потомстве самоопыленных моносомных линий сорта Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Количество проанализированных растений, шт.	Процент				
		моносомиков	дисомиков	нуллисомиков	растений с телоцентрической хромосомой	гипо- и гиперанеуплоиды
1A	76	72,37	23,88	1,31	1,31	1,31
1B	71	76,06	15,49	1,41	5,63	1,41
1D	74	68,92	28,38	0,00	0,00	2,70
2A	71	60,56	30,99	1,41	1,41	5,63
2B	68	76,47	20,59	0,00	1,47	1,47
2D	73	71,23	28,77	0,00	0,00	0,00
3A	72	65,28	33,33	1,39	0,00	0,00
3B	77	70,13	20,78	7,79	0,00	1,30
3D	76	84,21	15,79	0,00	0,00	0,00
4A	74	70,27	28,37	0,00	0,00	1,35
4B	75	38,67	34,67	21,33	2,67	2,67
4D	75	82,67	16,00	0,00	0,00	1,33
5A	70	57,14	12,86	1,43	7,14	21,43
5B	70	77,14	18,57	0,00	2,86	1,43
5D	71	77,46	21,13	0,00	1,41	0,00
6A	72	75,0	22,22	1,39	0,00	1,39
6B	78	74,36	23,08	0,00	2,56	0,00
6D	74	82,43	17,57	0,00	0,00	0,00
7A	73	72,60	19,18	6,85	0,00	1,37
7B	74	77,03	16,22	5,40	0,00	1,35
7D	76	80,26	15,79	0,00	1,32	2,63
A	508	67,60	24,40	1,97	1,41	4,64
B	513	69,98	21,34	5,13	2,17	1,38
D	519	78,23	20,42	0,00	0,39	0,96
X ср.	1540	71,95	22,08	2,40	1,30	2,27

Сравнение усредненных данных гомеологических групп между собой (табл. 3.1) показывает, что группа 2 обладает минимальным количеством моносомиков в потомстве самоопыленных линий. Это заключение хорошо согласуется с выводами К. Цуневаки (Tsunewaki, 1964), сделанные им в отношении серии моносомиков сорта Чайниз Спринг. Проведенный межгеномный анализ экспериментальных данных не выявил достоверных различий между ними по частоте выхода моносомиков.

В целом же сорт Мильтурум 553 имел более высокий процент выхода моносомиков, чем Чайниз Спринг. Так, если по данным К. Цуневаки (Tsunewaki, 1964), серия Чайниз Спринг включала в себя 70,1% анеуплоидов данного типа, то у анализируемого сорта этот показатель составил 77,1%.

Математически доказуемые различия между двумя сериями могли быть обусловлены либо влиянием сортовых особенностей, либо различными условиями проведения опытов. Для проведения их сравнительного анализа, в год закладки основного опыта в теплице выращивали в полном объеме отдельные линии Чайниз Спринг. Результаты цитологической идентификации их растений представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Частота моносомиков в самоопыленном потомстве 5 линий сортов пшеницы Чайниз Спринг и Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Чайниз Спринг		Мильтурум 553		Анализ различий (χ^2)
	Количество проанализированных растений, шт.	Количество моносомиков, %	Количество проанализированных растений, шт.	Количество моносомиков, %	
5А	71	64,79	70	74,29	1,50
2В	23	65,22	68	77,94	1,47
5В	65	73,85	70	81,43	1,12
7В	65	64,61	74	83,78	6,75**
5D	57	73,68	71	78,87	0,47
Х сред.	281	68,68	353	79,32	9,34**

** Достоверно при 1% уровне

Как видно из таблицы 3.3, не смотря на то, что достоверность различий была доказана только по одной хромосоме, тем не менее, все пять линий сорта Мильтурум 553, при одинаковой технологии получения семян и условий выращивания растений, имели более высокий процент выхода моносомиков, чем у аналогичного набора Чайниз Спринг. Поэтому не случайно значение критерия хи-квадрат в итоговой строке оказалось высокодостоверным. Однако прежде чем делать окончательный вывод, обратимся к другой проблеме, связанной с количественным составом популяции моносомных линий.

Как уже отмечалось выше, Н.П. Гончаров (1992), анализируя экспериментальные данные, полученные разными исследователями, приходит к выводу о возможности затухания избирательной способности гамет с возрастанием поколения самоопыления. В силу того, что в таблице 3.3 приводятся данные, полученные на основе изучения моносомных линий Чайниз Спринг и Мильтурум 553 различной регенерации (второе самоопыленное потомство после беккроссирования у Мильтурум 553 и многократное – у Чайниз Спринг), есть основание более подробно остановиться на затронутом вопросе. Ниже приводится используемый вышеназванным автором материал с дополненными результатами наших исследований (таблица 3.4).

При сопоставлении экспериментальных данных, полученных в разные годы, видно, что снижение выхода моносомиков с увеличением количества самоопыления действительно имеет место. Математически доказуемой оказалась разница между крайними вариантами по хромосоме 5A ($\chi^2 = 4,05$). За 20 лет состав моносомной части популяции снизился в данном случае на 15%. Подобная же тенденция наблюдалась и по двум другим хромосомам: 2В и 7В. В то же время анализ данных потомства моносомных линий 5В и 5D показывает, что данное явление не имеет всеобщего значения. Очевидно, избирательная способность гамет и все связанные с ней процессы во многом определяются спецификой хромосомы, которая находится в гемизиготном состоянии.

Таблица 3.4 – Частота выхода моносомиков сорта Чайниз Спринг
(по данным разных авторов)

Линия, моносо- мная по хромосо- ме	По экспериментальным данным						Анализ различий между данными колонок 3 и 6 (χ^2)
	Tsunewaki (1964)		Стельмах, Буравкова (1972)	Исполь- зова- ние.. (1976)	Цильке, Жарков (1983)		
	Количество проанализи- рованных растений	%	%	%	%	Число про- анализиро- ванных растений	
1	2	3	4	5	6	7	8
5А	74	79,7	75,0	67,9	64,8	71	4,05*
5В	73	69,9	30,4	51,6	73,8	65	0,27
5D	72	69,4	72,4	61,3	73,7	57	0,28
2В	76	71,1	44,0	55,7	65,2	23	0,28
7В	58	72,4	27,7	50,0	64,6	65	0,86
X сред.	353	72,5	-	-	68,7	281	1,11

*Достоверно при 5% уровне

Таким образом, возвращаясь к таблице 3.3, можно сказать, что различия между линиями двух сортов по частоте моносомиков могли быть обусловлены как количеством регенераций анализируемого потомства, так и влиянием сорта. При сопоставлении значений критерия χ^2 в итоговом выражении таблиц 3.3 и 3.4 видно, что доля вклада особенностей генотипа была более значительна. Следовательно, выход моносомиков, кроме всего прочего, зависит от сортовой специфики анализируемой серии. Об этом же свидетельствует характер распределения частот и типов анеуплоидных форм по линиям.

Процентное содержание дисомиков ($2n = 42$) в популяции, как правило, находилось в обратно-пропорциональной зависимости от выхода моносомиков. Касаясь характеристики двух этих групп анеуплоидов, следует отметить, что как среди моносомиков, так и сестринских дисомиков встречались генотипы, которые в метафазе I мейоза имели гетероморфный бивалент. Причем, если для

моносомной части популяции такие растения были единичными, то среди дисомиков они встречались довольно часто.

Линии моносомной серии сорта Мильтурум 553 в значительной степени различались между собой по выходу нуллисомиков ($2n = 40$). Необычайно высокая их частота (21,33%) наблюдалась в потомстве моносомиков по 4В хромосоме. Фактически полученные данные в этом случае очень близки к теоретически ожидаемым расчетам, согласно которым при различном сочетании гамет 25% должно быть 40-хромосомных растений. Исходя из этого, можно сделать вывод, что практически все мужские гаметы с недостающей одной хромосомой (4В) обладали функциональной активностью. Высокая частота их передачи через пыльцу свидетельствует о низком вкладе 4В в постмейотические процессы, а снижение выхода аналогичных женских гамет говорит об особой ее роли в процессах, предшествующих оплодотворению. Очевидно, эти два явления каким-то образом связаны между собой.

Кроме как по 4В хромосоме, значительное количество анеуплоидов данного типа наблюдалось в самоопыленном потомстве моно-7А (6,85%), моно-7В (5,40%) и моно-3В (7,79%). Согласно таблице 3.2 нуллисомные растения присутствовали во всех линиях генома А (кроме 4А). Подобные генотипы не были выделены по трем хромосомам генома В (2В, 5В, 6В) и ни по одной из хромосом генома D. Однако отсутствие нуллисомиков в данном материале вовсе не исключает возможность их появления в других случаях. Так, из урожая полевого опыта дополнительно было выделено 40-хромосомные растения по линиям 6В, 4D и 6D.

Группа анеуплоидов, представленная в таблице 3.2 под общим заголовком: «Растения с телоцентрической хромосомой» включает в себя монотелосомики ($20'' + t'$), моноизосомик ($20'' + 1$ изохромосома) и дителлосомики ($20'' + t''$). Их появление связано с поперечным делением центромеры унивалентных хромосом, возникающем при макро- и микроспорогенезе. Чаще всего растения с телоцентриками наблюдались в случае гемизиготного состояния хромосом 5А

(7,14%) и 1В (5,63%). Высокую частоту выщепления аналогичных форм имела и моносомная линия 4В. Причем 26,92% растений ее дисомной части популяции обладали гетероморфным бивалентом. Генотипы с телоцентрическими хромосомами были выделены по 4 линиям генома А (1А, 2А, 4А, 5А), 5 линиям генома В (1В, 2В, 4В, 5В, 6В) и 2 линиям генома D (5D, 7D). Все представители пятой гомеологической группы имели данный тип анеуплоидов.

Моносомики, дисомики, нуллисомики и растения с телоцентриками можно отнести к одной совокупности форм, происхождение которых связано с поведением унивалентной хромосомы. Совсем иную ассоциацию представляют гипо- и гиперанеуплоиды. Их возникновение являлось не только прямым следствием моносомного состояния исходного родителя, но и было вызвано нарушениями правильного расхождения парных хромосом. Более часто анеуплоиды второго типа встречались у линий генома А (табл. 3.2). Особое место в этом плане занимает 5А. Более 5% самоопыленного потомства данной линии составляли двойные моносомики. В их число входили и растения, у которых наряду с нормальным унивалентом, находилась в гемизиготном состоянии и телоцентрическая хромосома. Более значительную часть популяции (10%) занимали генотипы, имеющие 19 хромосом в двойном наборе, 1 хромосому – в тройном наборе и один унивалент ($19'' + 1''' + 1'$). Линии 5А принадлежат и формы со столь необычным набором хромосом как $18'' + 1''' + 2'$ и $17'' + 1''' + 1'$. Их доля в общей совокупности растений моно-5А оказалась также высока и составила 4,29%. Таким образом, из всего проанализированного набора, моносомная линия по хромосоме 5А обладала самым широким спектром анеуплоидных форм, что указывает на ее особое место в организации процесса деления клеток.

Подводя итог данному разделу, следует отметить, что серия моносомных линий Мильтурум 553 наряду с общими закономерностями формирования различных анеуплоидных форм в самоопыленном потомстве имеет и свои особенности, которые должны учитываться при ее практическом использовании.

4 Проявление эффекта дозового состояния хромосом в метафазе I мейоза

Идея использования анеуплоидов в изучении наследственности растений принадлежит А. Блексли (Blekeslee, 1922), получившему первые абберрантные формы по числу хромосом (формы с присутствием экстрахромосом) у *Datura stramonius*. Позднее Р. Клаузен и Т. Гудспид (Clausen, Goodspeed, 1926), изучая выделенные ими моносомы ($2n-1$), приходят к выводу, что подобные хромосомные абберранты значительно облегчают задачу менделевского анализа растений. Первая серия моносомных линий была создана Р. Клаузеном (Clausen, 1941a, 1941b) у *Nicotiana tabacum*. Им же (Clausen, 1941a) были разработаны основные положения моносомного генетического анализа. Идеи Р. Клаузена нашли дальнейшее развитие в трудах Э. Сирса (Sears, 1953, 1954).

В книге “Цитогенетика пшеницы и ее гибридов” (1971) выделяются следующие 5 методов цитогенетического анализа пшеницы: 1) нуллисомный анализ; 2) анализ моносомных растений F_1 ; 3) анализ популяции F_2 от моносомных растений F_1 ; 4) анализ F_3 дисомных растений F_2 , происходящих от моносомиков F_1 ; 5) анализ линий с межсортовым замещением хромосом. В своей монографии Н.П. Гончаров (1992) указывает на существование еще трех методов анализа: тетрасомного, нули-тетрасомного и анализа, проводимого с использованием моно- и дителлосомных линий. Следует отметить, что сущность нуллисомного анализа у разных авторов трактуется по-разному (Цитогенетика пшеницы..., 1971; Использование..., 1976; Цильке, 1975; Гончаров, 1992).

Приведенная выше классификация цитогенетических методов изучения пшеницы основывается на факте использования тех или иных анеуплоидных форм с модификациями различного состояния генотипа (F_1 , F_2 , F_3 , моно- или дисомном). Исходя из того же принципа, к их числу следует отнести и анализ моносомных линий. В сущности, все эти методы могут быть сведены к двум основным способам осуществления цитогенетических исследований.

I. Исследования, проводимые путем сравнительного анализа анеуплоидных линий с исходным сортом (Гончаров, 1992).

II. Исследования, основанные на изучении менделеевского расщепления.

По первому способу выполняется большинство вышеуказанных методов. Он же является наиболее простым в исполнении. Однако для его реализации требуется наличие соответствующего набора анеуплоидных линий по анализируемому генотипу, что, очевидно, и послужило в качестве одной из причин их получения по целому ряду коммерческих сортов (Worland, 1988).

Каждый из представленных методов цитогенетического анализа обладает своими разрешающими способностями. Так, моносомный анализ является весьма эффективным для изучения качественных признаков. Однако для изучения количественных признаков и признаков качественного порядка с аддитивной системой их генетического контроля наиболее результативными могут быть методы, основанные на сравнительном анализе признаков у дисомного контроля и анеуплоидных линий (Цильке, 1975; Евдокимов, 1978; Яцевич, 1987 и др.). К сожалению, в последнее десятилетие исследования с использованием анеуплоидных методов анализа существенно сократились. В то же время их возможности так и не были до конца использованы.

4.1 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

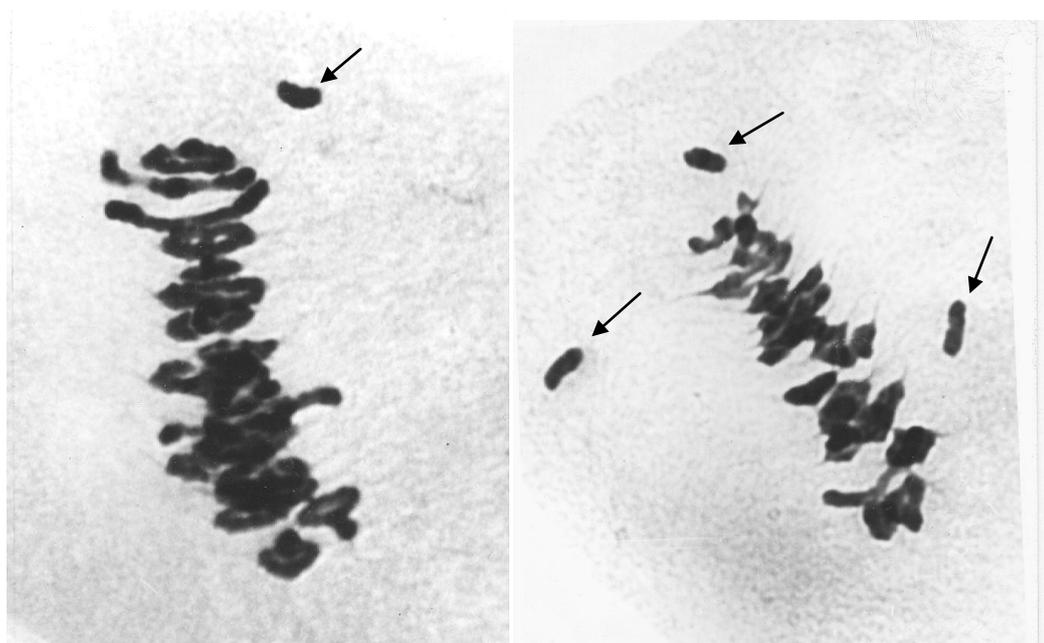
%).

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 (рис. 4.1, а). Однако в ряде случаев наблюдались клетки с тремя и более унивалентами (рис. 4.1, б), а также – с мультивалентами (рис. 4.1, в, г).

По результатам проведенных исследований большинство моносомных линий имели тот же уровень образования мультивалентов (тетравалентов), что и исходный сорт (таблица 4.1). Исключение составили линии, моносомные по хромосомам 2A, 1B, 3B, 2D и 7D. При этом отсутствие одной дозы хромосомы 1B и 3B вызвало достоверное увеличение частоты образования тетравалентов, 7D - снижение, а в случае гемизиготного состояния 2A и 2D хромосомные ассоциации подобного рода в метафазе I не наблюдались. У растений, моносомных по хромосоме 2D, примерно с той же частотой вместо тетравалентов формировались триваленты (рис. 4.1, г). Их наличие в единичных клетках также отмечалось у моносомиков 2A, 6A и 7D. Практически во всех случаях в образовании тривалентов принимала участие анализируемая хромосома. Среди сестринских дисомиков достоверное отклонение получено только по 6A хромосоме, где клетки с мультивалентами не обнаружены.

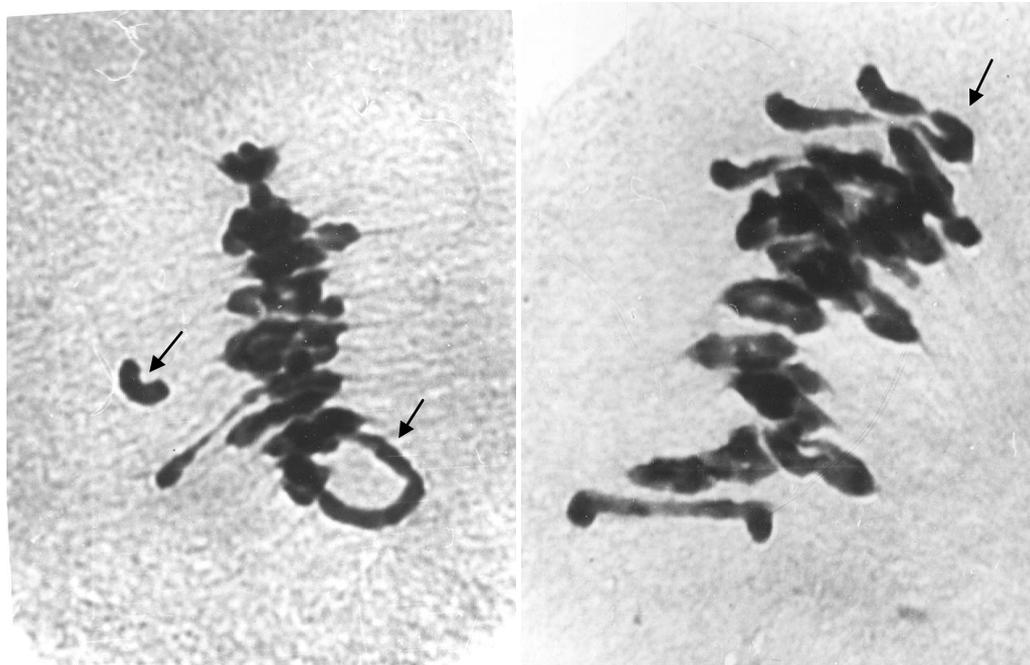
При цитологической идентификации хромосом, участвующих в образовании мультивалентов, могут быть использованы два показателя. Это снижение доли клеток с тетравалентами, вплоть до полного их отсутствия при исключении из генотипа одной дозы “критической” хромосомы и способность моносомы принимать участие в формировании тривалентов. Исходя из данного положения, а также результатов проведенных исследований (табл. 4.1), есть основания считать, что образование тетравалентов у Мильтурум 553 обусловлено в основном синапсисом двух пар гомеологичных хромосом: 2A и 2D. Наблюдаемые между ними различия по частоте встречаемости у моносомиков метафазных клеток с тривалентами, очевидно, связаны с проявлением их неадекватной

роли в данном процессе. Взяв за основу эти показатели, можно предположить, что вероятность синапсиса вышеуказанных гомеологов в большей степени определяется хромосомой 2D, чем 2A.



а

б



в

г

Рисунок 4.1 - Конфигурация хромосом в метафазе I мейоза у моносомных растений Мильтурум 553: а - $20'' + 1'$; б - $19'' + 3'$; в - $18'' + 1''' + 1'$; г - $19'' + 1'''$ (Ув. 90x10).

Таблица 4.1 – Образование мультивалентов в метафазе I мейоза у моносомиков и сестринских дисомиков сорта Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Моносомик			Сестринский дисомик	
	количество изученных клеток, шт.	процент клеток с		количество изученных клеток, шт.	клеток с тетравалентами, %
		тетравалентами	тривалентами		
1A	1002	1,00±0,31		704	0,57±0,28
2A	1312	0,00±0,00***	0,08±0,08	861	1,16±0,30
3A	1542	0,97±0,25		538	1,30±0,49
4A	1119	0,89±0,28		489	0,82±0,41
5A	1669	0,60±0,19		718	0,56±0,28
6A	1464	0,75±0,22	0,07±0,07	681	0,00±0,00*
7A	1295	0,39±0,17		387	0,52±0,37
1B	1427	2,45±0,41**		646	1,39±0,46
2B	626	0,64±0,32		779	0,51±0,26
3B	1154	1,99±0,41*		370	0,54±0,38
4B	1692	0,95±0,24		705	0,57±0,28
5B	1349	1,56±0,34		539	0,93±0,41
6B	1023	0,98±0,31		586	0,51±0,29
7B	1069	0,94±0,30		473	0,42±0,28
1D	1264	0,79±0,25		443	0,23±0,23
2D	1344	0,00±0,00***	0,82±0,25	816	0,61±0,27
3D	1148	0,61±0,23		442	0,68±0,39
4D	847	1,30±0,39		506	1,58±0,55
5D	1228	0,90±0,27		514	0,97±0,43
6D	1210	0,41±0,18		439	0,68±0,39
7D	1175	0,26±0,15*	0,08±0,08	486	1,03±0,46
M 553	1392	0,93±0,26		1392	0,93±0,26

Примечание. Достоверно отличается от исходного сорта при:

*P = 0,05-0,01; **P = 0,01-0,001; ***P ≤ 0,001.

Судя по цифровым данным, представленным в таблице 4.1, способность к образованию мультивалентов у Мильтурум 553 обладают еще две хромосомы: 6A и 7D. Однако из этого не следует, что они могут вступать между собой в

конъюгацию, а значит, имеют реципрокную транслокацию. Обязательным условием для формирования в мейозе I транслоцированными хромосомами мультивалентов является их гетерозиготное состояние (Лобашов, 1967; Хвостова, Ячевская, 1975), что практически исключается при длительном самоопылении при строгой изоляции как самого сорта Мильтурум 553, так и его моносомной серии. Следовательно, образование мультивалентов с их участием вероятнее всего происходит в результате синапсиса этих хромосом с одним из своих гомеологов. Наблюдаемая тенденция к снижению доли клеток с тетравалентами у отдельных моносомных линий (табл. 4.1) позволяет предположить, что наиболее вероятным партнером гомеологичного спаривания для хромосомы 6A является 6D, а 7D – 7A.

Достоверное увеличение числа клеток с тетравалентами в случае отсутствия одной дозы хромосом 1В и 3В свидетельствует о наличии в них генов, контролирующих данное явление. В связи с тем, что, как было показано выше, формирование мультивалентов у сорта Мильтурум 553 связано с синапсисом гомеологов, то эти гены принимают участие в общей детерминации механизма, обеспечивающего диплоидный характер поведения аллополиплоидного генотипа пшеницы.

4.2 Цитогенетический контроль конъюгации гомологичных хромосом у мягкой пшеницы

По данным цитологических наблюдений, характер синапсиса хромосом у моносомных растений определялся не только наличием или отсутствием мультивалентов, но и частотой образования дополнительных к моносоме унивалентов (рисунок 4.1, б). Их наличие могло быть обусловлено как отсутствием синапсиса хромосом (асинапсис), так и преждевременным распадом бивалентов в профазе мейоза (десинапсис). В связи с тем, что методика проводимых исследований не позволяет идентифицировать природу их происхождения, целесообразно, исходя из данного определения двум вышеуказанным явлениям (Ригер, Михаэлиу, 1967; Гуляев, Мальченко, 1975) и пользуясь рекомендациями

R.K.Soost (1951), ограничиться в дальнейшем понятием асинапсиса, без его детализации.

Достоверное отклонение от исходного сорта (контроль) по данному показателю было получено в одиннадцати случаях из 21 возможного (таблица 4.2). Согласно результатам проведенных исследований, отсутствие одной дозы хромосом 1В, 2В, 2D, 3А, 3В, 4А, 4В, 4D и 7А у серии моносомных линий вызвало увеличение количества клеток с асинаптическими хромосомами. Математически доказуемый отрицательный эффект по данному признаку проявился только при гемизиготном состоянии хромосомы 5D. Наибольшее количество клеток с нарушениями синапсиса наблюдалось у растений, моносомных по хромосомам 3А (5,12%) и 3В (4,68%), а наименьшее – 1А (0,40%) и 5D (0,41%). По усредненным данным уровень асинапсиса у моносомиков превышал исходный сорт на 1,07%.

Изучение метафазы I мейоза микроспороцитов сестринских дисомиков ($2n=42$) также выявило их неоднородность по проявлению рассматриваемого признака (табл. 4.2). Достоверное отклонение от рекуррентного родителя доказано по семи линиям. Причем в пяти случаях (3А, 4А, 3В, 2D и 4D) у сестринских дисомиков наблюдалось сохранение эффекта моносомии, а в остальных двух случаях (5В и 6В) существенность различий между дисомными растениями и контролем было получено при отсутствии такового для моносомной части популяции. По хромосомам 7А, 1В, 2В, 4В и 5D, где утрата одной дозы каждой из них приводила к заметному отклонению проявления анализируемого признака, сестринские дисомики практически не отличались от своего рекуррентного родителя. Своеобразное влияние на конъюгацию гомологичных пар оказала хромосома 1А, поскольку оно выявлялось по разности частоты образования клеток с дополнительными унивалентами у моносомных и дисомных растений данной линии. В целом же показатель асинапсиса для сестринских дисомиков оказался ниже, чем у моносомиков, но достоверно выше, чем у исходного сорта Мильтурум 553 и составил 1,84%.

Таблица 4.2 – Конъюгация хромосом в метафазе I мейоза микроспороцитов моносомных и дисомных растений сорта пшеницы Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Моносомик		Сестринский дисомик		±эффект восстановления двойной дозы хромосомы *)
	количество изчтенных клеток, шт.	клеток с дополнительными к моносоме унивалентами, %	количество изчтенных клеток, шт.	клеток с унивалентами, %	
1A	1002	0,40±0,20	704	1,42±0,45	1,02*
2A	1312	1,75±0,36	862	1,05±0,35	-0,70
3A	1542	5,12±0,56***	538	3,35±0,78***	-1,77
4A	1119	3,13±0,52***	489	2,86±0,75**	-0,27
5A	1669	1,02±0,25	718	0,97±0,37	-0,05
6A	1464	0,61±0,20	681	0,59±0,29	-0,02
7A	1295	2,93±0,47***	387	1,29±0,57	-1,64
Геном А	9403	2,18±0,15***	4379	1,53±0,19	-0,65**
1B	1427	2,38±0,40**	646	1,39±0,46	-0,09
2B	626	2,88±0,67**	779	0,64±0,29	-2,24**
3B	1154	4,68±0,62***	370	5,95±1,23***	1,27
4B	1692	2,30±0,36**	705	1,56±0,47	-0,74
5B	1349	0,74±0,23	539	2,60±0,69*	1,86**
6B	1023	1,08±0,32	586	2,39±0,63*	1,31*
7B	1069	1,78±0,40	473	1,69±0,59	-0,09
Геном В	8340	2,22±0,16**	4098	2,02±0,22	-0,20
1D	1264	1,34±0,32	443	0,45±0,32	-0,89
2D	1344	4,61±0,57***	816	2,33±0,53*	-2,28*
3D	1148	1,74±0,39	442	2,04±0,67	0,30
4D	847	2,60±0,55**	506	2,96±0,75**	0,36
5D	1228	0,41±0,18*	514	2,14±0,64	1,73**
6D	1210	1,82±0,38	439	1,37±0,55	-0,45
7D	1175	1,62±0,37	486	2,26±0,67	0,64
Геном D	8216	2,03±0,16*	3646	2,00±0,73*	-0,03
X ср.	25959	2,15±0,09**	12112	1,84±0,12*	-0,31
М 553	1392	1,08±0,28	1392	1,08±0,28	

Различия достоверны при: *P = 0,05-0,01; **P = 0,01-0,001; ***P ≤ 0,001.

*) Здесь и далее эффект восстановления двойной дозы хромосомы определялся по разности выраженности признака у моносомиков и сестринских дисомиков.

Моносомные растения в метафазе I мейоза формировали в основном кольцевые биваленты (табл. 4.3). Однако в общей совокупности хромосомных ассоциаций наблюдались и биваленты палочковидной формы. Их количество на клетку с нормальной конъюгацией хромосом ($20'' + 1'$) в среднем по серии составило 1,08, что оказалось на 0,30 больше, чем у рекуррентного родителя Мильтурум 553.

По данным представленным в таблице 4.3 количество палочковидных бивалентов варьировало по линиям от 0,78 (1A) до 1,57 (2D). Близкие по значению с первым показателем имели растения, моносомные по хромосомам 1D, 5D и 7D, со вторым – 3B и 4D. Среди кольцевых бивалентов наблюдались конфигурации хромосомных пар открытого типа. Наибольшее их количество зарегистрировано при отсутствии одной доз хромосом 6A (0,30) и 7A (0,22).

В целом моносомные растения в метафазе I мейоза микроспороцитов имели всего 0,065 открытых кольцевых бивалентов на клетку. Крайне редко отмечались случаи преждевременного расхождения гомологов (табл. 4.3).

В микроспороцитах сестринских дисомиков также имели место биваленты двух типов. Чаще всего палочковидные биваленты отмечались у дисомиков линии 3B, реже – 6A. Их количество на клетку в первом случае составило 1,63, во втором – 0,45. У сестринских дисомиков по 6A хромосоме зарегистрирован самый высокий уровень образования открытых кольцевых бивалентов, который определялся в пределах 0,17 единиц на клетку. В целом же по дисомной части популяции анализируемой серии этот показатель был незначительным (0,054). Случаи преждевременного расхождения бивалентов также наблюдались довольно редко.

Моносомные растения ($2n = 41$) отличаются от растений рекуррентного родителя и сестринских дисомиков ($2n = 42$) количеством гомологичных пар. Данное обстоятельство не позволяет проводить сравнительный анализ по натуральным величинам, представленным в таблице 4.3. Для осуществления подобного рода операции, число палочковидных бивалентов, приходящихся на одну

клетку, было выражено в процентах от имеющихся в наличии хромосомных пар (таблица 4.4).

Таблица 4.3 – Конфигурации бивалентов в метафазе I мейоза у моносомных растений сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Количество зученных клеток, шт.	Количество кольцевых бивалентов на клетку, шт.			Количество палочковидных бивалентов, шт.	
		всего	в том числе		всего	преждевременно расходящихся
			открытых	преждевременно расходящихся		
1А	258	19,22	0,046	0,012	0,78	
2А	279	18,81	0,014		1,19	0,007
3А	338	18,86	0,027	0,006	1,14	0,009
4А	272	18,72	0,114	0,004	1,27	0,004
5А	300	19,05	0,003	0,003	0,95	0,003
6А	184	19,15	0,299	0,011	0,85	
7А	215	18,86	0,219	0,009	1,14	0,009
Геном А	1846	18,95	0,103	0,006	1,05	0,005
1В	269	18,84	0,141	0,011	1,16	0,015
2В	173	18,78	0,069		1,22	
3В	265	18,52	0,053	0,004	1,48	
4В	302	18,84	0,016	0,003	1,16	0,003
5В	272	19,19	0,055	0,011	0,81	
6В	253	18,94	0,043	0,008	1,06	0,004
7В	236	18,94	0,038	0,004	1,06	0,008
Геном В	1770	18,86	0,059	0,006	1,14	0,004
1D	290	19,21	0,031		0,79	0,004
2D	268	18,43	0,045	0,007	1,57	0,019
3D	265	19,27	0,041	0,004	0,73	0,004
4D	275	18,61	0,054		1,39	0,007
5D	276	19,21	0,054		0,79	
6D	264	18,73	0,102		1,27	0,004
7D	264	19,21	0,030		0,79	
Геном D	1902	18,95	0,051	0,002	1,05	0,005
Х ср.	5518	18,92	0,065	0,005	1,08	0,005
М 553	162	20,22	0,265	0,012	0,78	0,006

Таблица 4.4 – Частота формирования палочковидных бивалентов в мета-фазе I мейоза у моносомных растений и сестринских дисомиков Мильтурум 553

Линия, моносо- мая по хромосоме	Моносомик		Сестринский дисомик		± эффект вос- становления двойной дозы
	количест- во изу- ченных клеток, шт.	количество палочковид- ных бивален- тов на клетку, %	количест- во изу- ченных клеток, шт.	количество палочковид- ных бивален- тов на клетку, %	
1A	258	3,90±0,27	144	3,62±0,34	-0,28
2A	279	5,95±0,31***	145	3,48±0,33	-2,47***
3A	338	5,70±0,29***	136	5,33±0,42**	-0,37
4A	272	6,35±0,33***	102	6,43±0,53***	0,08
5A	300	4,75±0,27*	129	4,95±0,42*	0,20
6A	184	4,25±0,33	104	2,14±0,31***	-2,11***
7A	215	5,70±0,36***	28	4,76±0,88	-0,94
Геном А	1846	5,25±0,12***	788	4,39±0,16	-0,86***
1B	269	5,80±0,32***	94	4,86±0,48*	-0,94
2B	173	6,10±0,41***	139	4,76±0,39*	-1,34*
3B	265	7,40±0,36***	102	7,76±0,58***	0,36
4B	302	5,80±0,30***	141	4,71±0,39	-1,09*
5B	272	4,05±0,27	115	6,19±0,49***	2,14***
6B	253	5,30±0,30***	121	5,33±0,45**	0,03
7B	236	5,30±0,33***	109	4,05±0,41	-1,25*
Геном В	1770	5,70±0,12***	821	5,38±0,17***	-0,32
1D	290	3,95±0,26	108	4,00±0,41	0,05
2D	268	7,85±0,37***	110	4,81±0,45***	-3,04***
3D	265	3,65±0,26	82	4,24±0,49	0,59
4D	275	6,95±0,34***	110	5,95±0,49***	-1,00
5D	276	3,95±0,26	126	6,38±0,48***	2,43***
6D	264	6,35±0,34***	85	3,86±0,46	-2,49***
7D	264	3,95±0,27	125	3,71±0,37	-0,24
Геном D	1902	5,25±0,11***	746	4,76±0,17**	-0,49*
Х ср.	5518	5,40±0,07***	2355	4,81±0,10**	-0,59***
М 553	162	3,71±0,32	162	3,71±0,32	

*P = 0,05 – 0,01; **P = 0,01 – 0,001; ***P ≤ 0,001.

По результатам проведенного математического анализа существенность различий между моносомными растениями и исходным сортом была доказана

по пяти хромосомам генома А (все, кроме 1А и 6А), шести хромосомам генома В (все, кроме 5В) и трем хромосомам генома D (2D, 4D, 6D). Причем во всех этих случаях доля палочковидных бивалентов в метафазных клетках превышала аналогичный показатель у контроля (табл. 4.4).

По частоте образования палочковидных бивалентов не соответствовали исходному сорту 12 линий сестринских дисомиков, три из которых принадлежат геному А (3А, 5А и 6А), шесть геному В (все, кроме 7В) и три – геному D (2D, 4D и 5D). Сохранение эффекта моносомии (достоверного отклонения признака от контроля, вызванного моносомным состоянием хромосомы) наблюдалось при восстановлении двойной дозы хромосом: 3А, 4А, 5А, 1В, 2В, 3В, 6В, 2D, и 4D. В четырех случаях (4А, 5А, 3В и 6В) данный процесс сопровождался тенденцией к усилению выраженности характера отклонения анализируемого признака от его проявления у исходного сорта, а в двух случаях (2В и 2D) – достоверное снижение (табл. 4.4). Существенность различий между сестринскими дисомиками анеуплоидных линий 6А, 5В, 5D и рекуррентным родителем была получена при отсутствии такового у их моносомиков. Примечательно, что дисомные растения по 6А хромосоме имели более низкий уровень частоты образования палочковидных бивалентов, а по хромосомам 5В и 5D – более высокий. Восстановление двойной дозы хромосом 2А, 7А, 4В, 7В и 6D сопровождалось стабилизацией генотипа в отношении детерминированного ими анализируемого признака.

По усредненным данным, характеризующим число хиазм на бивалент, моносомики и сестринские дисомики практически не отличались от исходного сорта Мильтурум 553. Однако конкретное проявление хиазообразовательного процесса в значительной степени определялось особенностями каждой моносомной линии (таблица 4.5). Наибольшее количество хиазм на бивалент (2,054) зарегистрировано при гемизиготном состоянии хромосомы 7В, а наименьшее (1,961) – хромосомы 7А. Достоверное отклонение моносомных растений от рекуррентного родителя было получено по пяти хромосомам генома А (все, кроме

3A и 6A), четырем хромосомам генома В (1В, 4В, 5В, 7В) и трем хромосомам генома D (2D, 4D, 6D). Причем, только в трех случаях (1A, 5В и 7В) эффект моносомии проявился с положительным знаком.

Таблица 4.5 – Количество хиазм на бивалент в метафазе I мейоза у моносомных растений и сестринских дисомиков сорта пшеницы Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Моносомик		Сестринский дисомик		± эффект восстановления двойной дозы хромосомы
	изучено клеток, шт.	среднее количество хиазм на бивалент, шт.	изучено клеток, шт.	Среднее количество хиазм на бивалент, шт.	
1A	258	2,013±0,009*	144	2,015±0,005*	0,002
2A	279	1,986±0,002*	145	2,011±0,005	0,025***
3A	338	1,987±0,004	136	1,990±0,005	-0,003
4A	272	1,972±0,005**	102	1,975±0,008*	0,003
5A	300	1,984±0,004*	129	1,996±0,006	0,012
6A	184	1,998±0,005	104	2,036±0,008****	0,038****
7A	215	1,961±0,005****	28	1,981±0,010	0,020
Геном А	1846	1,986±0,001***	788	2,003±0,001	0,017***
1В	269	1,978±0,004**	94	1,985±0,007	0,007
2В	173	1,989±0,006	139	1,990±0,006	0,001
3В	265	1,987±0,005	102	1,968±0,009**	-0,019
4В	302	1,982±0,002**	141	1,992±0,003	0,010
5В	272	2,015±0,004*	115	1,981±0,007	-0,034***
6В	253	2,007±0,005	121	1,980±0,006*	-0,27***
7В	236	2,054±0,005***	109	1,990±0,006	-0,064***
Геном В	1770	2,001±0,001	821	1,984±0,0003****	-0,017
1D	290	2,007±0,004	108	1,996±0,006	-0,011
2D	268	1,973±0,005**	110	1,995±0,007	0,022*
3D	265	2,012±0,004	82	2,004±0,007	-0,008
4D	275	1,973±0,005**	110	1,998±0,007	0,025**
5D	276	2,004±0,004	126	1,986±0,007	-0,018*
6D	264	1,969±0,005***	85	2,015±0,007	0,046***
7D	264	2,011±0,004	125	2,011±0,005	0,000
Геном D	1902	1,994±0,002	746	2,000±0,003	0,006
Хср.	5518	1,990±0,002	2355	1,995±0,002	0,005
М 553	162	1,998±0,006	162	1,998±0,006	

Различия достоверны при: *P = 0,05 – 0,01; **P = 0,01 – 0,001; ***P ≤ 0,001.

Среди сестринских дисомиков самая высокая частота образования хиазм в бивалентах зафиксирована по 6А хромосоме (2,036), а самая низкая – по 3В хромосоме (1,968). Существенность их отклонения от исходного сорта по данному признаку была доказана в пяти случаях (1А, 4А, 6А, 3В, 6В). Сестринские дисомики по 6А хромосоме имели более высокие показатели хиазмообразовательного процесса, а по хромосомам 3В и 6В более низкие, при отсутствии проявления по ним эффекта моносомии. Его сохранение наблюдалось у дисомных растений, выделенных из популяции моносомных линий 1А и 4А (табл.4.5). Возврат к исходному дисомному состоянию хромосом 2А, 5А, 7А, 1В, 4В, 5В, 7В, 2D и 4D сопровождался восстановлением генотипа по частоте образования хиазм в бивалентах до уровня недостоверной значимости. Влияние хромосомы 5D на проявление данного признака улавливалось лишь по разности между моносомиками и сестринскими дисомиками (табл. 4.5)

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что как для моносомной части популяции, так и для дисомной одинаково свойственно варьирование рассматриваемых признаков по линиям. При этом, наблюдаются самые разные варианты соотношения их проявления, начиная от полного совпадения и заканчивая диаметрально противоположным выражением характера отклонения от исходного сорта. Если несоответствие моносомных растений своему сорту может быть связано с исключением из генотипа части генетической информации, контролирующей тот или иной признак (Tsunewaki, 1960, 1961; Tsunewaki, Jenkins, 1959, 1961; Larson, 1952, 1959; Larson, MacDonald, 1959 a, b; Гайдаленок, 1980; Храброва, Майстренко, 1980; Цильке, 1975; Яцевич, 1987 и др.), то это же явление у сестринских дисомиков, где число хромосом восстановлено до исходного уровня, требует своего объяснения.

Для выяснения причин, обуславливающих отклонение дисомных растений от рекуррентного родителя и их различия между собой по генотипическому проявлению тех или иных признаков, был проведен специальный опыт. По ряду моносомных линий были отобраны сестринские дисомики и при строгой

изоляции получено потомство трех поколений. Результаты цитологического анализа метафазы I мейоза двух таких наборов (4А и 3В), имеющих прямое отношение к рассматриваемым признакам, представлены в таблице 4.6.

Таблица 4.6 – 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 асинаптическими 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.

Как уже отмечалось ранее, сестринские дисомики по хромосомам 4А и 3В, так же как и их моносомные аналоги, отличались от исходного сорта более высокой частотой образования клеток с асинаптическими хромосомами и количеством палочковидных бивалентов. В то же время у них был достоверно ниже уровень формирования хиазм на бивалент, что по линии 3В являлось специфичным только для дисомной части популяции. Если эти отклонения у анализируемых линий в конечном итоге вызваны селективным клонированием, то они должны полностью сохраняться в последующих поколениях самоопыленного потомства сестринских дисомиков. Однако, как показывают экспериментальные данные (табл. 4.6), уже в первом поколении наблюдаются существен-

ные изменения. Так, дисомная линия 4А на этой стадии по двум признакам, связанным с наличием в метафазных клетках дополнительных унивалентов и палочковидных бивалентов, практически не отличалась от сорта Мильтурум 553. То же самое наблюдалось и по хромосоме 3В, с той лишь разницей, что в данном случае аналогичный результат был получен только в третьем самоопыленном потомстве дисомиков. Снижение асинаптического эффекта хромосом и их плеч в обоих случаях сопровождалось увеличением хиазмообразовательного процесса, что свидетельствует об определенной их сопряженности. Причем, чем резче оказался переход к исходному уровню первого явления, тем значительней были изменения у второго. К сожалению, нам не удалось проследить частоту образования хиазм в бивалентах на более поздних поколениях потомства и поэтому вопрос о том, когда происходит полное восстановление генотипа по данному признаку, пока остается открытым. Тем не менее, это не столь важно, поскольку основная цель проводимого эксперимента была достигнута.

Таким образом, результаты проведенных исследований убедительно показали, что отклонения сестринских дисомиков от рекуррентного родителя не связаны с проявлением каких-либо сформировавшихся в результате отбора компенсаторных комплексов генов, а является прямым следствием моносомного состояния хромосомы в предыдущем поколении. Восстановление ее двойной дозы в количественном отношении не равнозначно таковому в качественном выражении. Для реализации последнего в ряде случаев необходимо повторение нескольких циклов развития. Так для хромосомы 4А потребовался один мейотический цикл, а для 3В хромосомы – три. Очевидно, это определяется их значимостью в происходящих цитогенетических процессах преобразования и характером взаимодействия с генофоном. В тех случаях, когда хромосома играет более весомую роль в том или ином явлении, отсутствие одной ее дозы вызывают и более глубокие изменения в общей цепи детерминирующих их генетических факторов, для восстановления которых требуется более длительный промежуток времени. Использование сестринских дисомиков в исследованиях,

проводимых с помощью методов цитогенетического анализа, значительно расширяет разрешающую способность этих методов, поскольку оно позволяет не только дополнительно выявлять хромосомы, контролирующие развитие признака, но и устанавливать особенности взаимодействия каждой из них с другими определяющими его генетическими факторами.

По обобщенным данным, представленным в таблице 4.7, моносомное состояние шести хромосом (1В, 2D, 4А, 4В, 4D, 7А) одновременно вызывало достоверное увеличение числа клеток с асинаптическими хромосомами, количества палочковидных бивалентов на клетку и снижение числа хиазм на бивалент. Сходство проявления отсутствия одной дозы этих хромосом дает основание предположить, что они имеют идентичные гены, обладающие способностью стимулировать бивалентное спаривание гомологов, которые, очевидно, имеют широкий спектр действия на проявление данного процесса. Однако результаты анализа метафазы I мейоза у сестринских дисомиков свидетельствуют о наличии определенных различий между ними в характере детерминации рассматриваемых признаков. Особенно это наглядно видно при распределении хромосом по классам проявления эффекта отклонения моносомных растений и сестринских дисомиков от исходного сорта Мильтурум 553 (таблица 4.8). Так, по хромосомам 4В и 7А (класс 1а) при восстановлении двойной дозы, отклонения, вызванные их моносомным состоянием, полностью исчезли и дисомные растения по своим параметрам соответствовали рекуррентному родителю. Очевидно, эти хромосомы имеют гены-промоторы бивалентного спаривания, функция которых осуществляется в автономном режиме. Сопоставление результатов проведенных исследований с данными литературы (Гайдаленок, 1980; Shnaider, Priilin, 1983 и др.) показывают, что эффект моносомного состояния хромосом 4В и 7А зависит от сортовой специфики генотипа. Проявление подобного рода обусловленности может быть связано либо с различиями генотипа в его способности компенсировать утрату одной дозы вышеназванных хромосом, либо с

наличием у них аллелизма по локусам, контролирующим синапсис гомологичных пар.

Таблица 4.7 – Эффект моносомного состояния и восстановления двойной дозы хромосом сорта Мильтурум 553 по мейотическим признакам

Признак	Анализируемый материал	Геном А							Геном В							Геном D							
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	
Кол-во клеток с асинаптическими хромосомами, %	Моносомик			+	+			+	+	+	+	+						+		+	-		
	Сестр. дисомик			+	+						+			+	+			+		+			
	± эффект восстан.	+								-				+	+			-			+		
Кол-во палочковидных бивалентов на клетку, %	Моносомик		+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+		+		+			+	
	Сестр. дисомик			+	+	+	-		+	+	+		+	+		+		+		+	+		
	± эффект восстан.		-					-			-		-	+		+		-			+		-
Среднее число хиазм на бивалент	Моносомик	+	-		-	-		-	-			-	+		+		-			-		-	
	Сестр. дисомик	+			-	-	+				-				-								
	± эффект восстан.		+				+							-	-	-		+		+	-	+	

+ плюс-эффект утраты хромосомы или ее восстановления по отношению к исходному сорту ($P = 0,05 - 0,001$)

- минус-эффект

± плюс-минус- эффект восстановления двойной дозы хромосомы по отношению к моносомике ($P = 0,05 - 0,001$).

Несколько иначе обстоит дело по 4А хромосоме. Те отклонения по конъюгации хромосом, которые наблюдались у моносомных растений, полностью сохранялись и у сестринских дисомиков (класс 1б). Следовательно, отсутствие одной ее дозы вызывает в системе генетического контроля рассматриваемых признаков существенные изменения, для восстановления которых, как уже отмечалось ранее (табл. 4.6), требуется дополнительный мейотический цикл. Это означает, что синапсис хромосом определяется сопряженным типом действия генов с участием гена (генов) и 4А хромосомы. С учетом переопределения принадлежности хромосом 4А и 4В к геномному составу (Naranjoetal., 1988) можно сказать, что специфичность ее действия на конъюгацию хромосом была подмечена Е. Баннером (Bannier, 1978), которая подтверждается результатами проведенных исследований и данными других авторов (Гайдаленок, 1980; Shnaider, Priillin, 1983; Denisetal., 1982). Однозначность проявления эффекта моносомии по 4А хромосоме дает основание предполагать, что ее локус, ответственный за спаривание гомологичных пар, у мягкой пшеницы представлен одним аллелем.

Сохранение эффекта моносомии по частоте образования асинаптических клеток (клеток с дополнительными унивалентами) и палочковидных бивалентов, а также восстановление прежнего уровня формирования хиазм в бивалентах при возврате к исходному дисомному состоянию хромосом 2D и 4D (класс 1в) показывает, что первые два признака и последний контролируются отдельными, содержащимися в них генетическими факторами. Однако было бы не совсем верным отрицать возможность плейотропного влияния одного и того же локуса, при котором его разнонаправленное действие на рассматриваемые мейотические параметры после возобновления присутствия в генотипе их гомологов могло быть обусловлено особенностями реакции на данный процесс генофона. Что же касается хромосомы 1В, то здесь отклонения, вызванные ее моносомным состоянием, сохранялись у сестринских дисомиков только по среднему количеству палочковидных бивалентов на клетку (класс 1г). Таким образом, гены-промоторы синапсиса хромосом и их отдельных плеч, имеющиеся в хромо-

сомах 2D и 4D, вступают во взаимодействие с другими неаллельными аналогичными генами, в случае утраты одной дозы которых, для возобновления функциональной активности отсутствующего гомолога, требуется несколько мейотических циклов. Нечто аналогичное в отношении последнего признака имело место и по 1В хромосоме. В то же время особый подготовительный этап не требовался для возобновления функциональной активности дисомного состояния хромосом 2D и 4D в детерминации хиазмообразовательного процесса, а для 1В – и в стимуляции бивалентного спаривания, что может быть обусловлено их автономностью в осуществлении регуляции данных мейотических актов.

Д. Томас с соавторами (Thomas et al., 1983), используя серию анеуплоидов, обнаружили при анализе метафазы I мейоза у гексаплоидного тритикале ингибирующий эффект хромосомы 1В на частоту спаривания хромосом. Ингибитор спаривания ими был локализован в ее коротком плече. Как уже было показано выше, действие данной хромосомы у сорта пшеницы Мильтурум 553 связано с наличием в ней гена-промотора данного процесса. Однако увеличение образования мультивалентов (тетравалентов) в случае отсутствия одной ее дозы (табл. 4.1) свидетельствует о присутствии аналогичного локуса в 1В и у анализируемого генотипа, действие которого направлено главным образом на подавление возможности спаривания гомеологов.

Моносомное состояние хромосом 2В, 3А и 3В оказывало влияние только на частоту образования клеток с асинаптическими хромосомами и формирование палочковидных бивалентов в метафазе I мейоза, вызывая ее достоверное увеличение (табл. 4.7, 4.8). При этом у сестринских дисомиков по 2В хромосоме показатель, характеризующий первый признак, не отличался от такового у исходного сорта Мильтурум 553, в то время как синапсис отдельных гомологичных плеч хромосом оставался нарушенным (класс 2г). Из этого следует, что два вышеуказанных мейотических признака контролируются разными ее генами, один из которых (определяющих возможность спаривания хромосом) дей-

ствуется в автономном режиме, а другой (определяющий синапсис отдельных хромосомных плеч) входит в полигенную систему и вступает во взаимодействие с другими генами. К полигенной системе, определяющей синапсис гомологичных пар, относятся и гены, расположенные в хромосомах 3А и 3В, так как их возврат к исходному дисомному состоянию не приводил к восстановлению генотипа по данным признакам (табл. 4.7, 4.8). Кроме того, в данном случае возможен плейотропный эффект действия одних и тех же генов на проявление параметров, характеризующих степень конъюгации хромосом. Судя по эффекту моносомии трех вышеуказанных хромосом, можно сделать вывод, что оно было обусловлено наличием в них генов-промоторов (Mello-Sampayo, Canas, 1973; Sears, 1944; Ceoloni et al., 1986 и др.), которые различаются между собой по своей экспрессивности и характеру взаимодействия с другими неаллельными генами данного генетического комплекса. Очевидно, в 3В хромосоме находится один из основных генов нормального бивалентного спаривания гомологов, поскольку для ликвидации последствий ее гемизиготного состояния требуется несколько циклов мейотического деления (табл. 4.6). Кроме того, в отличие от двух других представителей этого класса (2В и 3А), возврат к дисомному состоянию хромосомы 3В вызвал достоверное снижение частоты образования хиазм в бивалентах, что могло быть обусловлено результатом действия гена-супрессора (Miller et al., 1983), сохраняющего свою эффективность детерминации этого признака при гемизиготном состоянии. О его наличии свидетельствует также увеличение частоты образования мультивалентов в метафазе I микроспорогенеза в случае утраты одной дозы данной хромосомы (табл. 4.1).

Увеличение количества палочковидных бивалентов и снижение числа хиазм на бивалент наблюдалось при моносомном состоянии хромосом 2А, 5А и 6D. При этом в двух случаях (2А и 6D) восстановление двойной дозы хромосомы приводило к возврату генотипа по рассматриваемым параметрам в свое исходное состояние, когда дисомные растения не отличались от рекуррентного родителя (класс 3а). У сестринских дисомиков по 5А хромосоме продолжал ос-

таваться более высокий уровень частоты формирования палочковидных бивалентов, хотя по числу хиазм на бивалент они не отличались от исходного сорта Мильтурум 553. Из этого следует, что все три вышеназванные хромосомы анализируемого генотипа имеют гены, стимулирующие степень синапсиса гомологичных пар, но которые различаются между собой способом осуществления детерминации данного мейотического процесса. Короткий период действия 2А и 6D на отклонение рассматриваемых признаков, ограничивающийся их моносомным состоянием, свидетельствует о наличии в них генов с автономной функциональной активностью. Ген хромосомы 5А, определяющий синапсис гомологичных плеч, очевидно, входит в систему аналогичных генов других хромосом и вступает с ними во взаимодействия. Кроме того, изменение частоты образования хиазм, в случае манипуляции различного дозового состояния данной хромосомы, при сохранении одного уровня формирования количества палочковидных бивалентов, указывает на наличие в ней как минимум двух локусов, один из которых регулирует синапсис гомологичных плеч, а другой – формирование хиазм в бивалентах и характер их распределения. Последний условно можно отнести к числу так называемых независимых генов (Ригер, Михаэлио, 1967).

Сделанные выводы относительно хромосом 2А и 5А в целом согласуются с имеющимися литературными данными (Sears, 1954; Riley et al., 1960; Feldman, 1968) о наличии в них у мягкой пшеницы генов-промоторов. Сходство проявления эффектов дозового состояния 6D с 2А хромосомой дает основание рассматривать ее в качестве носителя гена (генов) с аналогичной функцией. Что же касается присутствия в 2А гена-супрессора гомеологичного спаривания хромосом (Apolinarska, Zukarzewski, 1980), то оно у анализируемого генотипа обнаружено не было, поскольку сама эта хромосома являлась источником формирования мультивалентов (табл. 4.1).

По результатам проведенных исследований (табл. 4.7, 4.8), весьма своеобразное влияние на проявление анализируемых признаков оказала хромосома

7В. Ее моносомное состояние вызывало одновременно достоверное увеличение количества палочковидных бивалентов на клетку и числа хиазм на бивалент. В первом случае проявление подобного эффекта 7В может быть связано с наличием в ней гена-промотора спаривания отдельных плеч хромосом, во втором – гена-супрессора хиазмообразовательного процесса. Следовательно, здесь мы также имеем дело как минимум с двумя локусами отдельно детерминирующих два мейотических признака. Отсутствие отклонений по данным показателям от контроля у сестринских дисомиков показывает, что эти гены не входят в систему генов с сопряженным типом действия. Влияние хромосомы 7В на количество связанных плеч отмечалось Е. Феррером с соавторами (Ferrer et al., 1984) при анализе межсортовых гибридов F_1 , полученных от скрещивания моносомиков Чайниз Спринг с Raune 247. Однако в данном случае ее гемизиготное состояние вызвало эффект противоположный тому, который наблюдался у сорта Мильтурум 553. Подобного рода различия в характере поведения 7В хромосомы могли быть обусловлены как наличием аллелизма у мягкой пшеницы по ее локусу (локусам), определяющему спаривание отдельных хромосомных плеч, так и влиянием генофона, что также предполагает возможность существования нескольких аллелей по одним и тем же генам, контролирующим проявление данного признака.

Моносомное состояние 6В хромосомы оказало существенное влияние только на частоту формирования палочковидных бивалентов, вызвав снижение количество связанных плеч. Данное обстоятельство позволяет предположить, что в ней имеется ген, обладающий способностью стимулировать их конъюгацию. Судя по характеру проявления рассматриваемого признака у сестринских дисомиков (табл. 4.7, 4.8), этот ген входит в состав генов с сопряженным типом действия. Кроме того, резкое увеличение частоты образования метафазных клеток с унивалентами и снижение числа хиазм на бивалент при восстановлении двойной дозы хромосомы 6В свидетельствует о наличии в ней генов (гена) иного свойства, обладающих способностью ингибировать образование бивалент-

ных связей, эффективность которых сохраняется при их гемизиготном состоянии. Ее супрессирующее влияние на частоту спаривания хромосом отмечалось Д. Томасом с соавторами (Thomas et al., 1983) при анализе метафазы I мейоза у тритикале. В то же время наличие экстрадозы хромосомы 6В у пшенично-ржаных гибридов повышало негомологичную конъюгацию хромосом (Miller et al., 1985). В отличие от чистосортной линии Мильтурум 553, отсутствие одной дозы данной хромосомы у межсортных гибридов F₁ приводило к значительному увеличению частоты образования клеток с дополнительными унивалентами, вызывая при этом снижение формирования хиазм в бивалентах (Гайдаленок, 1980). Все эти противоречивые, на первый взгляд, данные свидетельствуют о наличии определенной обусловленности функциональной активности хромосомы 6В, определяемой состоянием генофона, при котором в доминанте оказывается либо супрессирующая система ее генов, либо стимулирующая. Различия в результатах исследования по данной хромосоме также могут быть связаны с существованием аллелизма по соответствующим локусам в пределах вида *Triticum aestivum* L.

Поочередное исключение из генотипа сорта Мильтурум 553 одной дозы хромосом 1А и 5В оказало достоверное влияние только на частоту образования хиазм в бивалентах. В обоих случаях эффект моносомии проявился с положительным знаком, что могло быть вызвано наличием в них генов, супрессирующих хиазмообразовательный процесс. У растений, моносомных по 1А хромосоме наблюдалась тенденция к снижению числа случаев формирования клеток с дополнительными унивалентами (табл. 4.2). При восстановлении ее двойной дозы по данному мейотическому признаку, имела место тенденция обратного порядка, в результате чего различия между моносомиками и сестринскими дисомиками оказались достоверными. Следовательно, хромосома 1А у анализируемого сорта обладает способностью подавлять не только образование хиазм в бивалентах, но и синапсис гомологичных пар. Очевидно, данная хромосома имеет как минимум два отдельных локуса с узконаправленным их действием.

Основанием для такого предположения является различный характер ее влияния на вышеназванные признаки при манипуляции одной и двумя дозами 1А хромосомы на фоне одного и того же генотипа. Сохранение эффекта моносомии по среднему числу хиазм на бивалент у сестринских дисомиков свидетельствует о взаимодействии гена, детерминирующего этот признак, с другими генами данного комплекса. В то же время изменение направления тенденции при восстановлении двойной дозы хромосомы 1А по нарушению образования бивалентных пар указывает на отсутствие подобного рода взаимодействия. Однако нельзя исключить возможность плейотропного влияния на оба рассматриваемые признаки одного и того же гена-супрессора, обладающего различным своим проявлением по двум вышеуказанным направлениям.

В отличие от 1А, возврат к исходному дисомному состоянию хромосомы 5В повлек за собой увеличение числа случаев нарушения синапсиса как целых хромосом, так и отдельных их плеч (таблицы 4.7, 4.8). При этом произошло полное восстановление генотипа по хиазмообразовательному процессу. Подобное ее действие может быть связано с наличием в ней гена-ингибитора гомологичного и гомеологичного спаривания хромосом Ph1 (McIntosh, 1988). Согласно данным литературы (Riley, 1960 a, b; Riley, Chapman, 1964 и др.) эффективность ингибирующей способности хромосомы 5В сохраняется при наличии в генотипе одной ее дозы, что и проявилось у анализируемого сорта в отношении генетического контроля образования бивалентных пар и синапсиса отдельных хромосомных плеч. Достоверное отклонение этих признаков от контроля, вызванное возвратом к исходному дисомному состоянию 5В, могло быть обусловлено ничем иным, как проявлением эффекта “сверхдозы” ее, когда генотип, адаптируясь к моносомному состоянию данной хромосомы, не в состоянии был сразу в полной мере отреагировать своей компенсационной способностью на появление второго гомолога. Из проанализированных выше хромосом нечто аналогичное наблюдалось по 3В в отношении формирования количества хиазм на бивалент, а по 6В – и в отношении частоты образования клеток с унивалент-

тами. Таким образом, специфика реакции генотипа на восстановление двойной дозы генов, сохраняющих свою экспрессивность в гемизиготном состоянии, позволяет путем сравнительного анализа моносомных растений, сестринских дисомиков и рекуррентного родителя выявлять хромосомы, содержащие гены с подобного рода действием. Данный вид проводимых исследований предлагается использовать в цитогенетической практике как способ обнаружения и идентификации у мягкой пшеницы генов с подобного рода действием.

Эффект моносомии 5D также проявился только по одному мейотическому признаку. Отсутствие одной дозы ее привело к снижению доли клеток с дополнительными унивалентами. У сестринских дисомиков этот показатель не отличался от контроля, в то время как частота образования палочковидных бивалентов значительно превышала исходный уровень. Подобное поведение хромосомы 5D, очевидно, определяется наличием в ней генов-супрессоров спаривания как целых хромосом, так и отдельных плеч, эффективность которых в первом случае зависит от их дозового состояния, а во втором случае – нет. Логическая обусловленность характера отклонения двух вышеуказанных признаков у моносомных и дисомных растений по данной хромосоме не исключает возможность существования одного ингибирующего начала с плейотропным эффектом действия.

Согласно обобщенным данным, представленным в таблицах 4.7 и 4.8, у растений, моносомных по 6A хромосоме, не наблюдалось каких-либо отклонений от рекуррентного родителя в характере прохождения синапсиса гомологичных пар. Ограничиваясь только этим видом анализа, можно прийти к выводу о нейтральном отношении 6A к процессу формирования бивалентных связей. Однако достоверное снижение среднего количества палочковидных бивалентов на клетку и увеличение числа хиазм на бивалент при возврате ее к исходному состоянию свидетельствуют о присутствии в ней гена- (генов) промотора (промоторов). В данном случае отсутствие эффекта моносомии могло быть обусловлено способностью хромосомы 6A сохранять свою экспрессивность при

наличии в генотипе одной ее дозы. Как уже отмечалось ранее, в хромосоме 6A сорта пшеницы Kaixian-Luohanmai был локализован ген-промотор спаривания *phKL*, который усиливает синапсис чужеродных хромосом (Liu Dengcai et al., 1997, 2003; Hao M. et al., 2011). С наличием аналогичного локуса очевидно связано проявление моносомного состояния данной хромосомы и у сорта Мильтурум 553. Однако отсутствие формирования тетравалентов при восстановлении двойной дозы хромосомы 6A у сестринских дисомиков (табл. 4.1) указывает на наличие в ней гена-ингибитора. Не исключено, что стимулирование формирования бивалентных связей и подавление образования мультивалентов определяется одним ее локусом, принимающим участие в регуляции гомологичного и гомеологичного спаривания хромосом. Сортная специфика проявления эффекта моносомии 6A (Гайдаленок, 1980; Denis et al., 1982) может быть обусловлена как влиянием генофона, так и наличием аллелизма по соответствующим генам данной хромосомы у мягкой пшеницы.

Таким образом, по результатам проведенных исследований, на синапсис хромосом в мейозе у сорта пшеницы Мильтурум 553, в той или иной степени, оказало влияние дозовое состояние (одна или две дозы) 18 хромосом (все, кроме 1D, 3D и 7D). При этом данный процесс определялся двумя основными генетическими комплексами, один из которых характеризуется своим взаимодействием, а другой – набором генов с автономной функциональной активностью, которые условно можно отнести к числу независимых генов. Кроме того, анализируемый генотип включает в себя систему генов-стимуляторов и генов-ингибиторов спаривания хромосом. Очевидно, часть генов имеет широкий спектр действия на проявление основных параметров, характеризующих данное явление. Однако имеются гены и с узконаправленным своим действием. Корреляционный анализ частоты образования клеток с асинаптическими хромосомами, среднего количества палочковидных бивалентов на клетку и числа хиазм на бивалент показал, что частный коэффициент его между первым и вторым признаками составил 0,81, вторым и третьим - -0,62. Из этого следует, что наи-

большой автономностью в системе генетического контроля обладает хиазмообразовательный процесс.

По обобщенным данным (табл. 4.7), частоту образования асинаптических клеток у анализируемого сорта определяли 13 хромосом (все, кроме 1D, 2A, 3D, 5A, 6A, 6D, 7B, 7D). Наличие генов-промоторов синапсиса гомологов обнаружено в хромосомах 1B, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, 4D, 7A, супрессоров – в хромосомах 1A, 5B, 5D и 6B. При этом гены-стимуляторы хромосом 2D, 3A, 3B, 4A, 4D входят в состав генетического комплекса с сопряженным типом действия, а хромосомы 1B, 2B, 4B и 7A имеют так называемые независимые гены. К числу последних, очевидно, относятся и все выявленные гены-ингибиторы гомологичного спаривания хромосом. Однако способностью сохранять свою эффективность в моносомном состоянии обладали только хромосомы 5B и 6B. В общей цепи детерминации рассматриваемого признака они оказались единственными представителями с проявлением подобного рода свойства.

Образование палочковидных бивалентов в метафазных клетках определяло 17 хромосом (все, кроме 1A, 1D, 3D и 7D). В двух случаях (5B и 5D) действие хромосом было связано с наличием в них генов-супрессоров, сохраняющих свою эффективность в гемизиготном состоянии. Проявления эффекта дозового состояния остальных 15 хромосом определялось их способностью стимулировать синапсис отдельных хромосомных плеч. При этом в состав генетического комплекса с сопряженным типом действия вошли 1B, 2B, 2D, 3A, 3B, 4A, 4D, 5A, 6B. Хромосомы 2A, 4B, 6D, 7A и 7B обладали в данном случае автономной функциональной активностью. Стимулирующее влияние 6A хромосомы на процесс формирования количества связанных плеч полностью сохранялось при наличии в генотипе одной ее дозы.

Частоту образования хиазм в бивалентах контролируют 16 хромосом сорта Мильтурум 553. При этом 1A, 3B, 5B, 6B и 7B имеют гены-супрессоры, из числа которых только 1A вступает во взаимодействие с генофоном. Сохранение их эффективности в гемизиготном состоянии наблюдалось по хромосомам 3B и

6В. Наличие минорного гена-супрессора хиазмообразовательного процесса обнаружено также и в 5D хромосоме. Его стимулирующей способностью обладали 1В, 2А, 4А, 4В, 4D, 5А, 6А, 6D и 7А. Причем образование хиазм в бивалентах определялось здесь в основном генами с автономной функциональной активностью. Исключение составила хромосома 4А, обладающая сопряженным типом действия, и 6А, сохраняющая свою эффективность в гемизиготном состоянии.

Согласно результатам проведенных исследований и данным литературы (Цитогенетика пшеницы..., 1971; Sears, 1976; Bannier, 1978; Гайдаленок, 1980 и др.), основные параметры, характеризующие синапсис хромосом в мейозе у мягкой пшеницы, относятся к полимерным признакам, контролирующимся большим количеством генов. В то же время предпринятый выше анализ полученных экспериментальных данных показывает, что все они различаются между собой по своей направленности действия, экспрессивности и характеру взаимодействия с генофоном. Среди них имеются гены-промоторы и гены-супрессоры с сопряженным типом действия и с автономной функциональной активностью, сохраняющие и не сохраняющие свою эффективность в гемизиготном состоянии. Все это свидетельствует о сложности происходящих процессов, контролируемых многими генами, что в конечном итоге и определяет относительную стабильность образования бивалентных связей. Тем не менее, по результатам цитологических наблюдений у Мильтурум 553 с частотой около 1% формировались клетки с тетравалентами. При этом основным их источником являлся синапсис двух пар гомеологичных хромосом 2А и 2D. Кроме того есть основания предполагать, что в данном процессе принимают участие и другие гомеологи (6А и 6D, 7А и 7D). Таким образом, имеющаяся система генетического контроля синапсиса хромосом у анализируемого сорта не обеспечивает полной защиты генотипа от возможности конъюгации гомеологов. В ходе проводимых исследований, наличие генов-ингибиторов данного явления было об-

наружено в хромосомах 1В, 3В и 6А. Наибольший вклад в детерминацию мейотических признаков вносят хромосомы гена В, а наименьший – генома D.

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

У моносомных растений хромосома, находящаяся в гемизиготном состоянии, из-за отсутствия своего гомолога лишена возможности конъюгировать. В данном случае исследователь получает возможность, проследив за характером поведения моносомы, выявить те механизмы мейотических процессов, которые в обычном эуплоидном состоянии генотипа остаются для наблюдателя незамеченными.

Первая серия моносомных линий получена в 1941 году на табаке (Clausen, 1941a, b). Такая же серия была создана и по мягкой пшенице (Sears, 1954). Позднее на ее основе были получены моносомные серии еще по 70 коммерческим сортам пшеницы (Worland, 1988). Однако работ, посвященных анализу мейоза у моносомиков не так уж и много. Очевидно, это обусловлено однозначностью проявления моносомного состояния хромосом в мейозе и те описания характера поведения унивалента, которые были уже представлены, устраивали многих исследователей. Тем не менее, следует отметить, что, по имеющимся данным литературы, изучение характера поведения унивалента при мейотическом делении клеток обычно проводилось на неполной серии моносомных линий с ограниченным количеством анализируемого материала и, в основном, носили чисто описательный характер (Sears, 1952, 1954; Morrison, 1953; Лбова, 1973). Таким образом, предоставленная возможностью серией моносомных линий в плане изучения мейотических процессов так и не была до конца использована.

В данной работе все цитологические наблюдения выполнены на полной серии цитологически идентифицированных моносомных линий мягкой пшеницы Мильтурум 553 при выращивании растений в строго контролируемых условиях и с достаточно полной выборкой анализируемого материала.

5.1 Специфика поведения унивалента в анафазе I как результат проявления механизмов перехода хромосом от митоза к мейозу и синапсиса гомологичных пар

Известно, что мейотическому делению клеток предшествует митотическое деление. Так у высших растений из археспориальных тканях пыльника, за счет митозов, возникают материнские клетки пыльцы, которые вступают в мейоз. Однако механизм перехода хромосом от митоза к мейозу остается неизвестным. Как оказалось, уникальным объектом для его расшифровки является серия моносомных линий аллополиплоидных видов растений вообще и мягкой пшеницы в частности. Но для этого необходимо было провести подробный цитологический анализ поведения унивалента в анафазе I всего набора моносомных линий при достаточно большой выборке анализируемого материала с последующим использованием менделевского подхода к обработке полученных экспериментальных данных. Что и было сделано.

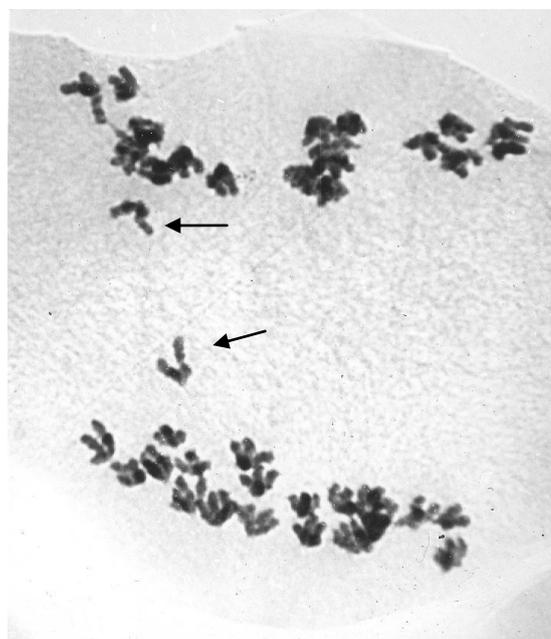
При изучении анафазы I мейоза у моносомных растений, для получения представления о динамическом развитии расхождения хромосом, данный период был условно разграничен на два его этапа: анафаза I ранняя и анафаза I поздняя. К ранней анафазе были отнесены клетки от начала расхождения хромосом до момента их достижения полюсов и сохранения своих структурных очертаний (рис. 5.1). Клетки с более поздним периодом анафазы I и до начала формирования диады анализировались как анафаза I поздняя (рис. 5.2).

Уже на ранней стадии анафазы I большое количество клеток не имело отстающих элементов. Данный факт свидетельствует о том, что с самого начала анафазы унивалент включался в процесс деления и уходил вместе с другими хромосомами к одному из противоположных полюсов. Согласно полученным экспериментальным данным, представленным в таблице 5.1, чаще всего это наблюдалось по хромосомам 1D, 2D, 2A, 6A, реже – 6D, 4B, 2B, 5D и 7D. Подобного рода активность унивалента определялась в пределах 50 – 60% случаев для первой группы хромосом и в пределах 28 – 31% случаев для второй группы

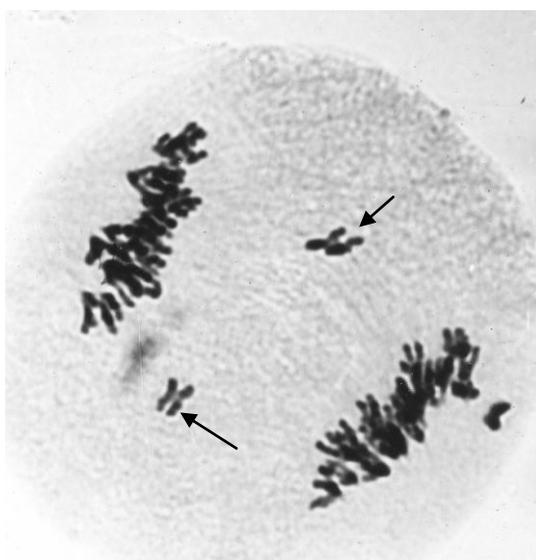
хромосом. В среднем же по серии моносомных линий доля клеток без отстающих элементов составила 39,31%.



а



б



в

Рисунок 5.1 - Анафаза I – ранняя:
а – с отстающим унивалантом; б – с двумя хроматидами; в – с двумя отстающими унивалантами.

По результатам цитологического анализа у большей части всех проанализированных клеток (57,35%) унивалантная хромосома оставалась в межполюсной зоне (рис. 5.1, а). Размах изменчивости данного показателя по хромосомам определялся в пределах 37,94% (1D) – 69,38% (4B).

В отдельных клетках унивалантная хромосома подвергалась продольному

расщеплению с расхождением хроматид к противоположным полюсам (рис. 5.1, б). Однако средний ее показатель был незначительным и составил всего 2,09%. Кроме этого отмечались клетки и с одной отстающей хроматидой, которая, ориентируясь к одному из двух полюсов, зависала в экваториальной зоне.

Таблица 5.1 – Поведение унивалента на ранней стадии анафазы I мейоза микроспороцитов у серии моносомных линий Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Изучено клеток, шт.	Клеток без отстающих элементов, %	Процент клеток с			
			унивалентом	2 хроматидами	1 хроматидой	2 и более унивалентами или (и) их производными
1А	176	31,25	68,18	0,57	-	-
2А	419	52,98	44,87	0,72	-	1,43
3А	352	37,22	59,66	1,70	-	1,42
4А	271	39,48	56,46	2,21	-	1,84
5А	313	31,31	67,09	0,96	-	0,64
6А	424	50,24	45,28	4,24	-	0,24
7А	358	35,20	55,31	7,82	0,56	1,12
Геном А	2312	41,18	54,97	2,81	0,09	0,99
1В	347	34,00	63,98	1,44	-	0,58
2В	260	28,85	63,08	5,77	-	2,31
3В	249	42,97	55,02	0,40	-	1,61
4В	307	28,66	69,38	0,65	-	1,30
5В	261	37,93	58,24	1,15	-	2,68
6В	178	40,45	57,30	0,56	-	1,68
7В	310	32,26	64,84	1,93	-	0,97
Геном В	1912	34,47	62,29	1,73	-	1,52
1D	253	61,26	37,94	-	-	0,79
2D	276	53,62	44,93	0,36	-	1,09
3D	197	47,72	48,22	2,54	-	1,52
4D	262	40,84	55,34	1,91	0,76	1,14
5D	231	29,44	65,80	4,31	-	0,43
6D	163	27,62	68,10	1,54	-	2,45
7D	285	30,88	68,07	0,35	0,35	0,35
Геном D	1667	42,29	55,01	1,50	0,18	1,02
Х средн.	5892	39,31	57,35	2,09	0,08	1,17

Нарушение синапсиса гомологичных хромосом, которое было зарегистрировано в метафазе I (рис. 4.1, б, табл. 4.2), приводило к тому, что в анафазе I наблюдалось присутствие в экваториальной зоне, кроме моносомы (а иногда и вместо моносомы), одного из (или) двух гомологов (рис. 5.1, в). Однако следует отметить, что, между количеством метафазных клеток с тремя унивалентами и анафазными клетками с двумя и более отстающими унивалентами, существовала слабая положительная корреляционная связь ($r = 0,26$). Наличие же анафазных клеток, с дополнительными к моносоме отстающими хромосомами, отмечалось практически по всем моносомным линиям (табл. 5.1).

Сложившееся соотношение частот различного характера поведения унивалента на ранней стадии анафазы I существенно менялось на более поздних этапах данного периода. Однако основные моменты его морфологического проявления сохранялись на всем протяжении анафазы I и в полной мере соответствовали описанию, приведенному в литературных источниках (Sears, 1952, 1954; Morrison, 1953; Лбова, 1973).

При полном расхождении хромосом к своим полюсам примерно половина всех проанализированных клеток не имели отставаний в анафазе I (Рис. 5.2, а). Однако этот показатель существенно варьировал по линиям (таблица 5.2). Минимальным его значением обладали растения, моносомные по хромосоме 4В (40,09%), максимальным – 2D (63,36%). Разница между двумя крайними вариантами составила в данном случае 23,27%.

На более поздней стадии анафазы I значительно возрастает частота продольного расщепления унивалентной хромосомы (табл. 5.2). Наличие двух хроматид между полюсами в среднем отмечалась в 16,45% всех изученных клеток, одной – 10,48%. Как правило, данный акт сопровождался правильным расхождением образовавшихся хроматид (рис. 5.2, в). Количество клеток с одной отстающей хроматидой (рис. 5.2, г) варьировало от 2,02% (2А) до 19,27% (7А), с двумя – от 7,40% (2А) до 24,05% (2В).

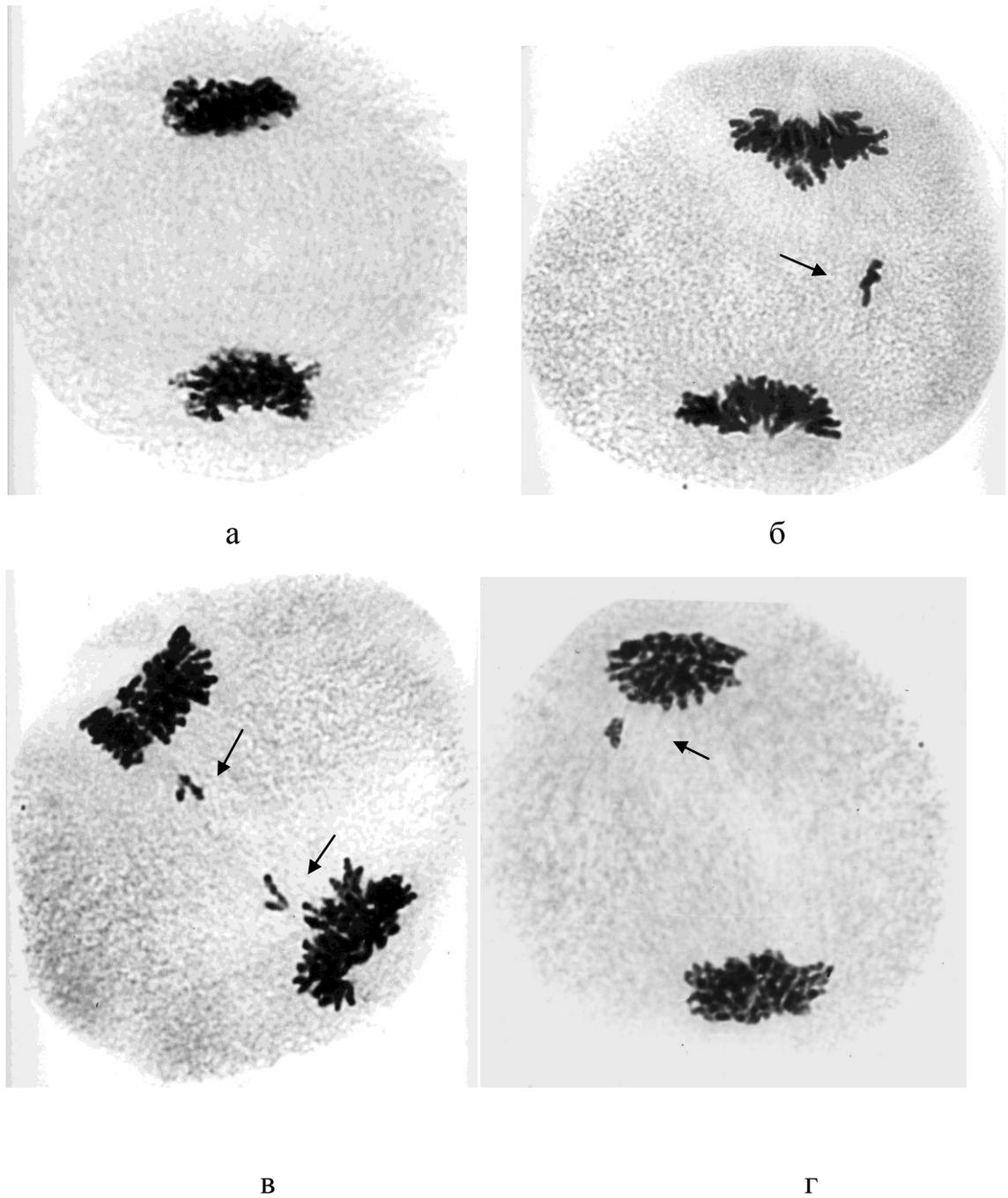


Рисунок 5.2 - Анафаза I мейоза моносомных растений: а – без отстающих элементов; б – с отстающим унивентом; в – с двумя отстающими хроматидами, ориентированными к разным полюсам; г – с одной отстающей хроматидой. Ув. 60x10.

Таблица 5.2 - Поведение унивалента на поздней стадии анафазы I мейоза микроспороцитов у серии моносомных линий Мильтурум 553

Хромо-сома	Изу-чено клеток, шт.	Процент клеток				
		без от-стающих элемен-тов	с унива-лентом	с 2 хрома-тидами	с 1 хро-матидой	с двумя и более уни-валентами или (и) их производ-ными
1A	1274	49,29	23,00	15,70	11,20	0,78
2A	2081	57,57	32,34	7,0	2,02	0,67
3A	1953	51,20	14,59	22,89	9,32	2,00
4A	1176	56,21	13,09	18,20	11,99	0,57
5A	1572	44,27	19,40	23,92	11,77	0,64
6A	1756	63,15	13,61	9,7	12,93	0,34
7A	1432	53,28	6,4	19,90	19,27	0,70
Геном А	11244	53,85	18,21	16,73	10,64	0,84
1B	1069	49,67	20,02	17,68	11,69	0,93
2B	1243	46,58	11,10	24,05	16,97	1,29
3B	1444	45,01	23,75	18,35	11,22	1,65
4B	1751	40,09	26,27	19,42	12,74	1,48
5B	1337	49,89	15,71	21,32	12,56	0,52
6B	1193	53,81	28,25	11,48	5,62	0,84
7B	1090	54,77	19,36	16,70	8,53	0,64
Геном В	9127	47,86	20,96	18,59	11,49	1,10
1D	1084	52,58	33,58	7,47	4,24	2,12
2D	1624	63,36	20,57	10,59	4,19	1,29
3D	1148	56,36	18,73	15,77	8,62	0,52
4D	1434	52,79	17,99	16,88	11,09	1,25
5D	1348	54,45	9,9	16,39	18,99	0,37
6D	1540	56,10	14,29	15,26	13,44	0,91
7D	1610	40,37	35,53	17,39	5,09	1,61
ГеномD	9788	53,65	21,40	14,43	9,37	1,15
X сред.	30159	51,97	20,08	16,43	10,48	1,02

В отличие от данных других исследователей (Morrison, 1953; Sears, 1954; Лбова, 1973), у моносомных линий Мильтурум 553 не все отстающие униваленты подвергались эквационному делению. Если проанализированные клетки с отстающими элементами принять за единицу, то степень варьирования соотношения вариантов с расщепившейся унивалентной хромосомой и нерасщепившейся будет определяться по линиям от 0,23/0,77 (2А) до 0,79/0,21 (2В). В общей совокупности изученных клеток по линиям присутствие в межполюсной зоне унивалента (рис. 5.2, б) чаще отмечалось по хромосомам 7D, 1D и 2D (табл. 5.2). В целом по серии моносомных линий наличие целой нерасщепившейся хромосомы на поздней стадии анафазы I имело 20,08% микроспороцитов.

В рассматриваемый период анафазы I кроме продольного расщепления унивалента имело место поперечное деление центромеры (misdivision) одной или сразу двух хроматид (рис. 5.3).

По классификации, разработанной Э. Сирсом (Sears, 1952), у анализируемого материала встречались все выделенные им классы, кроме тех случаев, когда все четыре плеча ориентированы к одному полюсу (класс "d"). Наряду с ранее известными конфигурациями, наблюдались клетки, где поперечное деление проходило на уровне унивалента, без его продольного расщепления (рис. 4.3, в). Подобное явление было описано при изложении результатов цитологического анализа моносомных линий пшеницы Чайниз Спринг (Лбова, 1973). Однако если для данного сорта misdivision такого рода был единичным случаем, то у Мильтурум 553 он проявлялся довольно часто. Учитывая ограниченность выборки при анализе микроспорогенеза у моносомиков Чайниз Спринг (Лбова, 1973), есть основания полагать, что поперечный разрыв центромеры на уровне целой хромосомы вряд ли является сортовой особенностью. В силу этого данный тип деления целесообразно выделить в отдельный класс, обозначив его символом "e". Частота поперечного деления центромеры различного уровня по линиям представлена в таблице 5.3.

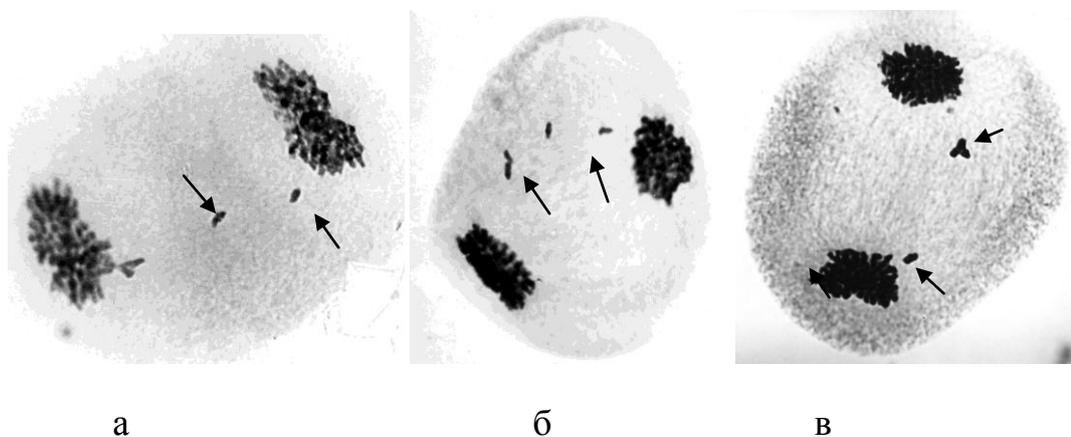


Рисунок 5.3 - Поперечное деление центромер унивалентной хромосомы в первой анафазе мейоза: а – одной хроматиды; б – двух хроматид; в – без продольного расщепления унивалента. Ув. 60x10.

По результатам проведенных исследований наиболее представительной оказалась группа клеток класса “е”. Средний ее показатель по серии моносомных линий составил 0,64%. Второе место занимают случаи поперечного деления одной хроматиды с ориентацией ее плеч к противоположным полюсам. Реже всего встречались конфигурации классов “в” и “с”. В целом же *misdivision* чаще происходил на уровне хроматид, чем целой унивалентной хромосомы (табл. 4.3). Наиболее высокий процент поперечного деления центромеры отмечался при моносомном состоянии хромосом 5А (3,30%), 2В (3,14%), 4В (3,03%) и 1А (3,06%). Реже *misdivision* при гемизиготном состоянии подвергались хромосомы генома D, чем А и В.

По данным корреляционного анализа частота поперечного деления центромеры на уровне целой хромосомы (класс “е”) практически не зависела от количества случаев отставания унивалента ($r=0,13$). В то же время *misdivision* на уровне хроматид во многом определялся частотой продольного расщепления

унивалента. Коэффициент парной корреляции составил в данном случае 0,53 и оказался достоверным при $P \leq 0,05$.

Таблица 5.3 – Частота поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы и ее производных в анафазе I мейоза у моносомных растений сорта пшеницы Мильтурум 553

Хромосома	Изучено клеток, шт.	Количество клеток, %				всего клеток с mis-division
		с унивалентом		с хроматидами		
		всего	с mis-division	всего	с mis-division	
1А	1574	23,00	1,96	26,92	1,10	3,06
2А	2081	32,34	0,43	9,42	0,05	0,48
3А	1953	14,59	0,61	32,21	0,72	1,33
4А	1176	13,09	0,76	30,19	0,17	0,93
5А	1572	19,40	0,95	35,69	2,35	3,30
6А	1756	13,61	1,14	22,89	1,59	2,73
7А	1432	6,84	0	39,18	0,28	0,28
Геном А	11244	18,21	0,80	27,10	0,89	1,69
1В	1069	20,02	0	29,37	1,78	1,78
2В	1243	11,11	0	41,03	3,14	3,14
3В	1444	23,75	0,76	29,57	0,55	1,32
4В	1751	26,27	2,06	32,15	0,97	3,03
5В	1337	15,71	0,30	32,88	1,05	1,35
6В	1193	28,25	1,17	17,10	1,10	2,26
7В	1090	19,36	1,28	25,23	1,47	2,75
Геном В	9127	20,96	0,87	30,09	1,38	2,25
1D	1084	33,58	0,09	11,72	0,46	0,55
2D	1624	20,57	0	14,78	0,25	0,25
3D	1148	18,73	0,17	24,39	0,35	0,52
4D	1434	17,99	0,28	27,96	0,84	1,12
5D	1348	9,79	0,67	35,39	1,93	2,60
6D	1540	14,29	0,45	28,70	0,71	1,17
7D	1610	35,53	0,12	22,48	0,31	0,43
Геном D	9788	21,41	0,25	23,89	0,68	0,94
Х сред.	30159	20,08	0,64	26,93	0,97	1,61

Таким образом, акт поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы у Мильтурум 553 происходил значительно реже, чем это отмечалось Э. Сирсом (Sears, 1952) и М.И. Лбовой (Лбова, 1973) в отношении сорта Чайниз Спринг. В этом плане полученные экспериментальные данные больше соответствуют результатам исследования Санчес-Монге и МакКея (Sanchez-Monge and MacKey, 1948). Возможно, более низкий уровень *misdivision* в микроспороцитах анализируемого материала связан с тем, что не во всех клетках унивалентная хромосома была задействована полюсами.

При переходе к более детальному анализу полученных экспериментальных данных следует обратиться к тем законам наследственности, которые были открыты Г. Менделем (Мендель, 1965). На основании только статистического анализа полученных им экспериментальных данных, было выявлено наличие единицы наследственности, которая впоследствии обозначена термином “ген” (Johannes, 1909). При этом установлено, что поведение этих генов при наследовании признаков во многом подчиняется статистическим законам, а именно вероятности появления двух независимых событий и двух равновероятных, взаимоисключающих событий. Позднее было установлено, что этим же законам подчиняется и поведение хромосом - носителей генетической информации (Sutton, 1902; Morgan et al., 1915). Поэтому статистический анализ характера поведения унивалента в анафазе I мейоза в данном случае не только целесообразен, но и необходим в целях выяснения целого ряда мейотических процессов.

Различное проявление характера поведения унивалента, представленное в таблицах данного раздела, по его взаимодействию с полюсами можно свести к трем основным типам. Первый и преобладающий тип характеризуется униполярной ориентацией моносомы и способностью ее отходить вместе с другими хромосомами без дополнительного расщепления к одному из противоположных полюсов. Данный тип может трактоваться как мейотический, либо как униполярный.

Второй тип поведения унивалента связан с биполярной ориентацией его центромер, приводящий к расщеплению унивалента на составляющие элементы. В связи с тем, что деление хромосомы в этом случае, как правило, осуществляется по типу митоза, то такое проявление поведения унивалента может быть интерпретировано как митотическое, или как биполярное.

Третий тип может быть охарактеризован как аполярный, поскольку в целом ряде проанализированных клеток отстающая унивалентная хромосома не обладала каким-либо проявлением полярной ориентации. Сохраняя целостность своей структуры до конца анафазы I, она давала начало формированию микроядра в диадах (рис. 5.4). Коэффициент парной корреляции между числом анафазных клеток с целой отстающей хромосомой и количеством диад с одним микроядром составил 0,71. При расчете множественной корреляции, где, кроме вышеуказанных параметров, учитывалось наличие анафазных клеток с одной отстающей хроматидой, частный коэффициент ее был близок к единице ($r = 0,93$).

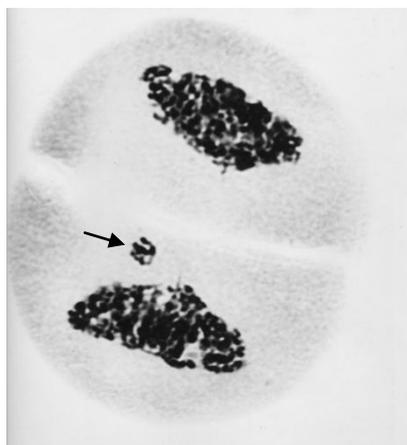


Рисунок 5.4 - Диада микроспор с микроядром. Ув. 60x10.

В соответствии с предложенной классификацией характера поведения унивалента в анафазе I мейоза, результаты исследования, представленные в таблице 5.2, требуют своей корректировки.

При сопоставлении экспериментальных данных двух этапов рассматриваемого мейотического периода (табл. 5.1 и табл. 5.2) видно, что практически

по всем линиям к концу анафазы I происходило увеличение количества клеток без отставаний. Исключение составила только 1D хромосома, где данный показатель снизился на 8,68%. Такое явление могло быть обусловлено асинхронностью функции кинетохорных нитей веретена деления, когда натяжение одной из них создавало на ранней стадии расхождения эффект униполярной его ориентации. Включение в более поздний период альтернативных сил натяжения вызывало торможение дальнейшего продвижения хромосомы и приводило к ее расщеплению на составляющие элементы. Очевидно, данное обстоятельство является одной из причин присутствия в межполюсной зоне только одной из двух хроматид (рис. 5.2, г).

Стабилизация процесса деления клеток на более позднем этапе анафазы I могла быть обусловлена как дополнительным вхождением в состав полярных групп хромосом целого отстающего унивалента, так и полным расхождением хроматид, наблюдаемых на раннем этапе анафазы I (рис. 5.1, б). Тем не менее, увеличение числа случаев без отстающих элементов (унивалента, хроматид) к концу анафазы происходило, в основном, за счет клеток, имеющих в первой половине редукционного деления целую отстающую хромосому. Это следует из того, что по результатам исследования частота расщепления унивалента на ранних этапах анафазы I, в среднем по серии, составила 2,11%. В то же время к ее завершению общее количество клеток с отставаниями снизилось на 12,66%. Учитывая малую вероятность полного цикла деления отстающей хромосомы за период между двумя анализируемыми стадиями, есть основания считать, что подобный эффект был вызван именно дополнительным вхождением в состав полярных групп нерасщепившегося унивалента. Однако при определении частоты униполярной ориентации экспериментальные данные, приведенные в таблице 5.2, должны быть определенным образом откорректированы. Для этого из количества клеток без отставаний в анафазе I поздней необходимо вычесть случаи эквационного деления унивалента на ранней стадии анафазы I. Общий уровень униполярного характера поведения унивалента может быть оп-

ределен по предлагаемой формуле:

$$K(u) = \{[K_i - (N_i \cdot X_j)/100]/K_i\} \cdot 100, \text{ где}$$

$K(u)$ – доля клеток с униполярной ориентацией унивалента (%);

K_i – количество клеток без отстающих элементов на поздней стадии AI;

N_i – общее количество проанализированных клеток в анафазе I поздней;

X_j – процент клеток с хроматидами на ранней стадии анафазы I.

Для расчета частоты биполярной ориентации унивалента используется аналогичная формула, со знаком “+” в числителе, где K_i – число анафазных клеток поздней стадии редукционного деления с одной и двумя хроматидами. Кроме этого в состав данной группы должны быть включены клетки, которые на поздней стадии анафазы I имели отстающую унивалентную хромосому с *misdivision* (рис. 5.3, в). Соответственно они же должны быть вычтены из числа клеток с отстающим унивалентом (табл. 5.3). Распределение частот различного типа поведения унивалента в анафазе I по линиям представлено в таблице 5.4.

Таким образом, характер поведения унивалента в анафазе I, так или иначе, определяется спецификой связи его центромер с полюсами и в данном случае выделяются три основных его типа: униполярный, биполярный и аполярный. В связи с этим очень важно правильно расставить акценты.

Есть мнение, что нормой для поведения унивалента в анафазе I мейоза является его эквационное деление (Щапова и др., 1990). При этом авторы исходили очевидно из того положения, что униполярная ориентация хромосом при редукционном делении определяется их бивалентным состоянием. В соответствии с этим униполярная ориентация унивалента рассматривается как аномалия, вызванная утратой связи одной из хроматид со своим полюсом. Однако при таком подходе следует учитывать тот факт, что в этом случае перемещение хроматиды, утратившей связь со своим полюсом, будет осуществляться к противоположному полюсу ее сестринской хроматидой через когезию в зоне центромеры. Иначе говоря, ее движение к полюсу должно проходить путем своего рода “буксировки”. Такой способ перемещения в относительно плотной среде,

какой является цитоплазма, должна приводить к распаду унивалента на хроматиды с их видимой ориентацией к одному полюсу. Такие ситуации действительно имели место в анафазе I (рис. 5.5).

Таблица 5.4 – 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
1A	1274	48,74	29,44	21,04	0,78
2A	2081	56,85	10,57	31,91	0,67
3A	1953	49,51	34,51	13,98	2,00
4A	1176	54,00	33,10	12,33	0,57
5A	1572	43,32	37,59	18,45	0,64
6A	1756	58,94	28,25	12,47	0,34
7A	1432	44,90	47,56	6,84	0,70
Геном А	11244	50,95	30,68	17,40	0,97
1B	1069	48,27	30,78	20,02	0,93
2B	1243	40,79	46,82	11,10	1,29
3B	1444	44,60	30,75	22,99	1,66
4B	1751	39,46	34,84	24,21	1,48
5B	1337	48,77	35,30	15,41	0,52
6B	1193	53,23	18,86	27,07	0,84
7B	1090	52,84	28,35	18,07	0,64
Геном В	9127	46,14	32,67	20,09	1,10
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
Геном D	9788	51,97	25,73	21,15	1,15
Х сред.	30159	49,80	29,75	19,43	1,02

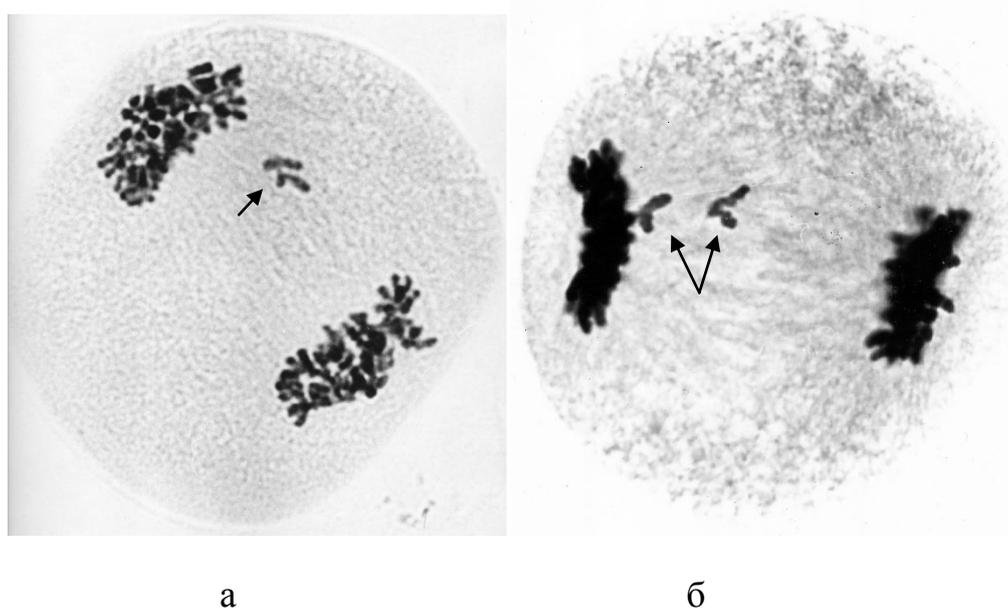
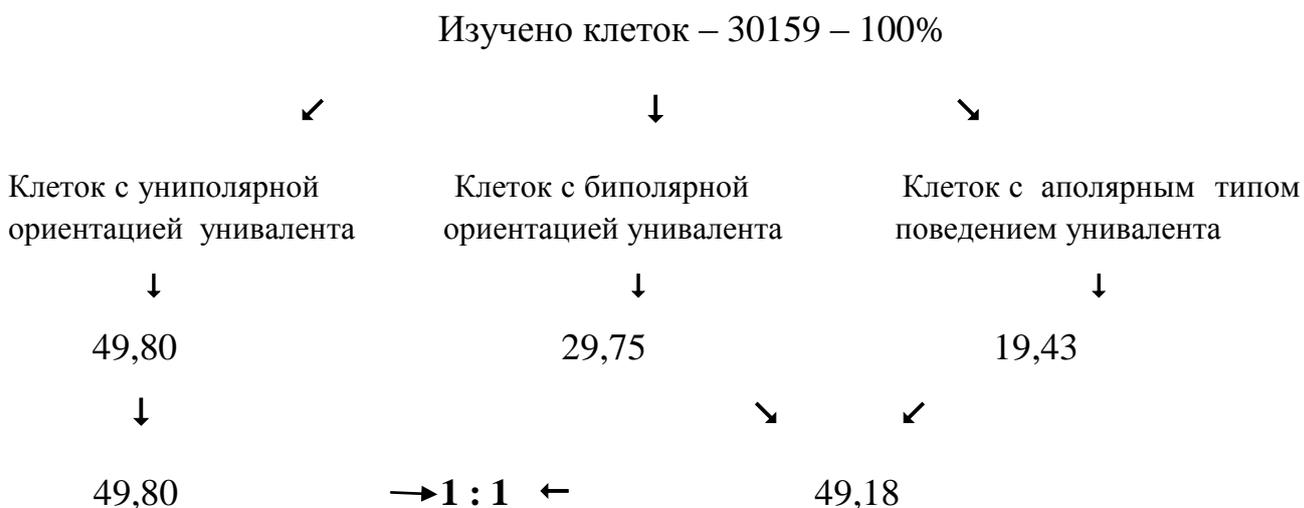


Рисунок 5.5 - Анафаза I с отстающими хроматидами, ориентированными к одному полюсу: а – на раннем этапе распада унивалента; б – на позднем этапе распада унивалента. Ув. 60x10.

Однако униполярная ориентация двух сестринских хроматид наблюдалась довольно редко. Наличие анафазных клеток с подобного рода поведением унивалента, в целом по серии моносомных линий, составило всего лишь 0,79%, в то время как унивалент, в среднем по линиям, ориентировался к одному полюсу с частотой, близкой к 50% (табл. 5.4). Аналогичный результат был получен М.И. Лбовой (1973) при цитологическом анализе анафазы I у серии моносомных линий сорта пшеницы Чайниз Спринг. Кроме того, при изучении моносомиков у кукурузы М. Yadav с соавторами (2009) было показано, что унивалент уходит к одному полюсу с частотой 54,4%. По данным D.Weber (1983) этот показатель составил 52,9%. Таким образом, есть все основания считать, что униполярный тип поведения унивалента не является аномалией. При этом его способность в анафазе I отходить к одному полюсу определяется именно однонаправленностью обеих сестринских хроматид и не связана с утратой связи одной из центромер со своим полюсом. Данное обстоятельство позволяет

рассматривать биполярный тип поведения унивалента как определяющий.

По результатам проведенных исследований соотношение частот различного типа поведения унивалента существенно варьировало по линиям (табл. 5.4). Однако на данном этапе проводимого анализа полученных результатов, особый интерес представляют итоговые цифры, характеризующие поведение унивалента в целом по генотипу. Схематично их можно представить в следующем порядке:



При сопоставлении двух альтернативных групп поведения унивалента (униполярный и биполярный + аполярный) видно, что полученное 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 гомо-

логу для этого требуется наличие партнера, т.е. конъюгация (положение 2).

Если, как предполагалось ранее (Лобашов, 1967; Щапова и др., 1990; Giraldez, Lacadena, 1976; Benavente, Orellano, 1986 и др.), бивалентное состояние является единственным условием для коориентации связи хромосом с полюсом, то во всех проанализированных анафазных клетках унивалент должен был делиться эквационно. Тем не менее, по результатам проведенных исследований поведение унивалента в анафазе I мейоза в целом подчинялось одному из законов теории вероятности, т.е. вероятности появления двух равновозможных 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 не бивалентное состояние гомологов определяет их редукционный тип деления, а, наоборот, смена полюсной ориентации одного из гомологов определяет синапсис хромосом. Полученное соотношение, 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. Исходя из вышесказанного следует, что относительной автономностью коориентации связи хромосом с полюсом обладает один гаплоидный ряд, в то время как вто-

рому 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-Heaps et al., 1982; Чубыкин, 2009). Соответственно связь хромосом с полюсом также может осуществляться с помощью пучка тонких филаментов (Picket-Heaps et al., 1982), микротрубочек, непосредственного контакта центромер с зоной исходного полюса и т.д. 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. 5.6). Так как отдельно взятая хромосома перед началом деления состоит из двух сестринских хроматид с реплицированной центромерой (Кикнадзе, Высоцкая, 1975; Мэзия, 1963; Босток, Самнер, 1981; Luukx, 1965; Wagenaar, Bray, 1973; Goldstein, 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. 5.6), 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).

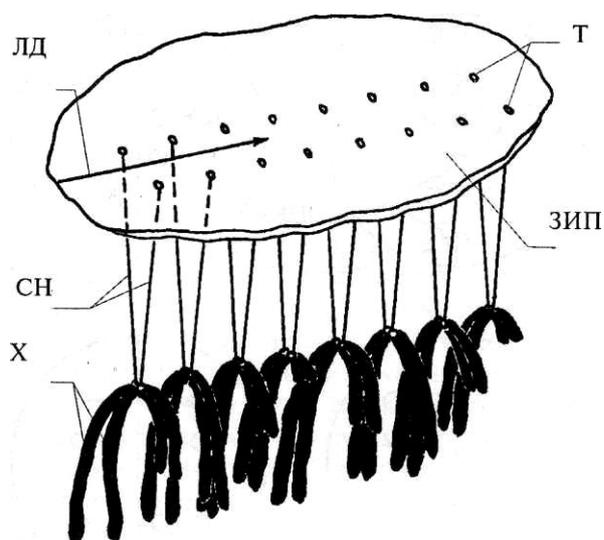


Рис. 5.6 - Схема фиксации хромосом в зоне исходного полюса при полюсной детерминации типа деления клеток: ЗИП — зона исходного полюса; СН — связующие нити; Т — точки фиксации связующих нитей в зоне исходного полюса; ЛД — линия деления полюса; Х — хроматиды хромосом.

Для перехода на редуцированный 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 5.7. По имеющим данным литературных источников (Jasencakova et al., 2001; Stewart, Dawson, 2008; Maestra et al., 2002; Aragon-Alcaide et al., 1997; Moore, 2006; Prieto et al., 2005; Martinez-Perez et al., 2001, 2003) 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. 5.7, б). При этом вероятность того, какой из двух гомологов будет находиться в той или иной позиции, составляет в среднем по генотипу 50 на 50

процентов. Таким образом, используя метод «от обратного», можно сказать, что если точки фиксации центромер унивалентной хромосомы попадают в положение 1, она ведет себя по типу редукционного деления (sintelic), если же в положение 2, то эквационное деление унивалента становится неизбежным, что по данным Giraldez и Lacadena (1976) идентифицируется как amphitelic.

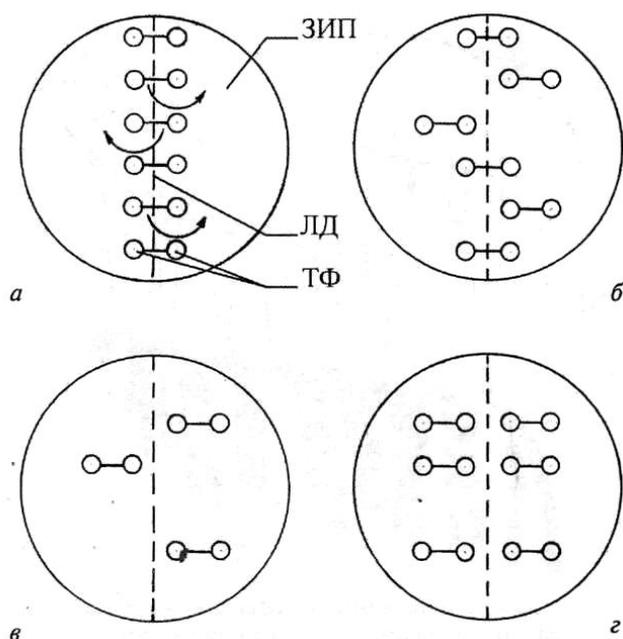


Рис. 5.7 - Схема коориентации связи центромер с полюсом при переходе хромосом от эквационного типа деления (митотического) к редукционному (мейотическому): а — исходное (митотическое) положение; б — расположение точек фиксации центромер после коориентации одного гаплоидного набора; в — сохранение связи центромер с полюсом в период синapsиса одним гаплоидным набором хромосом после утраты ее их гомологами; з — 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. Столь высокая частота данного явления и его проявление по всем моносомным линиям (таблица 5.4) также исключают возможность рассматривать аполярный тип поведения унивалента как аномалию, связанную с нарушениями функции веретена деления. Следовательно, есть все основания считать, что данный тип поведения моносомы обусловлен отсутствием связи ее центромеры (центромер) с полюсом (полюсами) и 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 синапсиса. Хромосомы, которые до сих пор сохраняли прежнюю биполярную ориентацию (рис. 5.7, б), после первого контакта гомологов и включения процессов формирования синаптонемального комплекса, утрачивают свою связь с полюсом (рис. 5.7, в) и восстанавливают ее при завершении конъюгации в последовательности, обеспечивающей редукционный тип деления хромосом (рис. 5.7, 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, несмотря на отсутствие гомолога и процессов синапсиса, довольно часто реализуются. Как показывает цитологическая практика, не всегда констатируется факт наличия в анафазе I отстающей целой унивалентной хромосомы (Лбова, 1973; Щапова и др., 1990; Giraldez, Lacadena, 1976). Однако аполярный тип поведения унивалента не является сортовой особенностью пшеницы. Его наличие отмечалось при цитологическом анализе моносомиков у кукурузы. Так, по данным M. Yadav et al (2009), также выделяется три типа поведения унивалента: уход к одному полюсу, задержка в межполюсной зоне и эквационное деление. В процентном выражении это составило соответственно 54,4 – 36,2 – 9,4%. Близкие по значению были получены показатели и D. Weber (1983): 52,9 – 33,4 – 12,5%. Таким образом, аполярный тип поведения унивалента имеет более общий характер своего проявления. Отсутствие же его наличия в том или ином материале показывает, что утрата связи с зоной исходного полюса одного из гомологов происходит при синапсисе хромосом и проявление ее в случае гемизиготности.

зиготного состояния хромосомы не всегда обязательно.

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, есть все основания считать, что построение центрального веретена и кинетохорного происходит отдельно, во всяком случае, у мягкой пшеницы. В одной из своих работ R. Bruce Nicklas (1971) отмечает, что центральное веретено и кинетохорное формируются в разное время и в разном месте.

У растений, из-за отсутствия центросомы, роль центра организации микротрубочек в профазе выполняет ядерная оболочка (Evert, Eichhorn, 2013). Микротрубочки собираются вдоль ядра с последующим формированием профазного веретена. В то же время, согласно альтернативной модели присоединения кинетохор к веретену, короткие микротрубочки своими плюс-концами встраиваются в кинетохоры и за счет удлинения минус-концов «сшиваются» (Morgan, 2007). Таким образом, если первая часть может служить моделью образования

центрального веретена деления, то вторая – кинетохорного веретена. В формировании кинетохорного веретена, очевидно, принимает участие и внутренняя поверхность оболочки ядра. В интерфазном ядре хромосомы присоединены к ядерной мембране. Есть данные, что после ее распада фрагменты полярного сегмента этой ткани мигрируют к полюсам и становятся объединенными во вновь сформированном полюсе веретена (Porter, Machado, 1960; Bajer, Mole-Bajer, 1969; Avivi, Feldman, 1973). При распаде данного полюса его фрагменты становятся частью вновь воссозданной ядерной мембраны. 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. 5.8).

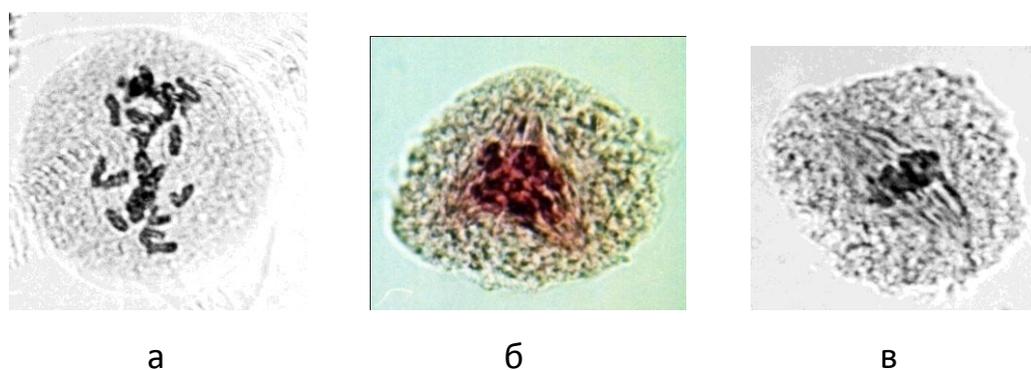


Рис. 5.8 - Процесс формирования веретена при первом мейотическом делении клеток у мягкой пшеницы: а – профаза; б – прометафаза; в – метафаза I. Ув. 60x10.

Наличие трех полюсов в прометафазе мейоза (рис. 5.8, б) дает основание предполагать, что два полюса принадлежат центральному веретену, а третий – кинетохорному. Кинетохорное веретно, сформированное кинетохорами и зоной исходного полюса, согласно предлагаемой схеме разводящих нитей, расщепляется на две составляющие части, которые при расхождении в противоположные стороны встраиваются в центральное веретено. В связи с уже произошедшей коориентацией центромер при запуске мейоза и синапсисе гомологов, разде-

ление хромосом при реализации кинетических свойств микротрубочек будет происходить по типу редукционного деления. Нечто аналогичное было описано Б. Льюин с соавторами (2011), когда при распаде ядерной оболочки между кинетохорами и спаренными центриолями формируется однополярное веретено. При расхождении центриолей в противоположные стороны разводятся кинетохорные нити и образуется двухполюсное веретено деления.

Исходя из предложенной модели перехода хромосом от митоза к мейозу и концепции «разводящих нитей», становится понятен механизм поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы (misdivision). По данным литературных источников (Босток и Самнер, 1981), отличительной особенностью строения центромеры является то, что она состоит из парных плотных структур. В метацентрических хромосомах таких структур четыре, по две в каждой хроматиде (рис. 5.9). Такое ее строение определяет потенциальную возможность как продольного, так и поперечного деления данной структуры.



Рисунок 5.9 - Центромера хромосомы с двумя парами твердых телес (воспроизведено по книге Босток и Самнера, 1981).

Способность центромеры хромосом (хроматид) к поперечному делению указывает на то, что крепление связующих нитей (микротрубочек) к кинетохору в норме должно обеспечивать ее целостность в процессе деления клетки. Следовательно, точки фиксации должны быть распределены по центромере таким образом, что позволило бы им удерживать оба плеча. Однако исход событий определяется не только системой крепления связующих нитей в центромерной зоне, но и полюсной.

На рисунке 5.10 показаны в поперечном сечении варианты фиксации связующих нитей в зоне исходного полюса относительно линии его раздела.

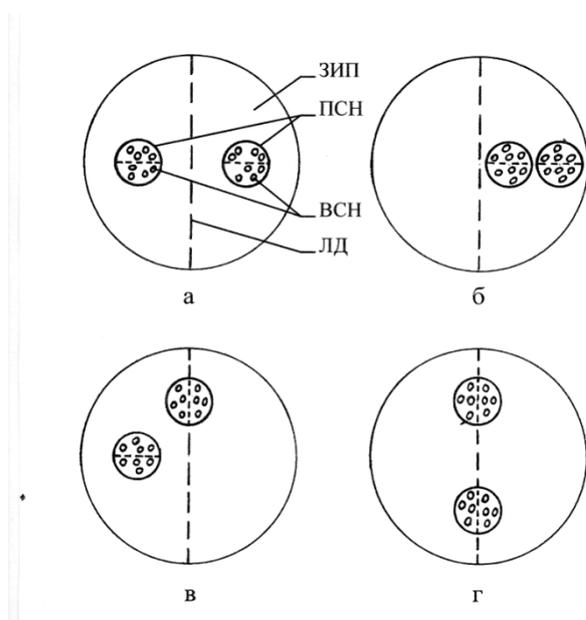


Рис. 5.10 - Варианты расположения пучка связующих нитей дублированной центромеры после динамических изменений в структуре зоны исходного полюса: а, б – расположение по типу эквационного (а) и редукционного (б) делений; в, г – расположение пучков связующих нитей унивалентной хромосомы в зоне исходного полюса, способствующего поперечному делению одной (в) и двух (г) хроматид; ЗИП – зона исходного полюса, ЛД – линия деления полюсной зоны, ПСН – пучки связующих нитей дублированной центромеры; ВСН – волокна связующих нитей.

Кроме двух основных позиций (рис. 5.10, а, б), в силу некорректности происходящих полюсных процессов, точки фиксации центромер хромосомы, находящейся в положении 2 (митотическом), могут быть смещены в зону деления. Если сформировавшийся кинетохорный пучок в этом случае оказывается закреплен таким образом, что связующие нити двух плеч фиксируются по разные стороны разделяющей линии (рис. 5.10, в), то при их разведении неизбежен поперечный разрыв, в результате которого целая хроматида и плечо будут двигаться в одном направлении, а второе плечо – в другом. Иначе говоря, *misdivision* в данном случае проходит на уровне целой унивалентной хромосомы, идентифицируемый как класс «е» (рис. 5.3, в). При наличии подобной ориентации точек фиксации обеих связующих хроматидных нитей (рис. 5.10, г) в анафазе I должны наблюдаться четыре телоцентрика с правильным их расхождением (класс «б»). Однако, при сохранении когезии в зоне центромер сестринских хроматид, такая фиксация может привести к образованию двух изохромосом.

Смещение точек фиксации хромосом, которые при структурных изменени-

ях в зоне исходного полюса находятся в положении 2, не всегда происходит симметрично линии потенциального деления их центромер (рис. 5.10). В ряде случаев они могут располагаться под различным углом двух линий раздела (линия деления зоны исходного полюса и линия потенциального поперечного деления центромеры). При этом в данное положение могут попадать как связующие нити (пучок микротрубочек) одной хроматиды, так и обеих (рис. 5.11). При их разведении и встраивание в центральное веретено деления возникает ситуация, интерпретируемая как merotelic (Greganetal., 2011), когда один и тот же кинетохор оказывается задействован между двумя полюсами. Такое положение вызывает псевдоориентацию телоцентриков, когда один или оба как бы зависают в межполюсной зоне, создавая иллюзорность их полярной ориентации (рис. 5.3, а, б). В данном случае степень и характер полюсной ориентации телоцентрической хромосомы будет определяться характером расщепления пучка микротрубочек и их количественного соотношения при его разведении.

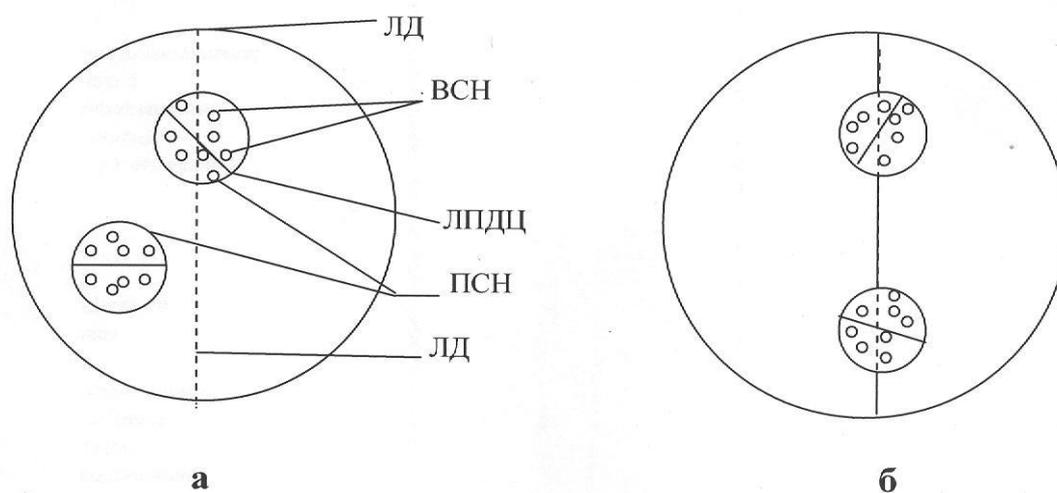


Рисунок 5.11 - Варианты ассиметричного расположения пучка связующих нитей дуплицированной центромеры после структурно-динамических изменений в зоне исходного полюса: а - одной хроматиды; б – двух хроматид; ЛД – линия деления зоны исходного полюса; ПСН – пучки связующих нитей; ВСН – волокна связующих нитей (микротрубочки); ЛПДЦ – линия потенциального поперечного деления центромеры.

Таким образом, наличие в анафазе I трех типов поведения унивалента и

misdivision являются проявлением различных сторон механизма перехода хромосом от митоза к мейозу. Результаты полученных экспериментальных данных показывают, что пусковым механизмом перехода хромосом от митоза к мейозу служат структурные изменения в зоне исходного полюса, приводящие к коордации центромер. При этом активно задействованным оказывается только один гаплоидный набор, в то время как второй сохраняет свою прежнюю митотическую ориентацию. Данная манипуляция приводит в соответствие взаимное расположение плеч хромосом. После этого начинаются процессы сближения и распознавания гомологов, первый из которых осуществляется формированием ассоциации теломер, идентифицируемой как стадия «букета» (Dawe, 1998; Cowan et al., 2002). После контакта гомологов и начала синапсиса те из них, которые до сих пор сохраняли свою прежнюю митотическую ориентацию, утрачивают свою связь с полюсом и восстанавливают ее по завершению конъюгации в ориентации, соответствующей редукционному делению. Как показывают результаты цитологических наблюдений за поведением унивалентной хромосомы в анафазе I, структурные изменения в зоне исходного полюса проходят не достаточно корректно, вызывая смещения точек фиксации связующих нитей хромосом, занимающих в данный момент митотическую ориентацию. На уровне гемизиготного состояния хромосомы это приводит к поперечному делению центромеры. Однако при эуплоидном состоянии генотипа эти погрешности легко устраняются путем прерывания и возобновления связи второго партнера с зоной исходного полюса. Одним из основных моментов реализации механизма перехода хромосом от митоза к мейозу является тот факт, что в данном процессе существует распределение функций между гомологами. При этом один из них оказывается задействован зоной исходного полюса и ему для коордации не требуется конъюгация, а второй в это время сохраняет свое прежнее положение и ему для перехода на редукционный тип деления необходим синапсис. В обычном эуплоидном состоянии генотипа подобное распределение функций остается незаметной для наблюдателя. Обнаружить его, кроме

анализа поведения унивалента в мейозе I, на данном этапе практически не возможно.

В настоящее время накоплено большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих в пользу предложенного механизма перехода хромосом от митоза к мейозу и концепции «разводящих нитей». Прежде всего, разработанная на основе анализа характера поведения унивалента в анафазе I мейоза у полной серии моносомных линий пшеницы схема перехода хромосом от митоза к мейозу предполагает наличие определенной организации расположения хромосом в ядре. С. Rabl (1885) на ядрах саламандры обнаружил полярность расположения хромосом, при которой центромеры расположены на одной стороне ядра, а теломеры – на другой. Наличие Рабл ориентации (Rabl orientation) было наглядно продемонстрировано А.И. Щаповой (2010) на пшенице. Кроме того, при анализе анафазы I у ржи была определена последовательность расположения в гаплоидном ряду хромосом при их расхождении к полюсам (Bennet, 1982; Щапова, Кравцова, 1990). Установленный ими порядок взаимного расположения хромосом практически поддерживался во всех проанализированных анафазных клетках. Эти и другие данные (Avivi, Feldman, 1980; Hoppe, Zeller, 1982; Yacobi et al., 1983; Cowan et al., 2001; Martinez-Perez et al., 1999 и другие) убедительно показывают наличие определенной организации расположения хромосом в ядре и наличие ее полюсной детерминации. Последнее наиболее наглядно было показано в работе С.Р. Cowan с соавторами (Cowan et al, 2002).

Другим важным моментом предлагаемых механизмов мейотических преобразований является тот факт, что смена полюсной ориентации одного гаплоидного набора является пусковым механизмом перехода хромосом от митоза к мейозу. Следовательно, данный процесс должен предшествовать всем остальным мейотическим процессам, наблюдаемым в профазе мейоза. R. KellyDawe (Dawe, 1998), анализируя имеющиеся материалы по мейозу у мутантных форм, отмечает, что коориентация кинетохор происходит очень рано в мейозе. При

этом высказывается предположение, что ориентация кинетохор в пределах лептотены во многом определяется *Afd1* или подобными ему генами. Далее, если смене полюсной ориентации одного из двух гомологов предшествует спаривание центромер, то по данным J.Zhang с соавторами (Zhang et al., 2013), центромеры у кукурузы начинают связываться в лептотене до формирования букета. Кроме того, спаривание центромер было отмечено в ранних мейотических клетках до выравнивания плеч хромосом (Stewart, Dawson, 2008). На возможность раннего спаривания центромер указывают и другие данные литературы (Aragon-Alcaide et al., 1997; Martines-Perez et al., 1999, 2000; Moore, 2008; The-moorelab, 2012).

В литературных источниках часто встречается описание цитологических фактов, которые не находят своего объяснения. Так в прелептотене часто наблюдается характерная укладка хромосом в виде «прохромосом» у животных и «spiral prophase stage» у растений, которая сменяется их полной деспирализацией в лептотене (Кикнадзе, Высоцкая, 1975). Как уже отмечалось ранее, смена полюсной ориентации центромер одного из гомологов приводит в соответствие их взаимное расположение. В данном случае дополнительная спирализация ко-ориентируемого гомолога становится не только оправданной, но и необходимой, так как привести в соответствие взаимное расположение плеч хромосом без подобной манипуляции довольно трудно. Особенно если данный акт совершается путем разворота гомолога, задействованного динамикой зоны исходного полюса. Формирование сбалансированных гамет при гетерозиготных транслокациях у растений также может быть понято исходя из полюсной детерминации коориентации центромер. То же самое можно сказать и в отношении постепенной частичной стабилизации генома при автополиплоидии (Семенов, 1975).

Разработанная на основе трех типов поведения унивалента модель перехода хромосом от митоза к мейозу не только подтверждается результатами дальнейшего статистического анализа полученных экспериментальных данных,

но и лежит в основе понимания их сущности. Отправным моментом разнообразия проявления гемизиготного состояния хромосом в анафазе I является механизм смены полюсной ориентации центромер, когда при динамических изменениях структуры в зоне исходного полюса активно задействованными оказываются точки фиксации центромер того или иного гомолога. Как уже отмечалось ранее, соотношение двух классов различного типа поведения унивалента (униполярного, с одной стороны, биполярного и аполярного – с другой) в среднем по серии моносомных линий (или генотипу) оказалось близким 1:1. Однако данный феномен отражает лишь общую закономерность, присущую *Triticum aestivum* L. Конкретное же выражение этих пропорций в сильной степени зависело от принадлежности унивалента к той или иной хромосоме (Таблица 5.4.).

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. Асимметричность распределения частот между гомологами двух способов смены полюсной ориентации, на примере одной пары (4В), схематично показано на рисунке 5.12, а. Весь ряд ранжированного построения представлен в развернутом виде на рисунке 5.12, б.

В левой части рисунка показано соотношение частот двух уровней положения (1 и 2) унивалентной хромосомы на первом этапе коориентации связи центромер с полюсом. В правой его части то же самое, но, в адекватном по смысловому выражению к первому, демонстрируется положение для второго гаплоидного набора хромосом.

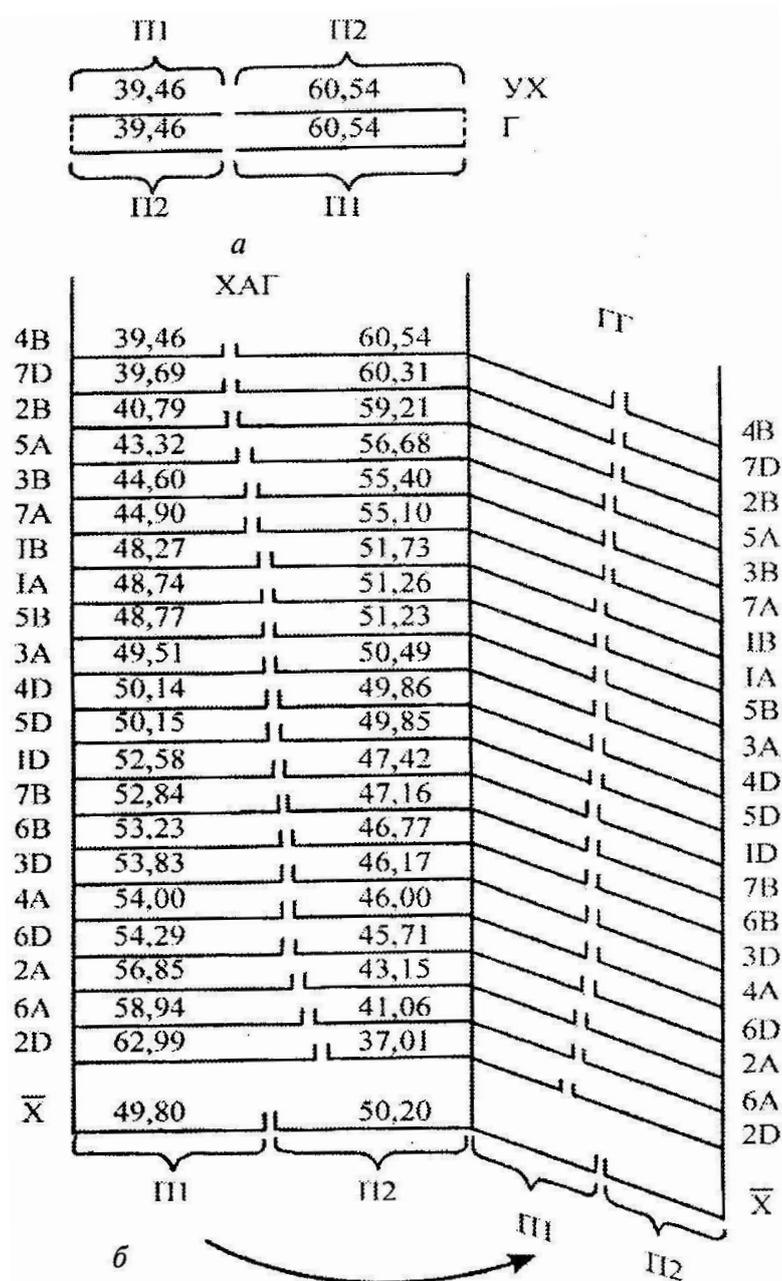


Рис. 5.12 - Асимметричное распределение частот между гомологами двух уровней положения смены полюсной ориентации на примере одной пары (а) и в развернутом (ранжированном) виде для всего гентипа *Triticum aestivum* L. (б): П1 – положение 1, когда коориентация центромер осуществляется непосредственно зоной исходного полюса; П2 – положение 2, когда переход хромосом на редукционный тип деления происходит через конъюгацию, прерывание и восстановление связи центромер с полюсом; УХ – унивалентная хромосома; г – гомолог; ХАГ – хромосомы анализируемого гаплоидного ряда; ГГ – гомологичный гаплоидный ряд.

При анализе рисунка 5.12 следует иметь в виду, что в обычном эуплоидном генотипе мы имеем дело с двумя гомологичными хромосомами, поведение

которых в мейозе тесным образом взаимосвязано между собой. Так, если у одного из них (4В) в 39,46 % случаев коориентация центромер осуществляется зоной исходного полюса, то с той же частотой его гомолог переходит на редукционный тип деления через конъюгацию и наоборот.

Из рисунка 5.12 видно, что все четыре составные его части находятся в определенной зависимости – обратно пропорциональной при проявлении частоты различного положения смены полюсной ориентации одной и той же хромосомы и сопряженной – при распределении двух уровней положения между гомологами. Данное обстоятельство позволяет в дальнейшем рассматривать только один вариационный ряд, так как установленные для него закономерности будут одинаково правомерны для остальных трех рядов варьирования.

Отличительные особенности проявления частоты униполярной ориентации унивалента на стадии анафазы I мейоза вряд ли связаны напрямую с особенностями генетического содержания самой хромосомы, так как в этот период она находится в максимально спирализованном состоянии и подчиняется общему правилу клеточного деления. 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 (таблица 5.5).

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 гомеологических групп, либо явным отличием одного из них. В этом плане не составляет исключение и первая гомеологическая группа, где при попарном сравнении 1D достоверно отличается от двух других своих гомеологов.

Таблица 5.5 – Частота, %, различного характера поведения унивалента в анафазе I и оценка на однородность хромосом внутри гомеологичных групп по проявлению свойств униполярной ориентации моносомы.

Хромосома	Изучено клеток, шт.	Тип поведения унивалента				χ^2
		униполярный	биполярный	аполярный	неидентифицируемый*	
1A	1274	48,74	29,44	21,04	0,78	5,58
1B	1069	48,27	30,78	20,02	0,93	
1D	1084	52,58	12,02	33,58	2,12	
2A	2081	56,85	10,57	31,91	0,67	145,84**
2B	1243	40,79	46,82	11,10	1,29	
2D	1624	62,99	15,15	20,57	1,29	
3A	1953	49,51	34,51	14,59	2,00	22,00**
3B	1444	44,60	30,75	22,99	1,66	
3D	1148	53,83	27,11	18,55	0,52	
4A	1176	54,00	33,10	12,33	0,57	68,90**
4B	1751	39,46	34,84	24,21	1,48	
4D	1434	50,14	30,83	17,78	1,25	
5A	1572	43,32	37,59	18,45	0,64	15,33**
5B	1337	48,77	35,30	15,41	0,52	
5D	1348	50,15	40,36	9,12	0,37	
6A	1756	58,94	28,25	12,47	0,34	11,66**
6B	1193	53,23	18,86	27,07	0,84	
6D	1540	54,29	30,97	13,83	0,91	
7A	1432	44,90	47,56	6,84	0,70	45,56**
7B	1090	52,84	28,35	18,07	0,64	
7D	1610	39,69	23,30	35,40	1,61	
A	11244	50,95	30,68	17,40	0,97	
B	9127	46,14	32,67	20,09	1,10	
D	9788	51,97	25,47	21,41	1,15	
Σ	30159					
Хсред.		49,80	29,75	19,43	1,02	

*Клетки с двумя и более унивалентами, %.

Различия достоверны при ** $P \leq 0,01$.

Оценка ранжированного ряда хромосом на их однородность по частоте униполярного типа поведения унивалента показала, что все они делятся на пять отдельных блоков (таблица 5.6).

Таблица 5.6 – 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 $*p \leq 0,01$

Как видно из таблицы 5.6 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 5.13).

При анализе полученной кривой обращает на себя внимание тот факт, что распределение хромосом на графике до 50%-ного уровня идет симметрично, а после него, в нижней части графика – асимметрично. Своеобразное их расположение нижеуказанной отметки говорит о том, что данную часть графика следует вести не в расходящем порядке, а в обратной последовательности, сводя значения моносомных линий к исходной позиции (рис. 5.13, пунктирная линия). Полученная замкнутая кривая, кроме демонстрации степени отклонения от 50%-ного уровня вероятности проявления свойств униполярной ориентации унивалента, может служить своеобразной моделью пространственного разведения хромосом в ядре во время сближения, распознавания и синапсиса гомологов.

При таком построении видно, что все хромосомы распределяются на восемь ассоциаций. Так как их расположение совпадает с принятым географическим расположением на бумаге сторон света, условно обозначим их как северная, южная, западная и т.д. В состав каждой ассоциации, кроме юго-восточной и юго-западной, входит по три хромосомы, причем все они, кроме северной не имеют гомеологов. Однако две смежные ассоциации в общей совокупности обладают гомеологичными хромосомами (рис. 5.13, б). Характерно, что хромосомы одной ассоциации, кроме северной, имеют близкие по значению показатели частоты униполярной ориентации унивалента. В то же время хромосомы двух смежных ассоциаций и ассоциации, имеющей гомеологи, достоверно различаются между собой по данному признаку.

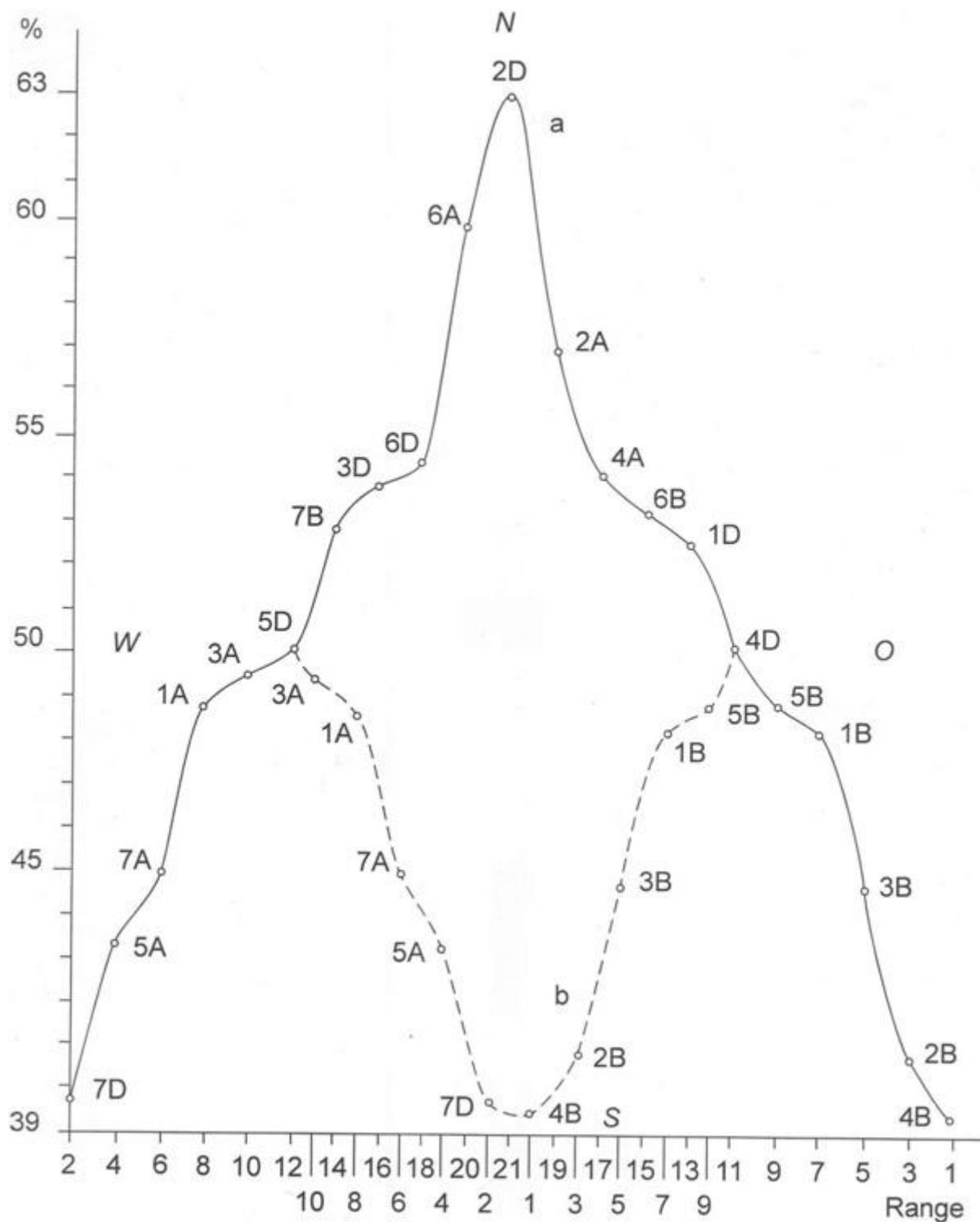


Рис. 5.13 - Кривая ранжированного распределения хромосом по частоте униполярной ориентации унивалента (а) и модель пространственного разведения хромосом по данному признаку (б). Условные обозначения: С – север; Ю – юг; З – запад; В – восток.

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 5.6 и рисунка 5.13, 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 самоопыленного потомства моносомных растений в гемизиготном состоянии оказывается в основном хромосома отцовского родителя, можно сказать, что в данном случае чаще сегрегацией 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 % (4В).

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 генетического фактора. Как показывают результаты проведенных исследований, его действие 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 коориентации 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 коориентации. 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 коориентации полюсной связи хромосом одного гаплоидного набора и во-вторых — регулирование участия в этом процессе того или иного гомолога. Второй фак-

тор 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. 5.13, табл. 5.6). 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. 5.13) 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 генетического фактора. При нарушениях в проявлении защитных его функций, связанных с заменой при коориентации 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. 5.7).

По данным цитологического анализа, наличие тетравалентов у эуплоидного сорта Мильтурум 553 наблюдалось с частотой 0,93 %. Тот же уровень их образования имело большинство его анеуплоидных линий (табл. 5.1). Исключение составили линии, моносомные по хромосомам 2A, 1B, 3B и 2D (табл. 5.1, 5.7). При этом отсутствие одной дозы хромосом 1B и 3B вызывало достоверное увеличение числа метафазных клеток с тетравалентами. В случае гемизиготного состояния хромосом 2A и 2D, вместо тетравалентов формировались триваленты. Данное обстоятельство убедительно показывает, что именно эти две пары хромосом, предсказанные по результатам анализа характера поведения уни-

валента в анафазе I, являются основным источником образования мультивалентов у исходного сорта Мильтурум 553. Тот факт, что наличие тривалентов в метафазе I чаще отмечалось в случае гемизиготного состояния 2D, указывает на ее определяющую роль в возможности синапсиса со своим гомеологом (2A).

Таблица 5.7 – 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		
2A	1312	0,00±0,00***	0,08±0,08	861	1,16±0,36
6A	1464	0,75±0,22	0,07±0,07	681	0,00±0,00*
1B	1427	2,45±0,41**		646	1,39±0,46
3B	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

Примечание. Достоверно отличаются от исходного сорта при: * $P \leq 0.05 - 0.01$; ** $P \leq 0.01 - 0.001$; *** $p = 0.001$.

Таким образом, результаты цитологического анализа двух фаз мейоза I (метафазы и анафазы) у серии моносомных линий Мильтурум 553 показали, что специфика поведения унивалента каждой хромосомы в анафазе I обусловлена общими закономерностями клеточного деления и непосредственно связана с проявлением механизма предотвращения синапсиса гомеологов. Отклонения частоты униполярной ориентации моносомы от 50%-ного уровня вероятности вызвано дополнительным вмешательством генетического фактора, осуществляющего замену вовлечения динамическими изменениями зоны исходного полюса коориентации одного гомолога на другой, обеспечивая тем самым надежность пространственной изоляции центромерных районов во время конъюгации хромосом.

Для подтверждения правомерности проведенного логического построения механизма предотвращения синапсиса гомеологов через его полюсную детерминацию, обратимся к имеющимся данным литературных источников. Как уже отмечалось ранее, в последнее время большое внимание уделяется роли центромер в спаривании хромосом. Прежде всего, следует отметить, что есть данные, указывающие на существование предмейотических ассоциаций гомологических хромосом и соединения центромер (Vega, Feldman, 1998). Исследования, проведенные с помощью *in situ* гибридизации GISH и FISH, показали, что у *Triticum aestivum* в ранней лептотене обнаруживается кластеризация из 7 групп центромер (Martinez-Perez et al., 2003). Данный факт констатируется также и другими исследователями (Moore, 2006, 2008; Prieto et al., 2005; Coredor et al., 2007; Щапова, 2010 и др.). N. Stewart и D. Dawson (2008), рассматривая данный вопрос, отмечают, что центромеры пшеницы проходят 4 стадии взаимодействия в мейотическом процессе:

1. объединение в кластеры;
2. негомологичное спаривание;
3. объединение в кластеры гомеологов;
4. гомологичное спаривание.

Далее авторы отмечают, что по мере продвижения мейоза центромеры группируются примерно в 7 групп. Затем группы распадаются после выравнивания гомологов. По аналогии с наличием у мягкой пшеницы семи гомеологичных групп предполагается, что каждый кластер включает центромеры гомеологичных хромосом трех геномов. Отмечая данный момент N. Stewart и D. Dawson (2008) замечают, что при этом остается не ясным: как происходит при конгрегации гомологов и гомеологов в одной группе надлежащий выбор партнеров. Как показали результаты проведенных нами исследований характера поведения унивалента в анафазе I мейоза, достигается это путем вмешательства генетического фактора в процесс полюсной коориентации центромер, вызывающего отклонения от 50%-ной вероятности участия в нем того или иного го-

молога. Как видно из таблицы 5.5, в пределах пяти блоков хромосом, различающихся по частоте униполярной ориентации унивалента, выделяется 7 групп. Причем дифференциация этих групп не ориентируется на принадлежность хромосом к гомеологичным группам. Наличие гомеологов в одном кластере имеет место в 3-ей группе (1A и 1B) и 7-ой группе (2A и 2D). Как было продемонстрировано на рисунке 5.13, решение проблемы предотвращения синапсиса гомеологов в первом случае достигается путем простого пространственного разведения при полюсной коориентации центромер в положении 1, во втором – прямым вмешательством генетического фактора, осуществляющего замену в критических ситуациях участия в положении 1 одного гомолога на другой.

Как было уже показано (раздел 1.2.3), диплоидный характер поведения аллополиплоидной пшеницы определяется в основном геном Ph1, расположенном в длинном плече хромосомы 5B. В проведенных нами исследованиях данная хромосома не проявила каких-либо заметных отклонений ни в метафазе, ни в анафазе мейоза I. Очевидно, это связано с тем, что хромосома 5B обладает одинаковой эффективностью как в двойной, так и одинарной дозе (Riley, 1960a, b; Riley, Sherman, 1966; Riley, Law, 1965). Однако продемонстрированный механизм предотвращения синапсиса гомеологов очевидно является одним из основных, обеспечивающих диплоидизацию аллополиплоидного генотипа. Данное обстоятельство дает основание предполагать, что проявление его связано в первую очередь с действием именно локуса гена Ph 1.

Приведенные экспериментальные данные и их интерпретация свидетельствуют в пользу пространственной гипотезы М. Фельдмана (Feldman, 1966). Р. Райли, являясь одним из основателей «тайминг гипотезы», тем не менее, в одной из своих работ (Riley, 1974) отмечает, что события после предмейотического митоза влияют на спаривание через коориентацию и сопоставление потенциальных партнеров. Представленная модель пространственного разведения гомеологов при полюсной коориентации центромер не исключает возможность

проявления задержки начала кроссинговера до распада мультивалентов на биваленты. В литературных источниках высказывается мнение, что пространственное разведение и проявление фактора времени при синапсисе хромосом определяются двумя разными генами, либо ген *Ph1* обладает многофункциональной активностью (Martinez-Perez, 1999; Roberts et al., 1999). G. Moore (2006) предполагает, что Ph1 имеет более сложную структуру и функцию, чем просто «ген».

Таким образом, результаты проведенных исследований и их статистический анализ показывают, что поведение унивалентной хромосомы в анафазе I мейоза у *Triticum aestivum* L. определяется общим механизмом перехода хромосом от митоза к мейозу. Пусковым моментом является коориентация центромер одного гаплоидного набора хромосом, осуществляемого динамическими изменениями в структуре зоны исходного полюса. В это время их гомологи сохраняют свою прежнюю митотическую ориентацию. Изменение положения на полюсе центромер одного гаплоидного набора и сохранение его вторым гаплоидным набором приводит в соответствие взаимное расположение плеч гомологов и является сигналом начала их сближения, которое инициируется их теломерами. Теломеры хромосом формируют на поверхности оболочки ядра ассоциацию, инициируя появление особой стадии мейотического деления – стадию так называемого «букета». После контакта гомологов те из них, которые до сих пор сохраняли свою прежнюю митотическую ориентацию, утрачивают связь с зоной исходного полюса и восстанавливают ее после завершения конъюгации хромосом, но уже по типу редукционного деления. В правильности коориентации гомологов большое значение в данном случае может иметь позднее спаривание центромер (Чадов, Чадова, 1981; Чадов, 1986; Stewart, Dewson, 2008). Предлагаемая модель перехода хромосом от митоза к мейозу имеет два очень важных выигрышных момента:

1. Конъюгация хромосом проходит при фиксированном положении центромер на полюсе одного гаплоидного набора, что обеспечивает возможность

управления данным процессом и сохранение взаимного расположения хромосом в ядре в период их конъюгации;

2. освобождение связи центромер с полюсом вторым гаплоидным набором после начала синапсиса облегчает сам процесс прохождения конъюгации хромосом и позволяет им перейти с биполярной ориентации на униполярную. В последнем случае стадия «букета», которая образуется в результате зависания одного из гомологов хромосом на другом, кроме ее роли в выравнивании гомологов (Hayashi et al., 1998), является просто необходимой.

По всем канонам функция мейоза сводится не только к тому, чтобы обеспечить правильное формирование гамет, но при этом сохранить и структуру генотипа в отношении упорядоченности расположения хромосом в ядре. В настоящее время накоплено большое количество работ, свидетельствующих о том, что каждая хромосома занимает свое определенное место (Zink et al., 1998; Sun et al., 2000; Habermann et al., 2001; Tanabe et al., 2002; Cremer et al., 2003; Alexandrova et al., 2003; Foster, Bridger, 2005; Schneider, Grosschedl, 2007 и др.). Предлагаемая модель перехода хромосом от митоза к мейозу полностью обеспечивает сохранность структуры генотипа во время мейоза.

Согласно результатам проведенного цитологического анализа анафазы I мейоза у полной серии моносомных линий при переходе хромосом от митоза к мейозу между гомологами существует распределение функций. При этом ко-ориентация центромер одного из них осуществляется структурными изменениями зоны исходного полюса (положение 1), а второго – через синапсис, утрату и восстановление его связи с полюсом (положение 2). В обычном эуплоидном состоянии генотипа подобное распределение функций между гомологами остается незаметной для наблюдателя. Обнаружить ее можно было только при анализе характера поведения унивалента в анафазе I всего набора хромосом генотипа. Вероятность того какой из двух гомологов окажется в положении 1 или положении 2 в целом составляет 50:50 %. Вполне возможно, что оно сохраняется по всем хромосомам у диплоидных генотипов. Однако у такого полиплоид-

ного вида, какой является мягкая пшеница, данный закон теории вероятности нарушается вмешательством генетического фактора, который в критических ситуациях производит замену участия при коордации центромер в положении 1 одного гомолога на другой. Этим самым достигается пространственное разведение гомеологов и предотвращение их конъюгации, а, следовательно, обеспечивается диплоидный характер поведения аллополиплоидного генотипа *Triticum aestivum* L. Редукционное деление в мейозе заканчивается телофазой I и формированием диад.

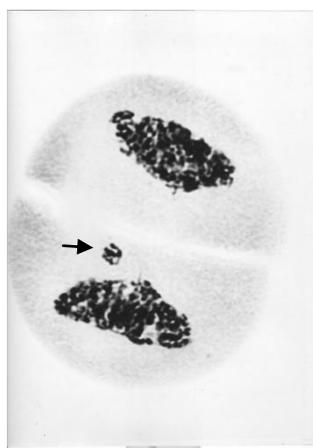
5.2 Формирование диад у серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

Наличие отстающих элементов в анафазе I приводило к формированию диад с микроядрами. При этом отмечалось присутствие одного микроядра, двух микроядер, трех и более (рис. 5.14). В случае наличия двух микроядер в диаде они могли располагаться как в одной, так и в разных монадах.

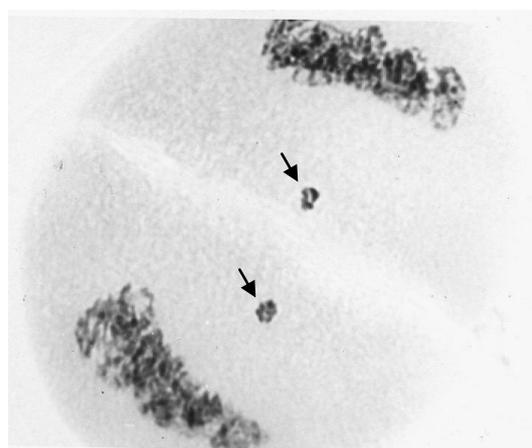
По данным проведенного цитологического анализа большинство диад не имели микроядер. Их доля в общей совокупности проанализированных клеток в целом по серии моносомных линий составила 57,55 %. Соответственно количество диад с 1 микроядром оказалось в пределах 30,99 %, с двумя микроядрами – 10,90 %, с тремя и более – 0,51 %. Однако конкретное соотношение частот различных конфигураций диад существенно варьировало по линиям (табл. 5.8).

Как видно из таблицы 5.8 наибольшее количество диад без микроядер (68,73%) было зарегистрировано при моносомном состоянии хромосомы 6A, а наименьшее (43,70 %) - 7D. Любопытно отметить, что в данном случае разница между крайними вариантами составила 25,03 %, или $\frac{1}{4}$ часть от 100 %. Нечто аналогичное было отмечено и по наличию клеток без отстающих элементов в анафазе I (гл. 5.1) . Корреляционный анализ между двумя этими параметрами варьирования мейотических признаков показал, что коэффициент корреляции между ними составил 0,70 ($P \leq 0,001$). Согласно теории корреляции (Доспехов,

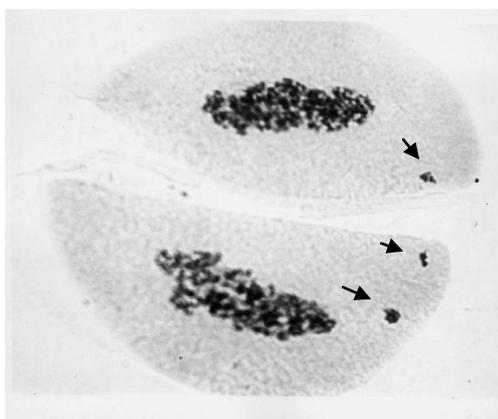
1979) степень сопряженности в вариации этих двух величин, измеряемая через r^2 , будет составлять только 0,49. Из этого следует, что изменчивость частоты проявления по линиям доли диад без микроядер только на 49 % определялась изменчивостью показателя анафазы I без отстающих элементов. Остальная же часть сопряженности (51 %) определялась другими факторами. Среди таких факторов следует отметить наличие у моносомных линий диад с двумя микроядрами, расположенными в разных монадах (рис. 5.14, б). Наибольшая вероятность их появления связана с наличием двух отстающих хроматид в анафазе I с правильной их ориентацией (рис. 5.2, в).



а



б



в

Рисунок 5.14 - Диалы микроспор с микроядрами: а – с 1 микроядром; б – с 2 микроядрами, расположенными в разных монадах; в – с 3 микроядрами.

Таблица 5.8 - Результаты цитологического анализа диад у серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Изучено диад, шт.	Количество диад, %					
		без микроядер	с 1 микроядром	с 2 микроядрами		с 3 и более микроядрами	прочие* отклонения
				в одной монаде	в разных монадах		
1А	1222	58,26	30,85	0,98	9,41	0,41	0,08
2А	891	58,70	31,54	0,67	7,97	1,12	-
3А	1200	55,75	28,42	0,75	13,75	1,17	0,17
4А	786	59,92	28,75	1,40	8,91	0,89	0,13
5А	668	54,79	34,58	0,75	9,88	-	-
6А	355	68,73	26,48	-	4,79	-	-
7А	571	65,15	25,74	1,05	8,06	-	-
Геном А	5693	58,97	29,81	0,86	9,66	0,63	0,07
1В	769	62,16	26,92	0,91	9,36	0,65	-
2В	484	54,34	30,37	1,24	13,43	0,62	-
3В	722	49,03	37,81	1,11	11,22	0,83	-
4В	1039	46,49	36,00	15,9	1,15	0,77	-
5В	698	55,73	30,95	0,57	12,61	0,14	-
6В	438	56,39	35,62	0,91	6,85	0,23	-
7В	532	61,47	30,64	0,94	6,95	-	-
Геном В	4682	54,27	32,81	0,98	11,43	0,51	-
1D	1154	54,85	36,48	0,69	7,54	0,43	-
2D	743	62,45	26,51	0,40	10,23	0,40	-
3D	861	63,07	24,85	0,58	10,68	0,46	0,35
4D	887	57,72	27,51	1,69	12,18	0,90	-
5D	1012	58,40	31,42	0,89	9,19	0,10	-
6D	853	68,70	25,67	0,35	5,16	0,12	-
7D	611	43,70	43,53	0,98	11,46	0,33	-
Геном D	6121	58,75	30,70	0,80	9,31	0,39	0,05
По генотипу	16496	57,55	30,99	0,87	10,03	0,51	0,04
М.553	276	99,64	0,36	-	-	-	-

Примечание: *диады с мостами и дополнительной клеточной перегородкой.

При сопоставлении экспериментальных данных по анафазе I и диадам видно, что среднее значение количества анафазных клеток с двумя хроматидами составило 16,43 %, а диад с двумя микроядрами в разных монадах – 10,03 %. Данное обстоятельство свидетельствует о том, что в ряде случаев отстающие

хроматиды к завершению телофазы достигали своих полюсов и тем самым увеличивали долю диад без микроядер. Однако характер варьирования составляющих элементов по результатам анализа диад свидетельствует о более сложном характере их взаимодействия.

Наличие в диадах одного микроядра могло быть связано как с присутствием в межполюсной зоне анафазных клеток унивалента, так и одной отстающей хроматиды. При расчете множественной корреляции наиболее высокий показатель имел частный коэффициент корреляции между диадами с микроядром и анафазными клетками с отстающим унивалентом ($r=0.93$).

5.3 Характер проявления моносомного состояния хромосом в мейозе II

После первого мейотического деления общее количество хромосом уменьшается в 2 раза. Однако в связи с произошедшей их репликацией в предмейотический период каждая хромосома состоит из двух хроматид, а, следовательно, дочерние клетки сформировавшихся диад после редукционного деления имеют двойной набор ($2n = 42$). Для получения гаплоидных гамет необходимо дополнительное эквационное деление по типу митоза, что и происходит в мейозе II. Мейоз второго деления состоит из метафазы II, анафазы II и телофазы II. По его завершению образуются тетрады микроспор, имеющих гаплоидный набор хромосом ($n = 21$).

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 и униполярную ориентацию. При этом они сохраняют свою связь с полюсом после завершения телофазы I. В качестве демонстрации можно привести случаи миграции части ядра через плазмодесму из одной телофазной клетки в другую (рис. 5.15).

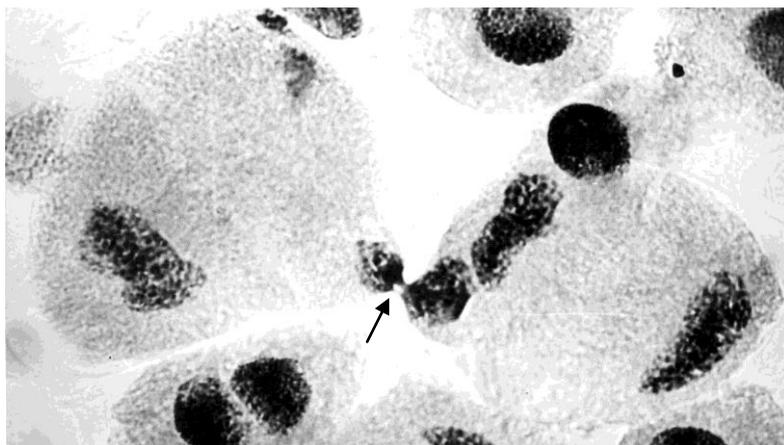
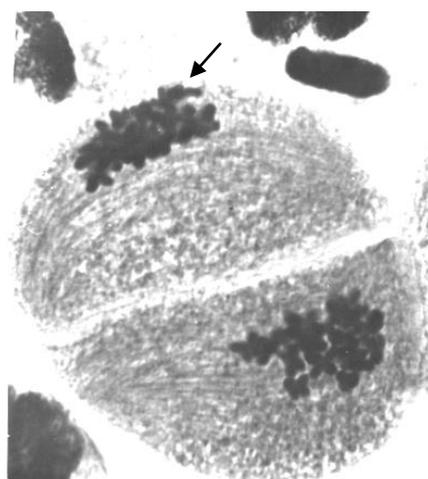


Рисунок 5.15 - Миграция части ядра через плазмодесму из одной клетки в другую на стадии телофазы I. Ув. 60x10.

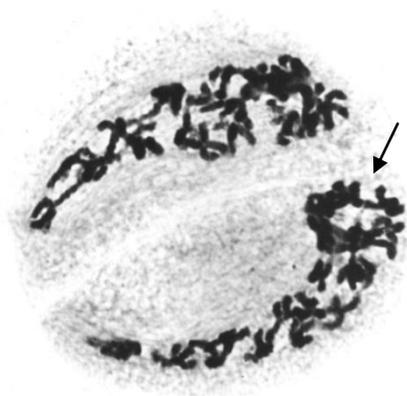
Для перехода хромосом от редукционного типа деления к эквационному необходима смена полюсной ориентации центромер или их, так называемая, автоориентация (Dawe, 1998). В своей работе L.V. Paliulis и R.B. Nicklas (2005) показали, что отделенные кинетохоры хроматид в мейозе II сохраняют свое расположение «бок о бок» (side-by-side) до их приложения к веретену. Следовательно, в данном случае не расположение кинетохор на центромере определяет переход хромосом на митотический тип деления. Весьма вероятно, что и здесь срабатывает предлагаемая концепция «разводящих нитей». Очевидно, автоориентация центромер всего набора хромосом осуществляется структурно-динамическими изменениями зоны исходного полюса, выстраиванием кинетохорного веретена в определенном порядке (рис. 5.6) с последующим разведением его нитей и встраиванием их в центральное веретено. О том, что кинетохорное и центральное веретено могут формироваться в разное время и в разном месте свидетельствуют не только данные литературы (Nicklas, 1971), но и результаты наших наблюдений. Так, 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. 5.16, а). Вполне возможно, что именно в данном месте начинается свое формирование центральное веретено. Сам факт возможности обособленного его образования подтверждается более поздними наблюдениями за диадами, когда хромосомы оказывались вне зоны центрального веретена (рис. 5.16, б).



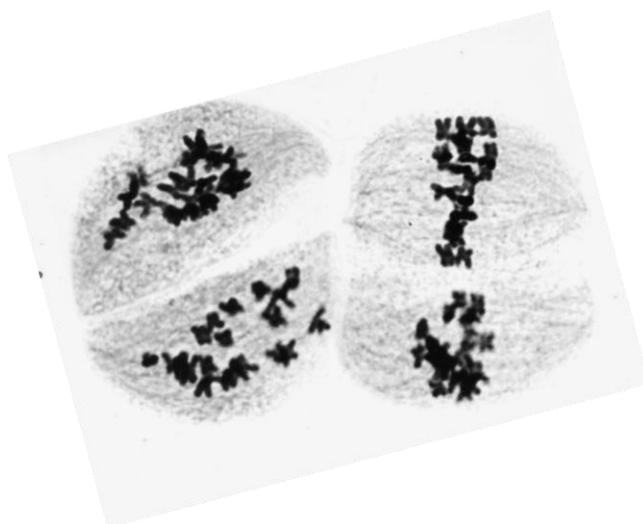
а



б



в



г

Рисунок 5.16 – 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.

Согласно предложенной концепции «разводящих нитей» между зоной исходного полюса и центромерами должно формироваться кинетохорное веретено, которое впоследствии разводится в противоположные стороны и встраивается в центральное веретено. После взаимодействия двух систем микротрубочек (кинетохорных и центрального веретена деления) создается сила приложе-

ния к кинетохорам и они занимают противоположные стороны центромеры хромосом. Поскольку эти взаимодействия до наступления сил равновесия подобно митозу имеют несколько хаотичный характер (Мэзия, 1963), то и хромосомы в этот период могут занимать различное положение в клетке диады (рис. 5.16, в). В конечном итоге хромосомы выстраиваются в экваториальной зоне каждой монады, в результате которого наступает стадия, интерпретируемая как метафаза II (рис. 5.16, г).

5.3.1 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 (рис. 5.17). Кроме вышеперечисленных конфигураций в метафазе II наблюдались и клетки с асинхронным делением без отклонений и с отклонениями (рис. 5.18).

Клетки с асинхронным прохождением стадий второго мейотического деления встречались относительно часто и сам факт их наличия, очевидно, не является аномалией как таковой. Однако в интерпретации наблюдаемых конфигураций (рис. 5.18) возникают определенные трудности. Поэтому при анализе метафазы II клетки с асинхронным делением не учитывались. Результаты проведенного цитологического анализа данной стадии представлены в таблице 5.9.

Согласно полученным экспериментальным данным доля клеток без отклонений в метафазе II у моносомных растений, в среднем по серии, составила 74,43 %. Этот показатель оказался на 16,88 % выше, чем наблюдаемое количество диад без микроядер (57,55 %). Следовательно, в процессе интеркинеза происходила своего рода стабилизация генотипа за счет взаимодействия унивалентной хромосомы и ее производных с полюсом (полюсами). Прежде всего, следует отметить, 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 де-

ления с аполярным типом поведения унивалента (19,43 %).

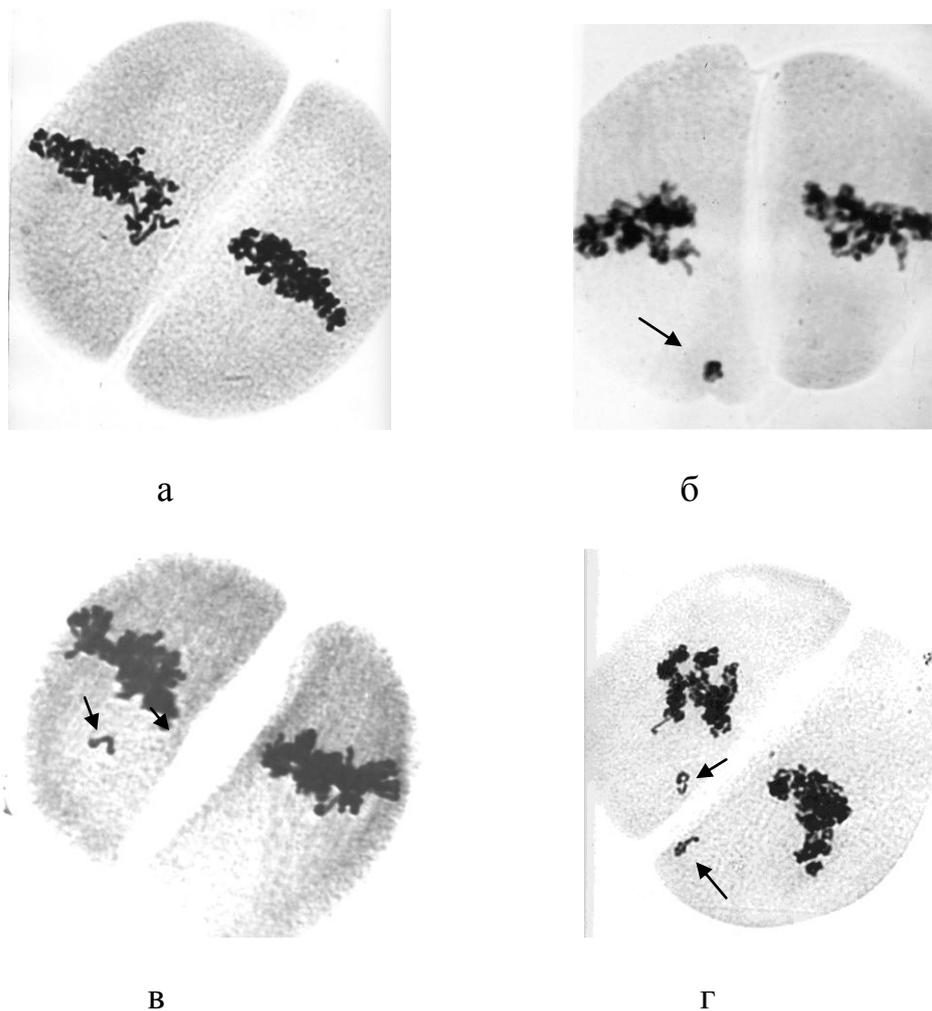
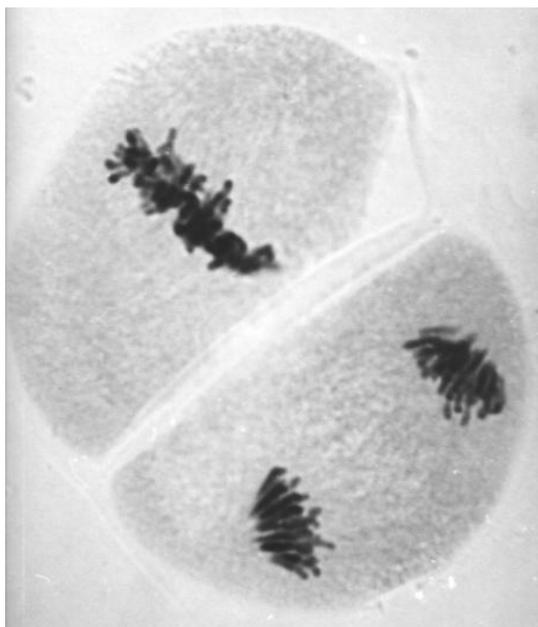


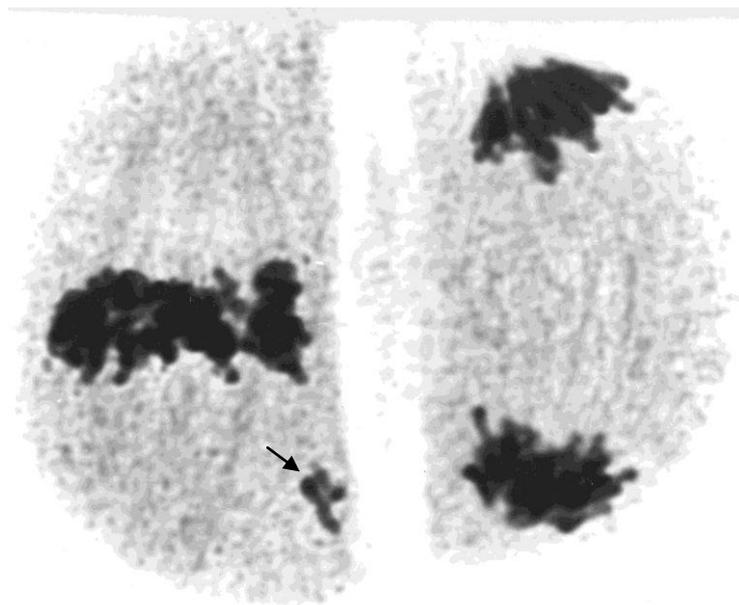
Рисунок 5.17 - Метафаза II: а - без отклонений; б – с отброшенным унивалентом; в – с 1 отброшенной хроматидой; в – с 2 отброшенными хроматидами

Таким образом, снижение доли клеток с отстающим унивалентом указывает на возможность хромосомы, утратившей свою связь с зоной исходного полюса при редукционном делении, восстанавливать ее в ходе интеркинеза. Очевидно, это и явилось основанием для сомнений, высказанных Д. Мэзия (1963) в отношении гипотезы Н. Lettre, R. Lettre (1957) о том, что хромосомы сохраняют свою связь с полюсом на протяжении всей жизнедеятельности клетки. Однако эта гипотеза является правомерной в том плане, что хромосомы имеют строгую упорядоченность своего расположения в ядре, которая поддер-

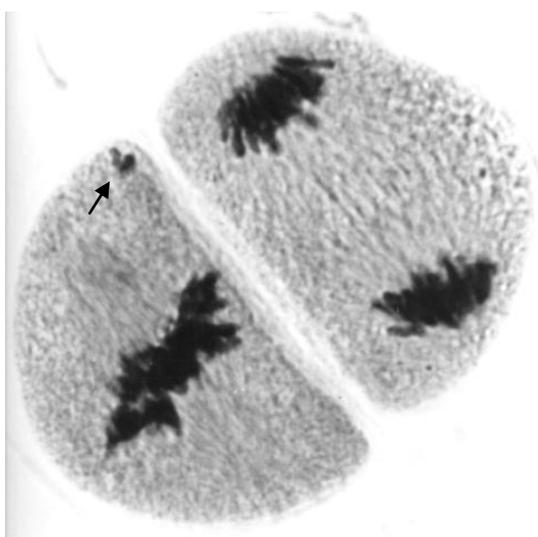
живается в пределах вида на всем протяжении жизнедеятельности клетки, и которая может определяться зоной исходного полюса, а при конъюгации гомологов - и теломерами (во время формирования и поддержания так называемой стадии «букета»). Утрата же и восстановление связи отдельных хромосом с полюсом является одним из элементов общего мейотического процесса.



а



б



в

Рисунок 5.18 - Диады клеток с асинхронным вторым мейотическим делением: а – метафаза II в верхней части диады и анафаза II в нижней части диады; б – метафаза II в левой части диады с отброшенным унивалентом; в – метафаза II в левой части диады с отброшенной хроматидой. Ув. 60x10.

Таблица 5.9 – Метафаза II у моносомных растений сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553

Линия, моносомная по хромосоме	Количество изученных клеток, шт.	Процент клеток					
		без отстающих элементов	с унивалентом	с 2 хроматидами		с 1 хроматидой	с 2 и более унивалентами или их производными
				всего	в 1 клетке		
1А	1013	75,91	6,02	5,53	0,89	12,04	0,49
2А	1070	81,12	10,00	4,39	0,09	3,83	0,65
3А	1127	69,12	5,94	10,91	0,62	13,31	0,71
4А	1030	74,56	10,29	3,69	0,10	8,35	3,11
5А	719	71,77	6,40	8,62	0,28	13,21	-
6А	1008	75,79	13,69	3,47	0,40	5,65	1,39
7А	954	73,27	16,46	2,20	0,31	3,98	4,09
Геном А	6921	74,60	9,85	5,52	0,39	8,51	1,53
1В	1074	81,56	11,64	0,74	0,00	4,00	2,05
2В	803	80,32	9,46	1,87	0,37	5,35	2,99
3В	1004	73,70	15,84	2,19	0,20	5,28	2,99
4В	1231	63,12	9,18	13,24	0,73	13,65	0,81
5В	1001	71,73	15,18	3,90	0,00	6,79	2,40
6В	910	74,29	17,80	3,08	0,33	3,52	1,32
7В	1029	85,91	7,97	1,07	0,19	4,57	0,49
Геном В	7052	75,38	12,32	4,05	0,27	6,44	1,80
1D	1428	78,01	11,20	3,64	0,91	6,30	0,84
2D	1185	81,86	6,92	4,64	0,76	6,24	0,34
3D	1100	72,27	10,00	7,36	0,54	10,00	0,36
4D	1216	70,97	5,51	9,54	0,74	12,99	0,99
5D	1184	66,64	6,08	7,35	0,59	19,59	0,34
6D	1092	76,28	2,47	4,40	0,27	16,76	0,09
7D	1311	68,34	19,60	5,42	0,61	6,33	0,30
Геном D	8516	73,51	9,10	5,99	0,65	10,92	0,48
Х сред.	22489	74,43	10,34	5,24	0,45	8,77	1,21
М.553	419	98,81	1,19	-	-	-	-

По результатам проведенных исследований (табл. 5.9), частота присутствия в метафазных клетках второго мейотического деления отброшенной целой унивалентной хромосомы существенно варьировала по линиям. Наиболее часто они отмечались у растений моносомных по хромосоме 7D (19,60 %), а самый низкий его показатель имели растения, моносомные по хромосоме 6D (2.47 %). Общий размах изменчивости данного признака по геномам и гомеологичным группам представлен на рисунке 5.19.

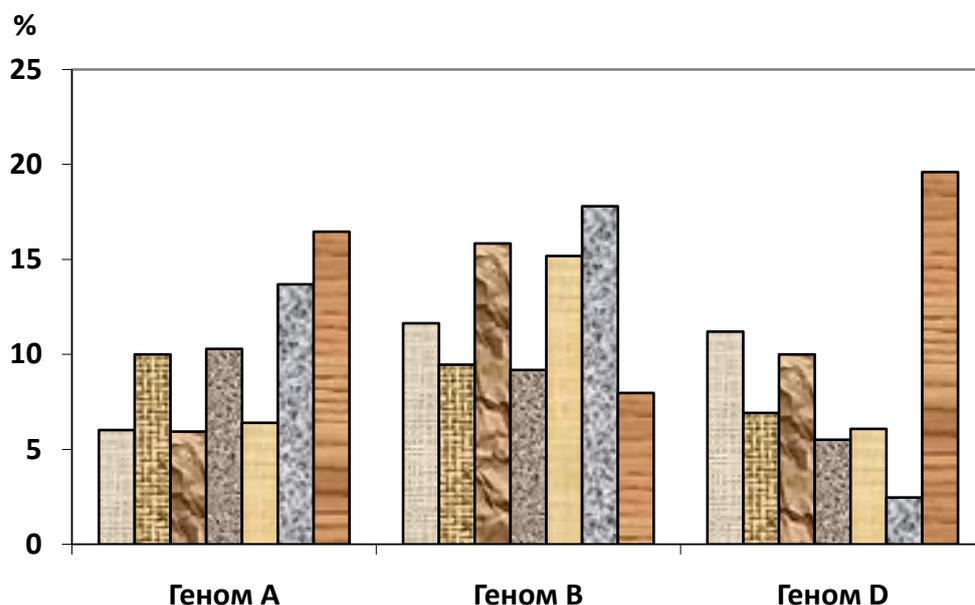


Рисунок 5.19 - Гистограмма распределения по моносомным линиям частоты проявления отброшенной целой хромосомы в метафазе II мейоза.

При сопоставлении результатов анализа анафазы I и метафазы II (таблица 5.10) видно, что практически по всем хромосомам имело место снижение числа случаев присутствия отброшенной целой хромосомы в метафазе II, по сравнению с наличием анафазных клеток мейоза I с аполярным типом поведения унивалента. Исключение составили растения, моносомные по хромосомам 6A, 5B и 7A. В первых двух случаях анафаза I и метафаза II имели по анализируемому признаку близкие показатели, а моносомные растения по хромосоме 7A показали в метафазе второго деления более высокий процент клеток с отброшенной целой хромосомой, чем доля анафазных клеток с аполярным типом поведения

унивалента. Разница между ними составила 9,62 %.

5.10 – Сравнительный анализ анафазы I и метафазы II у моносомных линий по частоте проявлению аполярного типа поведения унивалента, (%)

Хромосома	Анафаза I с аполярным типом поведения унивалента	Метафаз II с отброшенной целой хромосомой	$\pm d$
1A	21,04	6,02	-15,02
2A	31,91	10,00	-21,91
3A	13,98	5,94	-8,04
4A	12,33	10,29	-2,04
5A	18,45	6,40	-12,05
6A	12,47	13,69	1,22
7A	6,84	16,46	9,62
1B	20,02	11,64	-8,38
2B	11,10	9,46	-1,64
3B	22,99	15,84	-7,15
4B	24,21	9,18	-15,03
5B	15,41	15,18	-0,23
6B	27,07	17,80	-9,27
7B	18,07	7,97	-10,10
1D	33,58	11,20	-22,38
2D	20,57	6,92	-13,65
3D	18,55	10,00	-8,55
4D	17,78	5,51	-12,27
5D	9,12	6,08	-3,04
6D	13,83	2,47	-11,36
7D	35,40	19,60	-15,80
X сред.	19,43	10,34	-9,09

Дополнительное появление в метафазе II числа случаев с отброшенной хромосомой могло быть обусловлено способностью унивалента хромосомы 7A, имеющий в анафазе I униполярный тип поведения, сохранять свою однонаправленную ориентацию и в метафазе II. К сожалению, используемая мето-

дика анализа не позволяет установить, приобретает ли он в дальнейшем связь с обоими полюсами, либо отходит к одному из них без дополнительного расщепления. Очевидно, последним объясняется выщепление в самоопыленном потомстве моносомных растений трисомиков ($2n = 43$). Проведенные соответствующие расчеты выявили слабую положительную корреляционную зависимость между двумя рассматриваемыми признаками ($r = 0,32$), что указывает на существенные происходящие 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 в пределах 1,07% (7B) – 13,24% (4B) и 3,52% (6B) – 19,59% (5D) соответственно. Общий характер варьирования присутствия хроматид во внеэкваториальной зоне метафазных клеток второго деления представлен на рисунках 5.20.

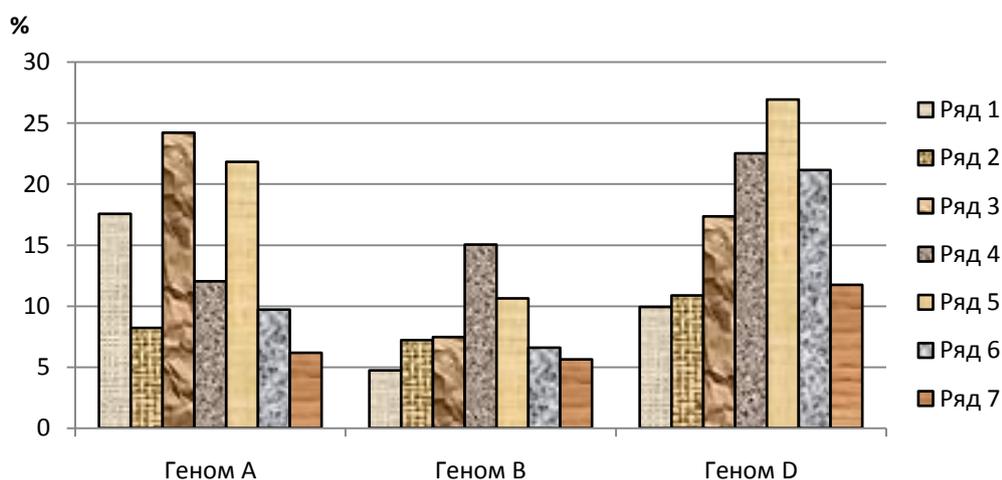


Рисунок 5.20 - Гистограмма распределения по линиям частоты встречаемости клеток с отброшенными хроматидами в метафазе II.

Из представленного на рисунке 5.20 гистограммы видно, что хромосомы в отношении частоты проявления клеток с отброшенными хроматидами в метафазе II дифференцируются по геномам. В пределах генома А просматривается

два уровня варьирования анализируемого признака: верхний (хромосомы 1А, 3А, 5А) и нижний (2А, 4А, 6А и 7А). В пределах геномов В и D просматривается по одному аналогичному уровню варьирования. При этом наблюдается тенденция к нормальному распределению частот. Особенно это наглядно проявилось по геному D (рис. 5.20).

Из результатов проведенных цитологических исследований следует, что источником наличия отброшенных хроматид является эквационное деление унивалента в анафазе I мейоза. Однако проведенный корреляционный анализ между ними показал в целом по генотипу слабую их сопряженность. Коэффициент парной корреляции (r) составил в данном случае 0,23. Тем не менее, этот показатель имел существенные различия по геномам. Так по геному А $r = 0,16$, геному В – $r = 0,27$, а геному D – $r = 0,95$. Наиболее наглядно специфика распределения двух уровней проявления наличия отстающих (отброшенных) хроматид в анафазе I и метафазе II представлена на рисунке 5.21.

Наличие отброшенных хроматид в метафазе II могло быть обусловлено либо их униполярной ориентацией, либо тем, что они в процессе автоориентации в профазе II утрачивали свою связь с полюсом. Так как хроматида имеет один кинетохор, то на данном этапе, согласно логическим построениям, она должна была вести себя именно по такому сценарию. Однако сравнительный анализ анафазы I и метафазы II показывает, что очень часто хроматиды оказывались, задействованы обоими полюсами и выстраивались вместе с другими хромосомами в экваториальной плоскости. Так по геному А разница между частотой биполярного типа поведения унивалента в анафазе I и наличием отброшенных хроматид в метафазе II составила 3,37%, по геному В – 9,60% и по геному D – 4,24%. Как видно из представленных экспериментальных данных наиболее сильное вмешательство интеркинез оказал на автоориентацию хромосом генома В. Сложившаяся ситуация в метафазе II нашла полную свою реализацию в анафазе второго мейотического деления.

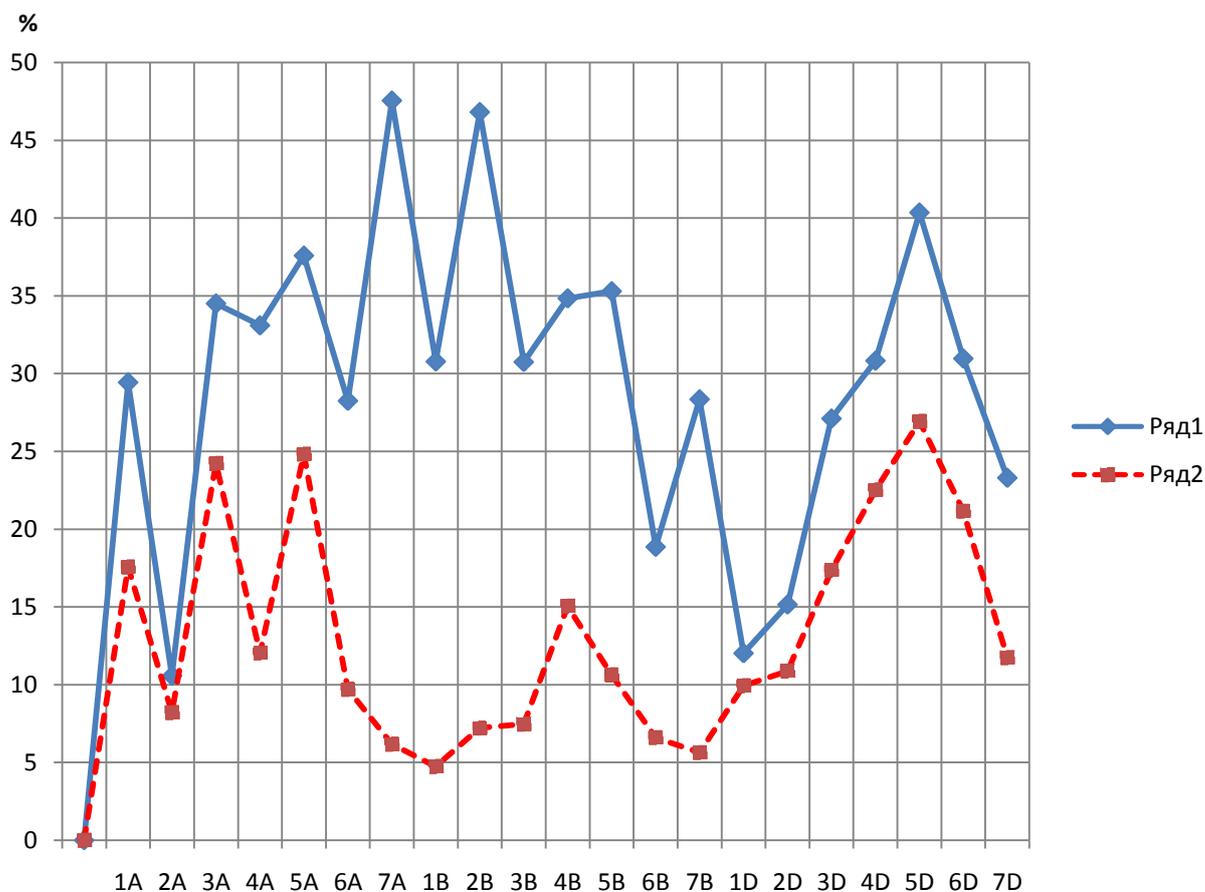
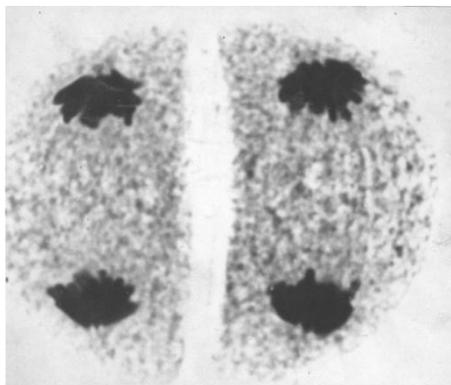


Рисунок 5.21 - Кривые распределения по хромосомам моносомных линий частоты клеток с отстающими хроматидами в анафазе I (ряд 1) и с отброшенными хроматидами в метафазе II (ряд 2).

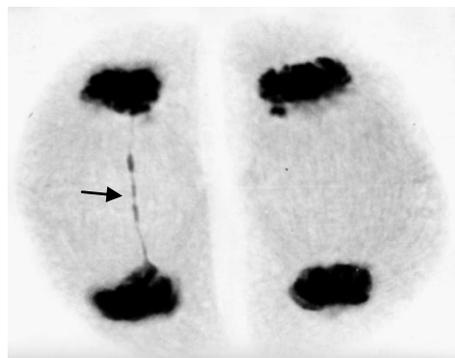
5.3.2 Характер проявления моносомного состояния хромосом в анафазе II мейоза.

По результатам проведенных цитологических исследований, у серии моносомных линий сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 в анафазе II мейоза практически наблюдались те же конфигурации, что и у Чайниз Спринг (Лбова, 1973; Morrison, Unrau, 1952; Morrison, 1953; Sears, 1939; Sears, 1952). К ним относятся клетки без отклонений, клетки с мостами, а также клетки с отстающей целой хромосомой, одной и двумя хроматидами (рис. 5.22). При этом присутствие двух хроматид отмечалось как в одной, так и разных дочерних клетках. Наличие в одной клетке двух отстающих хроматид могло быть связано с задержкой продольного расщепления в анафазе II унивалента. Что же касается

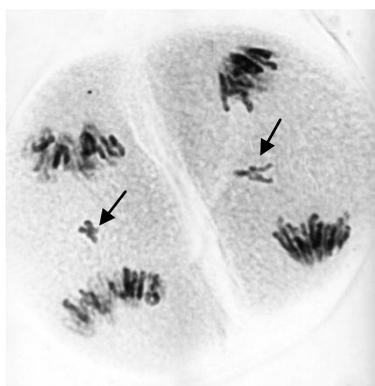
присутствия двух хроматид в разных дочерних клетках, то их происхождение обязано эквационному делению унивалента в анафазе I. Результаты статистического анализа анафазы II представлены в таблице 5.11.



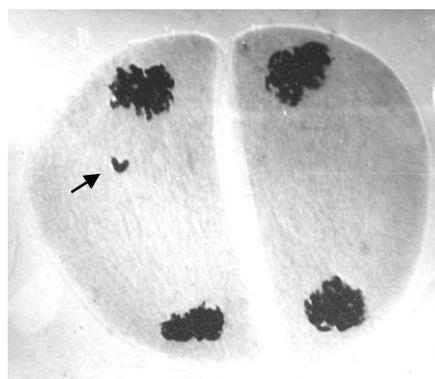
а



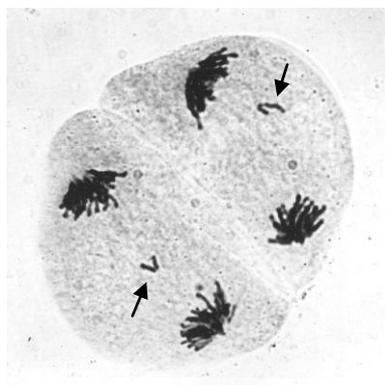
б



в



г



д

Рисунок 5.22 - Конфигурации клеток анафазы II: а – без отклонений; б - с мостом; в – с двумя отстающими целыми хромосомами; г – с одной отстающей хроматидой; д – с двумя отстающими хроматидами, расположенными в разных дочерних клетках.

Таблица 5.11 – Характер проявления моносомного состояния хромосом в анафазе II мейоза

Хро-мосо-ма	Изу-чено клеток, шт.	Количество клеток, %								
		без от-стаю щих эле-ментов	с уни-валентом	с 2 хроматидами			с 1 хромати-дой		с 2 и более унива лентами	Σ кле-ток с mis-divi-sion
				всего	в 1 мо-наде	с mis-divi-sion	всего	с mis-divi-sion		
1A	1168	69,61	0,51	11,22	2,14	1,11	18,24	0,94	0,43	2,05
2A	1496	80,08	2,67	8,29	0,40	0,33	8,76	0,27	0,20	0,60
3A	1319	72,40	0,76	9,48	0,68	0,61	16,60	0,15	0,76	0,83
4A	1126	70,87	0,35	9,68	1,78	0,62	18,56	1,33	0,53	1,95
5A	665	62,10	1,80	16,54	1,50	1,50	19,25	1,65	0,30	3,31
6A	1541	75,60	0,71	8,76	1,82	0,65	14,54	0,45	0,39	1,10
7A	1335	57,90	0,75	18,95	2,02	0,37	20,97	0,67	1,42	1,05
Σ A	8650	70,69	1,07	11,41	1,44	0,67	16,23	0,68	0,59	1,35
1B	1016	65,55	0,39	11,91	3,15	1,18	20,67	4,53	1,48	6,20
2B	935	58,93	0,43	19,36	1,28	0,96	19,68	1,71	1,60	2,78
3B	1417	69,65	0,85	12,21	3,25	0,42	16,44	1,06	0,85	1,45
4B	1693	61,13	2,13	17,66	3,13	1,12	18,13	1,12	0,94	2,30
5B	1267	61,88	1,66	17,68	4,18	1,03	18,63	1,10	0,16	2,21
6B	1038	70,13	0,38	10,98	3,95	2,31	17,92	2,60	0,58	5,01
7B	1119	69,79	0,45	12,06	2,50	1,16	17,25	2,41	0,45	3,75
Σ B	8485	65,20	1,01	14,70	3,12	1,13	18,25	1,93	0,84	3,28
1D	1258	80,05	1,75	5,56	1,03	0,16	12,40	0,79	0,24	0,95
2D	1307	83,93	0,38	6,43	1,91	0,23	8,80	0,08	0,46	0,31
3D	1253	75,26	0,88	7,26	1,12	0,16	16,20	0,32	0,40	0,48
4D	1334	66,57	0,67	14,02	1,05	0,52	18,59	0,30	0,15	0,67
5D	1168	51,11	0,51	21,75	1,88	2,23	26,03	2,57	0,60	5,31
6D	1178	56,96	0,25	20,12	2,38	0,85	22,24	0,76	0,42	1,61
7D	1368	76,90	3,07	10,53	3,07	0,44	8,70	0,36	0,80	0,88
Σ D	8866	70,55	1,10	12,03	1,78	0,63	15,87	0,71	0,44	1,42
Ген.	26001	68,85	1,06	12,70	2,11	0,81	16,77	1,10	0,62	1,99
M.553	610	98,20	0,98	0,33	0	0	0,33	0	0,16	0

Из всей совокупности изученных клеток, большая их часть в анафазе II не имела каких либо отклонений (рис. 5.22, а). 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). Характер распределения частоты встречаемости анафазных клеток без отклонений во втором мейотическом делении по линиям в пределах геномов показан на рисунке 5.23.

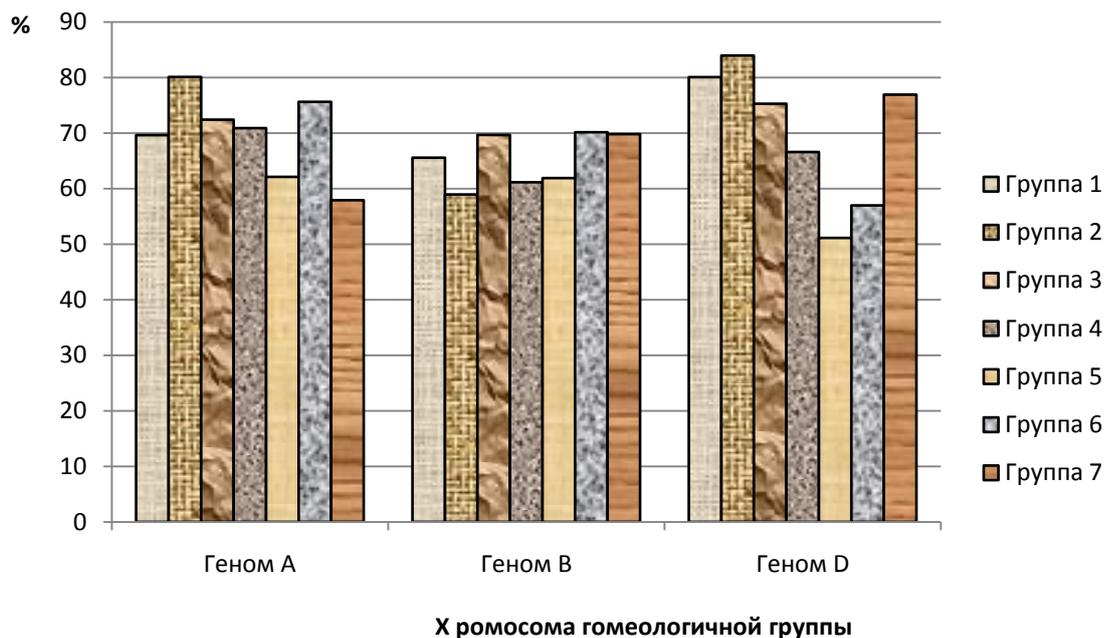


Рисунок 5.23 - Гистограмма распределения по геномам частоты встречаемости клеток без отклонений в анафазе II мейоза.

Из представленной гистограммы (рис. 5.23) видно, что в проявлении анализируемого признака в пределах рассматриваемой мейотической фазы мейоза отсутствуют какие-либо закономерности.

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%. Произведенные соответствующие расчеты показали, что коэффициент множественной корреляции между ними составил 0,525. При этом коэффициент частной корреляции между анафазой первого и второго

мейотического деления был равен 0,41, а метафазой II и анафазой II – 0,15. Общий размах изменчивости по линиям всех трех рассматриваемых фаз мейоза по анализируемому признаку представлен на рисунке 5.24.

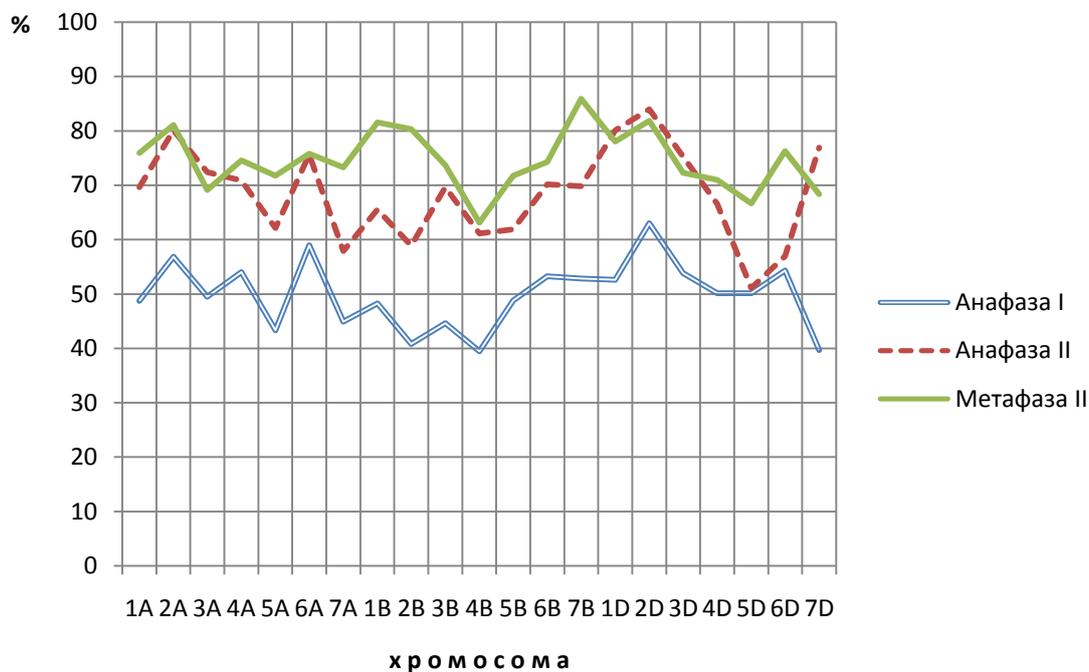


Рисунок 5.24 – Кривые распределения по линиям частоты встречаемости клеток без отклонений в анафазе I, метафазе и анафазе второго мейотического деления.

Таким образом, полученные корреляционные связи между отдельными периодами мейотического процесса показывают, 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 ми-

нимальное (0,25%) – 6D. Общий размах изменчивости данного признака по линиям в пределах каждого генома показано на рисунке 5.25.

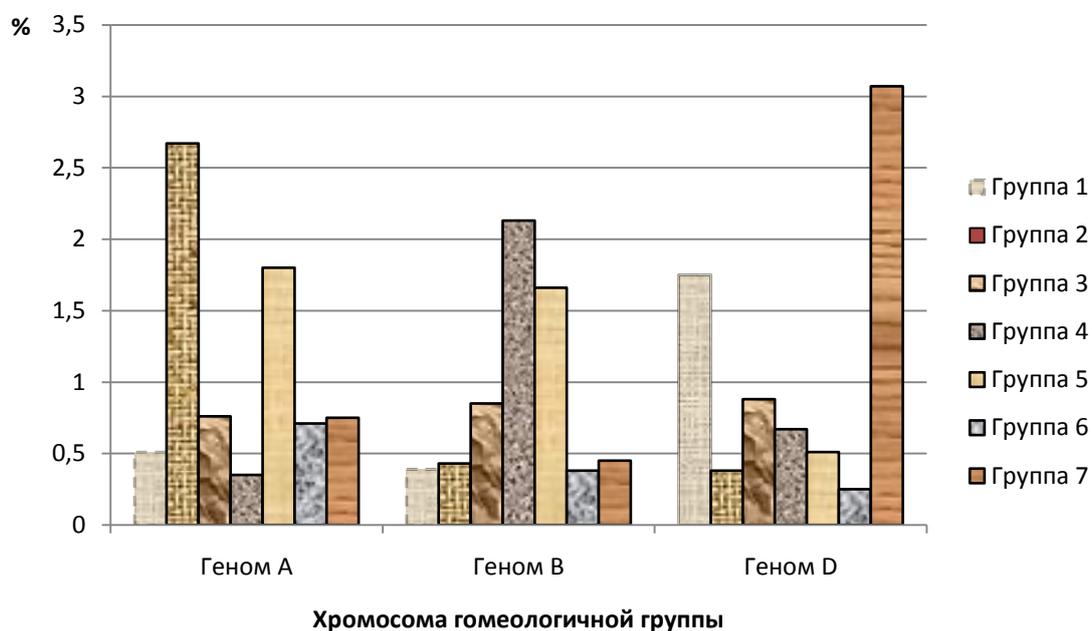


Рисунок 5.25 - Гистограмма распределения частоты встречаемости клеток с целой отстающей хромосомой в анафазе II мейоза.

Присутствие отстающей целой хромосомы в анафазе II свидетельствует о том, что не во всех случаях унивалентная хромосома, проявляющая свой аполярный тип поведения в анафазе I, восстанавливала свою связь с полюсом (полюсами). Проведенные соответствующие статистические расчеты показали, что коэффициент множественной корреляции между проявлением наличия целой отстающей хромосомы в анафазе II, анафазе I и метафазе II составил 0,68. При этом частный его коэффициент между первой и второй фазами мейоза был равен 0,63, а первой и третьей – 0,18.

Из представленных экспериментальных данных видно, что сам факт наличия в межполюсной зоне клеток анафазы II унивалента определялся проявлением аполярного типа его поведения при первом мейотическом делении. Однако в процессе интеркинеза (профазы II) моносома при автоориентации способна была восстанавливать связь с зоной своего полюса. При этом характер его прохождения, очевидно, осуществлялся по особым правилам, что и

внесло свои изменения в проявлении частот наличия отстающей хромосомы в анафазе II мейоза. Общий процесс стабилизации генотипа в отношении рассматриваемого признака по фазам мейоза представлен на рисунке 5.26.

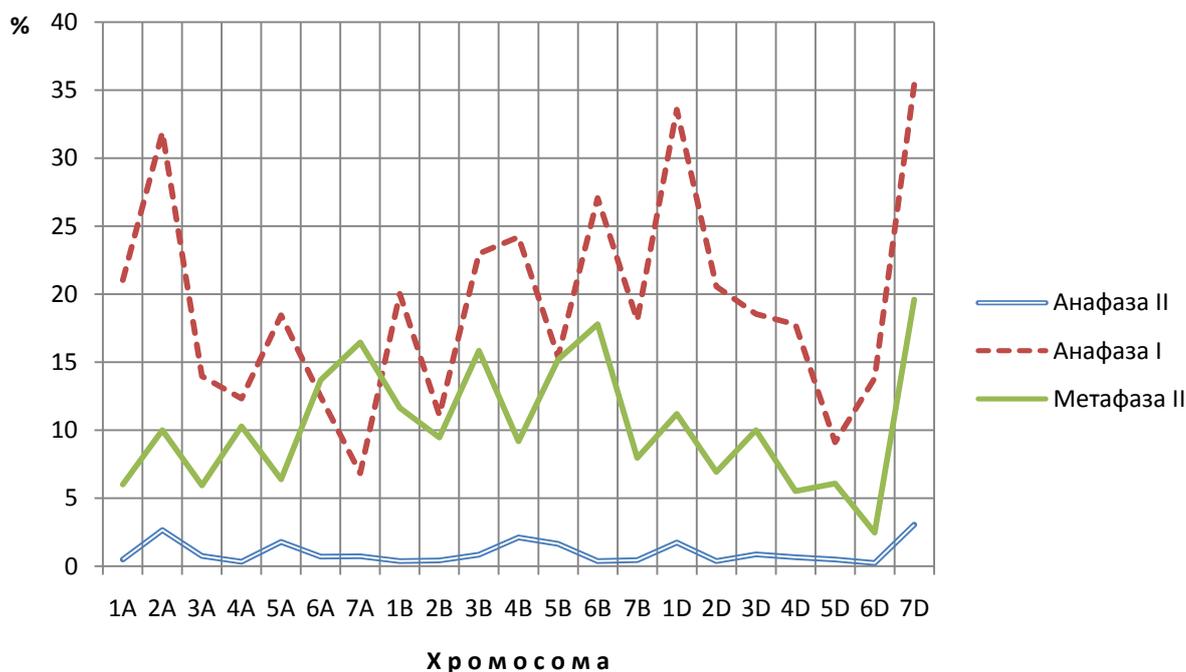


Рисунок 5.26 - Кривые распределения частоты встречаемости клеток с отстающей целой хромосомой на разных стадиях мейоза.

Вторым существенным отклонением прохождения анафазы II у моносомных растений, как уже отмечалось ранее, является наличие одной или двух отстающих хроматид. По данным статистического анализа (таблица 5.11), присутствие двух хроматид значительно чаще наблюдалось в разных дочерних клетках, чем в одной. Так, при общей доле клеток с двумя отстающими хроматидами равной 12,70%, количество клеток с присутствием обеих хроматид в межполюсной зоне одной монады составило в среднем по генотипу всего 2,11%. Последнее может быть связано с задержкой продольного расщепления унивалентной хромосомы, имеющей в анафазе I аполярный тип поведения. Все же остальные случаи проявления отстающих хроматид могут быть следствием биполярного типа поведения унивалента в анафазе I.

В связи с различной природой происхождения хроматид в анафазе II из

дальнейшего статистического анализа результатов проведенных цитологических исследований необходимо исключить ту часть клеток, в которых наблюдалось присутствие в одной дочерней клетке двух хроматид. Статистический анализ количества клеток с отстающими хроматидами (за минусом случаев присутствия двух хроматид в одной клетке) показал широкий спектр варьирования его показателя по линиям (рис. 5.27). 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%).

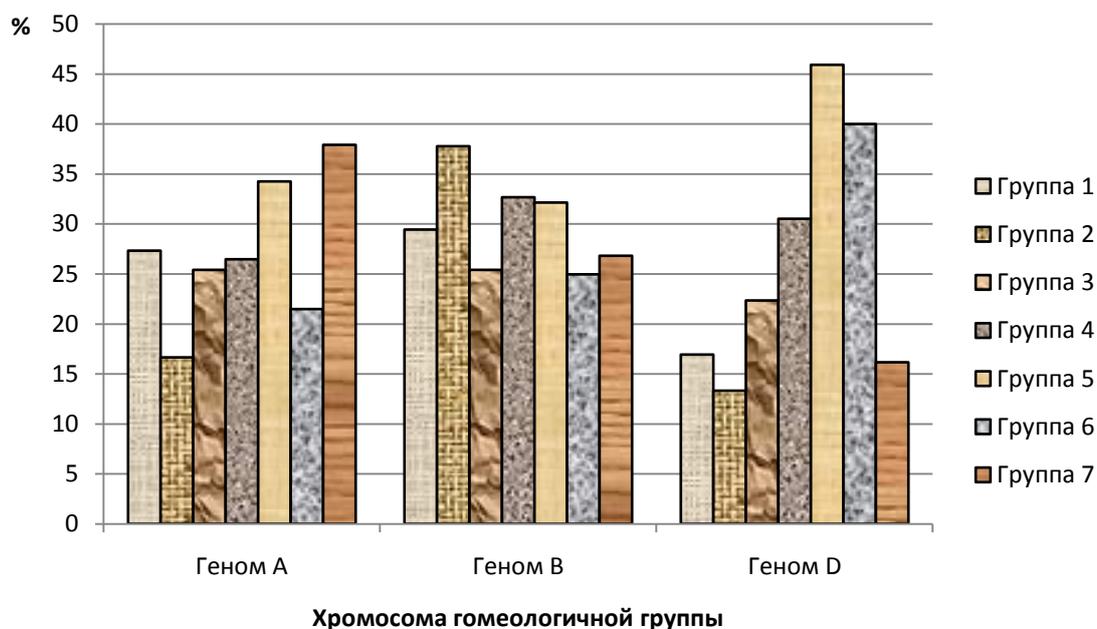


Рисунок 5.27 - Гистограмма проявления частоты встречаемости клеток с 1 хроматидой и 2 хроматидами, расположенными в разных дочерних клетках.

При сопоставлении полученных экспериментальных данных разных фаз мейоза видно, что в анафазе II количество клеток с отстающими хроматидами, по сравнению с анафазой I, снизилось в среднем по моносомным линиям на 2,39%. В то же время их доля значительно возросла по отношению к метафазе II. Разница между ними по частоте встречаемости клеток с отстающими хрома-

тидами составила 13,35%. Конкретное же проявление частот данного типа отклонения на каждом этапе мейотического процесса существенно варьировало по линиям (рис. 5.28). При этом коэффициент множественной корреляции между ними составил 0,85. Частный же коэффициент корреляционной связи между анафазой II и анафазой I был равен 0,82, а между анафазой II и метафазой II – 0,33. Таким образом, результаты проведенного корреляционного анализа показывают, что определяющим фактором наличия хроматид в анафазе второго мейотического деления является частота проявления унивалентом биполярного типа поведения при первом мейотическом делении.

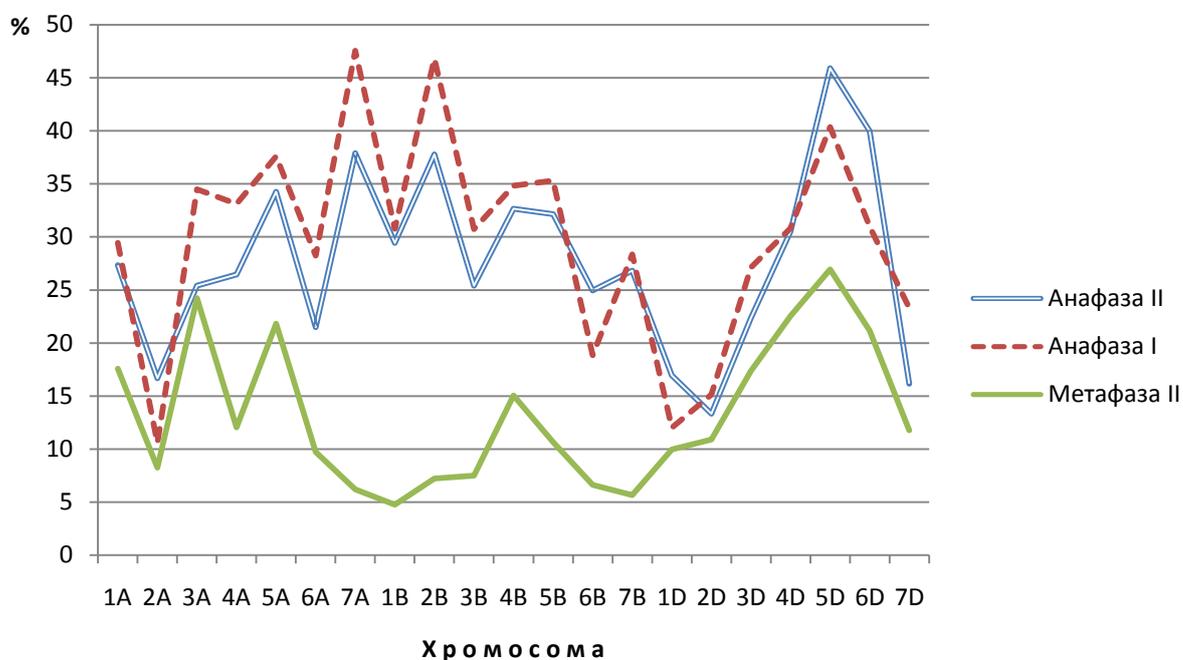


Рисунок 5.28 –Кривые распределения частоты клеток с отстающими хроматидами в анафазе I, метафазе и анафазе второго мейотического деления.

При анализе кривых распределения, представленных на рисунке 5.28, обращает на себя внимание наличие некоторой дифференциации хромосом по их геномной принадлежности. Данное обстоятельство определяет целесообразность проведения дополнительного анализа полученных экспериментальных данных в отношении рассматриваемого мейотического признака по геномам. Для лучшего восприятия наличия или отсутствия каких-либо закономерностей характера распределения частот по хромосомам в пределах геномов представим

полученные результаты цитологического анализа трех фаз мейоза (анафаза I, метафаза II и анафаза II) в виде гистограмм.

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 – 0,13, а анафазой I и метафазой II – 0,16. При этом характер варьирования рассматриваемого признака в пределах каждой фазы мейоза имел определенные признаки случайного распределения (рисунок 5.29).

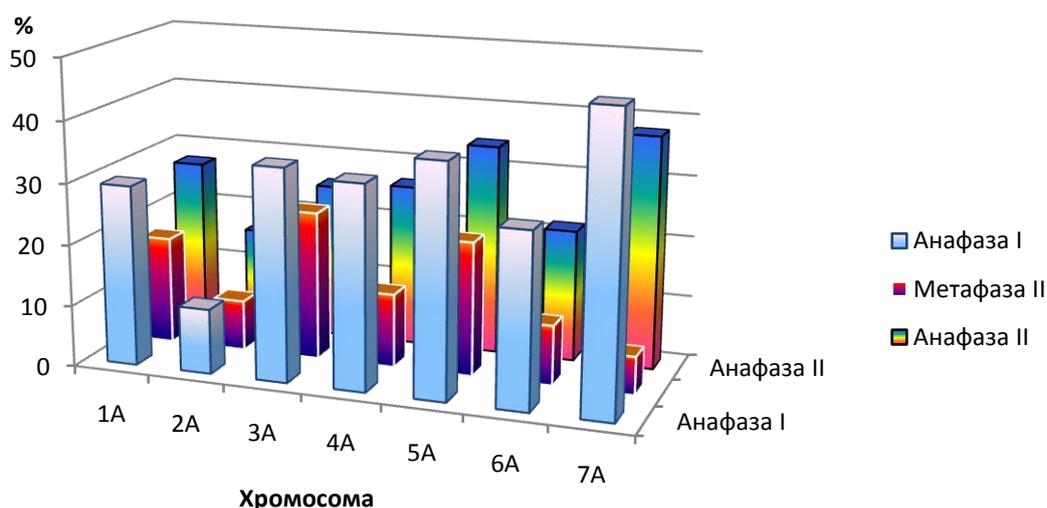


Рисунок 5.29 - Гистограмма распределения по хромосомам генома А частоты клеток с отстающими хроматидами на разных стадиях мейотического деления.

Расчеты коэффициента множественной корреляции показали, что $R_{y.xz} = 0,95$, где y – клетки с отстающими хроматидами в анафазе II, x – клетки с биполярным типом поведения унивалента в анафазе I, z – клетки с отброшенными хроматидами в метафазе II. Частные же коэффициенты корреляции составили: $r_{yx.z} = 0,92$, а $r_{yz.x} = -0,04$. В пределах генома А весьма неординарно вела себя хромосома 7A. Как уже отмечалось ранее, в метафазе II наблюдалось резкое снижение частоты клеток с отброшенными хроматидами. Данное обстоятельство

во могло быть вызвано тем, что при автоориентации центромер в интеркинезе хроматиды по данной хромосоме, образовавшиеся при редукционном делении, довольно часто оказывались задействованными динамическими процессами зоны исходного полюса.

Несколько иная ситуация складывалась по хромосомам генома В. В данном случае коэффициент парной корреляции оказался достаточно высоким между анафазой II и анафазой I ($r_{yx} = 0,91$). На уровне среднего значения определялась корреляционная зависимость между анафазой и метафазой мейоза II ($r_{yz} = 0,38$). Характер варьирования частоты клеток с отстающими хроматидами по линиям генома В, в пределах трех фаз мейоза, показан на рисунке 5. 30.

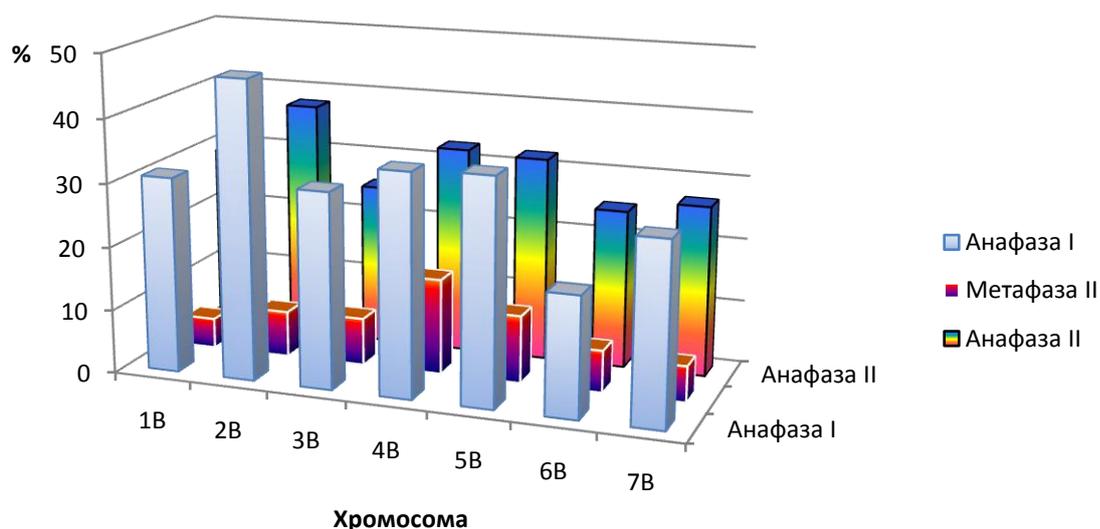


Рисунок 5.30 - Гистограмма распределения по хромосомам генома В частоты клеток с отстающими хроматидами на разных стадиях мейотического деления.

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 хромосомы к другой. В этом плане существенно отличается динамика поведения хроматид по хромосомам в метафазе II. Доля клеток с отброшенными хроматидами сна-

чала 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).

По данным корреляционного анализа, одновременная связь анафазы II с анафазой I и метафазой II по частоте проявления наличия отстающих (отброшенных) 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. Прежде всего, между всеми рассматриваемыми фазами мейоза (анафаза I, метафаза II 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 (рис. 5.31). Практически во всех случаях максимальное значение частоты клеток с отстающими хроматидами имели растения, моносомные по хромосоме 5D. В анафазе I оно определялось на уровне 40,36%, метафазе II – 26,94% и анафазе II – 45,9%. Крайние позиции (кроме анафазы II) занимали хромосомы 1D и 7D. Для генома D примечательным ока-

зался тот факт, что установленное распределение частоты клеток с отстающими хроматидами по хромосомам в анафазе I в принципе поддерживалось и на последующих стадиях мейотического деления. При сопоставлении гистограмм, представленных на рисунках 5.29, 5.30 и 5.31, достаточно хорошо просматривается дифференциация геномов по проявлению частоты наличия отстающих хроматид на различных этапах мейоза. Так, по хромосомам генома А во всех случаях наблюдалось отсутствие какой-либо упорядоченности их распределения по хромосомам. По геному В такая упорядоченность проявлялась в метафазе II (рис. 5.30), а геному D – по всем трем рассматриваемым фазам мейоза (рис. 5.31). Подобная геномная дифференциация хромосом в отношении анализируемого признака могла быть связана с эволюционной спецификой вхождения геномов в состав генотипа *Triticum aestivum* L.

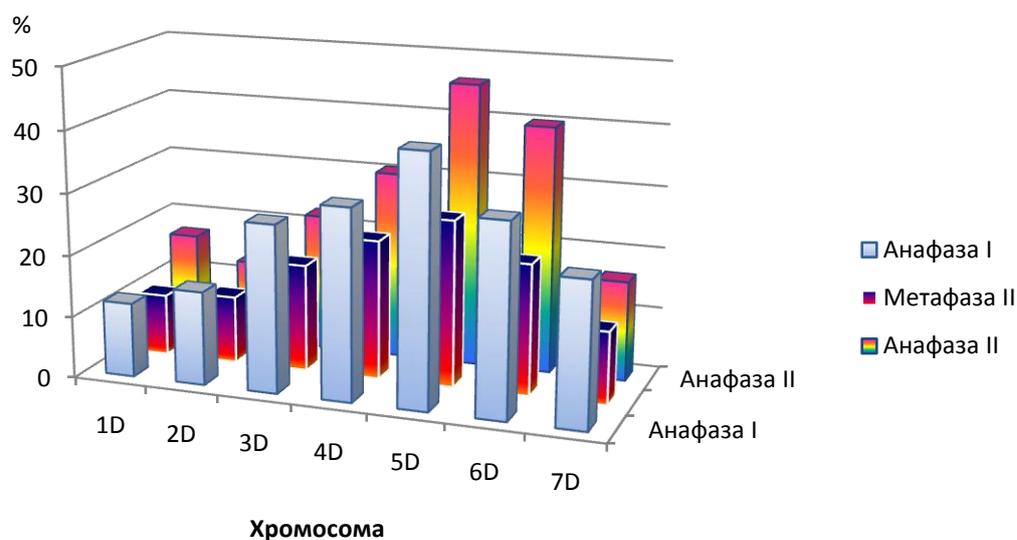


Рисунок 5.31 - Гистограмма распределения по хромосомам генома D частоты клеток с отстающими хроматидами на разных стадиях мейотического деления.

Наличие отстающих хроматид могло быть вызвано несколькими причинами:

1. Задержка расхождения хроматид при эквационном делении унивалент-

ной хромосомы, имеющей в первом мейотическом делении аполярный тип поведения (две хроматиды в одной дочерней клетке); 2. Утрата связи центромеры с полюсом при ее автоориентации в интеркинезе; 3. При автоориентации хроматиды ее центромера оказывается задействованной между двумя полюсами.

В первом случае хроматиды к концу телофазы II достигнут своих полюсов и войдут в состав формирующихся ядер. Во втором – хроматида останется в межполюсной зоне и даст начало формированию микроядра в тетрадах. В третьем случае возможны три варианта исхода. В зависимости от распределения сил приложения кинетохорных нитей веретена, либо хроматида войдет на первых этапах телофазы II в состав одного из формирующихся ядер, либо она зависнет между двумя полюсами, либо ее центромера будет подвергаться поперечному делению (misdivision) с проявлением различных вариантов полюсной ориентации отдельных плеч хроматиды (рис. 5.32).

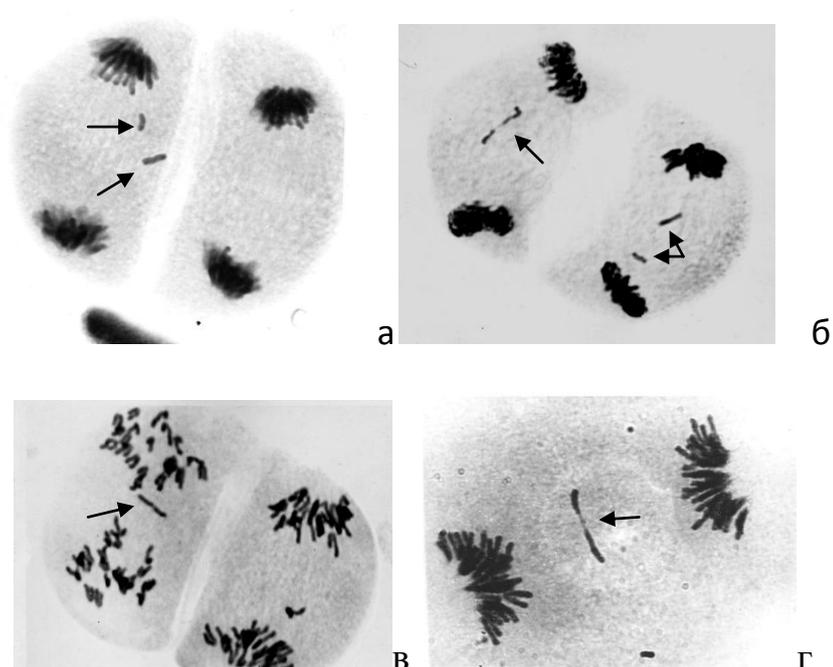


Рисунок 5.32 - Поперечное деление центромеры хроматид (а, б) и «зависание» хроматиды в межполюсной зоне (в, г) на стадии анафазы II. Ув. 60x10.

М.И. Лбова (1973), анализируя моносомные линии сорта Чайниз Спринг, отмечает, что частота поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы несколько увеличивается по сравнению с анафазой I. Нечто аналогичное наблюдалось и у моносомных линий сорта Мильтурум 553 (табл. 5.3 и 5.10).

Средние значения проявления признаков поперечного деления центромеры по моносомным линиям в анафазе I и анафазе II составили соответственно 1,61% и 1,99%. Однако интерпретация полученных экспериментальных данных по анафазе II требует определенной корректировки. Дело в том, что при *misdivision* в анафазе I образуются телоцентрические хромосомы, которые затем часто регистрируются и в анафазе II. Для того, чтобы исключить их из числа случаев поперечного деления хроматид в мейозе II, необходимо учитывать только те клетки, у которых непосредственно наблюдается сам факт происходящего процесса (рис. 5.32, б), либо оба образовавшихся телоцентрика расположены в одной и той же дочерней клетке (рис. 5.32, а, б). Результаты проведенного критического анализа анафазы II по проявлению рассматриваемого признака представлены в таблице 5.12.

При сопоставлении результатов проведенного анализа (табл. 5.12) видно, что в анафазе II случаи поперечного деления центромеры происходят значительно реже, чем в анафазе I. Разница между средними показателями по серии моносомных линий составила -0,91%. Снижение уровня данного показателя во втором мейотическом делении наблюдалось у моносомных растений большинства линий. Исключение составили хромосомы 4A, 7A и 1B, у которых унивалент на 0,09 – 0,54 % чаще подвергался поперечному делению в анафазе II, чем в анафазе I. Примечательно, что по хромосомам 1D и 2D случаи *misdivision* в анафазе II не обнаружены. В целом хромосомы генома B в анафазе II, также как и в анафазе I, имели более высокий уровень частоты поперечного деления центромеры. Их усредненные показатели составили соответственно 2,25% и 1,15%. Хромосомы же геномов A и D в анафазе мейоза II показали одинаковую частоту проявления подобного рода феномена ($X_{cp.} = 0,46\%$). По данным

анализа метафазы II хромосомы генома В оказывались более активно задействованы зоной исходного полюса при автоориентации.

Таблица 5.12 - Сравнительный анализ частоты поперечного деления центромеры хроматид в анафазе I и анафазе II мейоза

Хромосома	Количество клеток с misdivision, %		± d
	в анафазе I	в анафазе II	
1A	3,06	0,43	-2,63
2A	0,48	0,13	-0,35
3A	1,33	0,53	-0,80
4A	0,93	1,24	0,31
5A	3,30	0,75	-2,55
6A	2,73	0,26	-2,47
7A	0,28	0,82	0,54
1B	1,78	1,87	0,09
2B	3,14	1,50	-1,64
3B	1,32	0,35	-0,97
4B	3,03	1,06	-1,97
5B	1,35	1,03	-0,32
6B	2,26	1,44	-0,82
7B	2,75	1,61	-1,14
1D	0,55	0	-0,55
2D	0,25	0	-0,25
3D	0,52	0,08	-0,44
4D	1,12	0,30	-0,82
5D	2,60	2,31	-0,29
6D	1,17	0,51	-0,66
7D	0,43	0,22	-0,21
Геном А	1,69	0,46	-1,23
Геном В	2,25	1,15	-1,10
Геном D	0,94	0,46	-0,48
Х сред.	1,61	0,70	-0,91

Механизм поперечного деления центромеры одиночных хроматид в анафазе II также может быть понят исходя из предложенной концепции «разводя-

щих нитей» (раздел 5.1). При расхождении хромосом в анафазе I их сестринские центромеры имеют униполярную ориентацию. Для перехода хромосом на биполярную ориентацию точки фиксации центромер в зоне своего полюса должны выстроиться относительно линии деления в последовательности, представленной на рисунке 5.6. В правильности такого построения существенную роль играет наличие двух сестринских хроматид, а, следовательно, и двух центромер при каждой хромосоме. Если же происходит выстраивание одной хроматиды (центромеры) то здесь могут быть различные варианты (рис. 5.33).

Известно, что кинетохорный пучок нитей веретена деления у высших растений состоит от 20 до 40 микротрубочек (Албертс и др. 1993, Ченцов, 2004). Чтобы сохранить целостность хромосомы при их делении микротрубочки должны быть равномерно распределены в зоне кинетохора. Однако, как отмечалось ранее, исход событий во многом определяется характером расщепления кинетохорного пучка микротрубочек, который, в свою очередь, определяется спецификой его фиксации относительно линии потенциального деления зоны исходного полюса при автоориентации. Если кинетохорный пучок располагается таким образом, что линия его последующего расщепления совпадает с распределением микротрубочек по центромере, соответствующей ее поперечному делению (рис. 5.8; 5.33, а, б), то поперечное деление центромеры становится неизбежной и будет сопровождаться правильной ориентацией образовавшихся телоцентриков к противоположным полюсам. При наличии большого количества микротрубочек в кинетохорных нитях веретена вероятность такого события достаточно мала. Очевидно, чаще всего кинетохорный пучок микротрубочек при автоориентации хроматиды располагается под некоторым углом относительно линии возможного потенциального деления центромеры (рис. 5.33, в).

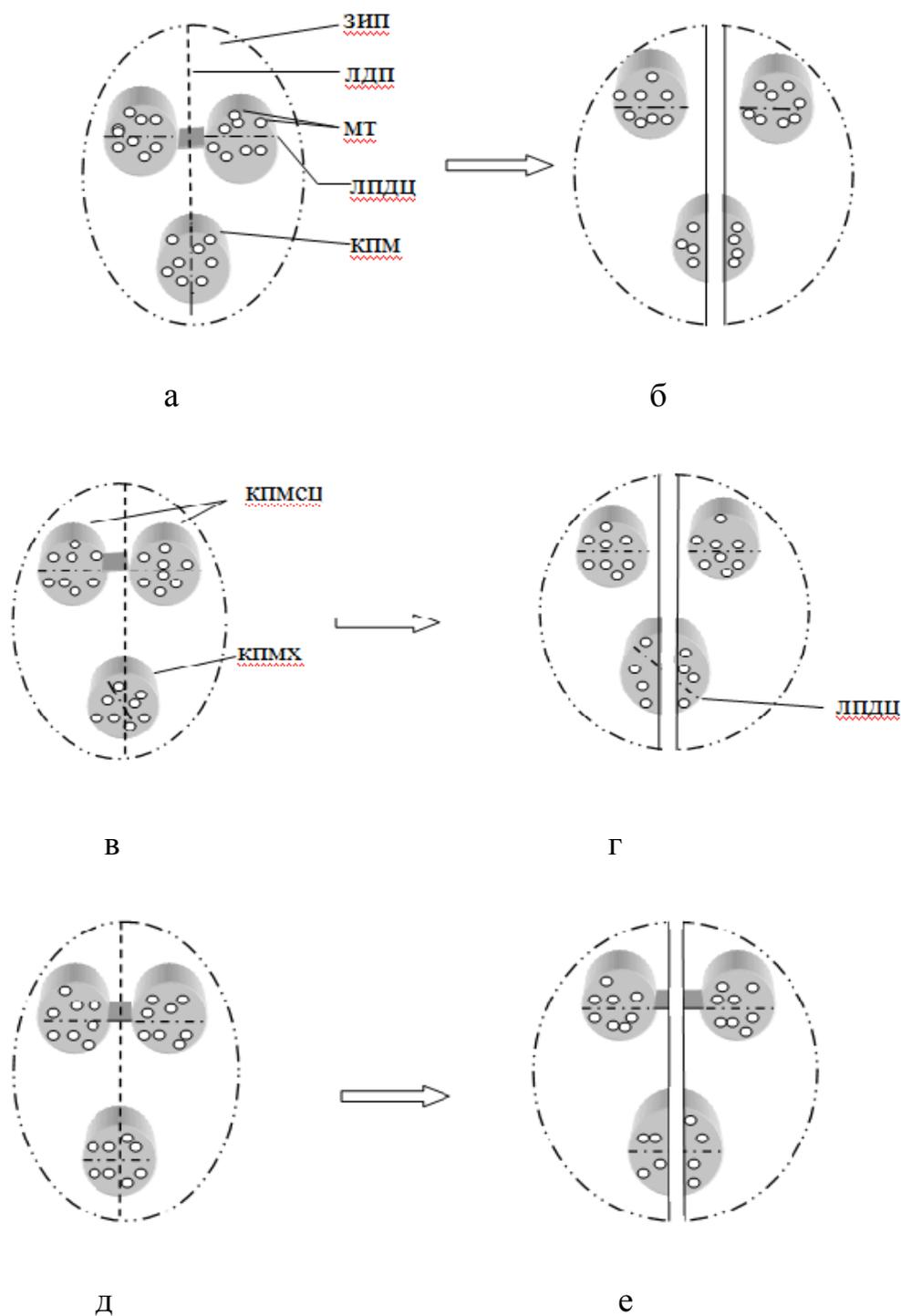


Рисунок -5.33. Варианты различного положения точек фиксации кинетохорного пучка микротрубочек относительно линии потенциального деления зоны исходного полюса (а, в, д) и характер его продольного расщепления (б, г, е): а, б – при совпадении линий потенциального поперечного деления центромеры и зоны исходного полюса; в, г – при частичном смещении фиксации кинетохорного пучка относительно линии деления; д, е – при перпендикулярном расположении двух линий деления (полюсной и центромерной). Обозначения: ЗИП – зона исходного полюса; ЛДП – линия деления полюса; КПМ – кинетохорный пучок микротрубочек; МТ – микротрубочки; ЛПДЦ – линия потенциального поперечного деления центромеры; КПМСЦ – кинетохорные пучки микротрубочек сестринских центромер; КПМХ – кинетохорный пучок микротрубочек хроматиды.

При расположении точки фиксации кинетохорного пучка микротрубочек в зоне исходного полюса под углом относительно линии потенциального поперечного деления центромеры, его сегрегация вызовет продольное расщепление данного кинетохорного пучка. При неравном распределении его микротрубочек по секторам (рис. 5.33, г) это также приведет к поперечному делению центромеры. Однако характер поведения образовавшихся телоцентриков будет во много зависеть от количественного соотношения микротрубочек, разошедшихся в противоположные стороны по секторам деления. В данном случае могут возникнуть различные визуальные варианты полюсной ориентации телоцентриков, которые должны интерпретироваться как псевдоориентация.

Псевдоориентация телоцентрической хромосомы может быть вызвана тем обстоятельством, что она оказывается задействована обоими полюсами и на определенном этапе как бы зависает между ними, создавая иллюзорность той или иной ориентации телоцентрика (рис. 5.32, а, б). Именно данным обстоятельством объясняется констатация факта, когда оба плеча идут к одному полюсу (Лбова, 1973; Sanches-Monge, 1950). При классификации типов *misdivision* данный тип поведения телоцентриков был выделен в отдельный класс «а». Однако по своему происхождению они не могут иметь чисто униполярную ориентацию, так как в таком случае поперечное деление центромеры просто не возможно.

Другим крайним проявлением автоориентации хроматиды является такое расположение точки фиксации кинетохорного пучка, когда линия потенциального поперечного деления центромеры находится под прямым углом к линии деления зоны исходного полюса (рис. 5.33, д). При симметричном распределении микротрубочек по секторам раздела (рис. 5.33, е) и их разведении к противоположным полюсам, в силу отсутствия возможности продольного расщепления центромеры, хроматида будет зависать в межполюсной зоне. Подобного рода конфигурации анафазных клеток во втором мейотическом делении, хотя и редко, действительно имели место (рис. 5.32 в, г). Случаи зависания хромати-

ды отмечались и другими исследователями (Vega, Feldman, 1998).

Таким образом, результаты анализа характера проявления моносомного состояния хромосом в мейозе II показали, что он имеет достаточно сложный механизм. Прежде всего, снижение частоты клеток с отброшенным унивалентом в метафазе II, по сравнению с проявлением аполярного типа поведения унивалента в анафазе I, свидетельствует о способности хромосомы восстанавливать свою связь с полюсом в процессе интеркинеза. Другим важным моментом второго мейотического деления является тот факт, что в отношении проявления частоты клеток с отстающими хроматидами наблюдается дифференциация хромосом по геномам.

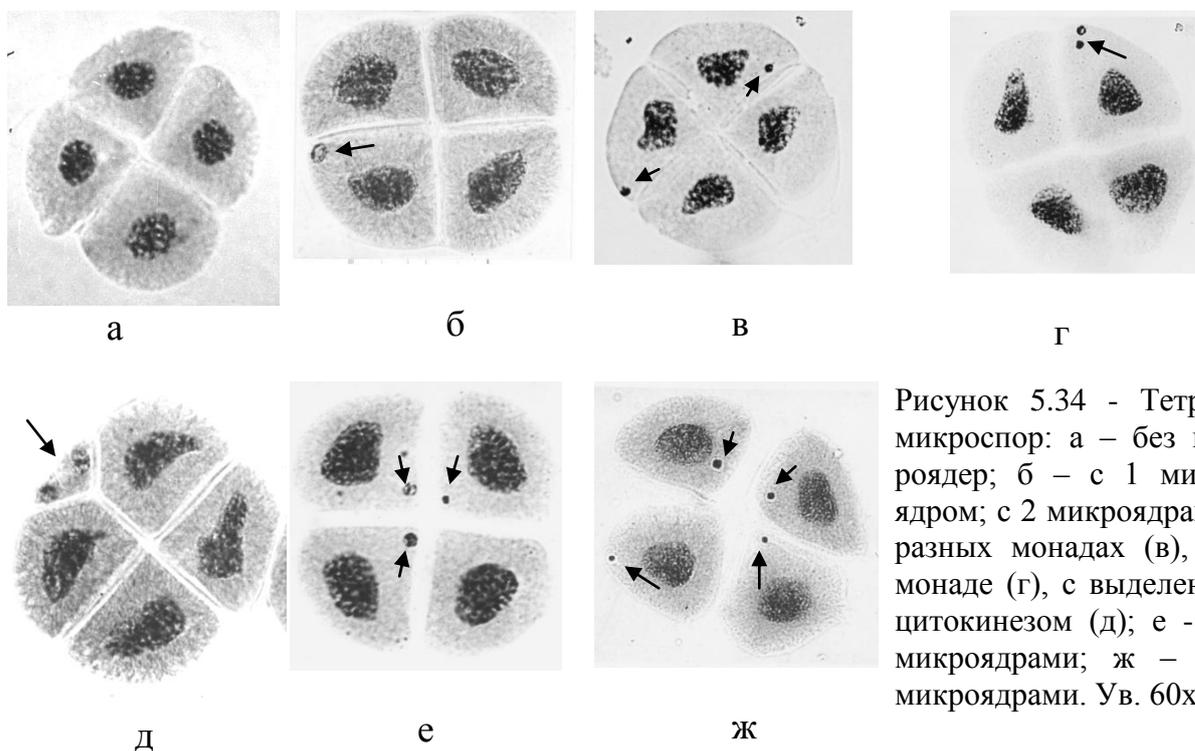
5.3.3 Тетрадный анализ моносомных линий сорта пшеницы

Мильтурум 553

Наличие отстающих элементов в анафазе II является прямым источником формирования микроядер в тетрадах. Однако, по данным цитологического анализа, большинство тетрад не имели каких-либо отклонений. Наряду с этим отмечались тетрады с одним, двумя, тремя и более микроядрами (рис. 5.34).

По результатам статистического анализа, процентное соотношение тетрад с различной конфигурацией существенно варьировало по линиям (таблица 5.13). Чаще всего отмечалось наличие в тетрадах одного микроядра. При этом максимальное их количество (29,59 %) было зарегистрировано у растений, моносомных по хромосоме 7A, а минимальное (12,08 %) – по хромосоме 2D. В целом же по серии моносомных линий доля тетрад с одним микроядром (рис. 5.34, б) составила 21,85 %.

Наличие двух микроядер в тетрадах в среднем отмечалось с частотой 10,30 %. Характерно, что микроядра располагались в основном в разных микроспорах (рис. 5.34, в). Присутствие же двух микроядер в одной микроспоре (рис. 5.34, г) было зарегистрировано лишь в 0,68 % случаев. Относительно редко (1,72 %) наблюдались тетрады с тремя и более микроядрами (рис. 5.34, д, е).



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 ($r = 0.89$). Наиболее наглядно это представлено на рисунке 5.35.

При сравнительном анализе анафазы II с отстающими элементами и тетрад с микроядрами оказалось, что, несмотря на высокую корреляционную зависимость ($r = 0,84$), различия между ними не всегда имели одинаковое значение (табл. 5.14).

Из представленных в таблице 5.14 экспериментальных данных видно, что в восьми случаях (1B, 3B, 5B, 1D, 3D, 4D, 5D и 6D) имело место снижение доли тетрадных клеток с микроядрами по сравнению с частотой присутствия отстающих элементов в анафазе II. Причем у растений, моносомных по хромосомам 5B и 1D эти значения оказались математически доказуемыми.

Таблица 5.13 – Частота тетрад с микроядрами у серии моносомных линий сорта пшеницы Мильтурум 553

Линия, моно- сомная по хромо- соме	Изучено клеток, шт.	Количество тетрад, %					Значение χ^2 по час- тоте тет- рад без микро- ядер
		без мик- роядер	с од- ним	с двумя		с 3 и более	
				всего	в том числе в 1 микро- споре		
1A	2806	64,65	25,62	8,73	0,32	1,00	302,24**
1B	4322	65,62	22,67	9,07	0,72	0,72	
1D	2848	82,83	12,89	3,55	0,28	0,74	
2A	3609	76,72	16,29	6,23	0,42	0,75	757,43**
2B	3165	53,08	24,61	18,14	0,54	4,17	
2D	3047	82,74	12,08	4,79	0,26	0,39	
3A	3069	55,62	25,28	15,87	1,01	3,23	329,68**
3B	3367	71,46	18,89	8,37	0,89	1,28	
3D	3569	75,59	17,18	6,44	1,15	0,78	
4A	2709	65,37	22,66	9,89	0,59	2,07	46,48**
4B	3268	60,56	23,96	12,85	0,80	2,63	
4D	3279	68,56	20,83	9,70	0,94	0,91	
5A	3202	61,12	25,61	11,74	0,50	1,53	110,51**
5B	2872	66,54	20,51	10,48	0,56	2,47	
5D	3361	53,58	28,26	16,51	0,62	1,64	
6A	3208	69,23	21,01	8,57	0,62	1,18	85,55**
6B	3132	68,93	20,66	8,72	1,05	1,69	
6D	2918	59,29	28,14	11,51	1,03	1,06	
7A	3319	48,69	29,59	18,32	0,72	3,40	394,86**
7B	3145	68,23	20,32	9,82	0,57	1,62	
7D	3644	69,73	21,95	7,41	0,63	0,91	
A	21922	63,20	23,60	11,33	0,60	1,87	260,84**
B	23271	64,96	21,71	10,96	0,73	2,36	
D	22666	70,14	20,30	8,63	0,71	0,93	
Х сред.	67859	66,12	21,85	10,30	0,68	1,72	
М.553	1800	97,83	2,00	0,11	-	0,06	

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

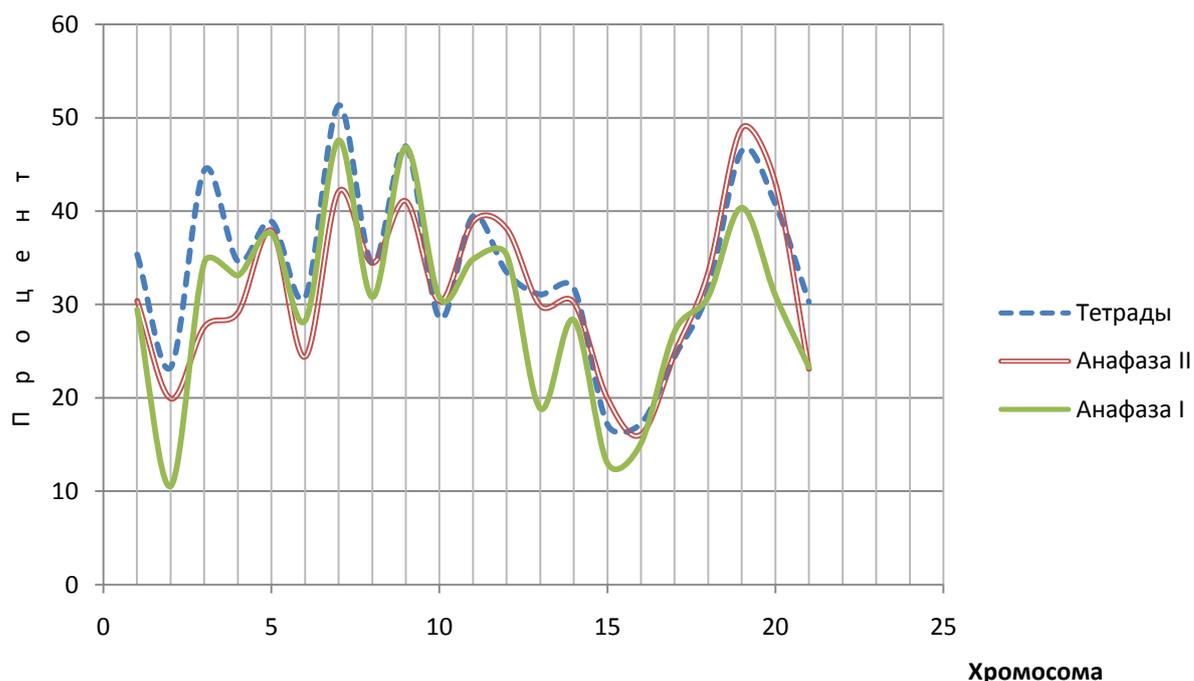


Рисунок 5.35 - Кривые распределения по моносомным линиям сорта пшеницы Мильтурум 553 частоты клеток с хроматидами в анафазе I, с отстающими элементами в анафазе II и тетрад с микроядрами.

Однако при гемизиготном состоянии хромосом 1A, 2A, 3A, 4A, 6A, 7A, 2B и 7D количество тетрад с микроядрами существенно превышало теоретически ожидаемое, исходя из наличия отстающих элементов в анафазе II (таблица 5.14). Максимальное превышение их количества над числом клеток с отстающими элементами в анафазе II достигало 16,78 % (3A). При этом чаще всего подобный эффект наблюдался по хромосомам генома A. По геномам B и D превышение доли тетрад с микроядрами над анафазой II зафиксировано только по хромосомам 2B (+5,75 %) и 7D (+7,17 %). В целом же, достоверное превышение фактического количества тетрад с микроядрами над теоретически ожидаемым было доказано только по хромосомам генома A. Данное обстоятельство может быть связано со спецификой поведения унивалента хромосом генома A, которое проявлялось на всем протяжении мейотического деления и определялось отсутствием их группирования по геномной принадлежности (рис. 5.29, 5.30, 5.31). Последнее же очевидно обусловлено спецификой эволюции генотипа *Triticum aestivum* L. как вида.

Таблица 5.14 - Оценка достоверности различий между частотой клеток с отстающими элементами в анафазе II и тетрад с микроядрами

Хромосома	Анафаза II с отстающими элементами, %	Тетрады с микроядрами, %	$\pm d$	Значение χ^2
1A	30,39	35,35	4,96	9.10**
2A	19,92	23,28	3,36	6,88**
3A	27,6	44,38	16,78	109,12**
4A	29,13	34,63	5,50	10,87**
5A	37,90	38,88	0,97	0,21
6A	24,4	30,77	6,37	20,63**
7A	42,10	51,31	9,21	32.31**
1B	34,45	34,38	-0,07	0.002
2B	41,07	46,92	5,85	9.98**
3B	30,35	28,54	-1,81	1,57
4B	38,87	39,44	0,57	0,15
5B	38,12	33,46	-4,66	8,42**
6B	29,87	31,07	1,20	0,53
7B	30,21	31,77	1,53	0,92
1D	19,95	17,17	-2,78	4,38*
2D	16,07	17,26	1,19	0.94
3D	24,74	24,41	-0,33	0.05
4D	33,43	31,44	-1,99	1,74
5D	48,89	46,42	-2,47	2,14
6D	43,04	40,74	-2,30	1,86
7D	23,10	30,27	7,17	25.20**
Геном А	29,31	37,44	8,13	153,88**
Геном В	34,85	34,36	-0,49	0,15
Геном D	29,45	29,86	0,41	0.52
Х сред.	31,15	33,88	2,78	63,19**

Различия достоверны при: *P \leq 0,05; **P \leq 0,01

Снижение доли тетрад с микроядрами относительно количественного состава клеток с отстающими элементами в анафазе II можно объяснить за счет дополнительного вхождения отстающих хроматид в состав одного из двух формирующихся ядер. Что же касается изменения процентного соотношения установленного в анафазе II в пользу увеличения количества тетрад с микрояд-

рами, то данное явление также может быть понято, исходя из той же концепции «разводящих нитей». Вероятно, при переходе одиночной хроматиды с униполярной ориентации на биполярную (автоориентация) она оказывается в положении merotelic и ее кинетохорный пучок микротрубочек при разведении не всегда расщеплялся строго пропорционально. В этом случае хроматида или ее фрагмент (телоцентрик) будут передвигаться к полюсу с наибольшей силой приложения (натяжения). При его достижении и демонтаже 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. Размах его изменчивости составил от 48,69 % (7A) до 82,74 и 82,83 % (2D, 1D). Оценка хромосом семи гомеологических групп показала их достоверные различия по мейотическому индексу (табл. 5.13).

Полученные результаты тетрадного анализа моносомных линий сорта Мильтурум 553 несколько отличаются от аналогичных исследований, проведенных J.W. Morrison и J. Unrau (1952) на моносомных линиях сорта Чайниз Спринг. Прежде всего эти различия касаются самого характера варьирования анализируемых показателей по линиям и того факта, что наличие тетрад с микроядрами у моносомных линий Мильтурум 553 оказалось значительно ниже, чем это было отмечено у Чайниз Спринг. Однако по своей сущности эти данные не находятся в противоречии, а, наоборот, дополняют друг друга. Для того чтобы в этом убедиться, необходимо в полном объеме представить полученные ими экспериментальные данные, сопроводив их результатами соответ-

вующего статистического анализа (таблица 5.15).

Таблица 5.15 – Частота формирования тетрад с микроядрами у серии моносомных линий сорта пшеницы Чайниз Спринг (по данным J.W.Morrison and Unrau, 1952)

Хромосома	Изучено тетрад, шт.	Количество тетрад, %		Значение χ^2 по частоте тетрад без микроядер
		без микроядер	с микроядрами	
1A-XIV				40,80**
1B-I	1594	61.0	39.0	
1D -XVII	1695	49.9	50.1	
2A-II	1865	34.8	65.2	2,33
2B-XIII	1602	37.1	62.9	
2D-XX	1946	36.7	63.3	
3A-XII	1832	59.6	40.4	102,83**
3B-III	1957	52.2	47.8	
3D-XVI	1698	42.6	57.4	
4A-IV	1795	35.2	64.8	370,82**
4B-VIII	1651	65.7	34.3	
4D-XV	1800	60.0	40.0	
5A-IX	1641	52.3	47.7	26,82**
5B-V	2108	44.5	55.5	
5D -XVIII	1777	44.9	55.1	
6A-VI	1792	50.3	49.7	272,07**
6B-X	1946	65.9	34.1	
6D-XIX	2011	39.8	60.2	
7A-XI	1879	52.6	47.4	2,37
7B-VII	1774	53.5	46.5	
7D-XXI	1819	55.1	44.9	
X сред.	36182	49,5	50,5	3,04

Различия достоверны при $**P \leq 0.01$

Прежде всего, следует обратить внимание на то, что соотношение между количеством тетрад с микроядрами и тетрад без микроядер по серии моносомных линий Чайниз Спринг оказалось близким 50 : 50 % (49,5 : 50,5 %), или 1:1

($\chi^2 = 3,04$). Аналогичный результат был получен при анализе анафазы I у серии моносомных линий сорта Мильтурум 553, где соотношение клеток с униполярным типом поведения унивалента и альтернативным характером его проявления (аполярный и биполярный) составило 49,80 : 49,18 % или 1:1 ($\chi^2 = 1,17$).

Представленное сопоставление результатов тетрадного анализа и анализа характера поведения унивалента в анафазе I станет понятным, если учесть, что основным источником формирования микроядер в тетрадах является эквационное деление унивалента при первом мейотическом делении. Свидетельством тому являются результаты проведенного корреляционного анализа между анафазой I и данными тетрадного анализа у полной серии моносомных линий Мильтурум 553.

В качестве возможных источников формирования микроядер в тетрадах учитывались анафазные клетки с отстающей целой унивалентной хромосомой (аполярный тип поведения унивалента) и клетки с хроматидами или их производными (биполярный тип поведения унивалента). Коэффициент множественной их корреляции относительно тетрад с микроядрами ($R_{xy.z}$) оказался равен 0,89. При этом коэффициенты частной корреляции между тетрадами с микроядрами и анафазными клетками с хроматидами ($r_{xy.z}$) составил 0,78, а анафазными клетками с отстающим унивалентом ($r_{xz.y}$) – 0,08. Сложившаяся ситуация легко объясняется другим корреляционным анализом: между частотой тетрад без микроядер, количеством клеток анафазы I без отстающих элементов и анафазных клеток с отстающим унивалентом. В данном случае коэффициент множественной корреляции составил 0,84, а его частные коэффициенты между тетрадами без микроядер и анафазой I без отстающих элементов – 0,72, а анафазой I с отстающим унивалентом – 0,76. Таким образом, наличие отстающего унивалента в анафазе I не только не являлось основным источником формирования микроядер в тетрадах, а, наоборот, способствовало формированию тетрад без дополнительных фрагментов. Обусловлено это тем, что при автоориентации хромосом в интеркинезе унивалент с аполярным типом поведения обладает

способностью устанавливать свою связь с зоной исходного полюса. Наличие же клеток с отстающим унивалентом в анафазе I у серии моносомных линий сорта пшеницы Мильтурум 553 несколько сгладило связь между двумя альтернативными группами поведения унивалента (униполярным и биполярным + аполярным) в анафазе I с одной стороны и количеством тетрад без микроядер и с микроядрами с другой стороны. Однако она достаточно четко проявилась у моносомных линий сорта Чайниз Спринг.

По данным проведенных исследований М.И. Лбовой (1973), примерно в половине клеток анафазы I не обнаруживается отстающих элементов. При этом отмечается, что в другой части клеток отстающий унивалент обычно продольно расщепляется. Таким образом, в данном случае констатируется только две альтернативные группы характера поведения унивалента: униполярный и биполярный, которые находятся в соотношении, близком 1:1. Первая группа анафазных клеток является источником формирования тетрад без микроядер, вторая – с микроядрами. Именно такое соотношение (близкое 1:1) и было получено J.W. Morrison и J. Unrau (1952) при тетрадном анализе моносомных линий сорта Чайниз Спринг (табл. 5.14).

Наличие аполярного типа поведения унивалента в мейозе I у моносомиков Мильтурум 553 и его отсутствие у аналогичных линий Чайниз Спринг указывает на то, что утрата связи моносомы с зоной исходного полюса, находившейся в положении 2 при коориентации центромер, не является для нее в отсутствии гомолога, а, следовательно, и конъюгации обязательным. Однако постоянство и частота (20,08%) его проявления по хромосомам моносомных линий Мильтурум 553 не должно ставить данное явление в разряд аномалий. Вероятно, сам процесс утраты одного из гомологов при конъюгации хромосом своей связи с зоной исходного полюса контролируется генетически, система которого может иметь сортовую специфику. Кроме того опыты с серией моносомных линий сорта Мильтурум 553 проводились в оптимальном температурно-световом режиме, постоянство которого поддерживалось на всем протяжении

вегетации растений. Данное обстоятельство также могло быть стимулирующим фактором для реализации свойств вышеуказанного порядка.

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

По данным литературы (Цитогенетика пшеницы..., 1971; Mello-Sampayo, 1973; Sears, 1982 и др.) хромосома 3D регулирует в мейотическом процессе си-напсис гомологов и гомеологов. Тем не менее, по результатам проведенных исследований, она не оказала существенного влияния на его прохождение у анализируемого сорта ни в моносомном состоянии, ни при восстановлении ее двойной дозы. В то же время, впервые для мягкой пшеницы был обнаружен эффект данной хромосомы в отношении стабильности прохождения отдельных фаз мейоза, отклонения которых ранее наблюдались у мутантов кукурузы (Clark, 1940; Beadle, 1932; Rhoadas, Dempsey, 1966b).

Мейотическое деление клеток у исходного сорта Мильтурум 553 и сестринских дисомиков обычно проходило без особых отклонений от нормы, с правильным чередованием отдельных его стадий. На заключительном этапе микроспорогенеза формировались тетрады микроспор, единственным нарушением которых могло быть наличие микроядер (рис. 6.1). Аналогичный мейотический цикл имели и растения моносомных линий по 20 анализируемым хромосомам.

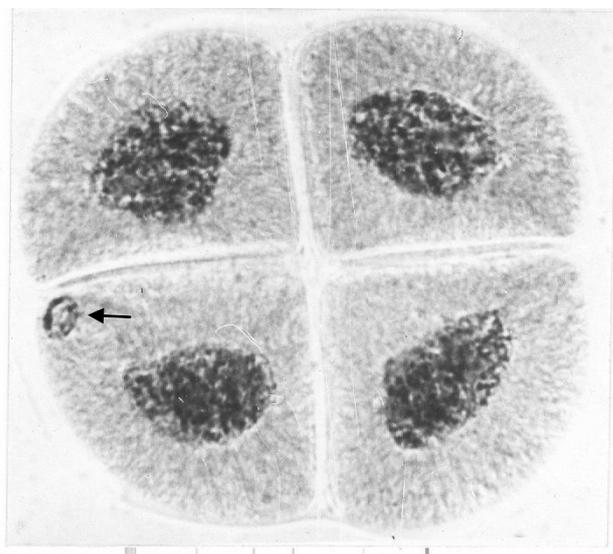


Рис. 6.1 - Тетрада микроспор с микроядром. Ув. 40x10.

Клетки микроспороцитов у растений, моносомных по хромосоме 3D, характеризовались определенной напряженностью прохождения основных стадий деления, улавливаемой при визуальном наблюдении. Кроме того, имело место нарушение синхронности мейотических процессов. Особенно это наглядно проявилось при тетрадном анализе. На препаратах, приготовленных из одного пыльника, можно было одновременно наблюдать все стадии – от ранней профазы до распавшихся тетрад. Аналогичное явление было описано у кукурузы при заражении ее вирусом мозаики кукурузы (Настас и др., 1987). По мнению авторов, нарушения синхронности связаны с замедлением мейоза в отдельных клетках. Наличие материнских клеток в анализируемых препаратах дает основание считать, что асинхронность у пшеницы возникла в результате более позднего вступления некоторых клеток в процесс мейотического деления.

Несмотря на вышеуказанные отклонения, все клетки микроспороцитов имели нормальный цикл первого мейотического деления, который заканчивался образованием диад с хорошо оформленной клеточной перегородкой. Начиная с профазы второго мейотического цикла, в отдельных клетках наблюдались нарушения цитотомии, которые имели место во всех последующих его стадиях.

При нормальном течении эквационного деления, клеточная пластинка образуется после того, как выстроившиеся в экваториальной плоскости хромосомы (метафаза II) разойдутся к противоположным полюсам. Однако у растений, моносомных по хромосоме 3D, в отдельных случаях этот принцип был нарушен. Так, на стадии профазы II в одной или сразу двух дочерних клетках диады формировались перегородки (рис. 6.2, а). Образование их шло от внутренней стенки диады к внешней оболочке материнской клетки. По такому же принципу формировались клеточные стенки и в метафазе II (рис. 6.2, б). При завершении на данной стадии цитокинеза возникали тетрады, отдельные микроспоры которых имели по два ядра, в то время как другие – ядер не имели (рис. 6.2, в). Присутствие в одной микроспоре двух ядер, примерно равных по объему и плотности, говорит о том, что наличие преждевременного цитокинеза в метафазе II не

оказывало существенного влияния на дальнейшие процессы кариокинеза.

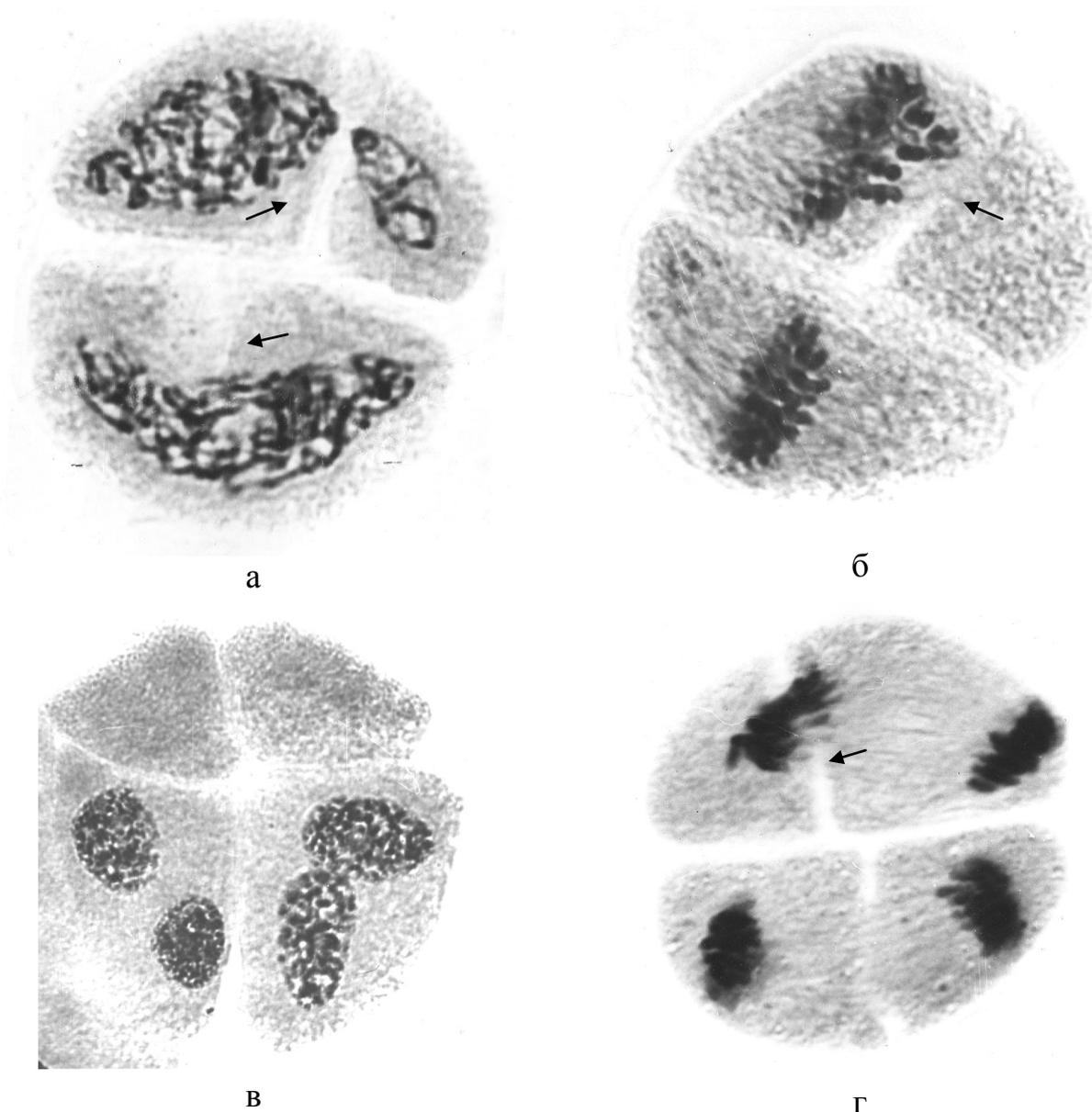


Рис. 6.2 - Нарушения цитотомии в микроспорах растений пшеницы сорта Мильтурум 553, моносомных по хромосоме 3D: а, б – преждевременное образование клеточной перегородки в диадах микроспор на стадии интеркинеза (а) и в метафазе II (б) мейоза; в – ассиметричная тетрада микроспор, сформировавшаяся после завершения цитокинеза в метафазе II, ув. 40x10; г – потеря пространственной ориентации цитокинеза в анафазе II. Ув. 60x10.

На основании анализа двух вышеназванных стадий можно сделать вывод, что нарушения цитотомии связаны с потерей взаимосвязи ее с мейотическим

аппаратом во времени и пространстве. Последнее наиболее наглядно проявилось в анафазе II. Как видно на рисунке 6.2, г, в одной из двух сестринских клеток зона расположения перегородки значительно отклоняется от экваториальной плоскости. В ряде случаев клеточная пластинка проходит через собранные в пучки хромосомы, препятствуя тем самым нормальному формированию ядра и дочерних клеток.

Возникновение дополнительных перегородок наблюдалось и в микроспорах тетрад (рис. 6.3, а). Характерной особенностью явления цитотомии на данной стадии является то, что при прохождении ее через ядро клеточная пластинка в зоне расположения генетического материала не формируется. В данном случае перегородка, располагаясь перпендикулярно относительно ядра, плотно охватывает его со всех сторон в виде кольца. В результате возникает ситуация, когда неразделившееся ядро одновременно входит в состав двух дочерних клеток (рис. 6.3, а).

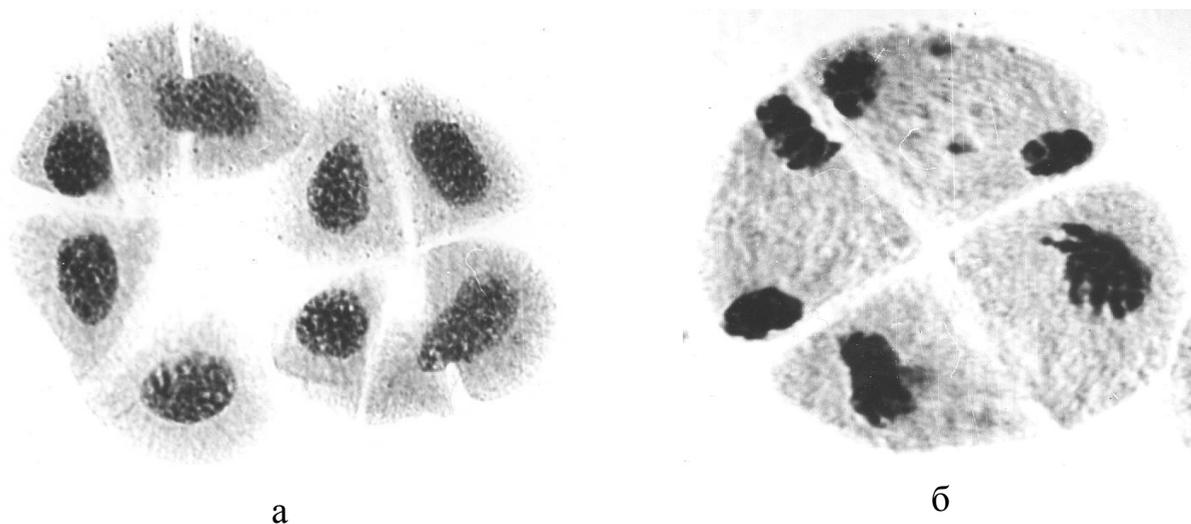


Рис. 6.3 - Дополнительное деление микроспор на стадии тетрад: а - цитокинез, ув. 40x10; б – кариокинез, ув. 60x10.

Кроме указанных нарушений мейотического цикла, в отдельных микроспорах сформировавшихся тетрад имело место дополнительное деление гаплоидных ядер (рис. 6.3, б). При этом возникновение клеточной перегородки не наблюдалось. Исходя из плотности и размеров вновь образовавшихся ядер,

можно предположить, что кариокинез шел без дополнительной хромосомной репликации и был неравным.

Нарушения цитотамии и кариокинеза приводили к формированию полиад различной конфигурации (рис. 6.4). Число аномальных клеток в среднем по моносомной линии составило 2,30%. Всего было проанализировано 4960 клеток. Количественное выражение клеточных aberrаций значительно варьировало по цветкам в пределах колоса и по растениям. В отдельных случаях оно достигало 12%. Более стабильно проявлялась асинхронность мейотического деления.

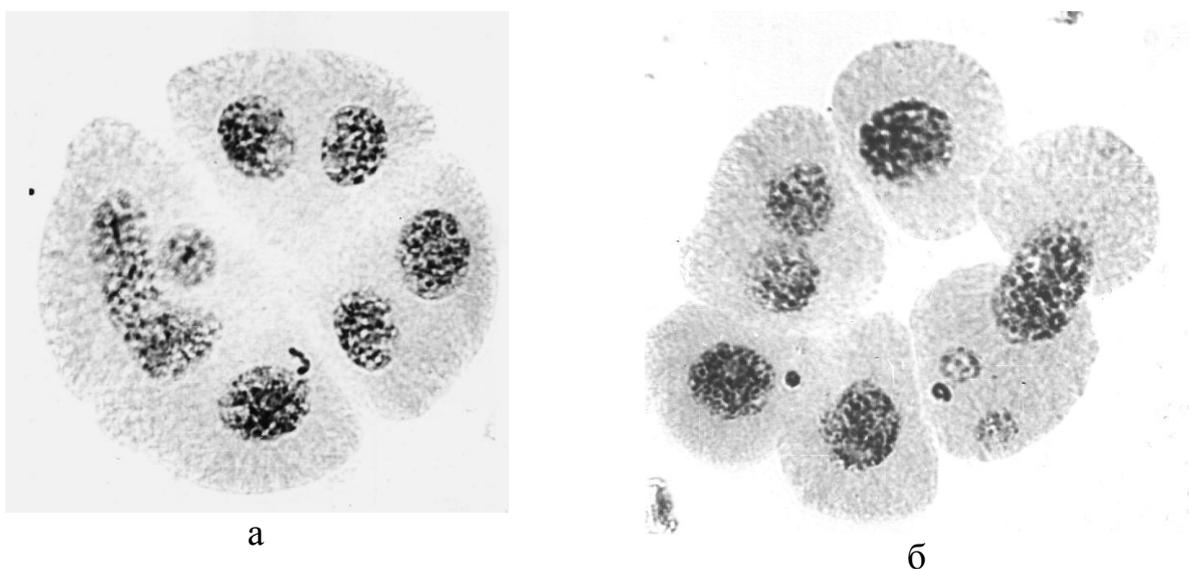


Рисунок 6.4 – Аномальные клетки микроспор: а – тетрада микроспор с макро- и микроядрами; б – полиада. Ув. 40x10

Варьирование уровня клеток с нарушениями цитотомии и кариокинеза свидетельствует о влиянии на частоту их появления внешних факторов. Однако отсутствие подобных aberrаций у сестринских дисомиков, исходного сорта и моносомных линий по остальным 20 анализируемым хромосомам убедительно показывает, что дестабилизация мейоза в данном случае вызвана моносомным состоянием хромосомы 3D. Механизмы возникновения нарушений могут быть различны.

Асинхронность мейотических процессов легко объясняется, исходя из предлагаемой гипотезы «дефицита». Если предположить, что отсутствие одной

дозы хромосомы 3D приводит к снижению синтеза веществ, необходимых для нормального мейотического деления, то задержка в отдельных клетках начала деления могла быть вызвана резким увеличением дефицита продуктов синтеза при их перераспределении между клетками археспориальной ткани. В данном случае действие хромосомы 3D, вероятно, имело общее значение, и не было связано конкретно с той или иной клеткой микроспороцита.

Аномалии цитотомии и кариокинеза, очевидно, обладают более сложным механизмом возникновения, так как aberrации такого рода происходят в тот период мейотического деления, когда клетки пыльника функционально значительно разделены между собой. Нарушения цитотомии можно было бы представить как следствия асинхронности мейотических процессов. Основанием для этого является то, что при тетрадном анализе преждевременное формирование перегородки наблюдалось в отстающих клетках микроспор. Однако наличие подобных aberrаций среди микроспороцитов с одинаковой стадией мейотического цикла свидетельствует о более непосредственном отношении хромосомы 3D к регуляции взаимосвязи цитокинеза с мейотическим аппаратом во времени и пространстве. Касаясь данного явления, следует отметить, что описанные нарушения цитотомии лишней раз подчеркивают ее относительную независимость от мейотического аппарата и от этапов его развития.

Таким образом, из всего вышесказанного следует, что в хромосоме 3D у мягкой пшеницы расположен ген (гены), контролирующей (-ие) стабильность прохождения отдельных фаз мейоза. Его функция сводится в основном к регулированию взаимосвязи цитотомии с мейотическим аппаратом во времени и пространстве, а также к осуществлению системы запуска и остановки кариокинеза. Возможно, функция хромосомы 3D связана с детерминацией точки контроля (checkpoint), определяющей взаимосвязь кариокинеза с цитокинезом во времени и пространстве.

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

Мягкая и твердая пшеница являются близкородственными видами и достаточно хорошо скрещиваются между собой. Их принципиальные различия определяются количественным составом хромосом. Дело в том, что мягкая пшеница относится к аллогексаплоидам ($2n = 42$) и включает в себя три генома А, В, D, а твердая пшеница является аллотетраплоидом ($2n = 28$) и из трех вышеперечисленных геномов имеет только два: А и В. Таким образом, все трудности при получении их гибридов связаны в основном с различиями в количественном составе хромосом.

Проведенные исследования мейоза у гибридов F_1 показали, что в метафазе I преобладают клетки с нормальным синапсисом хромосом двух геномов (А и В). При этом они имеют 14 бивалентов и 7 унивалентов (рис. 6.1). В ряде случаев наблюдаются клетки с 9 и более унивалентами. Тем не менее серьезных нарушений в конъюгации хромосом у гибридов первого поколения не обнаружено.

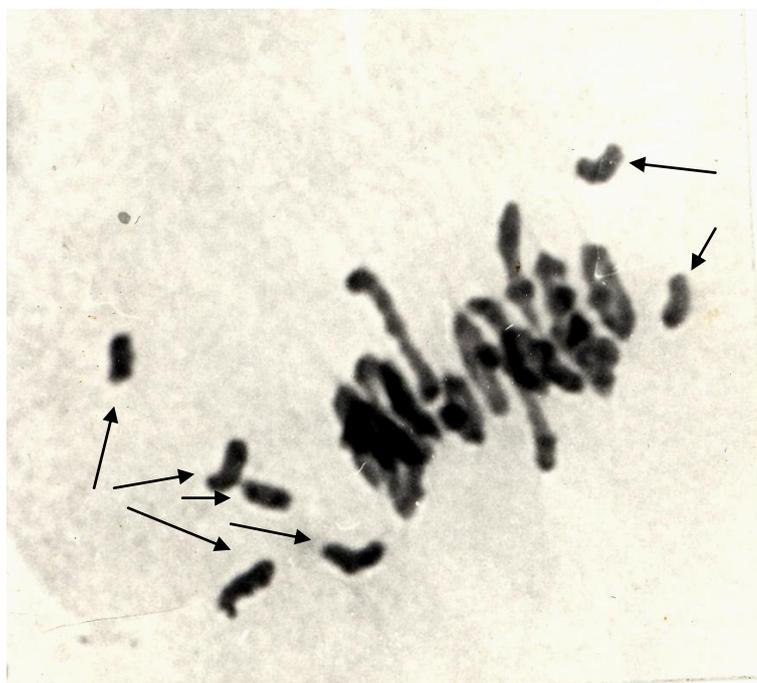


Рисунок 7.1 – Метафаза I мейоза межвидовых гибридов пшеницы (*T. aestivum* x *T. durum*): $14'' + 7'$.

Наличие несбалансированного генотипа в F_1 приводит к расщеплению популяции гибридов F_2 по количественному составу хромосом их генотипов. В ходе проводимых цитологических исследований были выделены формы, имеющие от 28 до 42 хромосом (табл. 6.1). При этом существенных сортовых различий характера расщепления по данному признаку не обнаружено.

Таблица 7.1 - Расщепление популяции гибридов F_2 (*Triticum aestivum* L. X *Triticum durum* Desf.) по количественному составу хромосом

Уровень пloidности генотипа	Количество растений, шт	%
14"	50	8,49
14" + 1'	68	11,54
14" + 2'	77	13,07
14" + 3'	55	9,34
14" + 4'	57	9,68
14" + 5'	32	5,43
14" + 6'	23	3,90
14" + 7'	10	1,70
Сумма	372	63,16
15" + (0 – 6)'	64	10,87
16" + (1 – 5)'	59	10,02
17" + (1 – 4)'	31	5,26
18" + (1 – 3)'	29	4,92
19" + (1 – 2)'	17	2,90
20"	1	0,17
20" + 1'	3	0,51
21"	3	0,51
Всего	579	100

Согласно результатам проведенных исследований в F_2 преобладали формы, имеющие в метафазе I 14 бивалентов и от 0 до 7 унивалентов (>60%). По мере увеличения уровня пloidности генотипа частота их встречаемости снижалась. Из эупloidных форм чаще выщеплялись 28-хромосомные, чем 42-

хромосомные. В процентном отношении это составило 8,49% и 0,51% соответственно. Характерно, что во всех случаях отсутствовали растения, которые в метафазе I имели бы от 16 до 19 бивалентов без унивалентов, хотя по уровню плоидности одного гаплоидного ряда (16' + 1', 16' + 2', 17' + 1' и т.д.) такие формы появлялись достаточно часто.

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 (таблица 7.2).

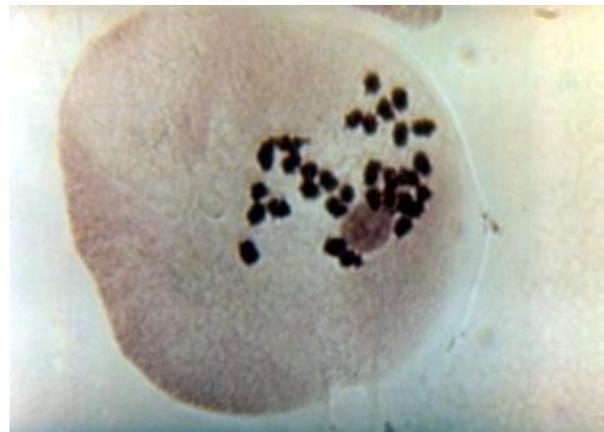
Таблица 7.2 - Частота выщепления растений с асинаптическим мейозом у межвидовых гибридов F₂ (*T. aestivum* x *T. durum*)

Исходные родители	Саратовская золотистая		Ангел		Омская янтарная		Омский кристалл	
	количество изученных растений, шт	из них с асинаптическим мейозом, %	количество изученных растений, шт.	из них с асинаптическим мейозом, %	количество изученных растений, шт.	из них с асинаптическим мейозом, %	количество изученных растений, шт.	из них с асинаптическим мейозом, %
Памяти Азиева	79	0	74	0				
ДИАС 2	93	0	89	0				
Эритроспермум 59	95	0	88	0				
Омская. 37			57	0	61	0	66	0
Линия Г695/01			41	0	37	0	43	0
Омская 36			139	13,67	105	15,24	56	16,07

По результатам цитологического анализа в метафазе I и диакинезе вместо бивалентов наблюдались униваленты (рис.7.2). Причем общее количество хромосом у растений с асинаптическим мейозом варьировало от 28 до 35.



а



б

Рисунок 7.2 - Проявление асинаптического мейоза у межвидовых гибридов пшеницы F_2 на стадии метафазы I (а); профазы I (б).

Фенотипические различия растений с нарушенным мейозом определялись в общем диапазоне варьирования признаков у межвидовых гибридов, которые были обусловлены в основном цитогенетическими факторами (рис. 7.3). Соответственно все растения с асинаптическим мейозом оказались стерильными.



Рисунок 7.3 - Колосья растений межвидовых гибридов F_2 с асинаптическим мейозом: 1- мягкая пшеница Омская 36; 2-10 – межвидовые гибриды с конфигурацией метафазы I: 2-6 – 28', 7 – 29', 8 – 30', 9 – 31', 10 – 32', 11 – сорт твердой яровой пшеницы Омский кристалл.

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 (табл. 7.3).

Таблица 7.3 - Характер расщепления популяции межвидовых гибридов F_2 (*T. aestivum* x *T. durum*) по признаку проявления асинаптического мейоза

Гибридная комбинация	Фактическое расщепление	Значение χ^2 при теоретически ожидаемом расщеплении		
		3 : 1	15 : 1	13 : 3
Ом.36 x Ангел	120 : 19	9,74 ^{xx}	12,89 ^{xx}	2,35
Ом.36. x Ом. янтарная	89 : 16	5,33 ^x	14,48 ^{xx}	0,85
Ом. 36 x Ом. кристалл	47 : 9	2,39	9,22 ^{xx}	0,26

Отклонение от теоретически ожидаемого расщепления достоверно при: ^x $P \leq 0,05$; ^{xx} $P \leq 0,01$

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 обеспечить нормальное прохождение мейоза.

Как уже отмечалось ранее, аномалии, связанные с нарушениями синапсиса, обычно обусловлены различного рода мутациями мейотических генов (Голубовская 1975, 1997). Для исключения такой возможности в данном случае был проведен цитологический анализ метафазы I у сорта Омская 36. В качестве контроля использован сорт яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553, который не вызывал подобного рода отклонения при скрещивании его с другими сортами пшеницы (табл. 7.4).

Как видно из таблицы 7.4, анализируемый сорт обладал достаточно ста-

бильным прохождением мейоза. Омская 36 уступала Мильтуруму 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. Так как наличие растений с асинаптическим мейозом наблюдалось при гемизиготном состоянии всех хромосом генома D, есть основания полагать, что обмен участками между хромосомами произошел в пределах двух геномов – A и B. Возможность подобного рода хромосомных перестроек в пределах трех вышеперечисленных анализируемых сортов твердой пшеницы исключается. Из таблицы 7.2 видно, что при скрещивании одного из них (сорт Ангел) с другими сортами мягкой пшеницы в F₂ отсутствовали растения с асинаптическим мейозом.

Таблица 7.4 - Конъюгация хромосом у сортов яровой мягкой пшеницы

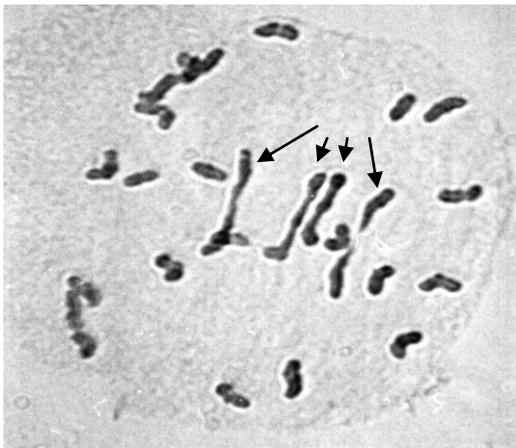
Сорт	Проанализировано клеток	Количества бивалентов на клетку, шт.		Количество хиазм на бивалент, шт.
		кольцевых	палочковидных	
Омская 36	78	19,60	1,40	2,008
Мильтурум 553	162	20,22	0,78	1,998
t		22,57 ^{xxx}	22,57 ^{xxx}	2,43 ^x

Различия достоверны при: ^xP ≤ 0,05; ^{xxx}P ≤ 0,001

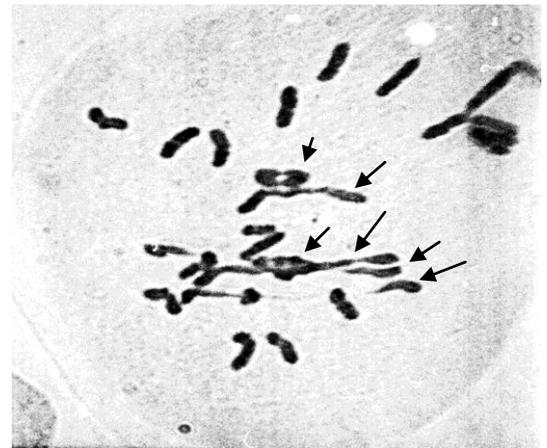
Нарушение синапсиса гомологичных хромосом может быть вызвано различными генетическими факторами (Соснихина и др., 1994). Их конъюгация является многоступенчатым процессом, включающим ряд последовательных событий. К ним относятся распознавание, выравнивание, спаривание, синапсис с формированием синаптонемального комплекса (СК) и образованием хиазм

(Соснихина и др., 1994; Schwarzacher, 1997; Dawe, 1998). Однако, согласно разработанного на основе анализа характера поведения унивалента в анафазе I механизма перехода хромосом от митоза к мейозу (глава 5.1), всему этому предшествует коориентация хромосом, которая осуществляется зоной исходного полюса. При этом было показано, что при полюсной коориентации центромер активно задействованным оказывается только один из гомологов. Второй гомолог в это время сохраняет свою прежнюю ориентацию. Подобного рода изменения приводят в соответствие взаимное расположение плеч хромосом и тем самым обеспечивают необходимые условия для их синапсиса. При нарушениях коориентации, когда структурно-динамическими изменениями зоны исходного полюса оказываются задействованными оба гомолога или они остаются в прежнем митотическом положении, синапсис хромосом будет нарушен, так как их гомологи не были сориентированы в пространстве.

Цитологический анализ метафазы I мейоза у межвидовых гибридов с нарушениями синапсиса хромосом показал, что среди аномальных растений наблюдались генотипы, у которых наряду с унивалентами присутствовали и биваленты (рис. 7.4).



а



б

Рисунок 7.4 - Метафаза I межвидовых гибридов F_2 , имеющая 4 палочковидных бивалента и n унивалентов (а); 4 палочковидных + 2 кольцевых бивалентов и n унивалентов (б).

По данным цитологического анализа, количество бивалентов на клетку варьировало от 0 до 5 и более. При этом наблюдались как палочковидные биваленты (рис. 7.4), так и кольцевые (рис. 7.4, б).

Данное обстоятельство дает основание считать, что у растений с асинаптическим мейозом формирование синаптонемального комплекса не нарушено и его образование определялось степенью соответствия взаимного расположения плеч гомологичных хромосом. По тем парам хромосом, где коориентация центромер проходила нормально, формировались биваленты, а там, где при коориентации центромер оказывались задействованными полюсной детерминацией оба гомолога, либо они в это время оставались в прежней митотической ориентации, вместо бивалентов наблюдались в метафазе I униваленты. Фактически в данном случае нарушения полюсной коориентации центромер гомологов приводило к тому, что плечи хромосом в ядре не были сориентированы необходимым образом для начала их спаривания.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что коммерческий сорт яровой мягкой пшеницы Омская 36 имеет ген, контролирующий синапсис гомологичных хромосом, который не аллелен базисному гену рода *Triticum*. Его происхождение может быть связано с транслокацией, произошедшей между хромосомами геномов А и В. Сравнительный цитологический анализ метафазы I мейоза показал, что по своей эффективности он не уступает базисному гену. Есть основания считать, что их функция связана с детерминацией коориентации 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 в изучении цитогенетического контроля мейотических признаков, использование сестринских дисомиков, в дополнение к моносомным растениям, существенно расширяет разрешающую способность данного метода. В этом случае анализ дисомных растений позволяет выявлять те хромосомы, которые в своем цитогенетическом контроле признака сохраняют свою эффективность в гемизиготном состоянии. Если изучение моносомных форм базируется на исключении из генотипа части генетической информации, то в случае возврата ее после моносомии генотип часто оказывается не в состоянии сразу отреагировать на восстановление двойной дозы хромосомы. В данном случае срабатывает своего рода эффект сверхдозы, что и фиксируется отклонениями признака в ту или другую сторону. Именно таким путем удалось выявить наличие гена ингибитора синапсиса гомеологов в хромосоме 6А. Наличие аналогичного локуса в 6А хромосоме подтверждается и данными литературы.

Далее, как показали полученные экспериментальные данные, сравнительный моносомно-дисомный анализ позволяет не только выявлять наличие генов в хромосоме, контролирующей конкретный мейотический признак, но и определять характер их действия и взаимодействия. Так, по данным анализа моносомных растений, отсутствие одной дозы 9 хромосом вызывало увеличение количества клеток с 3-мя и более унивалентами. При этом по четырем позициям (7А, 1В, 2В, 4В) восстановление двойной дозы приводило к возврату генотипа в исходное положение. По остальным пяти хромосомам (3А, 4А, 3В, 2D, 4D) эффект моносомии сохранялся и у сестринских дисомиков. Анализ потомства сестринских дисомиков по хромосомам 4А и 3В показал, что для полного восстановления генотипа в первом случае потребовалась еще одна дополнительная регенерация мейотического процесса, а во втором – 3 таких регенерации. Очевидно, это связано с тем, что локализованные в данных хромосомах гены входят в состав группы генов с аддитивным или комплементарным типом

действия. Вероятно, утрата одного из таких генов вызывает существенные изменения генетических связей остальной части их популяции. Соответственно, в случае его возврата, для восстановления прежней генетической формулы генотипа по анализируемому мейотическому признаку и требуется несколько регенераций.

Согласно результатам проведенных цитологических исследований серии моносомных линий пшеницы, в анафазе I мейоза наблюдаются различные варианты поведения унивалента, характер которых дифференцируется по их полюсной ориентации. Среди них униполярный тип, когда моносома отходит к одному из противоположных полюсов без дополнительного расщепления (*sin-telic*), биполярный, когда унивалентная хромосома взаимодействует с двумя полюсами и подвергается эквационному делению (*amphitelic*), аполярный, при котором унивалент на всем протяжении анафазы I не взаимодействует с полюсами и формирует микроядро в диадах и, наконец, *merotelic*, когда центромера одной или обеих хроматид задействована между двумя полюсами. Следует отметить, что ни в одном из вышеперечисленных случаев не наблюдалось явного вмешательства контрольно-пропускного пункта (*checkpoint*), которое, согласно приведенного в главе 1 обзора литературы, при различного рода нарушениях должно было приостановить дальнейшее развитие клетки до исправления ошибки, либо подвергнуть ее апоптозу. Кроме того, согласно данным литературных источников (Kitajima et al., 2006; Ishiguro et al., 2010; Katis et al., 2010), унивалент в анафазе I мейоза вообще не должен делиться эквационно, так как когезия сестринских центромер должна была быть защищена шугошинами. Тем не менее, унивалент подвергался довольно часто эквационному делению в мейозе I, что проявлялось по всем хромосомам при их гемизиготном состоянии. Характерно, что в анафазе I наблюдалась задержка начала расхождения хроматид к противоположным полюсам, которая могла быть вызвана процессами, связанными с разрушением когезии в центромерных районах. В целом же, согласно полученным экспериментальным данным, характер поведения унива-

лента при редукционном делении микроспороцитов подчинялся единому механизму, определяющему переход хромосом от митоза к мейозу, их конъюгацию и сегрегацию.

Как уже отмечалось ранее, по данным цитологического анализа в анафазе I мейоза идентифицируется три основных типа поведения унивалента: униполярный (синтелик), биполярный (амфителик) и аполярный. При этом их процентное соотношение в среднем по генотипу составило 49,80 : 29,75 : 19,43% соответственно. Высокие показатели и постоянство проявления при поочередном гемизиготном состоянии всех хромосом, представленных в виде серии моносомных линий, исключает возможность рассмотрения каждого из трех типов поведений унивалента, как своего рода аномалии. Следовательно, их наличие может быть только как результат демонстрации унивалентом тех явлений, которые имеют место при эуплоидном состоянии генотипа.

По усредненным данным, способность унивалента с частотой, близкой к 50-процентной отметке, вести себя по типу редукционного деления показывает, что для коориентации его центромер не требуется наличие гомолога и конъюгации. Следовательно, не бивалентное состояние хромосом определяет коориентацию центромер, а наоборот, смена полюсной ориентации одним гаплоидным набором хромосом в последующем определяет формирование бивалентов. Таким образом, коориентация центромер данного гаплоидного ряда является пусковым механизмом перехода хромосом от митоза к мейозу.

Как следует из результатов проведенных исследований, унивалентная хромосома лишь в 50 % случаев имела униполярную ориентацию. В остальных 50% она либо взаимодействовала с обоими полюсами, либо не контактировала с ними вообще. Характерно, что при объединении последних двух типов поведения унивалента (биполярный и аполярный) в одну группу мы получаем соотношение двух альтернативных групп близкое 1 : 1, а это уже проявление одного из основных менделевских законов наследственности, или закона статистического распределения вероятности появления двух равновероятных взаимоис-

ключающих событий. Данное обстоятельство дает все основания рассматривать аполярный тип поведения унивалента как частное проявление характера поведения унивалента, сохраняющего в переходный период свою прежнюю биполярную ориентацию. Таким образом, характер поведения унивалента в анафазе I вполне определенно демонстрирует не только механизм перехода хромосом от митоза к мейозу, но и определяет основные положения процессов, связанных с их конъюгацией.

Униполярный тип поведения унивалента с частотой близкой к 50-процентному уровню показывает, что коориентация центромер одного гаплоидного набора хромосом осуществляется зоной исходного полюса (положение 1). В это время их гомологи сохраняют свою прежнюю биполярную (митотическую) ориентацию (положение 2). По результатам проведенных исследований, вероятность того, какой из двух гомологов окажется в том или ином положении, в среднем по генотипу, составляет 50:50%. Таким образом, в переходный период между гомологами существует распределение функций, при котором один из них занимает определяющее положение, а другой - производное. Обнаружить подобного рода дифференциацию при обычном эуплоидном состоянии генотипа цитологическим путем практически невозможно.

Целесообразность смены полюсной ориентации центромер одним гомологом и сохранение ее другим при переходе хромосом от митоза к мейозу определяется необходимостью приведения в соответствие взаимного расположения их плеч. О развитии дальнейших мейотических процессов свидетельствует третий тип поведения унивалента – аполярный. Очевидно, после того как плечи гомологичных пар были приведены в соответствие, начинаются процессы связанные с их сближением, распознаванием и непосредственного контакта (спаривание). С момента начала синапсиса гомологичных пар те из них, которые при полюсной коориентации сохраняли прежнюю митотическую ориентацию, утрачивают свою связь с зоной исходного полюса (оболочкой ядра) и восстанавливают ее при завершении конъюгации в последовательности, соответст-

вующему редукционному делению. Именно актом естественного прерывания связи с полюсом одного из гомологов в процессе конъюгации эуплоидного генотипа и был обусловлен аполярный тип поведения унивалента у моносомных линий. Таким образом, характер поведения унивалента в анафазе I мейоза показывает, что:

1. При смене полюсной ориентации между гомологами существует распределение функций.

2. Коориентация центромер одного гаплоидного набора осуществляется зоной исходного полюса и ему для перехода на редукционный тип деления не требуется наличие партнера.

3. Коориентация второго гаплоидного набора хромосом, сохраняющего в момент полюсной коориентации свое прежнее митотическое положение, осуществляется через синапсис, прерывание и восстановление связи центромер с полюсом. В данном случае для смены их полюсной ориентации присутствие второго гомолога и синапсиса становится просто необходимым.

По результатам проведенных исследований, установленное соотношение между двумя альтернативными группами поведения унивалента в анафазе I 50 на 50 процентов отражает лишь общую закономерность анализируемого генотипа. В то же время его конкретное выражение существенно варьировало по линиям. Путем дальнейшего статистического анализа полученных экспериментальных данных было установлено, что отклонения от 50-процентного уровня вероятности вызвано дополнительным вмешательством генетического фактора, осуществляющего замену при полюсной коориентации в положении 1 одного гомолога на другой. Таким путем достигается пространственное разведение гомологов. При фиксированном положении центромер одного гаплоидного набора хромосом во время их конъюгации это обеспечивает предотвращение их конъюгации и, следовательно, диплоидный характер поведения такого аллополиплоидного генотипа, каким является *Triticum aestivum* L.

Стабильность прохождения мейоза II у серии моносомных линий пшеницы во многом определялась характером поведения унивалента в анафазе I. По многим параметрам между двумя мейотическими стадиями наблюдалась высокая корреляционная зависимость. Подобного рода преемственность между ними возможна только в случае сохранения связи хромосом с полюсом, установленной при ориентации центромер в мейозе I. Если бы в профазе II построение веретена деления осуществлялось общепризнанным способом «поиска и захвата», то экспериментальные данные, полученные в ходе анализа редукционного и эквационного деления хромосом, не имели бы какой-либо сопряженности. Кроме того, путем цитологического анализа диады микроспор было установлено, что построение центрального веретена профазы II у мягкой пшеницы происходит отдельно от кинетохорного. Также как и в профазе I смена полюсной ориентации (автоориентация) определяется зоной исходного полюса, а сегрегация хромосом – путем разведения кинетохорных микротрубочек в противоположные стороны, встраиванием в центральное веретено с последующей реализацией их свойств кинетического порядка.

По результатам анализа метафазы и анафазы второго мейотического деления в процессе интеркинеза униваленты, утратившие свою связь с полюсом при редукционном делении, способны восстанавливать ее в процессе автоориентации центромер в профазе II. При этом они принимают как биполярную ориентацию, так и униполярную. Характерно, что по проявлению частоты клеток с отстающими хроматидами, хромосомы дифференцируются по геномам, проявляя тенденцию к нормальному распределению. Основным источником формирования микроядер в тетрадах является образование хроматид в анафазе I мейоза. Мейотический же индекс у моносомных линий положительно коррелировал с частотой униполярного и аполярного типов поведения унивалента. Несколько необычным оказалось превышение доли тетрад с микроядрами над долей клеток с отстающими элементами в анафазе II. Данное обстоятельство объясняется неадекватным расщеплением пучка микротрубочек у кинетохор с

merotelic прикреплением, которое на заключительном этапе микроспорогенеза приводило к возврату хроматиды или телоцентрика в межполюсную зону.

Таким образом, разработанная на основе анализа характера поведения унивалента в мейозе модель перехода хромосом от митоза к мейозу и концепция «разводящих нитей», характеризуются относительной простотой, экономичностью и надежностью своего исполнения, что является определяющим моментом всего эволюционного процесса.

По данным проведенных цитогенетических исследований мейоза у серии моносомных линий сорта пшеницы Мильтурум 553, хромосома 3D имеет ген (гены) контролирующей (-ие) связь цитокинеза и кариокинеза во времени и пространстве. Кроме того 3D обладает способностью контролировать остановку данных процессов на заключительных этапах микроспорогенеза. Очевидно, данная хромосома имеет отношение к управлению механизмом контрольно-пропускного пункта мейотического цикла (checkpoint).

В ходе цитологического анализа метафазы I мейоза у межвидовых гибридов был выявлен ген, контролирующей синапсис гомологичных хромосом, который не аллелен базисному гену пшеницы. Предполагается, что его происхождение связано с транслокацией, произошедшей между хромосомами в пределах геномов А и В. На основании результатов проведенных исследований и дальнейших логических построений предполагается, что функция двух выявленных генов синапсиса связана с их детерминацией полюсной коориентации центромер при переходе хромосом от митоза к мейозу.

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, контролируемых мейотическими признаками.

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 делению.

6. По результатам проведенного статистического анализа вариационного ряда частоты униполярного типа поведения унивалента в анафазе I и соответствующих графических построений установлено, что предотвращение синапсиса гомеологов 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 гомеологов 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 связь кариокинеза и цитокинеза во времени и пространстве. Кроме того хромосома 3D определяет момент завершение кариокинеза и цитокинеза на заключительном этапе микроспорогенеза.

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

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ РАБОТЫ

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 553во втором мейотическом делении микроспороцитов. – 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).

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.

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.

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.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. А.С. 1009349 СССР. Способ получения растений с двумя замещенными хромосомами / Н.А. Жарков, СибНИИСХ (СССР). - № 3320015, заявлено 10.07.81.
2. Албертс, Б. Молекулярная биология клетки / Б. Албертс, Б. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон. – М.: «Мир», 1987. – Т. 3. – 296 с.
3. Албертс, Б. Молекулярная биология клетки / Б. Албертс, Б. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон. – М.: «Мир», 1993. – Т. 2. – 539 с.
4. Алов, И.А. Цитофизиология и патология мейоза / И.А. Алов. – М.: «Медицина», 1972. – 264 с.
5. Бессараб, К.С. Цитогенетика моносомных серий мягкой пшеницы: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.15 – Л., 1984. – 16 с.
6. Богданов, Ю.Ф. Ультраструктура хромосом в мейозе и синаптонемальный комплекс / Ю.Ф. Богданов // Цитология и генетика мейоза. – М., 1975. – С. 58-95.
7. Богданов, Ю.Ф. Молекулярная концепция мейоза выдерживает испытание / Ю.Ф. Богданов // Генетика. – 2000. – Т.36, № 4. – С. 585-590.
8. Богданов, Ю.Ф. Современные тенденции в исследовании мейоза / Ю.Ф. Богданов // Цитология. – 2003. – Т.45, № 9. – С. 954-955.
9. Богданов, Ю.Ф. Белковые механизмы мейоза / Ю.Ф. Богданов // Природа. – 2008. - №3. – С. 3-9.
10. Богданов, Ю.Ф. Эволюция мейоза одноклеточных и многоклеточных эукариот / Ю.Ф. Богданов // Журнал общей биологии. – 2008. – С. 102-107.
11. Богданов, Ю.Ф. Синаптонемный комплекс – индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом / Ю.Ф. Богданов, О.Л. Коломиец // М.: КМК. – 2007. – 358 с.
12. Босток, К. Хромосома эукариотической клетки / К. Босток, Э. Самнер. – М.: Мир. – 1981. – 598 с..

13. Вильсон, Э. Клетка и ее роль в развитии и наследственности / Э. Вильсон. – М.-Л.: Изд-во АН СССР. – 1936. – т.2.

14. Гайдаленок, Р.Ф. Изучение MI мейоза у гибридов F₁ от скрещивания моносомиков Чайниз Спринг с сортами без нарушения конъюгации // Р.Ф. Гайдаленок, О.И. Майстренко // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. – Новосибирск, 1973. – С. 77-94.

15. Гайдаленок, Р.Ф. Изучение мейоза у гибридов F₁ от скрещивания моносомиков Чайниз Спринг с сортом пшеницы с нарушенной конъюгацией хромосом / Р.Ф. Гайдаленок // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. – Новосибирск, 1973. – С. 95-106.

16. Гайдаленок, Р.Ф. Изучение мейоза и морфологии хромосом мягкой пшеницы методом моносомного анализа: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.17 / Р.Ф. Гайдаленок. – Новосибирск, 1980. – 16 с.

17. Гмурман, В.Е. Введение в теорию вероятностей и математическую статистику / В.У. Гмурман. – М.: Высш. Шк., 1963. – 238 с.

18. Голубовская, И.Н. Генетический контроль поведения хромосом в мейозе / И.Н. Голубовская // Цитология и генетика мейоза. – М.: Наука. – 1975. – С. 312-343.

19. Голубовская, И.Н. Мейоз и гены / И.Н. Голубовская // Природа. – 1997. - № 10. – С. 64 – 72.

20. Голубовская, И.Н. Три мейотические мутации кукурузы, нарушающих расхождение хромосом в первом делении мейоза / И.Н. Голубовская, Д.В. Ситникова // Генетика. – 1980. – Т. XVI, № 4. – С. 657-665.

21. Голубцов, С.В. Полустерильный мейотический мутант *sy11* ржи *Secale cereal L.* с гетерологичным синапсисом хромосом / С.В. Голубцов, С.П. Сошихина, И.В. Иорданская, А.В. Войлоков, Е.И. Михайлова, О.И. Коломиец, Ю.Ф. Богданов // Генетика. – 2010. – Т. 46, № 6. – С. 774-781.

22. Гончаров, Н.П. Локализация генов у мягкой пшеницы / Н.П. Гончаров. - Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1992. – 150 с.

23. Гончаров, Н.П. Об «изогенности» анеуплоидных линий пшеницы / Н.П. Гончаров. - Изогенные линии культурных растений. – Новосибирск, 1991. – 1991. – С. 58-68.
24. Гончаров, Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей / Н.П. Гончаров. – Новосибирск, Сибирское университетское издательство. – 2002. – 251 с.
25. Гришаева, Т.М. Соматические и мейотические формы когезиновых белков: сходство и различие? [Электронный ресурс] / Т.М. Гришаева // Расширенный доклад. Учреждение Российской академии наук Института общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова, г. Москва. – 2011. – Режим доступа: www.ivtn.ru/2011/pdf/d11_02.pdf
26. Гуляев Г.В., Мальченко В.В. Словарь терминов по генетике, цитологии, селекции, семеноводству и семеноведению / Г.В. Гуляев, В.В. Мальченко. - М.: Россельхозиздат, 1975. – 214 с.
27. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. - М.: Колос, 4-е изд., 1979. – 416 с.
28. Евдокимов, М.Г. Моносомный анализ устойчивости к бурой ржавчине и основных хозяйственно-ценных признаков у яровой пшеницы: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.15 / М.Г. Евдокимов. – Ленинград, 1978. – 21 с.
29. Жарков, Н.А. Генетический контроль образа жизни у сорта яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 / Н.А. Жарков // Генетика. – 1984. – Т XX, № 11. – С. 1881-1886.
30. Жарков, Н.А. Способ очистки оптических деталей световых микроскопов от пыли и жировых налетов / Н.А. Жарков. - Научно-технический бюллетень: Вопросы селекции и семеноводства в Западной Сибири. – 1986. – 3. – С. 35-38.
31. Использование анеуплоидов в генетике пшеницы. Моносомный анализ: Метод. рекомендации ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова; Сост. Б.В. Ригин, З.Б. Гуляева. – Ленинград: ВИР, 1976. – 24 с.

32. Кикнадзе, И.И. Микроскопическая морфология мейоза и его модификаций / И.И. Кикнадзе, Л.В. Высоцкая // Цитология и генетика мейоза. – М., «Наука». – 1975. – С. 15- 41.
33. Колмогоров, А.Н. Введение в теорию вероятностей / А.Н. Колмогоров, И.Г. Журбенко, А.В. Прохоров. - М.: Наука, 1982. – 160 с.
34. Лбова, М.И. Мейоз у моносомиков яровой пшеницы сорта Чайниз Спринг при осеннем полевом посеве / М.И. Лбова // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. – Новосибирск, 1973. – С. 28-43.
35. Левитский, Г.А. Сравнительная морфология хромосом пшеницы / Г.А. Левитский, М.А. Сизова, В.А. Поддубная-Арнольди // Докл. АН СССР. – 1939. – Т.25, №2.- С. 144-147.
36. Лобашов, М.Е. Генетика / М.Е. Лобашов. – Л., 1967. – 752 с.
37. Льюин Б., Кассимери Л., Лингаппа В.Р., Плоппер Д., Кэперон М., Чэпман М., Коул Ч., Де Ла Круз Э.М., Эррингтон М. и другие. Клетки. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 951 с.
38. Марков, А. На пути к разгадке тайны мейоза / А. Марков // Журнал общей биологии. – 2008. – Т. 69, № 2. – С. 102-117.
39. Мендель, Г. Опыты над растительными гибридами / Г. Мендель. - М.: Наука. – 1965. – 158 с.
40. Мэзия, Д. Митоз и физиология клеточного деления / Д. Мэзия. – М.: Изд-во иностр. лит., 1963. – 426 с.
41. Настас, Л.А. Инфекционное нарушение мейоза у кукурузы / Л.А. Настас, Г.Я. Кирияк, В.В. Бужорян // Гаметная и зиготная селекция растений: Матер. респ. Конф. (23 июня 1986 г.) – Кишинев, 1987. С. 82-84.
42. Омелянчук, Л.В. Нобелевская премия 2001 г. по физиологии и медицине присуждена за спехи в изучении клеточного цикла / Л.В. Омелянчук // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 3. – С. 431-432.

43. Омельянчук, Л.В. Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация / Л.В. Омельянчук, С.А. Трунова, Д.И. Лебедева, С.А. Федорова // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 1. – С. 1-18.
44. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений /З.П. Паушева. - М.: Колос, 1974. – 288 с.
45. Райков, И.Б. Ядро простейших. Морфология и эволюция / И.Б. Райков. – Л.: «Наука», 1978. – 328 с.
46. Ригер Р., Михаэли, А. Генетический и цитогенетический словарь / Р. Ригер, А. Михаэлио // Пер. с нем. – М.: Колос, 1967. – 608 с.
47. Семенов, В.И. Мейоз у автополиплоидов / В.И. Семенов // Цитология и генетика мейоза. – М., Наука. – 1975. С. 263-291.
48. Сорокина, О.Н. К синтезу видов эгилопс. / О.Н. Сорокина // Труды по прикл. бот., ген. и сел. – 1935а. – серия 2, № 7. – С. 5-12.
49. Сорокина, О.Н. Плодовитый и константный 42-хромосомный гибрид *Aegilops ventricosa* (2n=28) x *Triticum durum* (2n=28). / О.Н. Сорокина // Труды по прикл. бот., ген. и сел. – 1935б. – серия 2, № 7. – С. 12-15.
50. Соснихина, С.П. Генетический контроль мейоза. Сообщение II / С.П.Соснихина // Генетика. – 1973. – 9, № 8. – С. 21-30.
51. Соснихина, С.П. Изучение генетического контроля мейоза у ржи / С.П. Соснихина, Ю.С. Федотова, В.Г. Смирнов, Ю.Ф. Богданов // Генетика. – 1994. -30, № 8. – С. 1043-1056.
52. Соснихина, С.П. Генетический контроль синапсиса у ржи *Secale cereale*L.: асинаптический ген *sy9* / С.П. Соснихина, Г.А. Кириллова, Е.И. Михайлова, В.Г. Смирнов, Ю.С. Федотова, Ю.Ф. Богданов // Генетика. – 1998. – Т.4, №11. – С. 1504-1512.
53. Соснихина, С.П. Генетический контроль гомологичного синапсиса в мейозе у ржи *Secale cereale* L. / С.П. Соснихина, Е.И. Михайлова, О.А. Тихолиз // Цитология. – 2003. – Т,45, № 9. – С. 963.
54. Соснихина, С.П. Генетическая коллекция мейотических мутантов ржи

Secale cereale L. / С.П. Соснихина, Е.И. Михайлова, О.А. Тихолиз // Генетика. – 2005. – Т.41, №10. – С. 1310-1321.

55. Соснихина, С.П. Проявление и наследование десинаптической формы ржи с нарушением гомологичного синапсиса / С.П.Соснихина, Е.И.Михайлова, О.А. Тихолиз, Н.В.Цветкова, А.В.Ловцюс, О.С.Сапронова, Ю.С. Федотова, О.Л. Коломиец, Ю.Ф. Богданов // Генетика. – 2007. – Т.43, № 10. – С. 1424-1433.

56. Стельмах, А.Ф. Некоторые особенности использования моносомных линий пшеницы / А.Ф. Стельмах, Л.К. Буравкова // Полиплоидия и селекция. – Минск, 1972. – С. 138-149.

57. Тимофеева, Л.П. К вопросу о гомологичной и гомеологичной конъюгации хромосом / Л.П. Тимофеева // Цитогенетика зерновых культур. – Таллин, 1990. – С. 129-140.

58. Торгашева, А.А. Мейоз: что нужно пережить ради уменьшения числа хромосом вдвое / А.А. Торгашева // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 17-28.

59. Хвостова, В.В. Перестройка хромосом в мейозе / В.В. Хвостова, Г.Л. Ячевская // Цитология и генетика мейоза. – М., 1975. – С. 232-262.

60. Храброва, М.А. Моносомный генетический анализ содержания белка зерновки и ее массы у мягкой пшеницы Диамант 2 / М.А. Храброва, О.И. Майстренко // Генетика. – 1980. – Е.26, №7. – С. 1425-1434.

61. Цаценко, Л.В. Генетическая система контроля конъюгации хромосом у растений мягкой пшеницы (обзор) / Л.В. Цаценко // Сельскохозяйственная биология. – 2005, №3. - С. 19-30.

62. Цильке, И.А. Моносомный анализ количественных признаков мягкой пшеницы (моно-Чайниз Спринг х Мильтурум 553): дис. канд. биол. наук. – Омск, 1975. – 136 с.

63. Цитогенетика пшеницы и ее гибридов. – М.: Наука, 1971. – 286 с.

64. Цитология и генетика мейоза. – М.: Наука, 1975. – 432 с.

65. Чадов, Б.Ф. Конъюгация хромосом у дрозофилы. Сообщ. 4. Общая схема процесса мейотического спаривания хромосом / Б.Ф. Чадов // Генетика. – 1986. – 22, № 2. – С. 253-261.
66. Чадов, Б.Ф. Мейотический асинопсис центромерных районов и его влияние на кроссинговер и распределение хромосом у самок дрозофилы / Б.Ф. Чадов, Е.В. Чадова // Докл. АН СССР. – 1981. – 261, № 4. – С. 993-996.
67. Челак, В.Р. Система размножения пшеницы *Triticum* / В.Р. Челак. - Кишинев: Штиинца, 1991. – 319 с.
68. Ченцов, Ю.С. Введение в клеточную биологию: учебник для вузов. – 4-ое издание, переработанное и дополненное. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2004. – 495 с.
69. Чубыкин, В.Л. Хромоцентральная природа межхромосомных связей, коориентирующих негомологичные хромосомы в мейозе самок дрозофилы / В.Л. Чубыкин // Генетика. -2009. –Т. 45, № 9. – С.1173-1186.
70. Шамина, Н.В. Некоторые неизвестные механизмы построения и функции мейотического веретена растительной клетки / Н.В. Шамина // Цитогенетика сельскохозяйственных растений. – Новосибирск. – 1989. – С. 38-53.
71. Шамина, Н.В. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе у высших растений. IV. Средняя прометафаза / Н.В.Шамина, Н.М. Ковалева, Н.В. Соловьева // Цитология. – 2005. – 47, №9. – С. 760 – 765.
72. Шамина, Н.В. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе у высших растений. V. Поздняя прометафаза. Общая схема формирования веретена деления / Н.В. Шамина, Н.М. Ковалева, Н.В. Соловьева, Е.И. Гордеева // Цитология. – 2005. – 47, №10. – С. 889-897.
73. Щапова, А.И. Морфология хромосом некоторых видов пшеницы : автореф. дис... канд. биол. наук: 103 / А.И. Щапова. – Новосибирск, 1969. – 26 с.
74. Щапова, А.И. Пространственная организация хромосом в клеточном ядре эукариот и ее особенности у разных видов растений и животных / А.И. Щапова // Вестник ВОГиС. – 2010. – Том.14, №4. – С. 612-621.

75. Щапова, А.И. Тип деления унивалентных хромосом и его генетическая обусловленность / А.И. Щапова, О.Г. Силкова, Л.А. Кравцова // Генетика. 1990. – 26, № 2. С. 293-303.
76. Щапова, А.И. Цитогенетика пшенично-ржаных гибридов / А.И. Щапова, Л.А. Кравцова. – Новосибирск, “Наука”. – 1990. – 162 с.
77. Щапова, А.И. Роль генов эквационного деления унивалентов в межгеномном замещении хромосом / А.И. Щапова, О.Г. Силкова, Л.А. Кравцова // Генетика. – 1998. – Т. 34, № 4. С. 486-491.
78. Яцевич, А.П. Создание серии моносомных линий яровой пшеницы Опал, ее изучение и использование в генетико-селекционных исследованиях: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.15. – Минск, 1987. – 19 с.
79. Ячевская, Г.Л. Геномный состав мягкой пшеницы. / Г.Л. Ячевская // Цитогенетика пшеницы и ее гибридов. – М.: Наука, 1971. – С. 7-29.
80. Alexandrova, O. Replication labeling patterns and chromosome territories typical of mammalian nuclei are conserved in the early metazoan Hydra / O. Alexandrova, I. Solovei, T. Cremer, C. David // Chromosoma. – 2003. – V. 112. – P. 190-200.
81. Alexandru, G. Sister chromatid separation and chromosome reduplication are regulated by different mechanisms in response to spindle damage // G. Alexandru, W. Zacharie, A. Schleffer, K. Nasmyth // EMBO J. – 1999. - V. 18. – P. 2707-2721.
82. Amor, D.J. Building the centromere: from foundation proteins to 3D organization / D.J. Amor, P. Kalitsis, H. Sumer, K.H.A. Choo // Trends Cell Biol. – 2004. – 14. – P. 359-368.
83. Apolinarska, B. Differential suppression of homoeologous pairing in two recombinants of *Triticum aestivum* / B. Apolinarska, A.J. Zukarzewski // Wheat Inform. Serv. – 1980. – No.51. – P. 7-9.
84. Aragon-Alcaide, L. Association of homologous chromosomes during floral development / L. Aragon-Alcaide, S. Reader, A. Beven, P. Shaw, T. Miller, G. Moore // Cur. Biol. – 1997. – 7. – P.905-908.

85. Aragon-Alcaide, L. Centromeric behavior in wheat with high and low homoeologous chromosome pairing / L. Aragon-Alcaide, S. Reader, T. Miller, G. Moore // *Chromosoma*. – 1997. – 106. – P. 327-333.
86. Attner, M.A. Polo kinase Cdc5 is a central regulator of meiosis I / M.A. Attner, M.P. Miller, L. S. Ee, S.K. Elkin, A. Amon // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2013. – 110. – P. 14278-14283.
87. Avivi, L. Mechanism of non-random chromosome placement in common wheat / L. Avivi, M. Feldman // *Fourth International Wheat Genetics Symposium, University of Missouri, Columbia, Missouri, USA.* – 1973. – P. 627-633.
88. Avivi, L. Arrangement of chromosomes in the interphase nucleus of plants / L. Avivi, M. Feldman // *Hum. Genet.* – 1980. – Vol. 55. – P. 281-295.
89. Bajer, A. Formation of spindle fibers, kinetochore orientation, and behavior of the nuclear envelope during mitosis in endosperm / A. Bajer, J. Mole-Bajer // *Chromosoma*. – 1969. – Vol. 27, No. 4. – P. 448-484.
90. Bajer, A. Asters, poles, and transport properties within spindle-like structures microtubule arrays / A. Bajer, J. Mole-Bajer // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* – 1982. – Vol. 46, Pt. 1. – P. 263-283.
91. Bannier, E. Untersuchungen zum meiotischen Paarungsverhalten der Chromosomen in monosomen F_1 Bastarden des Weizens (*Triticum aestivum* L.) / E. Bannier // *Archiv. Zuchtungsforsch.* – 1978. – Vol. 8, No. 4. – P. 243-252.
92. Barnhart, M.C. HJURP is a CENP-A chromatin assembly factor sufficient to form a functional de novo kinetochore / M.C. Barnhart, P.H. Kuich, M.E. Stellfox, J.A. Ward, E.A. Basset, B.E. Black, D.R. Foitz // *J. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 194, N° 2. – P. 229-243.
93. Bass, Y.W. Telomeres cluster de novo before the initiation of synapsis: a three dimensional spatial analysis of telomere positions before and during meiotic prophase / Y.W. Bass, W.F. Marshall, J.W. Sedat, D.A. Agart, W.Z. Cande // *J. Cell Biol.* – 1997. – 137. – P. 5-18.

94. Bayliss, M.W. An analysis of temperature-dependent asynapsis in *Triticum aestivum* / M.W. Bayliss, R. Riley // Genet. Res. – 1972. – Vol. 20, No.2. – P. 193-200.
95. Beadle, G.W. The relation of crossing-over to chromosome association in *Zea-Euchlaena* hybrids / G.W. Beadle // Genetics. – 1932. – No.7. P. 481-501.
96. Beadle, G.W. Chromosome aberration and the gene mutation in sticky chromosome plants of *Zea mays* / G.W. Beadle // Cytologia, Fujii Jubilee vol. – 1937. – P. 43-56.
97. Benavente, E. Pairing competition between identical and homologous chromosomes in diploid and tetraploid cells of rye telotrismic plants / E. Benavente, J. Orellana // Canad J. Genet. Cytol. – 1986. – V. 28. – P. 568-573.
98. Bennet, M.D. Nucleotypic basis of the spatial ordering of chromosomes in eukaryotes and the implications of the order for genome evolution and phenotypic variation / M.D. Bennet // The systematic association special. – L. – 1982. – Vol.20. Genome Evolution/ - P. 230-261.
99. Bhatia, G.S. Cytology and genetics of some Indian wheats. II. The cytology of some Indian / G.S. Bhatia // Ann. Bot. – 1938. –No.2. – P.335-371.
100. Biedermann, B. Translational repression of cyclin E prevents precocious mitosis and embryonic gene activation during *C. elegans* meiosis / B. Biedermann, J. Wright, M. Senften, I. Kalchhauser, G. Sarathy, Min-Ho Lee // Dev Cell. – 2009. – 17. – P. 355-364.
101. Biggins, S. Captivating capture: how microtubules attach to kinetochores / S. Biggins, C.E. Walczak // Cur. Biol. – 2003. – 13. – P. 449-460.
102. Blakeslee, A.F. Variations in *Datura* due to changes in chromosome number / A.F. Blakeslee // Amer. Nat. – 1922. – Vol.56, No.642. – P 16-31.
103. Bowers, S.R. Starting from scratch: de novo kinetochore assembly in vertebrates / S.R. Bowers, B.G. Mellone // Embo J. – 2011. – Vol. 30, N^o 19. – P. 3882-3884.

104. Brinkley, B.R. The fine structure of the kinetochore of a mammalian cell *in vitro* / B.R. Brinkley, E. Stubblefield // *Chromosoma*. – 1966. – 19. – P. 28-43.
105. Camara, A.S. Efeitos dos raios-X nos cromosomas do *Triticum monococcum* sua analyse na apreciacao de bilogenia do Trigo / A.S. Camara // *Anais Inst. Super. Agron.* – 1935. – No.7. – P. 5-38.
106. Camara, A.S. Estudo comparative de coriotypos no genero *Triticum* /A.S. Camara // *Agron. Lusitanf.* 1943. – Vol.5, No.1. – P. 95-117.
107. Cao, L. Phylogenetic analysis of CDK and cyclin proteins in premetazoan lineages / L. Cao, F. Chen, X. Yang, W. Xu, J. Xie, L. Yu // *BMC Evol. Biol.* – 2014. – 14:10. – Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/14/10>.
108. Carter, J.S. (2014-01-14). Mitosis /J.S. Carter // 2014-01-14. – Режим доступа: (http://biology.clc.uc.edu/courses/bio_104/mitosis.htm). *biology.clc.uc.edu*.
109. Ceoloni, C. Effect of different doses of group-2 chromosomes on homoeologous pairing in intergeneric wheat hybrids / C. Ceoloni, I. Strauss, M. Feldman // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1986. –Vol.28, No.2. – P. 240-246.
110. Chan, G.K. Kinetochore structure and function / G.K. Chan, Liu Song-Tao, T.J. Yen // *Trends in Cell Biology*. – 2005. 15(11). – P. 589-598
111. Chan, G.K.T. Human BUBR1 is a mitotic checkpoint kinase that monitors CENP-E functions at kinetochores and binds the cyclosome/APC / G.K.T. Chan, S.A. Jblonski, V. Sudakin, J.C. Hittle, T.J. Yen // *L. Cell Biol.* – 1999. – 146(5). – P. 941-954.
112. Chan, G.K.T. The mitotic checkpoint: a signaling pathway that allows a single anattached kinetochore to inhibit mitotic exit / G.K.T. Chan, T.J. Yen // *Proc. Cell Cycle Res.* - 2003. – 5. – P. 431-439.
113. Chan, R.C. Condensin restructures chromosomes in preparation for meiotic divisions / R.C. Chan, A.F. Severson, B.J. Meyer // *J. Cell Biol.* – 2004. – 167. – P. 613-625.
114. Cheeseman, I.M. Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface // I.M. Cheeseman, A. Desai // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2008. – Vol. 9,

N° 1. – P. 33-46.

115. Chelysheva, L. AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis / L. Chelysheva, S. Diallo, D. Vezon, G. Gendrot, N. Vrielynck, K. Belcram, N. Rocques, A. Marquez-Lema, A.M. Bhatt, C. Harlow, R. Mercier, C. Mezard, M. Grelon // *J. Cell Sci.* – 2005. – 118(Pt20). – P. 462-432.

116. Chepman, V. The location of an Ltp gene in hexaploid wheat / V. Chapman, C.N. Law // *EWAC Newslett.* – 1974. –No.4. – P. 10-11.

117. Church, K. Kinetochores microtubules and chromosome movement during prometaphase in *Drosophila melanogaster* spermatocytes studied in life and with the electron microscope / K. Church and H.P. Lin // *Chromosoma (Berl.)*. – 1985. – 92. – P. 273-285.

118. Cimini, D. Merotelic kinetochore orientation is a major mechanism of aneuploidy in mitotic mammalian tissue cells / D. Cimini // *J. Cell Biol.* – 2001. – 153. – P. 517-527.

119. Cimini, D. Merotelic kinetochore orientation occurs frequently during early mitosis in mammalian tissue cells and error correction is achieved by two different mechanisms / D. Cimini, B. Moree, J.C. Canman, E.D. Salmon // *Journal of Cell Science.* – 2003. – 116. – P. 4213-4225.

120. Clark, A.J. Cytogenetic studies of divergent meiotic spindle formation in *Zea mays* / A.J. Clark // *Amer. J. Bot.* – 1940. – 27. – P. 547-557.

121. Clarke, P.R. Spatial and temporal coordination of mitosis by Ran GTPase / P.R., C. Zhang // *Nat Rev Mol Biol.* – 2008. – Vol. 9, N° 6. – P. 464-477.

122. Clausen R.E. Interspecific hybridization in *Nicotiana*. III. The monosomic tabacum derivative “corrugated”, from the silvestris-tabacum hybrid / R.E. Clausen, T.H. Goodspeed // *Univ. Calif. Publ. Botany.* – 1926. – Vol.11, No.4. – P. 83-101.

123. Clausen, R.E. Polyploidy in *Nicotiana* /R. Clausen // *Amtr. Nat.*. - 1941a. - Vol. 75. - P. 291-309.

124. Clausen, R.E. Monosomic analysis in *Nicotiana tabacum* (abstr.) /R. Claysen //Genet. cs.. - 1941b. - Vol.26. - P. 145.
125. Cleveland, D.W. Centromeres and kinetochores: from epigenetics to mitotic checkpoint signaling / D.W. Cleveland, Y. Mao, K.F. Sullivan // Cell. – 2003. – 112(4). – P. 407-421.
126. Cooper, G.M. The cell: The molecular approach (2nd ed.) // Chapter 14: The Eukaryotic Cell Cycle. – 2000. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9876>.
127. Corbett, K.D. The monopolin complex crosslinks kinetochore components to regulate chromosome-microtubule attachments / K.D. Corbett, C.K. Yip, L.S. Ee, T. Walz, A. Amon, S.C. Harrison // Cell. – 2010. – 142(4). – P. 556-557.
128. Corredor, E. Terminal regions of wheat chromosomes select their pairing partners in meiosis / E. Corredor, A.J. Lukaszewski, P. Pachon, D.C. Allen, T. Naranjo // Genetics. 2007. – 177. – P. 699-706.
129. Cowan, C.R. The polar arrangement of telomere in interphase and meiosis. Rab1 organization and the bouquet / C.R. Cowan, P.M. Carlton, W.Z. Cande // Plant Physiol. – 2001. – 125. – P. 532-538.
130. Cowan, C.R. Reorganization and polarization of the meiotic bouquet-stage cell can be uncoupled from telomere clustering / C.R. Cowan, P.M. Carlton, W.Z. Cande // J. of Cell Science. – 2002. – 115(19). – P. 3757-3766.
131. Cremer, M. Inheritance of gene density-related chromatin arrangements in normal and tumor cell nucleus / M. Cremer, K. Kupper, B. Wagler, L. Wizelman, J. v. Yase, Y. Weiland, L. Kreja, J. Diebold, M.R. Speicher, T. Cremer // J. Cell Biol. – 2003. – V. 162, No 5. – P. 809-820.
132. Darlington, C.D. Meiosis / C.D. Darlington // Biol. Revs. – 1931. - Vol. 6. – P. 221-264.
133. Darlington, C.D. Recent advances in cytology. – 2-nd. – 1937. – London – Churchill.

134. Datar, S.A. The *Drosophila* CycD/cdk4 complex promotes cellular growth / S.A. Datar, H.W. Jacobs, A.F. de la Cruz, C.F. Lehner, B.A. Edgar // *EMBO J.* - 2000. - V. 19, No. 17. - P. 4543-4554.
135. Davidson, G. Emerging links between CDK cell cycle regulators and Wnt signaling / G. Davidson, C. Niehrs // *Trends Cell Biol.* - 2010. - 20. - P. 453-460.
136. Davis, B.K. Genetic analysis of a meiotic mutant resulting in precocious system centromere separation in *Drosophila melanogaster* / B.K. Davis // *Mol. Gen. Genet.* - 1971. - 113. - P. 251-272.
137. Dawe, R.K. Meiotic chromosome organization and segregation in plants / R. K. Dawe // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*. - 1998. - 49. - P. 371-395.
138. Dawe, R.K. Meiotic chromosome pairing in maize is associated with a novel chromatin organization / R.K. Dawe, J.W. Sedat, D.A. Agard, W.Z. Cande // *Cell.* - 1994. - 76. - P. 901-912.
139. Denis, J.B. Analyse statistique des configurations meiotiques lors de la creation d'une serie monosomique du ble tender "Court" / J.B. Denis, M. Bernard, J. Arnoux, Y. Cauderon // *Agronomie.* - 1982. - Vol.2, No.8. - P. 701-708.
140. Dernburg, A.F. Here, there, and everywhere: kinetochore function on holocentric chromosomes / A.F. Dernburg // *J. Cell Biol.* - 2001. - 153(6). - P. 33-38.
141. Dervey, N.L. Switching-on and -off of genes for nucleolar activity in Chinese Spring / N.L. Dervey, C.J. Driscoll // *EWAC Newslett.* - 1974. - No. 4. - P. 63-64.
142. Desai, A. Microtubule polymerization dynamics / A. Desai, T.J. Mitchison // *Annu Rev Cell Dev Biol.* - 1997. - Vol. 13. - P. 83-117.
143. Dewar, H. Tension between two kinetochores suffices for their bi-orientation on the mitotic spindle / H. Dewar, K. Tanaka, K. Nasmyth, T.U. Tanaka // *Nature.* - 2004. - 428. - P. 93-97.

144. Doree, M. & Hunt T. From Cdc2 to Cdk1: when did the cell cycle kinase join its cyclin partner? / M. Doree, T. Hunt // *Cell Sci.* – 2002. – Vol. 115, No. Pt 12. – P. 2461-2464.
145. Driscoll, C.J. Alien transfer by irradiation and meiotic control / C.J. Driscoll // *Proc. 3rd Intern. Wheat Genet. Symp.* – Canberra. – Australia. – 1968. – P. 196-204.
146. Driscoll, C.J. Genetic suppression of homoeologous pairing in hexaploid wheat / C.J. Driscoll // *Can. J. Genet. and Cytol.* – 1972. - Vol.14, No.1. – P. 39-42.
147. Driscoll C.J. Minor genes affecting homoeologous pairing in hybrids between wheat and related genera / C.J. Driscoll // *Genetics.* – 1973. – VOL.74. – P.556.
148. Driscoll, C.J. An analysis of frequencies of chromosome configurations in wheat and wheat hybrids / C.J. Driscoll, L.M. Bieling, N.L. Darvey // *Genetics.* – 1979. – 91. – P. 775-767.
149. Duro, E. From equator to pole: splitting chromosomes in mitosis and meiosis / E. Duro, A.L. Marston // *Genes & Development.* – 2015. – 29. – P. 109-122.
150. Dvorak, J. Centromere association is an unlikely mechanism by which the wheat Ph1 locus regulates metaphase I chromosome pairing between homoeologous chromosomes / J. Dvorak, A. Lukaszewski // *Chromosoma.* – 2000. – 109, No.6. – P. 410-414.
151. Dvorak, J. The C-band pattern of a Ph mutant of durum wheat / J. Dvorak, K.C. Chen, B. Giorgi // *Can. J. Genet. Cytol.* - 1984. – Vol. 26. – P. 360-363.
152. Dyson, N. The regulation of E2F by pRb-family proteins / N. Dyson // *Genes Dev.* – 1998. – V. 12. – P. 2245-2262.
153. Ehrenberg, C.E. Studies on a synopsis in the elm, *Ulmus glabra* Hund / C.E. Ehrenberg // *Hereditas.* – 1949. – 35. - P. 1-49.
154. Elledge, J.S. Mitotic arrest: Mad2 prevents sleep from waking up the APC / J.S. Elledge // *Science.* – 1998. – V. 279. – P. 999-1000

155. Evans, T. Cyclin: a protein specified by maternal mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at each cleavage division / T. Evans, E.T. Rosental, J. Youngblom, D. Distel, T. Hunt // *Cell*. – 1983 - V. 33, No.3. – P. 389-396.
156. Evert, R.F., Eichhorn S.E. Raven Biology of plants. – 8 edition. – W.H. Freeman and Company, 2013. – ISBN 978-1-4292-1961-7.
157. Faberge, A.C. Homoeologous chromosome pairing: the physical problem / A.C. Faberge // *J. Genet.* – 1942. – Vol. 43. – P. 121.
158. Feaquet, D. A Bub2p-dependent spindle checkpoint pathway regulates the Dbf2p kinase in budding yeast / D. Feaquet, P.J. Fitzpatrick, A.L. Johnson, K.M. Kramer, J.H. Toyn, L.H. Johnston // *EMBO J.* – 1999. – V. 18. – P. 2424-2434.
159. Feldman, M. The effect of chromosomes 5B, 5D and 5A on chromosomal pairing in *Triticum aestivum* / M. Feldman // *Proc. Nat. Acad. Sci USA*. 1966. – Vol. 55, № 6. – P. 1447-1453.
160. Feldman, M. Regulation of somatic association and meiotic pairing in common wheat / M. Feldman // In K.W. Finlay and K.W. Sheperd (ed.) *Proc. Intl. Wheat Genet. Symp.*, 3rd, Canberra, Australia. 5-9 Aug. 1968. Australia Academy of Science, Canberra. – 1968. – P. 169-178.
161. Feldman, M. Cytogenetic activity and mode of action of the pairing homoeologous (Ph1) gene of wheat / M. Feldman // *Crop. Science*. – 1993. – Vol. 33, No.5. – P. 894-897.
162. Feldman, M. The pattern of chromosomal arrangement in nuclei of common wheat and its genetic control / M. Feldman, L. Avivi // In E.R. Sears and L.M.S. Sears (ed.) *Proc. Intl. Wheat Genet. Symp.*, 4th, Columbia, Mo. 6-7 Aug. 1973. Missouri Agric. Exp. Stn., Columbia. – 1973. – P. 675-684.
163. Feldman, M. Ordered arrangement of chromosomes in wheat / M. Feldman, L. Avivi // *Chromosomes Today*. – 1984. – 8. –m P. 181-190.
164. Feldman, M. Genetic control of bivalent pairing in common wheat: the mode of *Ph1* action / M. Feldman, L. Avivi // In P.G. Brandham (ed) *Kew Chromo-*

some Conference III, HMSO, Royal Botanic Gardens, Kew. 1-8 Sept. 1987. Kew Richmond. Surrey, UK. – 1988. – P. 269-279.

165. Feldman, M. Somatic association in *Triticum aestivum* / M. Feldman, Mello-Sampayo, E.R. Sears // *Genetics*. – 1966. – Vol. 56, № 4. P. 1192-1199.

166. Feldman, M. Suppression of homoeologous pairing in hybrids of polyploidy wheat x *Triticum speltoid* / M. Feldman, Mello-Sampayo // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1967. – Vol.9. – P. 307-313.

167. Ferrer, E. The meiotic pairing of nine wheat chromosomes / E. Ferrer, J.M. Gonzalez, N. Jouve // *Theor. And Appl. Genet.* – 1984. – Vol.69, No.2. – P. 193-198.

168. Flavell, R.B. Variation in nuclear organizer rRNA gene multiplicity in wheat / R.B. Flavell // *EWAC Newslett.* – 1974. – No.4. – P. 17-19.

169. Flemming, W. *Zellsubstanz, Kern und Zellteilung* / W. Flemming // Leipzig. – 1882.

170. Foster, H.A. The genome and the nucleus: a marriage made by evolution. Genome organization and nuclear architecture / H.A. Foster, J.M. Bridger // *Chromosoma*. – 2005. – V. 114. – P. 212-229.

171. Fraschini, R. Budding yeast Bub2 is located at spindle pole bodies and activates the mitotic checkpoint via a different pathway from Mad2 / R. Fraschini, E. Formenti, G. Lacchini, S. Piatti // *J. Cell Biol.* – 1999. – V. 145. – P. 979-991.

172. Gadde, S. Mechanisms and molecules of the mitotic spindle / S. Gadde, R. Heald // *Cur. Biol.* – 2004. – 14. – P. 797-805.

173. Gaines, E.F. A haploid wheat plant / E.F. Gaines, H.C. Aase // *Amer. J. Bot.* – 1926. – Vol.13. – P. 373-385.

174. Gaitanos, T.N. Stable kinetochore-microtubule interactions depend on the Ska complex and its new component Ska3/C13Orf3 / T.N. Gaitanos, A. Santamaria, A.A. Jeyaprakash, B. Wang, E. Conti, E.A. Nigg // *EMBO J.* – 2009. – 28. – P. 1442-1452.

175. Ganeva, G. Effect of nullicomy for D-genome chromosomes and chromosome 5B on the cytological characteristics of pentaploid *Triticum aestivum* x *T. dicoccoides* / G. Ganeva, B. Bocheva // *Genome*. – 1987. – Vol.29, No.2. – P. 221-224.
176. Gascoigne, K.E. Induced ectopic kinetochore assembly bypasses the requirement for CENP-A nucleosomes / K.E. Gascoigne, K. Takeuchi, A. Suzuki, T. Hori, T. Fukagawa, I.M. Cheeseman // *Cell*. – 2011. – Vol. 145, N° 3. – P. 410-422.
177. Gassman, R. A New mechanism controlling kinetochore-microtubule interactions revealed by comparison of two dynein-targeting components / R. Gassman, A. Essex, J.S. Hu, P. Maddox, F. Motegi, A. Sugemoto, S. O'Rourke, B. Bowerman, I. McLeod, J. Yates et al. // *Genes & Dev*. – 2008. – 22. – P. 2385-2399.
178. Gillies, C.B. The effect of Ph gene alleles on synaptonemal complex formation in *Triticum aestivum* x *T. Kotschyi* hybrids / C.B. Gillies // *Theor Appl Genet*. – 1987. – 74. – P. 430-438.
179. Gimini, D. Aurora kinase promotes turnover of kinetochore microtubules to reduce chromosome segregation errors / D. Gimini, X. Wan, C.B. Hirel, E.D. Salmon // *Curr. Boil.* – 2006. – 16(17). – P. 1711-1718.
180. Giraldez, R. Univalent behavior at anaphase I desynaptic rye / R. Giraldez, R. Lacadena // *Chromosoma*. – 1976. – 59. – P.63-72.
181. Gloria, A. Emerging roles for centromeres in meiosis I chromosome segregation / A. Gloria, A. Amon // *Nat Rev Genet*. – 2008. – 9(12). – P. 899-910.
182. Glotzler, M. Cyclin is degraded by the ubiquitin pathway / M. Glotzler, A.W. Murray, M.W. Kirschner // *Nature*. – 1991. – V. 349. – P. 132-138.
183. Goldstein, L.S.B. Kinetochore structure and its role in chromosomal orientation during the first meiotic division in male *D. melanogaster* / L.S. Goldstein // *Cell*. – 1981. – 25. – P. 591-602.
184. Golubovskay, I.N. Alleles of *afd1* dissect REC8 functions during meiotic prophase I / I.N. Golubovskay // *J. Cell Sci.* – 2008. – V.119. – P. 3306-331.

185. Greer, E. The *Ph1* locus Suppresses CDK2-type activity during premeiosis and meiosis in wheat / E. Greer, A.C. Martin, A. Pendle, I. Colas, A.M.E. Jones, G. Moore, P. Shaw // *The Plant Cell*. – 2012. – 24(1). – P. 152-162.
186. Gregan, J. Merotelic kinetochore attachment: causes and effects / J. Gregan, S. Polakova, L. Zhang, I.M. Tolic-Nerrellykke, D. Cimini // *Trend Cell Biol.* – 2011. – 21(6). – P. 374-381.
187. Guse, A. In vitro centromere and kinetochore assembly on defined chromatin templates / A. Guse, C.W. Carroll, B. Moree, C.J. Fuller, A.F. Straight // *Nature*. – 2011. – Vol. 477, N° 7364. – P. 354-358.
188. Habermann, F.A. Arrangements of macro- and microchromosomes in chicken cell / F.A. Habermann, M. Cremer, J. Walter, G. Kreth, J. von Hase, K. Bauer, J. Wienberg, C. Cremer, T. Cremer, I. Solovei // *Chromosome Res.* – 2001. – V. 9(7). – P. 569-584.
189. Hao, M. Comparison of homoeologous chromosome pairing between hybrids of wheat genotypes Chinese Spring *ph1b* and Kaixian-luohanmai with rye / M. Hao, J. Luo, M. Yang, L. Zhang, Z. Yan, Z. Yuan, Y. Zheng, H. Zhang, D. Liu // *Genome*. – 2011. – 54. – P. 1-6.
190. Hartwell, L. Genetic control of the cell division cycle on yeast / L. Hartwell, J. Culotti, J.R. Pringle, B.J. Reid // *Science*. – 1974. – V. 183. P. 46-51.
191. Hauf, S. Aurora controls sister kinetochore mono-orientation and homolog bi-orientation in meiosis-I / S. Hauf, A. Biswas, M. Langeegger, S.A. Kawashima, T. Tsukahara, Y. Watanabe // *EMBO J.* – 2007. – 26. – P. 4475-4486.
192. Hauf, S. Kinetochore orientation in mitosis and meiosis / S. Hauf, Y. Watanabe // *Cell*. – 2004. – Vol. 119. – P. 317-327.
193. Hayashi, A. Meiotic behaviours of chromosomes and microtubules in budding yeast: relocalization of centromeres and telomeres during meiotic prophase / A. Hayashi, H. Ogawa, K. Kohno, S.M. Gasser and Y. Hiraoka // *Genes to Cells*. – 1998. – 3. - P. 587-601.

194. Hayter, A.M. Duplicate genetic activities affecting meiotic chromosome pairing at low temperatures in *Triticum* / A.M. Hayter, R. Riley // *Nature (Engl.)*. – 1967. – Vol.216, No.5119. – P. 1028-1029.
195. Heywood, P. Ultrastructure of mitosis in the chloromonadophycean alga *Vacuolaria virescens* / P. Heywood // *J. of Cell Science*. – 1978. – V. 31. – P. 37-51.
196. Hirano, T. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions / T. Hirano // *Genes Dev.* – 2012. – 26. – P. 1659-1678.
197. Hobolth, P. Chromosome pairing in allohexaploid wheat var. Chinese Spring. Transformation of multivalent into bivalents, a mechanism for exclusive bivalent formation / P. Hobolth // *Carlsberg Res. Commun.* – 1981. – 46. – P. 129-173.
198. Holm, P.B. Chromosome pairing and chiasma formation in allohexaploid Wheat. *Triticum aestivum* analyzed by spreading of meiotic nuclei / P.B. Holm // *Carlsberg Res. Commun.* – 1986. – 51. – P. 239-294.
199. Holm, P.B. Chromosome pairing and synaptonemal complex formation in hexaploid wheat, monosomic and disomic for the long arm of chromosome 5B / P.B. Holm // *Carlsberg Res. Commun.* – 1988. – Vol.53, No.2. – P. 11-113.
200. Holm, P.B. An ultrastructural analysis of the effect of chromosome 5B on chromosome pairing in allohexaploid wheat / P.B. Holm, X. Wang, B. Wischman // In P.E. Brandham (ed.) *Kew Chromosome Conference III*, HMSO, Royal Botanic Gardens. Kew. 1-8 sept. 1987. Kew Richmond, Surrey, UK. – 1988. – P. 281-291.
201. Hoppe J., Zeller F.J. Assoziation doppel di-telozentrischer chromosomen in der metaphase I der meiose von *Secale cereal L.* / J. Hoppe, F.J.Zeller // *Z. Pflanzenzuchtg.* – 1982. – Bd. 89. – S. 307-311.
202. Hoyt, M.A. A new view of the spindle checkpoint / M.A. Hoyt // *J. Cell Biol.* – 2001. – 154. – P. 909-911.
203. Ishiguro, K. A new meiosis-specific cohesin complex implicated in the cohesin code for homologous pairing / K. Ishiguro, J. Kim, S. Fujiyama-Nakamura, S. Kato, Y. Watanabe // *EMBO Rep.* – 2011. – 12(3). – P. 267-275.
204. Ishiguro, T. Shugoshin-PP2A counteracts casein-kinase-1-dependent

cleavage of Rec8 by separase / T. Ishiguro, K. Tanaka, T. Sakuno, Y. Watanabe // Nat. Cell Biol. – 2010. – 12. – P. 500-506.

205. Jasencakova, Z. Chromatin organization and its relation to replication and histone acetylation during the cell cycle in barley / Z. Jasencakova, A. Meister, I. Schubert // Chromosoma. – 2001. - 110(2). – P. 83-92.

206. Jenkins, G. Chromosome pairing in *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring / G. Jenkins // Carlsberg Res Commun. 1983. – 48. – P. 255-283.

207. Jin, D.Y. Human T cell leukemia virus type 1 oncoprotein Tax targets the human mitotic checkpoint protein Mad1 / D.Y. Jin, F. Spenser, K.T. Jeang / Cell. – 1998. – V. 93. – P. 81-91.

208. Jin, Q. Yeast nuclei display prominent centromere clustering that is reduced in nondividing cells and in meiotic prophase / Q. Jin, E. Trelles-Sticken, H. Scherthan & J. Loidl // Cell Biol. – 1998. – 141. – P. 21-29.

209. Joglekar, A.P. Mechanisms of force generation by end-on kinetochore-microtubule attachments / A.P. Joglekar, K.S. Bloom, E. Salmon // Curr Opin Cell Biol. – 2010. 22(1). – P. 57-67.

210. Johannsen, W. Elemente der exakter Erblchkeitslehre, Jena, Fischer. - 1909. .

211. Johnson, H. Meiotic aberrations and sterility in *Alopecurus myosuroides* Huds / H. Johnson // Hereditas. – 1944. – 30. – P. 469-566.

212. Jones, G.H. Meiotic chromosome synapsis and recombination in *Arabidopsis thaliana*; an interpretation of cytological and molecular approaches / G.N. Jones, S.L. Armstrong, A.P. Caryl, F.C. Franclin // Chromosome Res.. – 2003. – V.11. – P. 206-215.

213. Joshi, B.C. Regulation of chromosome pairing in *Triticum*. / B.C. Joshi, D. Singh, M.S. Tomar // Phytomorphology. – 1983. – Vol. 33, № 1 – 4. - P. 46-54.

214. Katis, V.L. Rec8 phosphorylation by casein kinase1 and Cdc7-Dbf4 kinase regulates cohesin cleavage by separase during meiosis / V.L. Katis, J.J. Lipp, R. Imre, A. Bogdanova, E. Okaz, B. Habermann, K. Mechtler, K. Nasmyth, W. Zacha-

riae // *De. Cell.* – 2010. – 18. – P. 397-409.

215. Keeney, S. Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family / S. Keeney, C.N. Giroux, N. Kleckner // *Cell.* – 1997. – 88. – P. 375-384.

216. Kemp, B. A role for centromere pairing in meiotic chromosome segregation / B. Kemp, R.M. Boumil, M.N. Stewart and D.S. Dawson // *Genes and Development.* – 2004. – 18. – P. 1946-1951.

217. Kempanna, C. Relationships between the genetic effect of deficiencies for chromosomes III and V on meiotic pairing in *Triticum aestivum* / C. Kempanna, R. Riley // *Nature.* – 1962. – Vol.195. – P. 1270-1273.

218. Kerby, K. Biochemical data bearing on the relationship between the genome of *Triticum urartu* and the A and B genomes of the polyploidy Wheats. / K. Kerby, J. Kuspira, B.L. Jones // *Genome.* – 1988. – 30, № 4. – P. 576-581.

219. Khan, A.A. Cytogenetics and Evolution of *Triticum aestivum* L. em Thell. / A.A. Khan, M. Khaliq, M.S. Nawaz-Ur-Rehman and A. Irshad // *Int. J. Agri. Biol.* – 2005- Vol.7, № 3. P. 527-534.

220. Kihara, H. Cytologische und genetische Studien bei wichtigen Getreidearten mit besonderer Rücksicht auf das Verhalten der Chromosomen und die Sterilität in den Bastarden. / H. Kichara // *Mem. Col. Sci. Univ. Kyoto, ser. B.* – 1924. – 1. – P. 1-200.

221. Kihara, H. Origin of wheat / H. Kichara // *Wheat Inform. Serv.* – 1954. – No. 1. – P. 35-42.

222. Kihara, H. A new synthesized 6x-wheat. / H. Kihara, F.A. Lillienfeld // *Proc. Eighth Internat. Congr. Genetic.* – 1949. – P. 307.

223. Kihara, H. Wheat and its relatives. / H. Kichara, K. Yamashita // *Wheat Inform. Serv.* – 1956. - № 4. – P. 16-25.

224. Kihara, H. Some aspects of the new amphidiploids synthesized from the hybrids, Emmer wheat x *Ae. Squarrosa* var. *strangulate*. / H. Kihara, K. Yamashita, H. Tanaka, J. Tabushi // *Wheat Inform. Serv.* – 1957. - № 6. – P. 13-14.

225. Kimber, G. Estimate of the number of gene involved in the genetic suppression of the cytological diploidisation of wheat / G. Kimber // *Nature*. – 1966. – 212. – P. 317.
226. Kirschner, M. Beyond self-assembly: from microtubules to morphogenesis / M. Kirschner, T. Mitchison // *Cell*. – 1986. – 45. – P. 329-342.
227. Kitajima, T. Shugoshin collaborates with protein phosphatase 2A to protect cohesin / T. Kitajima, T. Sakuno, K-i. Ishiguro, S-i. Imura, T. Natsume, S.A. Kawashima, Y. Watanabe // *Nature*. – 2006. – 441. – P. 46-52.
228. Kitamura, E. Kinetochores generate microtubules with distal plus ends: their roles and limited lifetime in mitosis // E. Kitamura, K. Tanaka, S. Komoto, Y. Kitamura, C. Antony, T.U. Tanaka // *Dev Cell*. – 2010. – Vol. 18, N^o 2. – P. 248-259.
229. Klein, H.D. Desynapsis und Chromosomenbrüche in einer Mutante von *Pisium sativum* / H.D. Klein // *Muta. Res.* – 1969. – 8. – P. 277-284.
230. Knowlton, A.L. Aurora B is enriched at merotelic attachment sites, where it regulates MCAK / A.L. Knowlton, W. Lan, P.T. Stukenberg // *Cur. Biol.* – 2006. – 16. – P. 1705-1710.
231. La Cour. Meiotic prophase in anthers of synaptic wheat. A light and electron microscopical study / L.F. La Cour, B. Wells // *Chromosoma*. - 1970. – 29. – P. 419-427.
232. Lackie, J.M. The dictionary of cell and molecular biology. – 5 edition. – Academic Press, 2013. - 750 p.
233. Lampson, M.A. Sensing centromere tension: Aurora B and the regulation of kinetochore function / M.A. Lampson, I.M. Cheeseman // *Trends Cell Biol.* – 2011. – 21(3). – P. 133-140.
234. Larsen, J. The effect of the genotype of *Triticum speltoides* on the pairing of homologous chromosomes. / J. Larsen, G. Kimber // *Can J. Genet. And Cytol.* – 1973. – Vol. 15, N^o 2. – P. 233-236.
235. Larsen, J. The meioses of diploid and autotetraploid *Triticum speltoides*. / J. Larsen, G. Kimber // *EWAC Newsletter*. – 1974. - N^o 4. – P. 82-83.

236. Larson, R.I. Aneuploid analysis of inheritance of solid stem in common wheat / R.I. Larson // *Genetics*. – 1952. – Vol. 37. – P. 597-598.
237. Larson, R.I. Cytogenetics of solid stem in common wheat. I. Monosomic F2 analysis of the variety S-615 / R.I. Larson // *Can. J. Bot.* – 1959. – Vol. 37. – P. 135-136.
238. Larson, R.I. Cytogenetics of solid stem in common wheat. II. Stem – solidness of monosomic lines of the variety S-615 // R.I. Larson, M.D. McDonald // *Can. J. Bot.* – 1959a. – Vol. 37. – P. 365-378.
239. Larson, R.I. Cytogenetics of solid stem in common wheat. III. Culm measurements and their relation to stem solidness in monosomic lines of variety S-615 / R.I. Larson, M.D. McDonald // *Can. J. Bot.* – 1959b. – Vol. 37. – P. 379-391.
240. Law, C.N. Asynaptic genes of wheat / C.N. Law, A.J. Worland // *EWAC Newslett.* – 1974. – No.4. – P. 9-10.
241. Lettre, H. Persistenz der chromosomenspindelfaser, ein arbeitshypothese zur deuteng der kariokinetschen voryange / H. Lettre, R. Lettre // *Naturwissenschaften*. – 1957. – 44. – P. 406.
242. Li, H.W. Desynapsis in the common wheat / H.W. Li, W.K. Pao, C.H. Li // *Amer. J. Bot.* –m 1945. – Vol. 32, No.2. – P. 92-101.
243. Li, X. Fused sister kinetochores initiate the reductional division in meiosis I / X. Li, R.K. Dawe // *Nat. Cell Biol.* – 2009. – 11. – P. 1103-1108.
244. Liang, G.H. Genetic control of meiotic irregularities in Mediterranean wheat / G.H. Liang, Ch. Deyoe, Hai-Yen Geny // *J. Hetred.* – 1972. – Vol.63, No.5. – P. 271-274.
245. Lifschytz, E. Characterisation of male meiotic sterile mutations in *Drosophila melanogaster*. The genetic control of meiotic divisions and gametogenesis / E.Lifschytz, C.F. Meyer // *Chromosoma*. – 1977. – 64. – P. 371-392.
246. Liu, D. Sensing chromosome bi-orientation by spatial separation of auro-
ra B kinase from kinetochore substrates / D. Liu, G. Vader, M.G.M. Vromans, M.A. Lampson, S.M.A. Lens // *Sciense*. – 2009. – 323(5919). – P. 1350-1353.

247. Liu D. Regulated targeting of protein phosphatase 1 to the outer kinetochore by KNL1 opposes Aurora B kinase / D. Liu, M. Vleugel, C.B. Backer, T. Hori, T. Vukagavwa, I.M. Cheeseman, M.A. Lampson // *J. Cell Biol.* – 2010. – 188(6). – P. 809-820.
248. Liu, Dengcai. Chromosome location of a new pairing promoter in natural populations of common wheat / Liu Dengcai, Luo Mingcheng, Yang Juliang, Yen Chi, Lan Xinjin / *Southwest china J. Agr. Sci.* – 1997. – 10. – P. 10-15.
249. LIU, Deng-Cai. Combination of Homoeologous Pairing Gene phKL and Ph2-deficiency in Common Wheat and Its Meiotic Behaviors in Hybrids with Alien Species / LIU Deng-Cai, ZHENG You-Liang, YAN Ze-Hong, ZHOU Yong-Hong, WEY Yu-Ming, LAN Xiu-Jin // *Acta Botanic Sinica.* – 2003. – 45(9). – P. 1121-1128.
250. Loidl, J. The initiation of meiotic chromosome pairing the cytological view Genome / J. Loidl // *Genome.* – 1990. – 33. – P. 759-778.
251. Luo, X. The Mad2 spindle checkpoint protein undergoes similar major conformational changes upon binding to either Mad1 or Cdc20 / X. Luo, Z. Tang, J. Rizo, H. Yu // *Mol. Cell.* – 2002. – 9(1). – P. 59-71.
252. Luo, X. The Mad2 spindle checkpoint protein has two distinct natively folded states / X. Luo, G. Xia, K. Wassman, T. Matsumoto, J. Rizo, H. Yu // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2004. – 11(4). – P. 338-345.
253. Luykx, P. Kinetochore-to-pole connection during prometaphase of the meiotic divisions in urechis eggs / P. Liukx // *Exp. Cell Res.* – 1965. – 39. – P. 658-668.
254. Lydall, D. Yeast checkpoint genes in DNA damage processing: implications for repair and arrest / D. Lydall, T. Weinert // *Science.* – 1995. – V. 270. – P. 1488-1491.
255. Ma, Z. Phylogenetic analysis reveals the evolution and diversification of cyclins in eukaryotes / Z. Ma, Y. Wu, J. Jin, J. Yan, S. Kuang, M. Zhang, Y. Zhang, A.Y. Guo // *Mol. Phylogenet Evol.* – 2013. – 66. – P. 1002-1010.

256. Maestra, B. Chromosome arrangement and behavior telosomes at the onset of meiosis in disomic wheat-5RL addition lines with and without the Ph1 locus / B. Maestra, J. Hans de Jong, K. Schepherd, T. Naranjo // *Chromosome Res.* – 2002. – 10. – P. 665-667.
257. Malumbres, M. Cyclin-dependent kinases (Protein family review) / M. Malumbres // *Genome Biology.* – 2014. – 15(6):122. <http://genomebiology.com/2014/15/6/122>.
258. Malumbres, M. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer / M. Malumbres, M. Barbacid // *Nat Rev Cancer.* – 2001. -1. – P. 222-231.
259. Malumbres, M. Mammalian cyclin-dependent kinases / M. Malumbres, M. Barbacid // *Trends Biochem Sci.* – 2005. – 30. – P. 630-641.
260. Marston, A.I. Chromosome segregation in budding yeast: sister chromatid cohesion and related mechanisms / A.I. Marston // *Genetics.* 2014. – 196. – P.31-63.
261. Martinez-Perez, E. Homologous chromosome pairing in wheat / E. Martinez-Perez, P. Shaw, S. Reader, L. Aragon-Alcaide, T. Miller, G. Moore // *Cell Science.* – 1999. – 112. – P. 1761-1769.
262. Martinez-Perez, E. Polyploidy induces centromere association / E. Martinez-Perez, P. Shaw, G. Moore // *J. Cell Biol.* – 2000. – 148. – P. 233-238.
263. Martinez-Perez, E. The Ph1 locus is needed to ensure specific somatic and meiotic centromere association / E. Martinez-Perez, P. Shaw, G. Moore // *Nature.* – 2001. - 411. – P. 204-207.
264. Martinez-Perez, E. Chromosomes from into seven groups in hexaploid and tetraploid wheat as a prelude to meiosis / E. Martinez-Perez, P. Shaw, L. Aragon-Alcaide, G. Moore // *Plant J.* – 2003. – 36. – P. 21-29.
265. Masui, Y. Cytoplasmatic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes / Y. Masui, C.L. Markert // *J. Exp. Zool.* – 1971. – V. 177. – P. 129-145.
266. McAinsh, A.D. Structure, function, and regulation of budding yeast kinetochores / A.D. MacAinsh, J.D. Tytell, P.K. Sorger // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* –

19. - 2003 – P. 519-539.

267. McIntosh, J.R. Spindle structure and the mechanisms of chromosome movement / J.R. McIntosh // *Basic Live Sci.* – 1985. – 36. – P. 197-229.

268. McIntosh, R.A. Catalogue of gene symbols for wheat / R.A. McIntosh // *Seventh Intern. Wheat Symp., Cambridge, England, 13-19 July 1988.* – 1988. – Vol. 2 P. 1225-1322.

269. McKim, K.S. Chromosomal Control of Meiotic Cell Division / K.S. McKim and R.S. Hawley // *Science.* – 1995. – Vol. 270. – P. 1595-1601.

270. Mello-Sampayo, T. The position and effect of the chromosome pairing suppressor carried by chromosome 3D of *Triticum aestivum* / T. Mello-Sampayo // *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* – 1967. – No.3. P.23.

271. Mello-Sampayo, T. The role of chromosome 3D in the regulation of meiotic pairing in hexaploid wheat // T. Mello-Sampayo, R. Lorente // *EWAC Newsllett.* – 1968. – Vol.2. – P. 19-24.

272. Mello-Sampayo, T. Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of *Triticum aestivum* / T. Mello-Sampayo // *Nature. New Biol.* – 1971. – Vol. 230, No.9. – P. 22-23.

273. Mello-Sampayo, T. Suppressors of meiotic chromosome pairing in common wheat / T. Mello-Sampayo, A.P. Canas // *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp., Columbia, Mo, 1973.* – Columbia, Mo. – 1973. – P. 709-713.

274. Metakovsky, E.V. Analysis of phylogenetic relations of durum, carthlicum and common wheats by means of comparison of alleles of gliadin-coding loci / E.V. Metakovsky, A.M. Kudryavtsev, Z.N. Jakobashvili, A.Yu. Novoselskay // *Theor. And Appl. Genet.* – 1989. – 77, № 7. – P. 881-887.

275. Meyer, R. Attaching to spindles before they form: Do early incorrect chromosome-microtubule attachments promote meiotic segregation fidelity? / R. Meyer, D.S. Dawson // *Cell Cycle.* – 2013. - Volume 12, Issue 13. – P. 2011-2015.

276. Miller, T.E. The effect of homoeologous group 3 chromosomes on chromosome pairing and crossability in *Triticum aestivum* / T.E. Miller, S.M. Reader, M.D. Gale // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1983. – Vol.25, No.6. – P. 634-641.

277. Miller, T.E. The effect of increased dosage of wheat chromosomes on chromosome pairing and an analysis of the chiasma frequencies of individual wheat bivalents / T.E. Miller, S.M. Reader // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1985. – Vol.27, No.4. – P. 421-425.

278. Miller, M.P. Meiosis I chromosome segregation is established through regulation of microtubule-kinetochore interactions / M.P. Miller, E. Unal, G.A. Brar, A. Amon // *Cites as elife.* – 2012. – P. 1-6.

279. Moens, P.B. Quantitative electron microscopy of chromosome organization at meiotic prophase / P.B. Moens // *Cold. Spring Harbor Sympos. Quant. Biol.* – 1973. – 38. – P. 99-107.

280. Monje-Casas, F. Kinetochore orientation during meiosis is controlled by Aurora B and monopolin complex / F. Monje-Casas, V.R. Prabhu, B.H. Lee, M. Bosselli, A. Amon // *Cell.* – 2007. – 128(3). – P. 477-490.

281. Moore, G. How to date the correct partner? – Role of the Ph1 locus / G. Moore // *Wheat Information Service.* – 2006. – No. 100. – P. 49-57.

282. Moore, G. The Ph1 locus – a story 50 years in the making / G. Moore // *11th International Wheat Genetics Symposium.* -2008. P. 1-5.

283. Morgan, D.O. Cyclin-Dependent Kinase: Engines, Clocks, and Microprocessors / D.O. Morgan // *Annual Review of Cell and Developmental Biology.* – 1997. – V. 13. – P. 261-291.

284. Morgan, D.O. *The cell cycle: principles of control* / D.O. Morgan. – New science press, 2007. – 297 p.

285. Morgan, T.H. *The mechanism of mendelian heredity* / T.H. Morgan, A.H. Sturtevant, H.J. Muller, C.B. Bridges // *Nyw York: Henry Holt and Company,* 1915. – 262 p.

286. Morrison, J.W. Chromosome behavior in wheat monosomics / J.W. Morrison // *Heredity*. – 1953. – 7, 1. – P. 203-217.
287. Morrison, J.W. Frequency of micronuclei in pollen quartets of common wheat monosomics // J.W. Morrison, J. Unrau // *Canadian journal of botany*. – 1952. – Vol. 30. – P. 371-378.
288. Moses, M.J. Chromosomal structures in grayfish spermatocytes / M.J. Moses // *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*. – 1956. – 2. – P. 215-217.
289. Mouron, S. RINGO C is required to sustain the spindle assembly checkpoint / S. Mouron, G. de Carcer, E. Esther, G. Fernandes-Mirande, M. Malubres, A. Nebreda // *Journal of Cell Science*. – 2010. – V. 123. – P. 2586-2595.
290. Murray, A.W. Creative blocks: cell-cycle checkpoints and feedback controls / A.W. Murray // *Nature*. – 1992. – V. 359. – P. 599-604.
291. Murray, A. The cell cycle an introduction / A. Murray, T. Hunt // N.Y.; Oxford: Oxford Univ. Press. – 1993. – 251 p.
292. Musacchio, A. The spindle-assembly checkpoint in space and time / A. Musacchio, E.D. Salmon // *Nat. Rev. Mol. Cel Biol.* – 2007. – 8(5). – P. 379-393.
293. Naranjo, T. Chromosome structure of common wheat: Genome reassignment of chromosomes 4A and 4B. / T. Naranjo, A. Roca, P.G. Goicoechea, R. Giraldez // *Proceed. Of 7th IWGS. Cambridge*. – 1988. – Vol. 1. – P. 115-120.
294. Naranjo, T. Finding the correct partner: The meiotic courtship / T. Naranjo // *Scientifica*. - 2012. – Volume 2012 (2012), Article ID 509073, 14 pages. – P. 1-16.
295. Nebreda, A.R. CDC activation by non-cyclin proteins / A.R. Nebreda // *Current Opinion in Cell Biology*. – 2006. – V. 18. – P. 192-198.
296. Nicklas, R.B. 5. Mitosis/ R.B. Nicklas // *Cell Biology*. – 1971. P. 225-297.
297. Nicklas, R.B. Elements of error correction in mitosis: release, and tension / R.B. Nicklas, S.C. Ward // *J. ell Biol.* – 1994. – 126(5). – P. 1241-1253.

298. Nigg, E.A. Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle / E.A. Nigg // *Bio Essays*. – 1995. – 17(6). – P. 471-480.
299. Nigg, E.A. Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints / E.A. Nigg // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2001. – Vol. 2, N^o 1. – P. 21-32.
300. Okamoto, M. Asynaptic effect of chromosome V / M. Okamoto // *Wheat Inform. Serv.* – 1957. - №5, 6. – P. 20-27.
301. Okamoto, M. Chromosomes involved in translocations of common wheat. / M. Okamoto, E.R. Sears // *Canad. J. Genet. And Cytol.* – 1962. – 4. – P. 24-30.
302. Okamoto, M. Identification of chromosomes of common wheat belonging to the “A” and “B” genomes. / M. Okamoto // *Canad. J. Genet. And Cytol.* – 1962. - 4. – P. 31-37.
303. Overview: The Mitotic Spindle: Chapter 6 Assembly of the Mitotic Spindle. 112. 2007 / New Science Press Ltd. <http://www.sinouer.com/media/wysiwyg/samples/nsp-cellcycle-6-0.pdf>.
304. Ozkan, H. Genotypic variation in tetraploid wheat affecting homoeologous pairing in hybrids with *Aegilops peregrine* / H. Ozkan, M. Feldman // *Genome*. – 2001. – 44(6). – P.1000-1006.
305. Paliulis, L.V. The reduction of chromosome number in meiosis is determined by properties built into the chromosomes / L.V. Paliulis, R.B. Nicklas // *J. Cell Biol.* – 2000. – 150. – P. 1223-1232.
306. Paliulis, L.V. Kinetochore rearrangement in meiosis II requires to the spindle / L.V. Paliulis, R.B. Nicklas // *Chromosoma*. – 2005. – 113(8). – P. 440-446.
307. Palmer, R.G. Evidence that ameiotic results in a substitution rather than an elimination of meiotic / R.G. Palmer // *Zea Crop Sci. News-letters*. – 1971. - №45. – P. 63-67.
308. Parra, M.T. Involvement of the cohesin Rad21 and SCP3 in monopolar attachment of sister kinetochores during mouse meiosis I / M.T. Parra, A. Viera, R. Gomez, J. Page, R. Benavente, J.L. Santos, J.S. Rutas, J.A. Suja // *J. Cell Sci.* – 2004.

– 117. – P. 1221-1234.

309. Petronczki, M. Monopolar attachment of sister kinetochores at meiosis I requires casein kinase 1 / M. Petronczki, J. Matos, S. Mori, J. Gregan, A. Bogdanova, M. Schwickart, K. Mechtler, K. Schirahige, W. Zachariae, K. Nasmyth // *Cell*. – 2006. – 126. – P. 1049-1064.

310. Pfarr, C.M. Cytoplasmic dynein is localized to kinetochores during mitosis / C.M. Pfarr, M. Coue, P.M. Grissom, T.S. Hays, M.E. Porter, J.R. McIntosh // *Nature*. – 1990. – 345. – P. 263-265.

311. Picket-Heaps, J.D. Porter Rethinking mitosis / J.D. Picket-Heaps, D.H. Tippit, R. Keith // *Cell*. – 1982. – 29. – P. 729-744.

312. Pines, H. Molecular cloning and characterization of the mRNA for cyclin form sea urchin eggs / H. Pines, T. Hunt // *EMBO J*. – 1987. – No.6. – P. 2987-2995.

313. Pines, J. Cyclin-dependent kinase: an embarrassment of riches? *Cell Cycle Control* / J. Pines, T. Hunter/ Eds C. Hutchison, D.N.Y. Glover // Oxford Univ. Press, 1995. – P. 144-176.

314. Planas-Silva, M.D. The restriction point and control of cell proliferation / M.D. Planas-Silva, R.A. Weinberg // *Curr. Opin. Cell Biol*. – 1997. – V.9. – P. 768-772.

315. Porter, K.R. Studies on the endoplasmic reticulum. IV. Its form and distribution during mitosis in cells of onion root-tip / K.R. Porter, R.D. Machado // *J. Biophys. Biochim. Cytol*. – 1960. – 7. – P. 167-180.

316. Prieto, P. Control of conformation changes association with homologue recognition during meiosis / P. Prieto, G. Moore, S. Reader // *Theory Appl. Genet*. – 2005. – 111(3). – P. 505-510.

317. Qureshi, M. DNA, histone H1 and meiotin – 1 immunostaining patterns along whole-mount preparations of *Lilium longiflorum* pachytene chromosomes / M. Qureshi, C. Chasenkampf // *Chromosome Res*. – 1995. – 3. – P. 214-220.

318. Rabitsch, K.P. Kinetochores recruitment of two nucleolar proteins is re-

quired for homolog segregation in meiosis / R.P. Rabitsch, M. Petronczki, J-P. Javerzat, S. Genier, B. Chwalla, A. Schleiffer, U. Tanaka, K. Nasmyth // *Dev. Cell.* – 2003. – 4. – P. 535-548.

319. Rabl, C. *Über Zelltheilung. Morphologisches Jahrbuch* / C. Rabl // Gegenbaur c(ed). – 1885. – 10. – P. 214-230.

320. Raven, P.H. *Biology of Plants* / P.H. Raven, R.V. Evert, S.E. Eichhorn. - 7th ed. – New York, 2005.

321. Rayburn, A.L. Molecular evidence for the origin of chromosome 4A in common wheat / A.L. Rayburn, B.S. Gill // *Genetics, (USA)*. – 1984. – 107, № 3, Pt.2. – P. 86.

322. Rayburn, A.L. Molecular evidence for the origin of chromosome 4A in polyploid wheat / A.L. Rayburn, B.S. Gill // *Can. J. Genet. And Cytol.* – 1985. – 27, № 2. – P. 246-250.

323. Redei, G.P. *Encyclopedia of genetic, genomics, proteomics, and informatics.* – 3 edition. – Springer, 2008. – 1822 p. – ISBN 978-1-4020-6753-2.

324. Reis, R.M. The Kinetochore and Mitosis: Focus on the Regulation and Correction Mechanisms of Chromosome-to-Microtubule Attachments // R.M. Reis, H. Bausbaa. – *Current Frontiers and Perspectives in Cell Biology.* – April, 2012. – P. 259-278. ISBN 978-953-51-0544-2.

325. Rhoades, M. Genetic control of chromosomal behavior / M. Rhoades // *Maize Genetics Crop News-letter*, 1956. – 30. – P. 38-42.

326. Rhoades, M.M. The effect of abnormal chromosome 10 on preferential segregation and crossing-over in maize / M.M. Rhoades, E. Dempsey// *Genetics.* – 1966a. – 53. – P. 989-1020.

327. Rhoades, M.M. Induction of chromosome doubling at meiosis by the elongate gene in maiz / M.M. Rhoades, E. Dempsey// *Genetics.* – 1966b. – 54. – P. 505-522.

328. Ribeiro, K. The mitotic spindle and associated membranes in the closed mitosis of trichomonads / K. Ribeiro, A. Pereira-Neves, M. Benchimol // *Biology of the Cell*. – 2002. – V. 94. – P. 157-172.
329. Riley, R. The diploidisation of polyploidy wheat / R. Riley // *Heredity*. – 1960b. – Vol. 15. – P. 407-429.
330. Riley, R. Genotype-environmental interaction effecting chiasma frequency in *Triticum aestivum* / R. Riley // *Chromosomes Today*. – 1966. – No.1. – P. 57-65.
331. Riley, R. The basic and applied genetics of chromosome pairing / R. Riley // *Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp.* – Canberra, Australi, 1968. P. 185-195.
332. Riley, R. Cytogenetics of chromosome pairing in wheat / R. Riley // *Genetics*. – 1974. 78. – P. 193-203.
333. Riley, R. The evaluation of synthetic species. / R. Riley, G.D.H. Bell // *Proc. First Internat. Wheat Genet. Sympos.* – 1958. – 161.
334. Riley, R. Genetic control of the cytologically diploid behavior of hexaploid wheat / R. Riley, V. Chapman // *Nature*. – 1958. - 182. - P. 713-715.
335. Riley, R. The D-genome of hexaploid wheat. / R. Riley, V. Chapman // *WIS*. – 1960. - № 11. – P. 18.
336. Riley, R. Cytological determination of the homeology of chromosomes of *Triticum aestivum* /R. Riley, V. Chapman // *Nature*. – 1964. –Vol. 203. – P. 156-158.
337. Riley, R. Estimates of homeology of wheat chromosomes by measurements of differential affinity of meiosis / R. Riley, V. Chapman // *Chromosome manipulations and plant genetics*. – Edinburgh, Oliver, Boyd, 1966. – P. 156-158.
338. Riley, R. Effect of altered dosage of 5B^L on meiotic chromosomes pairing in *Triticum aestivum* / R. Riley, V. Chepman // *Nature*. – 1967a. – Vol. 216. – P. 60-62.

339. Riley, R. Effect of 5B^S in suppressing the expression of altered dosage of 5B^L on meiotic chromosome pairing in *Triticum aestivum* / R. Riley, V. Chepman // *Nature (Engl)*. – 1967b. – Vol. 216, No.5110. – P. 60-62.
340. Riley, R. The homeologous nature of the non-homeologous meiotic pairing in *Triticum aestivum* deficient for chromosome V (5B) / R. Riley, C. Kempanna // *Heredity*. – 1963. – Vol. 18. – P. 287-306.
341. Riley, R. Genetic variation in chromosome pairing / R. Riley, C.N. Law // *Advances in genetics*. – 1965. – Vol. 13. – P. 57-114.
342. Riley, R. Position of the gene determining the diploid-like meiotic behavior of wheat / R. Riley, V. Chepman, G. Kimber // *Nature*. – 1960a. – Vol.186. – P.259-260.
343. Riley, R. Control of meiotic chromosome pairing by the chromosomes of homoeologous group 5 of *Tr. Aestivum* / R. Riley, V. Chapman, R.M. Young, A.M. Belfield // *Nature*. – 1966. - 212. – P. 1475-1477.
344. Robbins and Cotran. *Pathological Basis of Disease* / V. Kumar, A.K. Abbas, N. Fausto. – 2004. – 1504 p.
345. Roberts, M.A. Induction and characterization of *Ph1* wheat mutants / M.A. Roberts, S.M. Reader, C. Dalgliesh, T.E.Miller, T.N. Fote, L.J. Fish, J.W. Snape, G. Moore // *Genetics*. – 1999. – 153. – P. 1909-1918.
346. Russell, P. Negative regulation of mitosis by *wee1⁺*, a gene encoding a protein kinase homolog / P. Russell, P. Nurse // *Cell*. – 1987. – V. 49. – P. 559-568.
347. Sakamura, T. Kurze Mitteilung uber die Chromosomen-Zahlen und die Verwandtschaftsverhaltnisse der *Triticum*-Arten. / T. Sakamura // *Bot. Mag. (Tokyo)*. – 1918. – V.32, №1. – P. 151-154.
348. Sakuna, T. Kinetochoe geometry defined by cohesion within the centromere / T. Sakuna, K. Tada, Y. Watanabe // *Nature*. – 2009. – 458. – P. 852-858.
349. Sanches-Monge, E. On the origin of subcompactoids in *Triticum vulgare* // E. Sanches-Monge, J. Mac Key // *Hereditas (lund.)*. – 1948. – 34. – P. 321-337.

350. Sanches-Monge, E. Two types of misdivision of sentromere / E. Sanches-Monge E. // *Nature*. – 1950. – V. 165. – P. 80-81.
351. Sanchez, Y. Control of the DNA damage checkpoint by CHK1 and Rad53 protein kinases through distinct mechanisms / Y. Sanchez, J. Bachant, H. Wang, F. Hu, D. Lin, M. Tetzlaff // *Science*. – 1999. – V. 286. – P. 1166-1171.
352. Satina, S. Cytological effects of a gene in *Datura* which cause dyad formation in sporogenesis / S. Satina, A.L. Bleakslee // *Bot. Gaz.*. – 1935. – 96. – P. 521-532.
353. Satyanarayana, A. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdks, numerous cyclins, and diverse compensatory mechanisms / A. Satyanarayana, P. Kaldis // *Oncogene*. – 2009. – V. 28. – P. 2925-2939.
354. Sax, N. Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behavior in partially sterile hybrids. / N. Sax // *Genetics* – 1922. – 7. – P. 513-552.
355. Schneider, R., Grosschedl R. Dynamics and interplay of nuclear architecture, genome organization, and gene expression / R. Schneider, R. Grosschedl // *Genes Dev*. – 2007. – V. 21. – P. 3027-3049.
356. Schvarzstein, M. Coordinating cohesion, co-orientation, and congression during meiosis: lessons from holocentric chromosomes / M. Schvarzstein, S.M. Wignall, A.M. Villeneuve // *Genes & Dev*. – 2010. – 24. – P. 219-228.
357. Schwarzacher, T. Three stages of meiotic homologous chromosome pairing in wheat: cognition, alignment and synapsis / T. Schwarzacher // *Sex Plant Reprod*. – 1997. – 10. – P. 324-331.
358. Sears, E.R. Amphidiploids in the *Triticinae* induced by colchicines. / E.R. Sears // *J. Heredity*. -1939. – 30. – P. 38-43.
359. Sears, E.R. Amphidiploids in the seven-chromosome *Triticinae*. / E.R. Sears // *Mis. Agric. Exptl Stat. Res. Bull*. – 1941. - № 336. – P. 1-46.
360. Sears, E.R. Cytogenetic studies with polyploidy species of wheat. II. Additional chromosomal aberrations in *Triticum vulgare* / E.R. Sears // *Genetics*. – 1944. – Vol.29. – P. 232-246.

361. Sears, E.R. Misdivision of univalents in common wheat //E.R. Sears / *Chromosoma*. – 1952. – 4, No.6. – P. 535-550.
362. Sears, E.R. Nullisomic analysis in common wheat / E.R. Sears // *Am/ Nat.* – 1953. – Vol. 87. – P. 245-252.
363. Sears, E.R. The aneuploids of common wheat / E.R. Sears // *Missouri Agr. Exp. Stat. Res. Bull.* – 1954. – No. 572. – P. 1-58.
364. Sears, E.R. The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat / E.R. Sears // *Brookhaven Symp. In Biol.* – 1956. - № 9. - P. 1-22.
365. Sears, E.R. Genetic control of chromosome pairing in wheat / E.R. Sears // *Annu. Rev. Genet.* – Palo Alto, Calif, 1976. – 1976. – Vol.10. – P. 31-51.
366. Sears, E.R. A wheat mutant conditioning an intermediate level of homoeologous chromosome pairing / E.R.Sears // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1982. – Vol. 24. – P 715-719.
367. Sears, E.R. Intergenomic chromosome relationships in hexaploid. / E.R. Sears, V. Okamoto // *Proc. Tenth (X) Internat. Congr. Genet.* – 1958. – 2. – P. 258-259.
368. Shnaider, T.M. Identification of the chromosomal translocation in wheat /T.M. Shnaider, O.J. Priilin // *Wheat Inf. Serv.* – 1983. – No.5. – P. 24-27.
369. Simonet, J.M. Mutations affecting meiosis in *Podospora anserine*. I. Cytological studies / J.M. Simonet, D. Zickler // *Chromosoma*. - 1972. – 37. – P. 327-351.
370. Sjodin, J. Induced asynaptic mutants in *Vicia faba L.* / J. Sjodin // *Hereditas.* – 1970. – 66. – P.215-232.
371. Smith, L. Cytogenetic studies in *Triticum monococcum L.* and *Triticum aegilopides Bal.* / L. Smith // *Univ. Missouri. Exper. Stat. Res. Bull.* – 1936. – 248. – P. 1-38.
372. Soost, R.K. Comparative cytology and genetics of asynaptic mutants in *Lycopersicon esculentum Mill* / R.K. Soost // *Genetics.* – 1951. – 36. – P.410-434.
373. Steuer, E.R. Localization of cytoplasmic dynein to mitotic spindles and

kinetochores / E.R. Steuer, L. Wordeman, T.A. Schroer, M.P. Sheetz // *Nature*. – 1990. – 345. – P. 266-268.

374. Stewart, M.N. Changing partners: moving from non-homologous centromere pairing in meiosis / M.N. Stewart and D.S. Dawson // *Trends Genet.* – 2008. – 24(11). – P. 564-573.

375. Strasburger, E. Uber den Teilungsvorgang der Zellkern und das Verhaltnis der Kernteilung zur Zellteilung / E. Strasburger // *A. M. A.* – 1882. – 21. – P. 476.

376. Stringham, G.R. A cytogenetic analysis of three asynaptic mutants in *Brassica campestris* L. / G.R. Stringham // *Canad. J. Genet. And Cytol.* – 1970. - 12. – P. 743-749.

377. Sudakin, V. Checkpoint inhibition of the APC/C in HeLa cells is mediated by a complex of BUBR1, BUB3, CDC20, and MAD2 / V. Sudakin, G.K. Chan, T.J. Yen // *J. Cell Biol.* – 2001. – 154(5). – P. 925-936.

378. Sun, H.B. Size-dependent positioning of human chromosomes in interphase nuclei / H. Sun, J. Shen, H. Hicota // *Biophys. J.* – 2000. – V. 79. – P. 184-190.

379. Sutton, W. On the morphology of the chromosome group in *Brachystola magna* / W. Sutton // *Biol. Bull.* – 1902. – V. 4. – P. 24-39.

380. Tanabe, H. Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nuclei from higher primates / H. Tanabe, S. Muller, M. Neusser, J. von Hase, E. Calcagno, M. Cremer, I. Solovei, C. Cremer, T. Cremer // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2002. – V. 99(7). – P. 4424-4429.

381. Tanaka, T.U. Kinetochore-microtubule interactions: steps towards bi-orientation / T.U. Tanaka // *Embo J.* – 2010. Vol. 29, N° 24. – P. 4070-4082.

382. Taylor, S.S. Kinetochore localization of murine Bub1 is required for normal mitotic timing and checkpoint response to spindle damage // S.S. Taylor, F. McKeon // *Cell.* - 1997. – V. 89. – P. 727-735.

383. The Moore Lab. Wheat meiosis and the Ph1 locus / http://www.jic.ac.uk/staff/graham-moore/wheat_meiosis.htm (дата обращения 22.02.2012)

384. Thomas, J.B. A bouquet-lice attachment plate for telomeres in leptotene of rye revealed by cheterochromatin staining / J.B. Thomas, P.J. Kaltiskes // *Heredity*. – 1976. – 36. – P. 155-162.
385. Thomas, J.B. Effect of chromosome 1B, chromosome 6B and low temperature on the frequency of chromosome pairing at first meiotic metaphase in hexaploid triticale / J.B. Thomas, P.J. Kaltsikes, S. Shigenaga // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1983. – Vol.25, No.3. – P. 278-282.
386. Toth, A. Functional genomics identifies monopolin: a kinetochore protein required for segregation of homologs during meiosis I / A. Toth, K.P. Rabitsch, M. Galova, A. Schleiffer, S.B.C. Buonomo, K. Nasmyth // *Cell*. – 2000. – 103. – P. 1155-1168.
387. Tsunewaki, K. Monosomic and conventional gene analysis in common wheat / K. Tsunewaki, B.C. Jenkins // *Proc. IX. Intern. Bot. Congr.* – 1959. – Vol. 2. – P. 404.
388. Tsunewaki, K. Monosomic and conventional analysis wheat. III. Lethality /K. Tsunewaki // *Jap. J. Genet.* – 1960. – Vol.35. – p. 71-75.
389. Tsunewaki, K. Monosomic and conventional gene analysis in common wheat. IV. Glume hairiness and ear density / K. Tsunewaki // *Jap. J. Genet.* – 1961. – Vol.36. – p. 55-62.
390. Tsunewaki, K. Monosomic and conventional gene analysis in common wheat II. Growth habit and awnedness / K. Tsunewaki, B.C. Jenkins// *Jap. J. Genet.* – 1961. – vol. 36. – P. 428-443.
391. Tsunewaki K. The transmission of the monosomic condition in a wheat variety Cheines Spring. II. Critical analysis of nine year records / R. Tsunewaki // *Jap. J. Genet.* – 1964. – Vol. 38, No.4. – P. 270-281.
392. Uhlmann, F. Cohesion between sister chromatids must be established during DNA replication / F. Uhlmann, K. Nasmyth // *Curr. Biol.* – 1998. – 8. – P. 1095-1101.

393. Unrau, J. Chromosome substitution in hexaploid wheat / J. Unrau, C. Percon, J. Kuspira // *Can. J. Bot.* – 1956. – Vol. 34. – P. 629-640.
394. Upadhyya, M.D. Mechanism regulation chromosome pairing in Triticum / M.D. Upadhyya, M.S. Swaminathan // *Biol. Zbl.* – 1967. – 87. – P. 239-255.
395. Van Hooser, A.A. Specification of kinetochore-forming chromatin by the histone H3 variant CENP-A / A.A. Van Hooser, II. Ouspenski, H.C. Gregson, D.A. Starr, T.J. Yen, M.L. Goldberg, K. Ykomori, W.C. Earnshaw, K.F. Sullivan, B.R. Brinkley // *Cell Sci.* – 2001. – Vol. 114, N^o Pt19. – P. 3529-3542.
396. Van-Beneden. Recherches sur la maturation de l'oeuf, la fécondation et la division cellulaire / Van-Beneden // *Arch. Boil.* – 1884. Vol.4. – P. 128-135.
397. Vega, C. Influence of chromosome structure on the degree of meiotic pairing of intercultivar wheat hybrids (*Triticum aestivum* L.) / C. Vega, A. Fominaya, E. Ferrer // *Heredity.* – 1987. – Vol.58, No.3. – P. 357-363.
398. Vega, J.M. Effect of the pairing Ph1 and premeiotic colchicines treatment on intra and interchromosome pairing of isochromosomes in common wheat / J.M. Vega, M. Feldman // *Genetics.* – 1998. – 150. – P. 1199-1208.
399. Viegas, W.S. Nucleolar organization in the genus *Triticum* / W.S. Viegas, T. Mello-Sampaeo // *Broteria Gene. Natur.* – 1975. – Vol.44, No.3-4. – P. 121-123.
400. Viegas, W.S. Reduction of chromosome pairing by as spontaneous mutation on chromosomal ARM 5D^L of *Triticum aestivum* / W.S. Viegas, T. Mello-Sampayo, M. Feldman, L. Avivi // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1980. – Vol.22, No.4. – P. 569-575.
401. Von Stetina, J.R. Developmental control of oocyte maturation and egg activation in metazoan models / J.R. Von Stetina, T.L. Orr-Weaver // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2011. – 3(10). – a005553. – doi: 0.1101/cshperspect.a05553.
402. Wada, B. Spindle membrane in meiosis of pollen mother cells of *Tradescantia* and in mitosis of endosperm cells of *Zephyranthes* / B. Wada, F. Kusunoki // *Cytologia (Tokyo).* – 1964. – V. 29. – P. 109-111.

403. Wagenaar, E.R. The ultrastructure of kinetochores of unpaired chromosomes in a wheat hybrid / E.R. Wagenaar, D.F. Bray // *Canad J. Cytol.* – 1973. – 15. – P. 801-806.
404. Wall, A.M. The position of the locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing / A.M. Wall, R. Riley, M.D. Gale // *Genet. Res.* – 1971. – 18. – P. 329-339.
405. Walters, J.C. Localization of Mad2 to kinetochores depends on microtubule attachment, not tension / J.C. Walters, R.H. Chen, A.W. Murray, E.D. Salmon // *J. Cell Biol.* – 1998. – V. 141. – P. 1181-1191.
406. Watanabe, Y. Cohesin Rec8 is required for reductional chromosome segregation at meiosis / Y. Watanabe, P. Nurse // *Nature.* – 1999. – 400. – P. 461-464/
407. Watanabe, Y. Pre-meiotic S phase is linked to reductional chromosome segregation and recombination / Y. Watanabe, S. Yokobayash, M. Yamamoto, P. Nurse // *Nature.* – 2001. – 409. – P. 359-363.
408. Weaver, L.N. The Ran-GTP gradient spatially regulates XCTK2 in the spindle / L.N. Weaver, S.C. Ems-McClung, S.H. Chen, G. Yang, S.L. Shaw, C.E. Walkzak // *Cur. Boil.* – 2015. – 25(11). – P. 1509-1514.
409. Weber, D.F. Monosomic analysis in diploid crop plants / D.F. Weber // *Cytogenetics of crop plants* (ed. M.S. Swaminatchen, P.K. Gupta and U. Sinha). – 1983. – P. 351-358.
410. Weinert, T. Mitotic checkpoint genes in budding yeast and the dependence of mitosis on DNA replication and repair / T. Weinert, G.L. Ciser, L.H. Herwell // *Genes Dev.* – 1994. – V. 8. – P. 652-665.
411. Wettstein, D. The synaptonemal complex in genetic segregation / D. Wettstein, S.W. Rasmussen, P.B. Holm // *Annu Rev Genet.* – 1984. – 18. – P. 331-413.
412. Winey, M. Three-dimensional ultrastructure of *Saccharomyces cerevisiae* meiotic spindles / M. Winey, G.P. Morgan, P.D. Straight, T.H. Giddings, D.N. Mastronarde // *Mol. Biol. Cell.* – 2005. – 16. – P. 1178-1188.

413. Wollman, R. Efficient chromosome capture requires a bias in the 'search-and-capture' process during mitotic-spindle assembly / R. Wollman, E.N. Cyttrynbaum, J.T. Jones, T. Meyer, J.M. Scholey, A. Mogilner // *Curr Biol.* – 2005. – Vol. 15, N° 9. – P. 828-832.
414. Wordeman, L. Identification and partial characterization of mitotic centromere-association kinesin, a kinesin related protein that association with centromeres during mitosis / L. Wordeman, T.J. Mitchison // *J. Cell Biol.* – 1995. – 128. – P. 95-104.
415. Worland, A.J. Catalogue of monosomic series / A.J. Worland // *Proceed. 7th Intern. Wheat Genet. Symp.* – Cambridge, 1988. – Vol.2. – P. 1399-1403.
416. Xia, G. Conformation-specific binding of p31(comet) antagonizes the function of Mad2 in the spindle checkpoint / G. Xia, X. Luo, T. Habu, J. Rizo, T. Matsumoto, H. Yu // *EMBO J.* – 2004. – 23(15). – P. 3133-3143.
417. Xiang, Y. The mechanism of Secondary Nondisjunction in *Drosophila melanogaster* Females / Y. Xiang, R.S. Hawley // *Genetics.* - 2006. - 174(1). - P. 67-78.
418. Yacobi, Y.Z. Association of telocentric bivalets representing the two different arms of one chromosome in rye / Y.Z. Yacobi, H. Levanony, M. Feldman // *Canad. J. Genet. Cytol.* – 1983. – Vol. 25. P. 675-677.
419. Yacobi, Y.Z. The control of the regularity and pattern of chromosome pairing in common wheat by the Ph1 gene / Y.Z. Yacobi, M. Feldman // In S. Sakamoto (ed) *Proc. Intl. Wheat Genet. Symp.*, 6th, Ktyoto University, Japan. – 1983. – P. 1113-1118.
420. Yadav, M.C. Monosomic analysis reveals duplicated chromosomal segments in maize genome / M.C. Yadav, J.K.S. Sachan, K.R. Sarkar // *Journal of Genetics.* – 2009. – Vol. 88, No. 3. P. 331-335.
421. Yamashita K., Tanaka M., Kayama M. Studies on the quality of *Triticum* and *Aegilops*. / K. Yamashita, M. Tanaka, M. Kayama // *Wheat Inform. Serv.* – 1956. - № 3. – P. 10.

422. Yen, T.J. CENP-E is a putative kinetochore motor that accumulates just before mitosis / T.J. Yen, G. Li, B.T. Schaar, I. Szilak, D.W. Cleveland // *Nature*. – 1992. – 359. – P. 536-539.
423. Yokobayashi, S. Cohesins determine the attachment manner of kinetochores to spindle microtubules at meiosis I in fission yeast / S. Yokobayashi, M. Yamamoto, Y. Watanabe // *Mol. Cell. Biol.* – 2003. – 23. – P. 3965-3973.
424. Yu, H.G., Koshland D.E. Meiotic condensin is required for proper chromosome compaction, SC assembly, and resolution of recombination-dependent chromosome linkages / H.G. Yu, D.E. Koshland // *J. Cell Biol.* – 2003. – 163. – P. 937-947.
425. Zhang, J. Centromere Pairing in Early Meiotic Prophase Requires Active Centromeres and Precedes Installation of the Synaptonemal Complex in Maize / J. Zhang, W.P. Pawlowski, F. Han // *Plant Cell*. – 2013. - 25. – P. 3900-3909.
426. Zink, D. Structure and dynamics of human interphase chromosome territories *in vivo* / D. Zink, T. Germer, R. Shaffrich, R. Fischer, M.F. Trendelenbura, W. Ansorge, E.H. Stelzer // *Hum. Genet.* – 1998. – V. 102(2). – P. 241-251.
427. Zinkowski, R.P. The centromere—kinetochore complex: a repeat subunit model / R.P. Zinkowski // *J. Cell Biol.* – 1991. – 113. – P. 1091-1110.

ПРИЛОЖЕНИЯ

М е т а ф а з а - I

Омьоло- гический группы	Г е н о м ы		
	А	В	Д
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			

┌───┐
10 мк

Приложение 1 – Варьирование морфологических признаков хромосом пшеницы Мильтурум 553 в метафазе I мейоза.

А н а ф а з а - II

Гомеоло- гические группы	Г е н о м ы		
	А	В	Д
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			

┌───┐
10 мк

Приложение 2 – Варьирование морфологических признаков хромосом пшеницы Мильтурум 553 в анафазе II мейоза.



СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

АВТОРСКОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО

№ 1009349

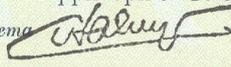
На основании полномочий, предоставленных Правительством СССР,
Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий
выдал настоящее авторское свидетельство на изобретение:
**"Способ получения растений с двумя замещенными
хромосомами"**

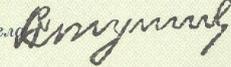
Автор (авторы): **Жарков Николай Александрович**

Заявитель: **СИБИРСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА**

Заявка № 3320015 Приоритет изобретения 10 июля 1981г.
Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений СССР

7 декабря 1982г.
Действие авторского свидетельства распро-
страняется на всю территорию Союза ССР.

Председатель Комитета 

Начальник отдела 





УДОСТОВЕРЕНИЕ

на рационализаторское предложение

№ 73

24 октября 1984г.
(дата подачи)

В соответствии с пунктом 75 Положения об открытиях, изобретениях и рационализаторских предложениях, утвержденного постановлением Совета Министров СССР от 21 августа 1973 г. № 584, настоящее удостоверение выдано _____

ЖАРКОВУ

(фамилия, имя, отчество)

Николаю Александровичу

на предложение, признанное рационализаторским и принятое Сибирским НИО "Колос"
(наименование предприятия,

24 декабря 1984г.
(организации, когда)

использованию

под наименованием: "Способ удаления пыли с поверхности линз световых микроскопов"

Руководитель предприятия
(организации)

январь 1985г. Азиев К.Г.





УДОСТОВЕРЕНИЕ

на рационализаторское предложение

№ 135

4.03.87г.

(дата подачи)

В соответствии с пунктом 75 Положения об открытиях, изобретениях и рационализаторских предложениях, утвержденного постановлением Совета Министров СССР от 21 августа 1973 г. № 584, настоящее удостоверение выдано _____

Маркову Николаю Александровичу,

(фамилия, имя, отчество)

Кему А.А.

на предложение, признанное рационализаторским и принятое СНПО "Колос"

(наименование предприятия,

8.05.87г.

организации, когда)

использованию

под наименованием Прибор для мойки предметных
стекл.



М. П.

Руководитель предприятия
(организации)

"20" май

1987 г.

В.А. Домрачев