

УДК 631.527:576.3:633.11

## О НЕИЗВЕСТНЫХ МЕХАНИЗМАХ МЕЙОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК У *TRITICUM AESTIVUM* L.

© 2020 г. Н. А. Жарков\*

Омский аграрный научный центр, Омск, 644012 Россия

\*E-mail: zh.nikolay@list.ru

Поступила в редакцию 06.05.2019 г.

После доработки 08.12.2019 г.

Принята к публикации 12.12.2019 г.

**Ключевые слова:** мейоз, хромосома, унивалент, полюс, моносомная серия, пшеница

DOI: 10.31857/S0041377120030098

Мейоз является универсальным биологическим процессом. Для изучения мейоза использовали самые различные объекты из представителей растительного и животного мира. Однако в проведении цитологических исследований мейоза особый интерес представляет пшеница мягкая *Triticum aestivum* L. Дело в том, что по своему происхождению она является аллогексаплоидом и включает в себя три генома: А, В, D, принадлежащих разным видам родов *Triticum* и *Aegilops* (Sax, 1922; Авдеев, 2018). В состав каждого генома входит по 7 хромосом ( $2n = 14$ ). На основании проведенного нуллисомно-тетрасомного анализа было установлено, что по три пары хромосом, принадлежащих разным геномам, обладают сходным содержанием генетической информации и являются гомеологами (Sears, 1966). После этого каждая хромосома получила двойное обозначение, в котором цифра указывает на принадлежность к конкретной гомеологической группе, а буква – к геному. В результате такой нумерации каждая из 7 гомеологических групп включает три хромосомы: 1А, 1В, 1D (группа 1), 2А, 2В, 2D (группа 2), 3А, 3В, 3D (группа 3) и т.д. до 7.

Гомеологические хромосомы способны конъюгировать между собой, образуя мультиваленты. В настоящее время установлено, что процесс диплоидизации аллогексаплоидной пшеницы обеспечивается сложным генетическим комплексом, в общей совокупности которого определяющая функция отводится гену *Ph1*. 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.

Способность анеуплоидов мягкой пшеницы сохранять свою жизнеспособность и давать потомство

позволили Сирсу (Sears, 1954) создать на базе сорта Чайниз Спринг серию моносомных линий, в каждой из которых отсутствовала одна доза конкретной хромосомы ( $2n = 41$ ). Позднее моносомные серии были созданы на базе еще семидесяти сортов различного происхождения (Worland, 1988).

Серия моносомных линий мягкой пшеницы является уникальным объектом для изучения мейоза, так как наблюдения за характером поведения унивалента при редукционном делении клеток позволяет выявлять те элементы мейотических процессов, которые в обычном эуплоидном состоянии генотипа остаются для наблюдателя незамеченными. Однако для этого необходим цитологический анализ мейоза полной серии моносомных линий с большим объемом выборки анализируемого материала и менделевский подход к результатам проведенных исследований. Что и было нами сделано.

Цитологический анализ анафазы I у моносомной части популяции показал, что характер поведения унивалента на данной стадии легко идентифицируется по его полярной ориентации. При этом выделяется три основных его типа: униполярный, когда унивалент вместе с другими хромосомами отходит к одному из противоположных полюсов; биполярный, когда унивалент расщепляется на хроматиды по типу митоза; аполярный, при котором унивалент не взаимодействует с полюсами и формирует микроядро в диадах.

По результатам проведенного цитологического анализа анафазы I у серии моносомных линий пшеницы соотношение частот трех типов поведения унивалента существенно варьировало по линиям. Чаще всего по униполярному типу вела себя в гемизиготном состоянии хромосома 2D (62.99%), реже – 4В (39.46%). Наибольшее количество анафазных клеток с биполярным типом поведения унивалента наблюдали по хромосоме 7А (47.56%), а наименьшее – по хромосоме 2А (10.57%). Максимальное же значе-

ние доли клеток с аполярным типом поведения унивалента имели растения, моносомные по хромосоме 7D (35.40%), минимальное (6.84%) – растения, моносомные по хромосоме 7A. По усредненным данным три типа поведения унивалента соотносятся как 49.80, 29.75 и 19.43% соответственно.

Проведенный цитологический анализ отдельных фаз мейоза у серии моносомных линий *Triticum aestivum* L. показал, что характер поведения унивалента в анафазе I во многом не согласуется с теми канонами, которые сложились в настоящее время в отношении механизма сегрегации хромосом в мейозе I. Прежде всего, унивалент без прохождения конъюгации со своим гомологом и образования, хотя бы одного, кроссинговера (Ramesh et al., 2005), не должен был вести себя в анафазе I по типу редукционного деления. В свое время существовало мнение, что продольное расщепление унивалента на данной стадии по типу митоза является нормой, а его отхождение к одному полюсу – аномалией (Щапова, Силкова и другие, 1990). По их мнению униполярная ориентация унивалента вызвана утратой связи одного из кинетохор со своим полюсом. Однако при таком подходе следует учитывать тот факт, что в этом случае перемещение хроматиды, утратившей связь с 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, должен приводить к распаду унивалента на хроматиды с их видимой ориентацией к одному полюсу. Такие ситуации действительно имели место в анафазе I. Однако униполярную ориентацию двух сестринских хроматид наблюдали довольно редко (0.79%).

Кроме того, если исходить из того, что единство сестринских кинетохор обеспечивается специфичным для мейоза клеисинном (REC8) и защищено от действия сепоразы шугошинами (Shao et al., 2011; Segomer et al., 2013), то унивалент также не должен был делиться в анафазе I и эквационно. Тем более, что кинетохоры по своей геометрии изначально занимают характерное для мейоза расположение “бок-о-бок” (Parra et al., 2004).

Теперь, что касается аполярного типа поведения унивалента, то здесь наблюдается выход данного факта за пределы современного понимания. Оппоненты, пытаясь его игнорировать, отмечают, что аполярный тип поведения свидетельствует только о случайном отхождении унивалента к одному из двух полюсов. Однако проведенный корреляционный анализ показал, что частный коэффициент двух анализируемых признаков (количество анафазных клеток с унивалентом в межполюсной зоне и количество диад с одним микроядром) множественной корреляции (количество анафазных клеток с унивалентом в межполюсной зоне, количество диад с од-

ним микроядром, количество анафазных клеток с одной отстающей хроматидой) составил 0.93. Если верить логике дальнейшего корреляционного анализа (Доспехов, 1979), то  $r^2$  в данном случае составит 0.8649. Из этого следует, что формирование одного микроядра в диадах на 86.49% определяется именно аполярным типом поведения унивалента, и только на 13.51% – отстающей одной хроматиды.

Таким образом, характер поведения унивалента в анафазе I у мягкой пшеницы требует иного подхода к объяснению результатов проведенных исследований. Прежде всего, необходимо обратить внимание на два очень важных момента, которые следуют из результатов проведенных исследований.

1) Все три типа поведения унивалента имели место по всем хромосомам при поочередном их моносомном состоянии. Постоянство проявления и относительно высокая частота исключают возможность рассматривать данные типы поведения унивалента как проявление своего рода аномалий. Следовательно, есть все основания считать, что характер поведения унивалента определяется теми механизмами мейотических процессов, которые имеют место при обычном эуплоидном состоянии гено-типа.

2) В каждом конкретном случае, анализируя поведение унивалента, мы анализируем поведение одного из гомологов. Из этого следует, что в общем итоге мы анализируем поведение хромосом в анафазе I одного гаплоидного набора генотипа *Triticum aestivum* L.

Всего по серии моносомных линий было изучено 30159 анафазных клеток. Из них 49.80% составляли клетки с униполярной ориентацией унивалента, 29.75% – с биполярной ориентацией и 19.43% – с аполярной. Из данного распределения частот видно, что соотношение двух альтернативных групп поведения унивалента в анафазе I (униполярный и биполярный + аполярный) оказалось близким 1 к 1 ( $\chi^2 = 1.17$ ). Этот показатель демонстрирует тот факт, что характер поведения унивалента в целом подчиняется одному из основных законов статистического распределения двух равновероятных взаимоисключающих событий, на котором основываются законы Менделя (1965). Данное обстоятельство дает все основания считать, что аполярный тип поведения является частным случаем проявления биполярного состояния хромосомы в гемизиготном состоянии. Иначе говоря, унивалент либо имеет униполярную ориентацию в анафазе I, либо нет.

Как уже отмечалось ранее, способность хромосом вести себя по униполярному типу в мейозе I обязано их бивалентному состоянию. В свое время был введен специальный термин – коориентация (co-orientation). Согласно генетическому словарю (Ригер, Михаэли, 1967) и данным интернета, под коориентацией понимается процесс взаимной ориентации центромер бивалентов или мультивалентов в мета-

фазе первого деления мейоза. Однако, как показал характер поведения унивалента в анафазе I, бивалентное состояние не является определяющим фактором коориентации центромер, обеспечивающим переход хромосом от эквационного типа деления к редукционному. Способность хромосом в гемизиготном состоянии вести себя в мейозе I по типу редукционного деления однозначно указывает на то, что смена полюсной ориентации сестринских центромер (коориентация) предшествует синапсису гомологичных пар.

Усилиями многих исследователей было показано, что у изученных видов растений, включая пшеницу, хромосомы имеют Рабл-ориентацию (Rabl, 1885). При этом центромеры ассоциируют с ядерной мембраной (Шапова, 2010). Место же локализации центромер на определенном участке ядерной оболочки является их зоной исходного полюса, в которой и происходит за счет структурно-динамических процессов изменение взаимной ориентации сестринских центромер гомологов.

Другой примечательной особенностью характера поведения унивалента в анафазе I является его способность в 50% случаев сохранять свою биполярную ориентацию и делиться эквационно, подобно митозу. Двойственность поведения унивалента одной и той же хромосомы в анафазе I однозначно указывает на то, что в момент полюсной коориентации центромер между гомологами существует распределение функций. При этом один из них за счет структурно-динамических изменений зоны исходного полюса меняет ориентацию своих сестринских центромер (положение 1), в то время как второй гомолог сохраняет свою прежнюю биполярную ориентацию (положение 2). Судя по результатам проведенного цитологического анализа, вероятность того, какой из двух гомологов окажется в том или ином положении, в среднем составляет 50 на 50%. Если центромеры унивалента оказываются при полюсной коориентации в положении 1, то он ведет себя по типу редукционного деления, если в положении 2 — то по типу эквационного деления. Как уже отмечалось ранее, полученное соотношение между двумя альтернативными группами 1 к 1 отражает характер поведения унивалента в анафазе I одного гаплоидного набора хромосом, представленного в виде серии моносомных линий. Следовательно, способность унивалента с частотой 50% вести себя в мейозе I по типу редукционного деления свидетельствует о том, что пусковым механизмом перехода хромосом от митоза к мейозу на цитологическом уровне является коориентация центромер одного гаплоидного набора хромосом. В это время второй гаплоидный набор хромосом сохраняет свою прежнюю биполярную (митотическую) ориентацию сестринских центромер.

В качестве гипотезы и на основании предлагаемой концепции “разводящих нитей” дальнейшие процессы, связанные с конъюгацией хромосом и их

сегрегацией в мейозе I у *Triticum aestivum* L., могут быть представлены следующим образом.

По данным из литературных источников (Шапова, 2010) гаплоидные наборы хромосом у высших растений (рожь, тритикале) располагаются параллельно, гомологичные хромосомы рядом. Однако во избежание возможности конъюгации хромосом в соматических клетках, они должны занимать такую пространственную ориентацию, чтобы напротив плеча одной хромосомы располагалось негомологичное плечо второй хромосомы. Для того чтобы совместить гомологичные плечи, необходимо изменить в зоне исходного полюса положение сестринских центромер одного из гомологов, развернув хромосому на 180 град. Сделать это без соответствующей укладки самих хромосом довольно трудно. Поэтому не случайно в прелептотене часто наблюдается характерная укладка хромосом в виде “прохромосом” у животных и “spiral prophase stage” у растений, которая сменяется почти полной деконденсацией хромосом в лептотене (Кикнадзе, Высоцкая, 1975). После коориентации центромер и приведения в соответствие взаимной ориентации гомологичных плеч хромосом наступает процесс сближения теломер на небольшом участке оболочки ядра с образованием в период лептотены—зиготены фигуры “букета”.

О дальнейших событиях, происходящих в мейозе I у эуплоидного генотипа мягкой пшеницы, свидетельствует третий тип поведения унивалента — аполярный. Его способность с определенным постоянством проявлять аполярность, указывает на то, что после начала синапсиса теломер те хромосомы, которые до сих пор сохраняли свою прежнюю биполярную ориентацию, теряют свою связь с зоной исходного полюса и восстанавливают ее после завершения конъюгации гомологов. В данном случае определяющим моментом в выборе типа деления хромосом становятся уже не сестринские центромеры хроматид, а взаимное расположение спаренных центромер гомологов.

Проведенный статистический анализ вариационного ряда частоты униполярной ориентации унивалента с помощью метода хи-квадрат (Рокицкий, 1961) и соответствующие графические построения показали, что предотвращение синапсиса гомологов у мягкой пшеницы обеспечивается путем пространственного разведения хромосом в ядре (Жарков, 2001). При этом в случае возникновения ситуации, когда по теории вероятности (50 на 50%) центромеры двух смежных гомологов при их коориентации в зоне исходного полюса могут быть сориентированы в одну сторону, срабатывает механизм, осуществляющий замену у одной из гомологичной пары одного гомолога на другой. Тем самым обеспечивается в критических ситуациях разведение гомологов в противоположные стороны.

Наличие полюсной детерминации сегрегации хромосом, так или иначе, предполагает особый ме-

ханизм построения мейотического веретена деления у *Triticum aestivum* L. В одной из своих работ Никлас (Nicklas, 1971) отмечает, что центральное веретено и кинетохорное формируются в разное время и в разных местах. По данным литературных источников и результатов, проведенных нами дополнительных исследований (Шамина, 1989; Жарков, 2013), у мягкой пшеницы в прометафазе мейоза I формируется трехполюсное веретено. Следовательно, сегрегация хромосом в данном случае осуществляется путем расщепления кинетохорного пучка микротрубочек на две составляющие части, разведения их в противоположные стороны, встраивания в центральное веретено с последующей реализацией свойств кинетического порядка.

Таким образом, из вышесказанного вытекает следующее. 1) Тип деления клеток (митоз, мейоз) у *Triticum aestivum* L. определяется в зоне исходного полюса. 2) Пусковым механизмом перехода хромосом от митоза к мейозу на цитологическом уровне является коориентация центромер в зоне исходного полюса одного гаплоидного набора хромосом. При этом второй гаплоидный набор хромосом сохраняет свою прежнюю биполярную ориентацию. Вероятность того, какой из двух гомологов окажется в том или ином положении, составляет 50 на 50 процентов. 3) Изменение положения одного гомолога и сохранение его другим гомологом приводит в соответствие взаимное расположение плеч хромосом, что является сигналом к их сближению. 4) После контакта теломерных участков и начала формирования синаптонемального комплекса те хромосомы, которые сохраняли свою прежнюю биполярную ориентацию, утрачивают свою связь с полюсом и восстанавливают ее по завершению конъюгации. 5) Конъюгация гомологов проходит при фиксированном положении центромер в зоне исходного полюса одного гаплоидного набора хромосом. 6) Варьирование распределения функций между гомологами во время полюсной коориентации и замена в критических ситуациях одного гомолога на другой имеют смысл, если направление движения гомологичных пар хромосом при их разведении определяется гомологом, центромеры которого были активно задействованы зоной исходного полюса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авдеев В.И. 2018. К проблеме происхождения видов пшеницы (*Triticum* L.). *Агронимия и лесное хозяйство*. Т. 2. № 70. С. 53. (Avdeev V.I. 2018. K probleme proiskhozhdeniya vidov pshenitsy (*Triticum* L.). *Agronomiya i lesnoe khozyaystvo*. V. 2. № 70. P. 53.)
- Доспехов Б.А. 1979. Методика полевого опыта. М.: Колос. 416 с. (Dospikhov B.A. 1979. Metodika polevogo opyta. M.: Kolos. 416 p.)
- Жарков Н.А. 2013. Механизм поперечного деления центромеры унивалентной хромосомы у *Triticum aestivum* L. Современные проблемы науки и образования. Т. 1. № 45. С. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8120> (Zharkov N.A. (2013). Mekhanizm poperechnogo deleniya tsentromery univalentnoy khromosomy u *Triticum aestivum* L. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. V. 1. № 45. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8120>)
- Кикнадзе И.И., Высоцкая Л.В. 1975. Микроскопическая морфология мейоза и его модификаций. Цитология и генетика мейоза. М.: Наука. С.15. (Kiknadze I.I., Vysotskaya L.V. 1975. Mikroskopicheskaya morfologiya meyoza i ego modifikatsiya. M.: Nauka. P. 15.)
- Мендель Г. 1965. Опыты над растительными гибридами. М.: Наука. 158 с. (Mendel G. 1965. Opyty nad rastitelnyimi gibridami. M.: Nauka. P. 158.)
- Ригер Р., Михаэлио А. 1967. Генетический и цитогенетический словарь. М.: Колос. 608 с. (Riger R., Mikhaelio A. 1967. Geneticheskiy i tsitogeneticheskiy slovar. M. Kolos.: 608 p.)
- Рокицкий П.Ф. 1961. Основы вариационной статистики для биологов. Минск. (Rokitskiy P.F. 1961. Osnovy variatsionnoy statistiki dlya biologov. Minsk.)
- Шамина Н.В. 1989. Некоторые неизвестные механизмы построения и функции мейотического веретена растительной клетки. Цитогенетика сельскохозяйственных растений. Новосибирск. С. 38. (Shamina N.V. 1989. Nekotorye neizvestnye mekhanizmy postroyeniya i funktsii meyoticheskogo veretena rastitelnoy kletki. Tsitogenetika selskokhozyaystvennykh rasteniy. Novosibirsk. P. 38.)
- Щапова А.И., Силкова О.Г., Кравцова Л.А. 1990. Тип деления унивалентных хромосом и его генетическая обусловленность. Генетика. Т. 26. № 2. С. 293. (Shchapova A.I., Silkova O.G., Kravtsova L.A. 1990. Tip deleniya univalentnykh khromosom i ego geneticheskaya obuslovlennost. Genetika. V. 26. № 2. P. 193.)
- Щапова А.И. 2010. Пространственная организация хромосом в клеточном ядре эукариот и ее особенности у разных видов растений и животных. Вестник ВОГиС. Т. 14. № 4. С. 612. (Shchapova A.I. 2010. Prostranstvennaya organizatsiya khromosom v kletochnom yadre eukariotov i ee osobennosti u raznykh vidov rasteniy i zhivotnykh. Vestnik VOGiS. V. 14. № 4. P. 612.)
- Ceromer L., Joliver S., Horlow C., Chelysheva L., Heyman J., De Jaerger G., Koncz C., De Veylder L., Mercier R. 2013. Centromeric cohesion is protected twice at meiosis, by SHUGOSHINs at anaphase I and by PATRONUS at interkinesis. *Cur. Biol.* V. 23. P. 2090.
- Feldman M. 1993. The pattern of chromosomal arrangement in nuclei of the pairing homoeologous (Ph1) gene of wheat. *Crop. Science.* V. 33. P. 894.
- Liu Deng-Cai, Zheng You-Liang, Yan Ze-Hong, Zhou Yong-Hong, Wey Yu-Ming, Lan Xiu-Jin. 2003. Combination of homoeologous pairing gene phKL and Ph2-deficiency in common wheat and its meiotic behaviors in hybrids with alien species. *Acta Botanica Sinica.* V. 45. P. 1121.
- Nicklas R.B. 1975. Mitosis. *Cell Biol.* V. 2. P. 225.
- Parra M.T., Viera A., Gomez R., Page J., Benavente R., Santos J.L., Rutas J.S., Suja J.A. 2004. Involvement of the cohesin Rad21 and SCP3 in monopolar attachment of sister kinetochores during mouse meiosis I. *J. Cell Sci.* V. 117. P. 1221.
- Rabl C. 1885. Uber Zelltheilung. *Morphologisches Jahrbuch.* B. 10. S. 214.

- Ramesh M.A., Malik S-B, Logsdon J.M.* 2005. A phylogenomic inventory of meiotic genes: evidence for sex in *Giardia* and an early eukaryotic origin of meiosis. *Curr. Biol.* V. 15. P. 185.
- Sax N.* 1922. Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behavior in partially sterile hybrids. *Genetics.* V. 7. P. 513.
- Shao T., Tang D., Wang K., Wang M., Che L., Quin B., Yu H., Li M., Gu M., Cheng Z.* 2011. Os REC8 is essential for chromatid cohesion and metaphase I monopolar orientation in rice meiosis. *Plant Physiol.* V. 156. P. 1386.
- Sears E.R.* 1954. The aneuploids of common wheat. *Missouri Agr. Exp. Stat. Res. Bull.* V. 572. P. 1.
- Sears E.R.* 1966. Nullisomic-tetrasomic combinations in hexaploid wheat. In: *Chromosome manipulations and plant genetics.* Edinburg: Oliver, Boyd. P. 29.
- Worland A.J.* 1988. Catalogue of monosomic series. *Proceed. 7th Intern. Wheat Genet. Symp. Cambridge.* V. 2. P. 1399.
- Zharkov N.A.* 2001. Pattern of common wheat chromosome univalent meiotic behavior as an exhibition of the special cell division. *EWAC newsletter. Proceeding of the 11th EWAC Conference.* P. 180.

## ON THE UNKNOWN MECHANISMS OF MEIOTIC CELLS DIVISION AT *TRITICUM AESTIVUM* L.

**N. A. Zharkov\***

*Omsk agrarian scientific center, Omsk, 644012 Russia*

*\*e-mail: zh.nikolay@list.ru*

Studies of anaphase I at a full series monosomy lines of a grade of wheat Milturum 553 showed that the univalent at this stage has three main types of behavior: unipolar when the univalent departs to one of opposite poles; bipolar when the univalent is split on two chromatides on mitotic type; apolar at which the univalent does not interact with poles and forms a microkernel in dyads. The ratio of three types of behavior of a univalent significantly varied on lines. However, in general on a genotype, a ratio between quantity of anafazny cages with unipolar type of behavior of a univalent and cages with alternative type of his behavior (bipolar + apolar) it was close 1 to 1. Ability of a univalent to behave in an anaphase of I with a frequency of 50% as reducing division shows that the trigger of transition of chromosomes from a mitosis to meiosis at the cytologic level is the co-orientation a centromere in a zone of an initial pole of one haploid set of chromosomes. At this time the second haploid set keeps the former mitotic orientation. The analysis of the ranged row of frequency of unipolar orientation of a univalent showed that prevention of conjugation of homeolog at an allogeksaploides type of wheat is reached by spatial dissociation of chromosomes. At the same time, if the situation of a possibility of orientation of two adjacent homeolog in one direction is created, the mechanism of replacement of a polar co-orientation a centromer of one homolog on another works.

**Keywords:** meiosis, chromosome, univalent, pole, monosomy series, wheat