

DOI 10.18699/vjgb-24-42

Дисомное замещение хромосом 3R(3B) приводит к комплексу аномалий в мейозе мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L.

А.А. Журавлева, О.Г. Силкова  

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 silkova@bionet.nsc.ru

Аннотация. У линий мягкой пшеницы с интрогрессией чужеродных хромосом создается новый генетический фон, который изменяет экспрессию генов как пшеницы, так и хромосом-доноров родственных видов. На хромосоме 3B пшеницы локализованы гены, участвующие в регуляции мейоза. Целью работы было изучить влияние замещения хромосомы пшеницы 3B гомеологичной хромосомой ржи 3R на регуляцию мейоза у дисомно замещенной линии пшеницы 3R(3B). С помощью иммуноокрашивания с антителами к белку микротрубочек, α -тубулину и центромероспецифичному гистону H3 (CENH3), а также с использованием флуоресцентной *in situ* гибридизации проведен анализ динамики микротрубочкового цитоскелета и поведения хромосом пшеницы и ржи 3R в мейозе линии 3R(3B) (*Triticum aestivum* L. сорт Саратовская 29 \times *Secale cereale* L. сорт Онохойская). В результате работы обнаружен комплекс аномалий в динамике микротрубочек и поведении хромосом как в первом, так и во втором делениях. Особенностью метафазы I у линии 3R(3B) являлось уменьшение числа хиазм в сравнении с сортом Саратовская 29 – 34.9 ± 0.62 и 41.92 ± 0.38 соответственно. Гомологи хромосомы ржи 3R в 13.18 % мейоцитов не формировали биваленты. Хромосомы характеризовались различной степенью компактизации, в 53.33 ± 14.62 клетки отсутствовала метафазная пластинка. Установлены нарушения в нуклеации микротрубочек на кинетохомах отдельных бивалентов и в их конвергенции на полюсах деления веретена. Важной особенностью мейоза было асинхронное поведение хромосом во втором делении и наличие диад на стадии телофазы II в 8–13 % мейоцитов в зависимости от изученного пыльника. Таким образом, согласно мейотическому фенотипу линии 3R(3B), на хромосоме 3B сорта Саратовская 29 находятся гены, участвующие в регуляции комплекса мейотических процессов, а замещение хромосомами ржи 3R3R хромосом 3B3B не компенсирует их отсутствия.

Ключевые слова: замещение хромосом; мейоз; FISH; иммуноокрашивание; рожь *Secale cereale* L.; мягкая пшеница *Triticum aestivum* L.

Для цитирования: Журавлева А.А., Силкова О.Г. Дисомное замещение хромосом 3R(3B) приводит к комплексу аномалий в мейозе мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(4): 365-376. DOI 10.18699/vjgb-24-42

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0017. Растения были выращены в ЦКП репродукции растений ИЦиГ СО РАН при финансовой поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0017. Анализ препаратов проведен в ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН.

Disomic chromosome 3R(3B) substitution causes a complex of meiotic abnormalities in bread wheat *Triticum aestivum* L.

А.А. Zhuravleva, O.G. Silkova  

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 silkova@bionet.nsc.ru

Abstract. *Triticum aestivum* L. lines introgressed with alien chromosomes create a new genetic background that changes the gene expression of both wheat and donor chromosomes. The genes involved in meiosis regulation are localized on wheat chromosome 3B. The purpose of the present study was to investigate the effect of wheat chromosome 3B substituted with homoeologous rye chromosome 3R on meiosis regulation in disomically substituted wheat line 3R(3B). Employing immunostaining with antibodies against microtubule protein, α -tubulin, and the centromere-specific histone (CENH3), as well as FISH, we analyzed microtubule cytoskeleton dynamics and wheat and rye 3R chromosomes behavior in 3R(3B) (*Triticum aestivum* L. variety Saratovskaya 29 \times *Secale cereale* L. variety Onokhoiskaya) meiosis. The results revealed a set of abnormalities in the microtubule dynamics and chromosome behavior in both first and second divisions. A feature of metaphase I in 3R(3B) was a decrease in the chiasmata number compared with variety Saratovskaya 29, 34.9 ± 0.62 and 41.92 ± 0.38 , respectively. Rye homologs 3R in 13.18 % of meiocytes did not form bivalents. Chromosomes were characterized by varying degrees of compaction; 53.33 ± 14.62 cells lacked a metaphase plate. Disturbances were found in microtubule nucleation at the bivalent kinetochores and in their convergence at the spindle division poles. An important feature of meiosis was the asynchronous chromosome behavior in the second

division and dyads at the telophase II in 8–13 % of meiocytes, depending on the anther studied. Considering the 3R(3B) meiotic phenotype, chromosome 3B contains the genes involved in the regulation of meiotic division, and substituting 3B3B chromosomes with rye 3R3R does not compensate for their absence.

Key words: chromosome substitution; meiosis; FISH; immunostaining; rye *Secale cereale* L.; common wheat *Triticum aestivum* L.

For citation: Zhuravleva A.A., Silkova O.G. Disomic chromosome 3R(3B) substitution causes a complex of meiotic abnormalities in bread wheat *Triticum aestivum* L. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(4):365-376. DOI 10.18699/vjgb-24-42

Введение

Мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. характеризуется толерантностью к включению в ее геном генетического материала родственных диких и возделываемых видов. Чужеродные хромосомы или их фрагменты могут привнести полезные признаки, например устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, что широко используется в селекционных программах (Юдина и др., 2014; Mohammed et al., 2014; Крупин и др., 2019). Однако включение чужеродных хромосом может приводить к изменению регуляции базовых биологических процессов, таких как мейотическое деление, начиная с гибридов первого поколения (Loginova et al., 2020).

Регуляция мейоза у пшеницы имеет свои особенности. Несмотря на то что этот вид является гетерогексаплоидом ($2n = 42$, геном AABBDD), в мейозе хромосомы ведут себя как в диплоидном организме. Контроль спаривания хромосом осуществляется генами *Ph* (*Pairing homoeologous*). На хромосоме 5BL локализован ген *Ph1*, супрессирующий гомеологичное спаривание в мейозе (Sears, 1977; Giorgi, 1978), на хромосоме 3DS – ген *Ph2* с более слабым эффектом (Mello-Samprayo, 1971). Локус *Ph1* размером 2.5 MB содержит субтеломерный гетерохроматин, встроенный в кластер *CDK2*-подобных генов (Griffiths et al., 2006; Al-Kaff et al., 2008; Martín et al., 2017). В сегмент гетерохроматина во время периода полиплоидизации пшеницы был встроен ген, первоначально обозначенный как *hypothetical 3* (*Hyp3*) (Griffiths et al., 2006; Al-Kaff et al., 2008), а позднее по мейотическому фенотипу мутантов *ph1b* мягкой пшеницы реаннотированный как *ZIP4* (*TaZIP4-B2*) (UniProtKB–Q2L3T5) (Martín et al., 2017). Таким образом, *TaZIP4-B2* отвечает за осуществление гомологичного и ограничения гомеологичного кроссинговера, в том числе посредством участия в формировании синаптонемного комплекса (Martín et al., 2017, 2018).

По результатам секвенирования генома мягкой пшеницы было выявлено филогеномное происхождение *ZIP4* (Appels et al., 2018). Показано, что *ZIP4* является трансдубликацией локуса хромосомы 3B, инпаралоги которого находятся на хромосомах 3A и 3D. Таким образом, гексаплоидная пшеница несет четыре копии *ZIP4*: по одной копии на каждой из хромосом группы 3 (3A, 3B, 3D) и четвертую дублированную копию на хромосоме 5B. Ранее при создании анеуплоидных линий сорта мягкой пшеницы Chinese Spring было установлено, что отсутствие хромосомы 3B вызывает мейотический асинапсис и снижает фертильность растений (Sears, 1954). Позднее результаты по снижению фертильности были подтверждены, а ген локализован на длинном плече 3BL (Bassi et al., 2013). Потеря хромосомы 3B приводит к снижению

спаривания и уменьшению количества хиазм в мейозе, при этом делеция на коротком плече хромосомы 3B имеет не такой выраженный эффект, как делеция на длинном плече (Darrier et al., 2022). Ген десинапсиса не имеет официального обозначения у пшеницы (McIntosh et al., 2013), и, учитывая его вероятное синтетическое родство с *des2* на хромосоме 3H ячменя (Ramage, Hernandez-Soriano, 1972), было предложено обозначение *Tdes2*, где “des” означает *desynaptic*, а “T” – *Triticum* (Bassi et al., 2013). На хромосоме 3B также был идентифицирован QTL *QTug.sau-3B*, отвечающий за формирование нередуцированных гамет у межвидовых гибридов (Hao et al., 2014). В целом на хромосоме 3B модельного сорта Chinese Spring локализовано 16 мейотических генов (Darrier et al., 2022). Кроме этого, показано, что ортологи мейотических генов пшеницы взаимодействуют с *TaZIP4* хромосом 3-й группы в различных процессах мейоза (Alabdullah et al., 2019).

Помимо мейотических генов, на хромосомах 3-й гомеологичной группы пшеницы находятся гены, отвечающие за такие важные агрономические признаки, как урожайность, масса зерна, цвет и форма зерна, продолжительность периода покоя семян, устойчивость к заболеваниям *Stagonospora nodorum*, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *P. recondita*, и за синтез некоторых изозимов (Munkvold et al., 2004). На хромосоме 3BL также локализован QTL выполненности стебля, *Qss.msub-3BL*, который контролирует устойчивость к срезанию пилльщиками соломины у твердой и мягкой пшеницы (Cook et al., 2004). Всего на хромосоме 3B локализовано 6000 генов (Paux et al., 2006). На этой хромосоме обнаружена недавняя в эволюционном измерении (100 тыс. лет тому назад) крупная амплификация LTR ретротранспозонов (Ling et al., 2018), которая может вызывать изменения в структуре и экспрессии генов (Variach et al., 2020). Следовательно, замещения по хромосоме 3B или ее отсутствие будут оказывать влияние на развитие гибридного генотипа. Кроме того, у линий с дополненными чужеродными хромосомами и замещениями хромосом пшеницы чужеродными хромосомами происходят изменения в экспрессии генов как пшеницы, так и чужеродных хромосом (Rey et al., 2018; Dong et al., 2020).

В связи с этим актуально изучить, как замещение хромосомы пшеницы 3B хромосомой ржи 3R влияет на регуляцию мейоза у дисомно замещенной линии мягкой пшеницы 3R(3B) (*Triticum aestivum* L. сорт Саратовская 29 – *Secale cereale* L. сорт Онохойская) (Silkova et al., 2006). Для этого нами проведен анализ динамики микротрубочкового цитоскелета, изучены прохождения мейотического цикла и поведение хромосом пшеницы и хромосомы ржи 3R.

Таблица 1. Методы, использованные в цитогенетическом анализе растений линии 3R(3B) и сорта Саратовская 29

Метод	Линия 3R(3B)		Сорт Саратовская 29	
	Изучено		Изучено	
	колосьев	мейоцитов	колосьев	мейоцитов
Окрашивание 3 % ацетокармином, фиксатор Навашина	11	982	6	470
Окрашивание 3 % ацетокармином, фиксатор – этиловый спирт 96 % : ледяная уксусная кислота (3:1)	5	534	5	456
Иммуноокрашивание	5	648	5	573
Геномная <i>in situ</i> гибридизация (GISH)	5	431	–	–

Материалы и методы

Растительный материал. В работе были использованы мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. сорт Саратовская 29 (С29) и дисомно замещенная пшенично-ржаная линия 3R(3B) (*T. aestivum* L. сорт Саратовская 29 × *Secale cereale* L. сорт Онохойская), где 3B хромосома пшеницы была замещена на 3R хромосоме ржи (Silkova et al., 2006) (табл. 1). Растения выращивали в условиях гидропонной теплицы ФИЦ ИЦиГ СО РАН при температурном режиме день/ночь 24/18 °С и фотопериоде день/ночь 16/8 ч.

Цитогенетический анализ

Окрашивание ацетокармином. Рутинное изучение динамики микротрубочек (МТ) цитоскелета в мейозе сорта С29 и линии 3R(3B) проводили по ранее описанной методике (Loginova et al., 2020). Незрелые колосья фиксировали модифицированным фиксатором Навашина (Wada, Kusunoki, 1964). Анализировались мейоциты на всех стадиях первого и второго делений микроспорогенеза (см. табл. 1).

Для изучения спаривания хромосом в мейозе сорта С29 и линии 3R(3B) незрелые колосья фиксировали в смеси «уксусная кислота : этиловый спирт 96 %» в соотношении 1:3 (по объему). В каждом пыльнике анализировали все поддающиеся оценке мейоциты на стадиях метафазы I и анафазы I (см. табл. 1).

Препараты исследовали при помощи микроскопа Leica DM 2000 (Leica Microsystems), изображения регистрировали камерой DFC 295 (Leica Microsystems).

Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) и не-прямое иммуноокрашивание. Приготовление препаратов и FISH делали по описанной ранее методике (Loginova et al., 2020). Анализировались мейоциты на стадиях метафазы I и телофазы II. В работе использовали пробу pAet6-09, специфичную для центромерных районов хромосом риса, пшеницы, ржи и ячменя (Zhang et al., 2004), и геномную ДНК ржи. Образец ДНК повтора pAet6-09 любезно предоставлен Dr. A. Lukaszewski (Университет Риверсайд, Калифорния, США). Пробу pAet6-09 метили дигоксигенином (digoxigenin-11-dUTP) при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР). Суммарную ДНК ржи метили ник-трансляцией (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния, США, cat. no. 18160-010) с биотином (biotin-16-dUTP). Зонды были использованы совместно в различных пропорциях и смешивались с блокирующей пшеничной ДНК. Препараты заключали в среду Vectashield antifade solution (Vector Laboratories No. X1215), замедляющую

выцветание флуоресценции, содержащую 1 мкг/мл DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindol, Sigma-Aldrich, No. D9542, США) для окрашивания хроматина.

Приготовление препаратов и не прямое иммуноокрашивание проводили как описано ранее (Loginova et al., 2020). Использовались первичные антитела к α -тубулину (Monoclonal Anti- α -Tubulin antibody produced in mouse, Sigma-Aldrich, No. T5168) (разведение 1:2000) и антитела, специфичные к белку кинетохора CENH3 – варианту центрального гистона H3 злаков (любезно предоставлены Dr. A. Houben, ИПК, Гатерслебен, Германия), разведение 1:850 в 1xPBS буфере с 1 % BSA. Вторичные антитела к CENH3 были антикроличьими родами конъюгированными (Rhodamine (TRITC)-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (H+L), Jackson ImmunoResearch, No. 111-025-003) (разведение 1:100); вторичные антитела к α -тубулину были антимышиными IgG конъюгированными с FITC (Sigma, разведение 1:100). Препараты заключали в среду Vectashield antifade solution (Vector Laboratories No. X1215), замедляющую выцветание флуоресценции, содержащую 1 мкг/мл DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindol, Sigma-Aldrich, No. D9542, США) для окрашивания хроматина.

Исследование проводили с помощью микроскопа Axio Imager M1 (Carl Zeiss AG, Германия), изображения регистрировались камерой ProgRes MF (Meta Systems, Jenoptik, Германия) с ПО Isis software (Meta Systems, Jenoptik); а также лазерного сканирующего микроскопа LSM 780 NLO (Zeiss) с камерой AxioCam MRm (Zeiss) и ПО ZEN (Zeiss). Полученные изображения обрабатывали в программе Adobe Photoshop CS2.

Результаты

Динамика хроматина и микротрубочкового цитоскелета в профазе первого деления мейоза у растений сорта С29 и линии 3R(3B)

Сравнительный анализ прохождения стадий профазы у сорта пшеницы С29 и у линии 3R(3B) не выявил различий до ранней зиготены (Приложение 1 и 2)¹. Со стадии ранней лептотены до начала зиготены мейоциты у пшеницы С29 и линии 3R(3B) меняли форму от прямоугольной (см. Приложение 1, а, в, Приложение 2, а, г) и треугольной (см. Приложение 1, б, Приложение 2, в) до округлой (см. Приложение 1, г, Приложение 2, б).

¹ Приложения 1–7 см. по адресу:

<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2024-28/appx13.pdf>

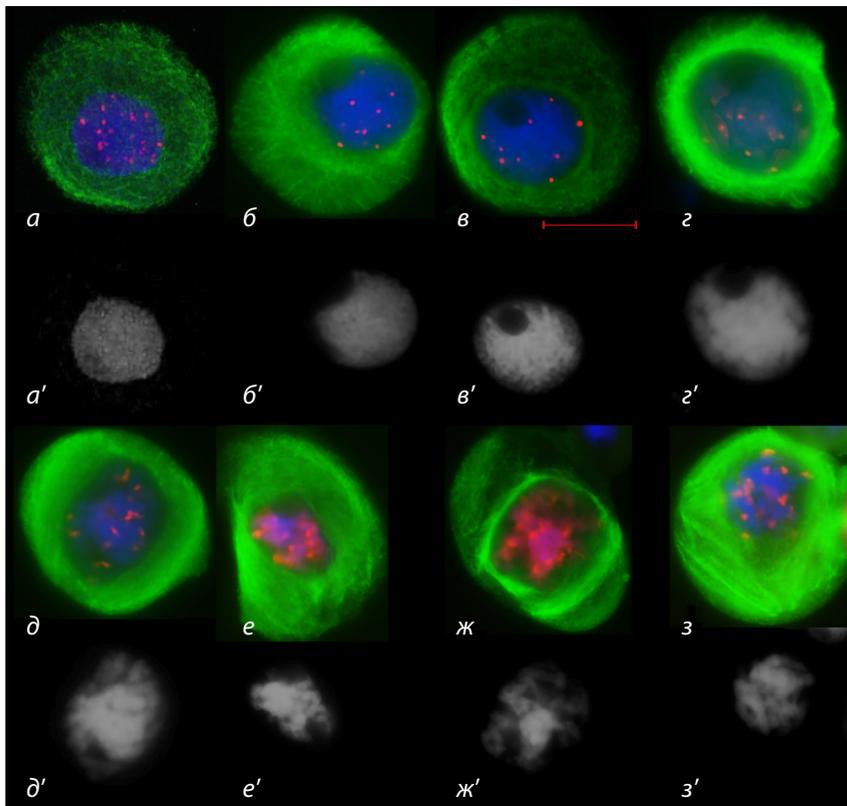


Рис. 1. Реорганизация МТ цитоскелета в профазе первого деления мейоза у линии 3R(3B). *a* – лептотена–зиготена, профазный ретикулярный цитоскелет; *b* – зиготена, микротрубочки приближаются к ядру, образуют перинуклеарное кольцо; *в* – пахитена, плотное кольцо микротрубочек; *г* – диплотена, микротрубочки сформировали плотное кольцо вокруг ядра; *д–з* – диакinesis, последовательные стадии дезорганизации кольца и переориентация МТ, формирование про-веретена.

Иммуноокрашивание: ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центрального района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм. *a'–z'* – окрашивание DAPI.

В ранней лептотене присутствовали три (см. Приложение 1, *a, б*, Приложение 2, *б*) или четыре ядрышка, которые позже сливались в одно (см. Приложение 1, *в, г*, Приложение 2, *д*). На стадии «лептотена–зиготена» тонкие нити хроматина формировали плотный шар, в который было погружено одно ядрышко, смещенное к оболочке ядра (рис. 1, *a', б'*) (см. Приложение 1, *г*, Приложение 2, *д*). По мере созревания мейоцитов хроматин конденсировался. На стадии зиготены было заметно утолщение его нитей (см. Приложение 1, *г*, Приложение 2, *д–ж*).

На стадиях зиготены и пахитены хроматин у сорта пшеницы C29 и у линии 3R(3B) распределялся в ядре по-разному. У линии 3R(3B), в отличие от C29, нити хроматина выпетливались радиально и нерегулярно (см. Приложение 2, *и, к*). На стадии пахитены в случае как пшеницы, так и пшенично-ржаной линии была характерна асимметричная группировка хромосом на одной стороне ядра (см. Приложение 1, *д*, Приложение 2, *з*). На стадии диплотены нити хроматина еще более укорачивались, продолжая контактировать с оболочкой ядра (см. Приложение 1, *е, ж*, Приложение 2, *м*). В диакинезе полностью были сформированы биваленты, но еще сохранялись ядрышко и ядерная

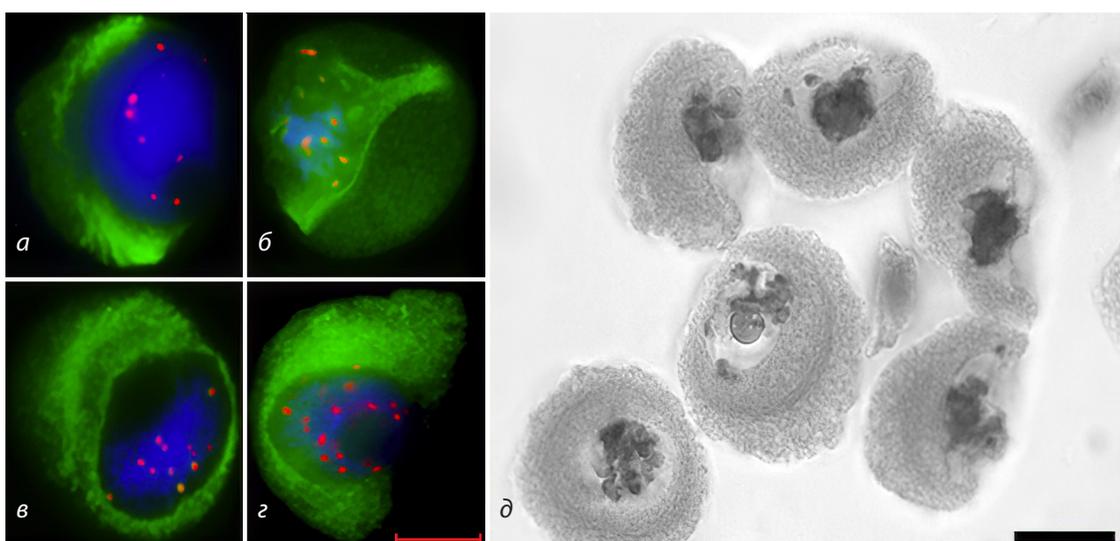


Рис. 2. Миграция ядра к периферии клетки и формирование МТ структур, подобных арке в профазе мейоза у линии 3R(3B). *a, г* – арка, образованная МТ; *б* – МТ на вершине арки образуют конгломерацию, подобную полюсу веретена деления; *в* – неполная миграция ядра к периферии; *д* – группа клеток, в части которых произошла миграция ядра к оболочке мейоцита.

Иммуноокрашивание (*a–г*): ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центрального района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм. Фиксатор Навашина (*д*), окраска ацетокармином. Масштабный отрезок 10 мкм.

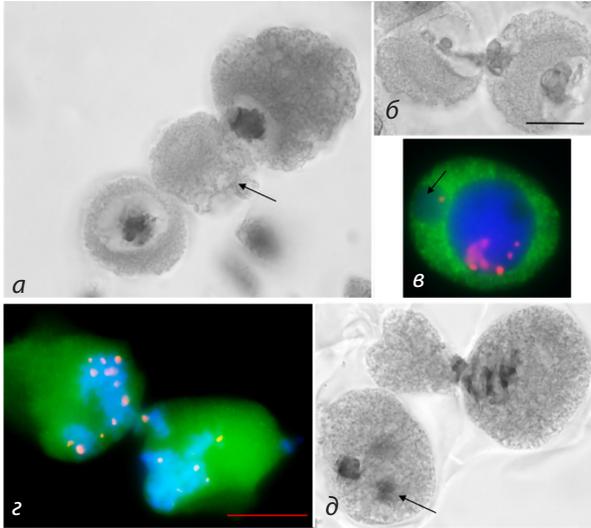


Рис. 3. Цитомиксис у пшенично-ржаной замещенной линии 3R(3B). *a* – перемещение ядра в профазе с образованием цитопласта (указан стрелкой); *б* – процесс перемещения хроматина из одного мейоцита в другой; *в* – микроядро (указано стрелкой); *г* – перемещение хромосомы из одного мейоцита в другой в поздней профазе; *д* – цитомиксис на стадии метафазы I.

Фиксатор Навашина, окрашивание ацетокармином (*a, б, д*). Масштабный отрезок 10 мкм. Иммуноокрашивание (*в, г*): ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центромерного района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм.

оболочка (см. Приложение 1, *з*, Приложение 2, *н, о*). У линии 3R(3B), в отличие от C29, на стадии диакинеза хромосомы располагались плотно друг к другу (см. Приложение 1, *з*, Приложение 2, *о*).

Анализ мейоцитов с помощью иммуноокрашивания в профазе до стадии пахитены не выявил различий в динамике МТ между линией 3R(3B) и описанной у сорта C29 ранее (Loginova et al., 2020). На стадии интерфазы и ранней профазы формировался ретикулярный цитоскелет (см. рис. 1, *a*), затем МТ реорганизовывались в радиальные, после чего переориентировались, приближались к ядру на стадии зиготены–пахитены. В это время ядро мигрировало к оболочке и формировалась “half-moon” структура из микротрубочек (см. рис. 1, *б*).

На стадии пахитены вокруг ядра появлялось плотное перинуклеарное кольцо (см. рис. 1, *в*), которое занимало центральную позицию в клетке. В 10–90 % клеток, в зависимости от проанализированного пыльника, ядро мигрировало вплотную к оболочке клетки, а цитоскелет формировал структуру, напоминающую арку (рис. 2, *a, в, г*). Плотность нуклеации МТ в данной структуре могла различаться. Были обнаружены мейоциты, в которых МТ на вершине арки образовывали структуру, подобную полюсу веретена (см. рис. 2, *б*).

В диплотене–диакинезе происходили дезорганизация кольца и разделение микротрубочек на отдельные пучки, а затем их выпрямление (см. рис. 1, *д–ж*). В диакинезе были сформированы трех-четыреполюсные структуры (см. рис. 1, *ж, з*), как у сорта C29 и ржи (Loginova et al., 2020).

Миграция ядра к мембране в 5 % клеток у линии 3R(3B) завершалась перемещением хроматина из одного мейо-

Таблица 2. Частота цитомиксиса у растений сорта C29 и линии 3R(3B)

Линия/ сорт	Количество проанализированных клеток		Процентное содержание клеток
	всего	с цитомиксисом или его последствиями	
3R(3B)	480	24	5.0
C29	321	3	0.9

цита в другой в результате цитомиксиса (рис. 3, табл. 2). Хроматин перемещался как на стадии профазы (см. рис. 3, *a, б, г*), так и на стадии метафазы I (см. рис. 3, *д*). В тех клетках, откуда перемещался хроматин, оставался только цитопласт (см. рис. 3, *a*) или редуцированное количество хроматина. В клетках, куда перемещался хроматин, он формировал отдельное микроядро (см. рис. 3, *в*) либо сливался с ядерным материалом реципиента (см. рис. 3, *д*).

Поведение хромосом и динамика МТ цитоскелета в первом делении мейоза у растений сорта C29 и линии 3R(3B)

После разрушения ядерной оболочки профазное веретено разбиралось, и на стадии прометафазы у растений сорта C29 и линии 3R(3B) микротрубочки взаимодействовали с кинетохорами хромосом и друг с другом, формируя центральные и кинетохорные фибриллы будущего веретена деления (рис. 4).

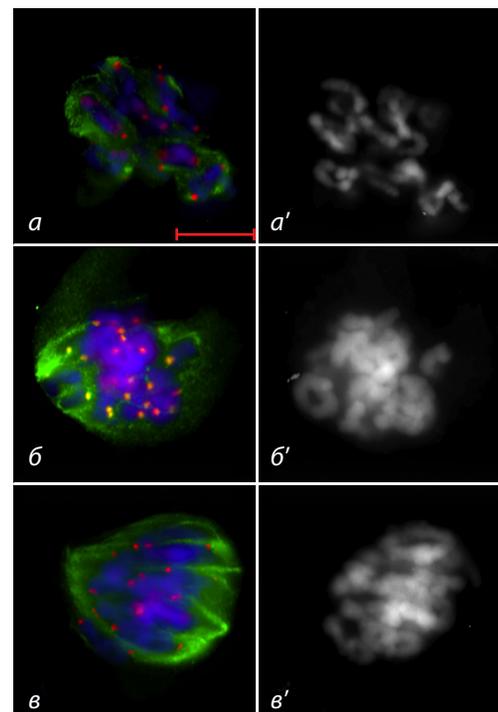


Рис. 4. Прометафаза I мейоза у растений линии 3R(3B). *a* – взаимодействие МТ с кинетохорами хромосом; *б, в* – формирование центральных и кинетохорных фибрилл веретена деления.

Иммуноокрашивание: ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центромерного района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм. Окрашивание DAPI (*a'–г'*).

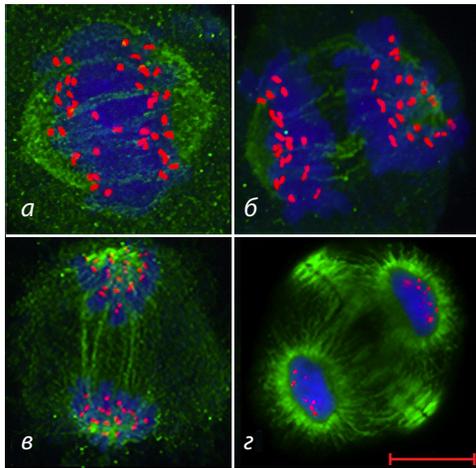


Рис. 5. Реорганизация МТ цитоскелета в первом делении мейоза у линии 3R(3B). *а* – метафаза, сформировано веретено деления; *б* – анафаза, расхождение хромосом к полюсам, укорочение кинетохорных фибрилл веретена деления; *в* – поздняя анафаза, сохраняются только центральные фибриллы веретена деления, начало формирования радиального цитоскелета; *з* – телофаза, формирование фрагмопласта. Иммуноокрашивание: ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центромерного района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм.

Концы микротрубочек конвергировали на полюсах, в результате формировался аппарат деления и хромосомы располагались на экваторе клетки (рис. 5, *а*).

Отличительной особенностью метафазы I у линии 3R(3B) являлось отсутствие метафазной пластинки на экваторе веретена деления и различная степень компактизации хромосом (Приложение 3, см. рис. 13). Мейоциты с отсутствием метафазной пластинки обнаружено от 20 до 100 % в зависимости от проанализированного пыльника, в среднем 53.33 ± 14.62 % (см. Приложение 3, *а–д*).

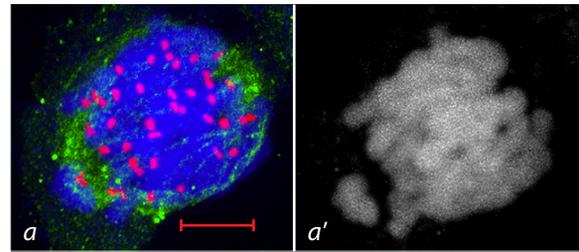


Рис. 6. Отсутствие метафазной пластинки в метафазе I у линии 3R(3B). Иммуноокрашивание: ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центромерного района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм. Окрашивание DAPI (*а'*).

Анализ поведения хромосом у линии 3R(3B) с помощью иммуноокрашивания выявил, что биваленты в клетках с несформированной метафазной пластинкой хаотично распределены по экваториальной плоскости (рис. 6, *а*), в отличие от нормы (см. рис. 5, *а*), вследствие отсутствия нуклеации МТ на кинетохомах отдельных бивалентов (рис. 7, *а*, рис. 8, *а*) либо аномального соединения кинетохор открытого и закрытого бивалентов пучками МТ (см. рис. 7, *а*). Обнаружены мейоциты, в которых не формировалось нормальное веретено деления из-за отсутствия конвергенции МТ на полюсе (в 2 % мейоцитов) (см. рис. 7, *б*).

Характерной особенностью метафазы I у линии 3R(3B) был сниженный уровень формирования хиазм в сравнении с сортом С29 (табл. 3, см. Приложение 3). Открытых бивалентов обнаружено 3.0 ± 0.35 на клетку, закрытых бивалентов – 15.95 ± 0.61 , а число унивалентов составило 3.79 ± 1.0 (см. табл. 3). У сорта С29 униваленты не найдены, число закрытых бивалентов составило 20.92 ± 0.04 , открытых – 0.08 ± 0.04 (см. табл. 3). В 1.2 % мейоцитов у линии 3R(3B) были выявлены мультиваленты.

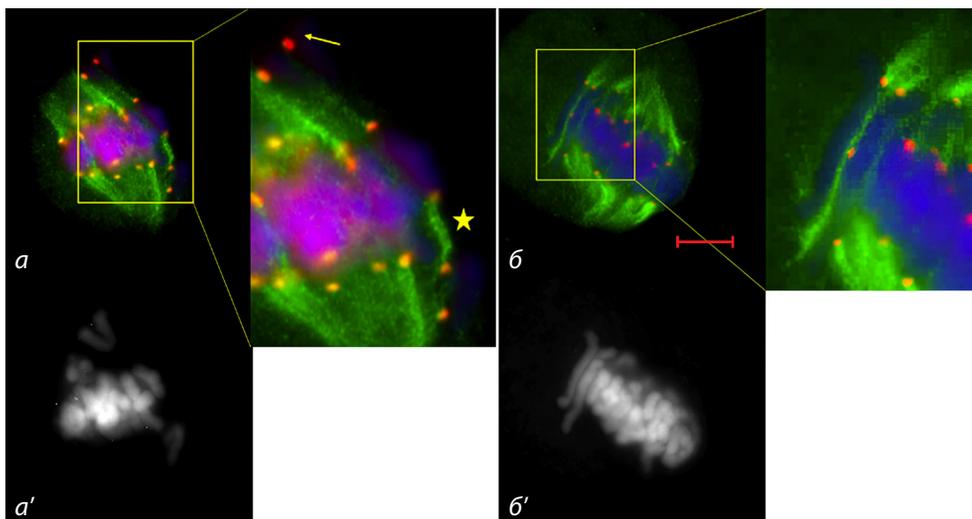


Рис. 7. Нарушения в нуклеации МТ при формировании веретена деления в метафазе I. *а* – на кинетохоре открытого бивалента отсутствует нуклеация МТ (указано стрелкой), пучки МТ соединяют кинетохоры открытого и закрытого бивалентов (отмечено звездочкой); *б* – МТ бивалентов не конвергируют на полюсах. Иммуноокрашивание: ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центромерного района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм. Окрашивание DAPI (*а'*, *б'*).

Таблица 3. Формирование бивалентов и унивалентов в мейозе у линии 3R(3B) и сорта пшеницы C29

Линия/сорт	Среднее число на клетку			
	закрытых бивалентов	открытых бивалентов	унивалентов	хиазм
3R(3B)	15.95 ± 0.6	3.00 ± 0.35	3.79 ± 1.02	34.90 ± 0.62
C29	20.92 ± 0.04***	0.08 ± 0.04***	0	41.92 ± 0.38

*** Достоверные различия при $p \leq 0.001$.

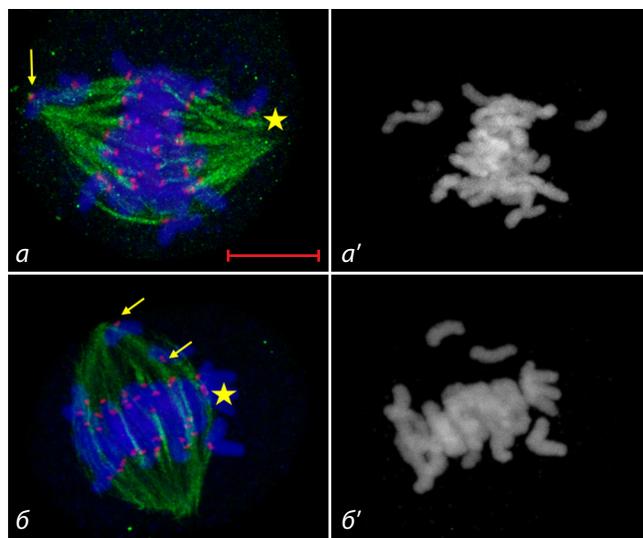


Рис. 8. Распределение унивалентов на стадии метафазы I у линии 3R(3B). *a* – МТ связь унивалентов с одним полюсом (отмечено звездочкой), отсутствие сигнала α -тубулина на кинетохоре бивалента (указано стрелкой); *б* – на кинетохорах унивалентов отсутствует сигнал α -тубулина (указано стрелками), разъединенные сестринские кинетохоры биполярно ориентированы (отмечено звездочкой).

Иммуноокрашивание: ДНК окрашена синим цветом, микротрубочки – зеленым, кинетохоры центрального района – красным. Масштабный отрезок 5 мкм. Окрашивание DAPI (*a'*, *б'*).

Сестринские кинетохоры унивалентных хромосом во время метафазы I могли быть разделены или оставаться единой структурой. В первом случае хромосомы располагались на экваторе (см. рис. 8, *б*), а во втором – случайным образом распределялись к полюсам до начала анафазы I (см. рис. 8, *а*). На едином кинетохоре унивалента (см. рис. 8, *б*) и бивалента (см. рис. 8, *а*) нуклеация МТ могла отсутствовать, что тоже влияло на аномальное формирование метафазной пластинки.

В начале анафазы I у растений сорта C29 и линии 3R(3B) кинетохорные фибриллы веретена деления укорачивались, что приводило к расхождению хромосом к полюсам (Приложение 4, *б*, *в*, Приложение 5, *б*, *в*). Хромосомы распределялись по веретену деления вне зависимости от своей компактизации (см. Приложение 5, *б*). После расхождения хромосом формировалась система «фрагмопласт–клеточная пластинка» (см. Приложение 4, *з*, Приложение 5, *з*), которая делила мейоцит на две дочерние клетки. Первое деление заканчивалось образованием диады с радиальным цитоскелетом (см. Приложение 4, *д*, Приложение 5, *д*).

У линии 3R(3B) на стадиях метафазы I и анафазы I (от 0 до 30 % мейоцитов в зависимости от пыльника) и тело-

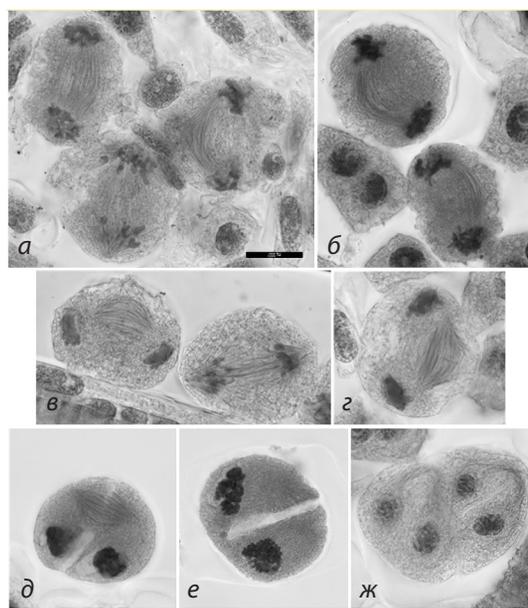


Рис. 9. Формирование С-образного веретена у линии 3R(3B). *а-в* – анафаза; *г* – телофаза, автономное расположение веретена деления; *д*, *е* – телофаза, клеточная стенка в виде надсечки; *д* – автономное расположение веретена деления; *ж* – телофаза II.

Фиксация по Навашину, окраска ацетокармином. Масштабный отрезок 10 мкм.

фазы II обнаружены С-образные веретена (рис. 9, *а-г*, *ж*), которые не влияли на расхождение хромосом.

После расхождения хромосом веретено деления сохраняло свою форму и располагалось возле двух телофазных групп хромосом (см. рис. 9, *в-д*). Процесс формирования фрагмопласта был нарушен, клеточная стенка образовывалась в виде надсечки, которая не разделяла полностью мейоцит на стадии телофазы I (см. рис. 9, *д*, *е*).

Второе деление мейоза у растений сорта C29 и линии 3R(3B)

Анализ второго деления показал, что у линии 3R(3B), в отличие от сорта C29, наряду с нормальным мейозом встречаются пыльники с аномалиями, так же как и в первом делении. В норме во время профазы второго деления радиальный цитоскелет (Приложение 6, *а*) преобразовывался в пучки МТ, которые образовывали метафазную структуру (см. Приложение 6, *б*, *в*, Приложение 7, *б*, *в*), а затем распределяли сестринские хроматиды между полюсами (см. Приложение 6, *г*, Приложение 7, *з*).

Аналогичным образом, как и в первом делении, формируется система «фрагмопласт–клеточная пластинка». При этом сохраняются только центральные фибриллы ве-

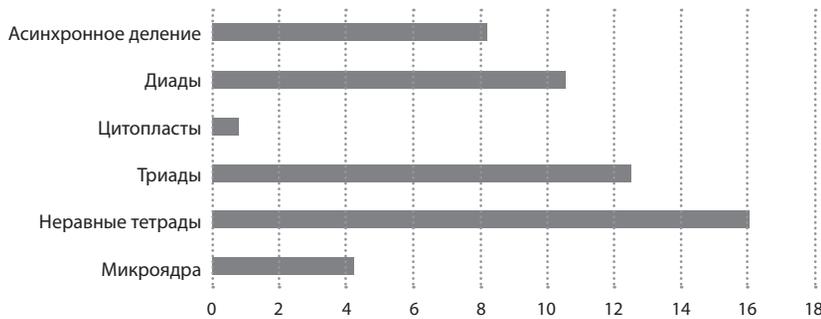


Рис. 10. Процентное содержание клеток с различными аномалиями во втором делении мейоза у линии 3R(3B).

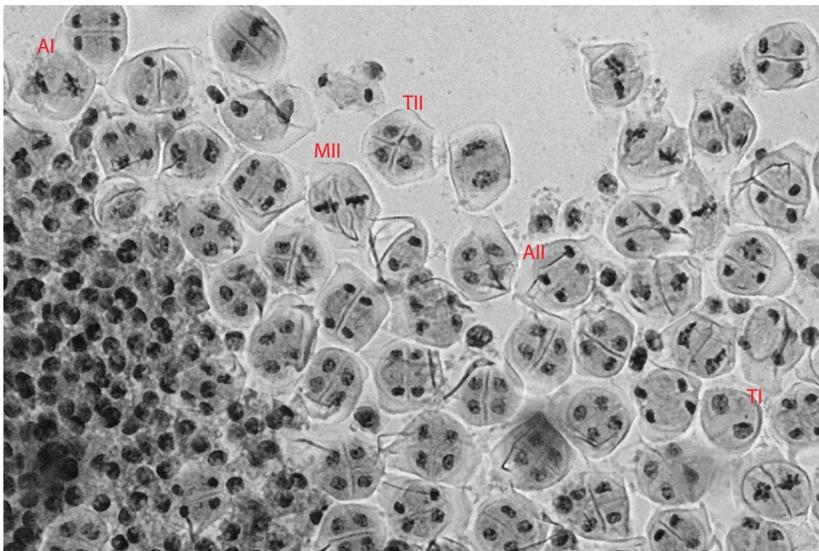


Рис. 11. Асинхронное поведение хромосом у линии 3R(3B). Клетки на разных стадиях мейотического деления в одном пыльнике.

AI – анафаза I, TI – телофаза I, MII – метафаза II, AII – анафаза II, TII – телофаза II. Фиксация по Навашину, окраска ацетокармином.

ретена деления и деление завершается образованием тетрад (см. Приложение 6, д, е, Приложение 7, д, е). В 4.2 % тетрад обнаружены микроядра (рис. 10).

Во втором делении у линии 3R(3B) выявлено асинхронное поведение хромосом (рис. 10 и 11). В отдельных пыльниках одного колоса одновременно могли находиться мейоциты на различных стадиях деления: анафаза I, телофаза I, метафаза II, анафаза II и тетрады (см. рис. 11). На стадии

телофазы II среди тетрад встречались диады (от 8 до 13 % мейоцитов у проанализированного пыльника) (см. рис. 10).

На стадии телофазы II были обнаружены тетрады с неравными по размеру ядрами (рис. 12, а) в 10–20 % мейоцитов (см. рис. 10), а также цитопласты без ядер (2.4 % клеток) (см. рис. 10 и 12, в) и триады (12.5 % клеток) (см. рис. 10 и 12, з–е).

Поведение хромосом ржи 3R3R в первом и втором делениях мейоза

С помощью FISH было изучено поведение хромосом ржи. На стадии метафазы I хромосомы 3R3R формировали биваленты в 86.82 % мейоцитов, из них в 21.36 % – открытые биваленты, а в 13.18 % мейоцитов – униваленты (рис. 13). В 5.58 % клеток хромосома 3R отсутствовала.

Во время телофазы I гомологичные хромосомы 3R3R в 98 % мейоцитов расходились без нарушений (рис. 14, а). При анализе клеток на стадии телофазы II хромосома 3R была выявлена во всех микроспорах тетрады (см. рис. 14, б), что говорит о ее правильном распределении как в случае бивалента, так и в случае унивалентов.

Обсуждение

Хромосома 3B необходима для формирования хиазм между гомологами, а ее отсутствие не компенсируется хромосомой ржи 3R

Образование хиазм между гомологами и одновременный запрет формирования хиазм между гомеологичными хромосомами у мягкой пшеницы контролируются геном *TaZIP4-B2*, идентифицированным внутри локуса *Ph1*, который расположен на длинном плече хромосомы 5B (Griffiths et al., 2006; Al-Kaff et al., 2008; Martín et al., 2017). Однако результаты ци-

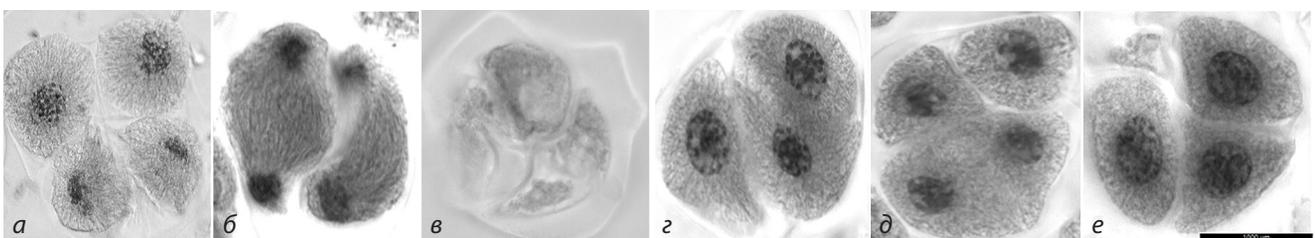


Рис. 12. Аномалии во втором делении мейоза на стадии тетрад у 3R(3B). а – тетрада с неравными по размеру ядрами; б – аномальное веретено во втором делении, диспропорция хроматина; в – безъядерная тетрада; г, е – триады; д – отсутствие клеточной стенки в одной из двух клеток. Фиксация по Навашину, окраска ацетокармином. Масштабный отрезок 10 мкм.

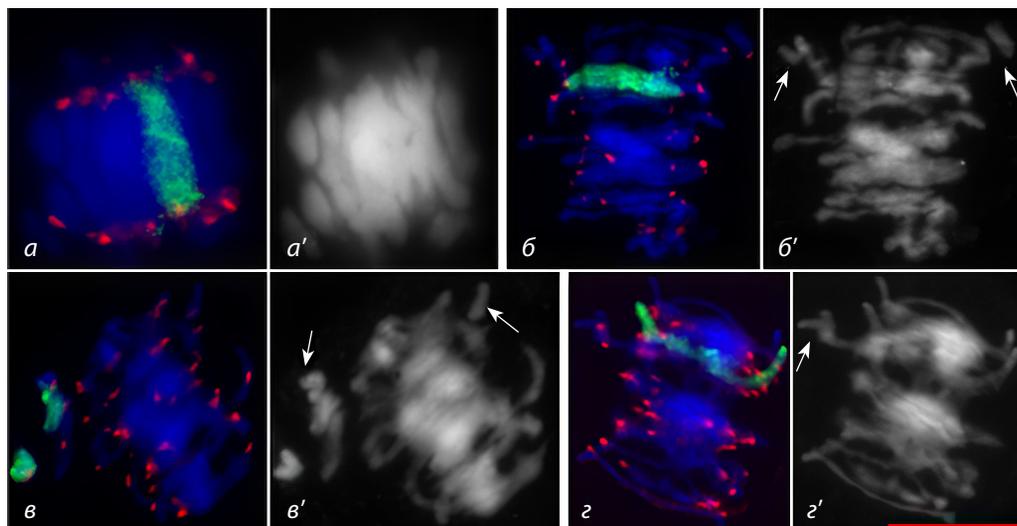


Рис. 13. Поведение хромосом в метафазе I мейоза у линии 3R(3B). *a* – формирование закрытого бивалента хромосомами 3R, нормальное расположение хромосом на экваторе; *б–г* – нарушение компактизации хромосом: *б* – формирование закрытого бивалента хромосомами 3R, униваленты хромосом пшеницы (указаны стрелками); *в* – униваленты хромосом ржи, униваленты хромосом пшеницы (указаны стрелками); *г* – формирование открытого бивалента хромосомами 3R, унивалент пшеницы (указан стрелкой).

GISH: ДНК окрашена синим цветом, хромосомы ржи – зеленым; центромерный район – красным. Масштабный отрезок 5 мкм.

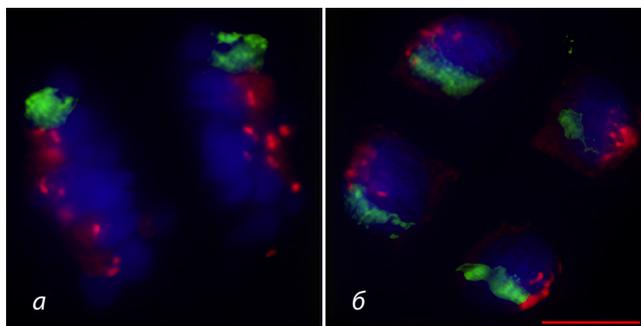


Рис. 14. Распределение ржаных хромосом в мейозе линии 3R(3B) в телофазе I (*a*) и телофазе II (*б*).

GISH: ДНК окрашена синим цветом, хромосомы ржи — зеленым; центромерный район – красным. Масштабный отрезок 5 мкм.

тогенетических исследований микроспорогенеза у мутантов тетраплоидной и гексаплоидной пшениц, их анеуплоидных и делеционных линий показали, что на хромосоме пшеницы 3B также расположены гены, регулирующие формирование бивалентов независимо от 5B (Sears, 1954; Lee et al., 1970; Lelley, 1976; Miller et al., 1983; Darrier et al., 2022; Draeger et al., 2023). Так, в присутствии двух хромосом 5B нуллисомия по хромосоме 3B у гексаплоидной пшеницы приводит к снижению числа хиазм на стадии метафазы I (асинапсису) (Sears, 1954; Lee et al., 1970; Kato, Yamagata, 1982; Darrier et al., 2022), а делеция различных по длине фрагментов длинного плеча 3B уменьшает общее количество хиазм на 35 % (Darrier et al., 2022).

В нашей работе показано, что особенностью метафазы I у линии 3R(3B) являлось уменьшение числа хиазм в сравнении с сортом C29 – 34.9 ± 0.62 и 41.92 ± 0.38 соответ-

ственно. Гомологи хромосомы ржи 3R тоже формировали биваленты только в 86.82 % мейоцитов, из них в 21.36 % случаев биваленты были открытыми. Проведенный ранее анализ состава хромосом у растений линии 3R(3B) с помощью цитогенетических и молекулярных методов показал присутствие в кариотипе пары хромосом 5B (Silkova et al., 2006). Следовательно, наши результаты подтверждают полученные ранее данные о наличии генов на хромосоме 3B, регулирующих формирование хиазм независимо от генов на хромосоме 5B.

Недавно было получено подтверждение тому, что копии гена *ZIP4* в локусе *Ph1* хромосомы 5B (*TaZIP4-B2*) и на хромосомах 3A (*TaZIP4-A1*), 3B (*TaZIP4-B1*), 3D (*TaZIP4-D1*) не компенсируют отсутствие друг друга (Rey et al., 2017; Draeger et al., 2023). При отсутствии экспрессии *TaZIP4-B2* у этилметансульфонат индуцированных TILLING мутантов *Ph1* не происходит равнозначного увеличения экспрессии гомологов *ZIP4* на хромосомах 3-й гомеологичной группы (Rey et al., 2017). Цитогенетический анализ образования хиазм у TILLING мутантов по трем копиям генов *ZIP4* у тетраплоидной пшеницы показал, что *Tzip4-A1* продуцирует фенотип, почти не отличающийся от нормальной пшеницы. Достоверное снижение числа хиазм на 10 % происходит у единичных мутантов *Tzip4-B1* и *Tzip4-B2*, а также у двойных мутантов *Tzip4-A1B2* и *Tzip4-B1B2*, но различия между ними незначительные, в среднем больше на один-два унивалента на клетку (Draeger et al., 2023). У двойных мутантов *Tzip4-A1B1*, где *TaZIP4-B2* присутствует в единственной копии, кроссоверные обмены снижаются на 76–78 %, и растения становятся стерильными с высокой частотой (Draeger et al., 2023). Копии *TaZIP4* 3-й группы также преимущественно необходимы для гомологичных кроссоверов у гексаплоидной пшеницы (Martín et al., 2021).

На хромосоме 3В был идентифицирован набор генов, среди которых восемь (*CAP-E1/E2*, *DUO1*, *MLH1*, *MPK4*, *MUS81*, *RTKL1*, *SYN4*, *ZIP4*), как известно на сегодняшний день, участвуют в процессе рекомбинации (Darrier et al., 2022). Три копии генов, *CAP-E1/E2*, *MLH1* и *MPK4-3*, характеризовались самой высокой экспрессией, тогда как уровень экспрессии *ZIP4* был достоверно ниже и равным для гомеологов 3А, 3В и 3D. Исходя из этих данных *MPK4*, *CAP-E1/E2* и *MLH1* были выбраны как гены-кандидаты, ответственные за контроль образования хиазм (Darrier et al., 2022).

Отличительной особенностью метафазы I у линии 3R(3B) было также наличие мейоцитов с декомпактизованными хромосомами. Наиболее близкими по проявлению похожего мейотического фенотипа оказались двойные гетерозиготные мутанты арабидопсиса *AtCAP-E1+/-*, *AtCAP-E2-/-*, где ген *CAP-E1/E2* является функциональным ортологом гена *SMC2* (Structural Maintenance of Chromosomes 2), который принадлежит конденсиновому комплексу, участвующему в компактизации хромосом (Sutani et al., 1999). Анализ мутантов показал, что эти гены экспрессируются во время мейоза, а двойные гетерозиготные мутанты демонстрируют уменьшение конденсации хромосом в метафазе I и анафазе I (Siddiqui et al., 2003). По мнению авторов (Darrier et al., 2022), аномальное функционирование конденсинов как дополнительный фактор тоже может повлиять на нарушение формирования кроссоверных обменов.

Дополнительным доказательством наличия мейотических генов в хромосоме 3В стало картирование QTL децинапсиса *QTdes2.ndsu-3B* у растений твердой пшеницы с делецией длинного плеча хромосомы 3В, полученной с помощью радиационного облучения (Bassi et al., 2013). Однако последовательность нуклеотидов данной делеции не секвенирована, и нет возможности сопоставить ее с последовательностями уже известных генов.

Результаты нашей работы также демонстрируют отсутствие компенсационной способности хромосомы ржи 3R замещать хромосому 3В для нормального формирования кроссоверных обменов между гомологами. Асинапсис между гомологами при замещении хромосомы 3В гомеологами пшеницы или ржи показан ранее (Lee et al., 1970; Bassi et al., 2013). У замещенной линии 3D(3B) сорта Langdon твердой пшеницы на стадии метафазы I формируется до 14 унивалентов (Bassi et al., 2013). Замещение хромосомы пшеницы 3В хромосомой ржи 3R у линии мягкой пшеницы Харьковская-Даколд вызывает асинапсис между гомологами в 30 % мейоцитов (Lee et al., 1970). В другом случае добавление пары хромосом ржи 3R в кариотип пшенично-ржаных гибридов F₁ увеличивает число бивалентов в метафазе I (Lelley, 1976; Miller et al., 1983), а у дополненной линии Chinese Spring-Imperial по хромосоме 3R отмечено самое низкое уменьшение числа хиазм, на 1.1 % (Orellana et al., 1984).

Замещение хромосом 3R(3B) вызывает различные аномалии в мейотическом делении

Мейоз у растений линии 3R(3B) характеризовался комплексом аномалий в динамике МТ и поведении хромосом как в первом, так и во втором делениях. Эти результаты

можно объяснить полученными ранее данными о совместной экспрессии гена *Tzip4-B1* с ортологами мейотических генов (Alabdullah et al., 2019). При построении сети коэкспрессии ортологов известных мейотических генов пшеницы, связанных с *TaZIP4*, три гомеолога *TaZIP4* на хромосомах 3-й группы, 3А, 3В и 3D (*TraesCS3A02G401700*, *TraesCS3B02G434600* и *TraesCS3D02G396500*), кластеризовались в самом крупном модуле, относящемся к мейозу, и в значительной степени были связаны со многими ортологами мейотических генов с различными функциями: ассоциация сестринских кинетохор в первом делении мейоза, расхождение хромосом, формирование кроссоверных обменов классов I и II, защита когезинового комплекса в центромерном районе, контроль мейотического клеточного цикла, когезия сестринских хроматид, репарация двойных разрывов ДНК, синаптомемный комплекс, антикроссоверная активность, формирование двойных разрывов ДНК (Alabdullah et al., 2019). Однако копия *TaZIP4*, ответственная за фенотип *Ph1* (*TraesCS5B02G255100*), не кластеризовалась в этом модуле (Alabdullah et al., 2019), что еще раз подтверждает ее иной профиль экспрессии (Martin et al., 2018).

В нашей работе были выявлены аномалии в динамике МТ цитоскелета. Во время метафазы I у линии 3R(3B) происходило нарушение нуклеации МТ на кинетохорах отдельных бивалентов либо нарушение конвергенции МТ на полюсе, что могло вызвать отсутствие эквационной пластинки в 53.33 ± 14.62 % мейоцитов. Также обнаружено формирование цитоскелетом структуры наподобие арки при смещении ядра к оболочке клетки на стадии пахитены. Одной из причин этого может быть отсутствие гена *MPK4* (митоген-активируемая протеинкиназа), идентифицированного на хромосоме 3В (Darrier et al., 2022), который участвует в динамике МТ цитоскелета (Beck et al., 2010; Zeng et al., 2011).

Важной особенностью мейоза у линии 3R(3B) было асинхронное поведение хромосом во втором делении и наличие диад на стадии телофазы II. Такой мейотический фенотип соответствует мутантам по гену *TAM* (*tam1* и *tam2*). *tam1* демонстрирует асинхронное деление в мейозе, а *tam2* – отсутствие второго деления и вызванную этим мейотическую реституцию. На хромосоме 3В был идентифицирован QTL *QTug.sau-3B*, отвечающий за формирование нередуцированных гамет у межвидовых гибридов (НАО et al., 2014). Оказалось, что *QTug.sau-3B* является синтенным локусу *TAM* у риса и *Brachypodium*, а у *Arabidopsis thaliana* *TAM* кодирует циклин CYCA1;2.

Нарушения в мейотическом делении у линии 3R(3B) могут быть вызваны не только отсутствием хромосомы пшеницы 3В. На сегодняшний день обнаружены изменения в экспрессии генов как у линий с замещениями хромосом пшеницы чужеродными хромосомами, так и у линий с дополненными чужеродными хромосомами (Rey et al., 2018; Dong et al., 2020). В линиях мягкой пшеницы с интрогрессией чужеродных хромосом возможно нарушение в поведении хромосом из-за формирования нового генетического фона, в котором происходит изменение экспрессии генов, как у реципиентов пшеницы, так и у доноров родственных видов (Rey et al., 2018; Dong et al., 2020). Так, у линии TA3575 с замещением хромосом 3В

хромосомами 3Sl#2 *Ae. longissima* выявлены гены с измененной экспрессией на всех хромосомах пшеницы (Dong et al., 2020). Согласно транскриптомному анализу, из 1839 генов, картированных на хромосоме 3В сорта Chinese Spring, 577 генов (31.43 %) изменили свою экспрессию. Большинство из них (461 ген, или 79.90 %) не транскрибировались, а 100 генов (17.33 %) имели пониженную экспрессию. Только 16 (2.77 %) генов имели повышенную экспрессию. Это указывает на то, что по крайней мере 34.57 % генов (461 из 1839) на отсутствующей хромосоме 3В не были генетически компенсированы интрогрессированной хромосомой 3Sl#2 *Ae. longissima* (Dong et al., 2020).

Заключение

Интрогрессия генетического материала родственных видов в виде хромосом и их фрагментов в геном мягкой пшеницы широко используется в селекции этой культуры для передачи генов, контролируемых важными агрономическими признаками. Передача хромосом при вовлечении линий в гибридизацию зависит от поведения в мейозе как хромосом пшеницы, так и чужеродной хромосомы. В случае замещения хромосомы пшеницы, гены которой участвуют в регуляции мейотического деления, может быть выявлено наличие/отсутствие компенсационного эффекта у генов гомеологичных хромосом, принадлежащих родственным видам и родам. Ранее было показано, что на хромосоме пшеницы 3В расположены гены, регулирующие формирование бивалентов независимо от 5В, а также выявлена совместная экспрессия гена *Tzip4-B1* с ортологами мейотических генов.

В нашей работе были изучены динамика МТ цитоскелета и поведение хромосом в мейозе у растений линии 3R(3B), где хромосома 3В замещена на хромосому ржи 3R. Эффект замещения 3R(3B) был проявлен не только в уменьшении числа хиазм в сравнении с сортом С29, 34.9 ± 0.62 и 41.92 ± 0.38 соответственно, но и в комплексе аномалий в динамике МТ и поведении хромосом как в первом, так и во втором делениях. Нарушения проявлялись в нуклеации МТ на кинетохорах, конвергенции МТ на полюсах деления веретена, формировании С-образного веретена, построении клеточной стенки, цитомиксисе, а также в асинхронности деления мейоцитов во втором делении и наличии диад на стадии телофазы II. Таким образом, результаты работы показали, что хромосома 3В сорта Саратовская 29 участвует в регуляции комплекса мейотических процессов, а у хромосомы ржи 3R отсутствует генетическая компенсационная способность замещать хромосому 3В для нормального прохождения мейоза.

Список литературы / References

Крупин П.Ю., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Использование генетического потенциала многолетних дикорастущих злаков в селекционном улучшении пшеницы. *С.-х. биология*. 2019;54(3):409-425. DOI 10.15389/agrobiol.2019.3.409rus
[Kroupin P.Yu., Divashuk M.G., Karlov G.I. Gene resources of perennial wild cereals involved in breeding to improve wheat crop. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2019; 54(3):409-425. DOI 10.15389/agrobiol.2019.3.409eng]

Юдина Р.С., Леонова И.Н., Салина Е.А., Хлесткина Е.К. Влияние чужеродных интрогрессий в геноме пшеницы на ее устойчивость к осмотическому стрессу. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4/1):643-649
[Yudina R.S., Leonova I.N., Salina E.A., Khlestkina E.K. Effect of alien genomic introgressions on the osmotic tolerance of wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(4/1):643-649 (in Russian)]

Alabdullah A.K., Borrill P., Martin A.C., Ramirez-Gonzalez R.H., Hassani-Pak K., Uauy C., Shaw P., Moore G. A co-expression network in hexaploid wheat reveals mostly balanced expression and lack of significant gene loss of homeologous meiotic genes upon polyploidization. *Front. Plant Sci*. 2019;10:1325. DOI 10.3389/fpls.2019.01325

Al-Kaff N., Knight E., Bertin I., Foote T., Hart N., Griffiths S., Moore G. Detailed dissection of the chromosomal region containing the *Ph1* locus in wheat *Triticum aestivum*: with deletion mutants and expression profiling. *Ann. Bot*. 2008;101(6):863-872. DOI 10.1093/aob/mcm252

Appels R., Eversole K., Stein N., Feuillet C., Keller B., Rogers J., Pozniak C.J., Choulet F., Distelfeld A., Poland J., ... Visendi P., Cui L., Du X., Feng K., Nie X., Tong W., Wang L. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science*. 2018;361(6403):eaar7191. DOI 10.1126/science.aar7191

Bariah I., Keidar-Friedman D., Kashkush K. Where the wild things are: transposable elements as drivers of structural and functional variations in the wheat genome. *Front. Plant Sci*. 2020;11:585515. DOI 10.3389/fpls.2020.585515

Bassi F.M., Kumar A., Zhang Q., Paux E., Huttner E., Kilian A., Dizon R., Feuillet C., Xu S.S., Kianian S.F. Radiation hybrid QTL mapping of *Tdes2* involved in the first meiotic division of wheat. *Theor. Appl. Genet*. 2013;126(8):1977-1990. DOI 10.1007/s00122-013-2111-z

Beck M., Komis G., Muller J., Menzel D., Samaj J. *Arabidopsis* homologs of nucleus- and phragmoplast-localized kinase 2 and 3 and mitogen-activated protein kinase 4 are essential for microtubule organization. *Plant Cell*. 2010;22:755-771. DOI 10.1105/tpc.109.071746

Cook J.P., Wichman D.M., Martin J.M., Bruckner P.L., Talbert L.E. Identification of microsatellite markers associated with a stem solidness locus in wheat. *Crop Sci*. 2004;44(4):1397-1402. DOI 10.2135/cropsci2004.1397

Darrier B., Colas I., Rimbert H., Choulet F., Bazile J., Sortais A., Jenczewski E., Sourdille P. Location and identification on chromosome 3B of bread wheat of genes affecting chiasma number. *Plants*. 2022;11(17):2281. DOI 10.3390/plants11172281

Dong Z., Ma C., Tian X., Zhu C., Wang G., Lv Y., Friebe B., Li H., Liu W. Genome-wide impacts of alien chromatin introgression on wheat gene transcriptions. *Sci. Rep*. 2020;10(1):4801. DOI 10.1038/s41598-020-61888-1

Draeger T.N., Rey M.-D., Hayta S., Smedley M., Alabdullah A.K., Moore G., Martin A.C. *ZIP4* is required for normal progression of synapsis and for over 95 % of crossovers in wheat meiosis. *Front. Plant Sci*. 2023;14:1189998. DOI 10.3389/fpls.2023.1189998

Giorgi B. A homoeologous pairing mutant isolated in *Triticum durum* cv. Cappelli. *Mutat. Breed. Newslett*. 1978;11:4-5

Griffiths S., Sharp R., Foote T.N., Bertin I., Wanous M., Reader S., Colas I., Moore G. Molecular characterization of *Ph1* as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature*. 2006;439(7077):749-752. DOI 10.1038/nature04434

Hao M., Luo J., Zeng D., Zhang Li, Ning S., Yuan Z., Yan Z., Zhang H., Zheng Y., Feuillet C., Choulet F., Yen Y., Zhang L., Liu D. *QTug.sau-3B* is a major quantitative trait locus for wheat hexaploidization. *G3 (Bethesda)*. 2014;4(10):1943-1953. DOI 10.1534/g3.114.013078

- Kato T., Yamagata H. Effect of 3B chromosome deficiency on the meiotic pairing between the arms of an isochromosome in common wheat. *Jpn. J. Genet.* 1982;57(4):403-406. DOI 10.1266/jjg.57.403
- Lee Y.H., Larter E.N., Evans L.E. Meiotic behavior of wheat-rye addition and substitution lines. *Crop Sci.* 1970;10(2):144-145. DOI 10.2135/cropsci1970.0011183X001000020006x
- Lelley T. Induction of homeologous pairing in wheat by genes of rye suppressing chromosome 5B effect. *Can. J. Genet. Cytol.* 1976;18(3):485-489. DOI 10.1139/g76-059
- Ling H.Q., Ma B., Shi X., Liu H., Dong L., Sun H., Cao Y., Gao Q., Zheng Sh., Li Ye, Yu Y., Du H., Qi M., Li Y., Lu H., Yu H., Cui Y., Wang N., Chen Ch., Wu H., Zhao Y., Zhang J., Li Y., Zhou W., Zhang B., Hu W., van Eijk M.J.T., Tang J., Witsenboer H.M.A., Zhao Sh., Li Zh., Zhang A., Wang D., Lian Ch. Genome sequence of the progenitor of wheat A subgenome *Triticum urartu*. *Nature.* 2018;557(7705):424-428. DOI 10.1038/s41586-018-0108-0
- Loginova D.B., Zhuravleva A.A., Silkova O.G. Random chromosome distribution in the first meiosis of F1 disomic substitution line 2R(2D) × rye hybrids (ABDR, 4x = 28) occurs without bipolar spindle assembly. *Comp. Cytogenet.* 2020;14(4):453-482. DOI 10.3897/compcytogen.v14.i4.55827
- Martín A.C., Rey M.-D., Shaw P., Moore G. Dual effect of the wheat *Ph1* locus on chromosome synapsis and crossover. *Chromosoma.* 2017;126(6):669-680. DOI 10.1007/s00412-017-0630-0
- Martín A.C., Borrill P., Higgins J., Alabdullah A., Ramírez-González R.H., Swarbreck D., Uauy C., Shaw P., Moore G. Genome-wide transcription during early wheat meiosis is independent of synapsis, ploidy level, and the *Ph1* locus. *Front. Plant Sci.* 2018;9:1791. DOI 10.3389/fpls.2018.01791
- Martín A.C., Alabdullah A.K., Moore G. A separation-of-function *ZIP4* wheat mutant allows crossover between related chromosomes and is meiotically stable. *Sci. Rep.* 2021;11(1):21811. DOI 10.1038/s41598-021-01379-z
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat. Yokohama, 2013
- Mello-Sampayo T. Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of *Triticum aestivum*. *Nat. New Biol.* 1971;230(9):22-23. DOI 10.1038/newbio230022a0
- Miller T.E., Reader S.M., Gale M.D. The effect of homeologous group 3 chromosomes on chromosome pairing and crossability in *Triticum aestivum*. *Can. J. Genet. Cytol.* 1983;25(6):634-641. DOI 10.1139/g83-094
- Mohammed Y.S., Tahir I.S., Kamal N.M., Eltayeb A.E., Ali A.M., Tsujimoto H. Impact of wheat-*Leymus racemosus* added chromosomes on wheat adaptation and tolerance to heat stress. *Breed. Sci.* 2014;63(5):450-460. DOI 10.1270/jsbbs.63.450
- Munkvold J.D., Greene R.A., Bermudez-Kandianis C.E., La Rota C.M., Edwards H., Sorrells S.F., Dake T., Benscher D., Kantety R., Linkiewicz A.M., ... Kianian S.F., Sandhu D., Erayman M., Gill K.S., McGuire P.E., Qualset C.O., Sorrells M.E. Group 3 chromosome bin maps of wheat and their relationship to rice chromosome 1. *Genetics.* 2004;168(2):639-650. DOI 10.1534/genetics.104.034819
- Orellana J., Cermeño M.C., Lacadena J.R. Meiotic pairing in wheat-rye addition and substitution lines. *Can. J. Genet. Cytol.* 1984;26(1):25-33. DOI 10.1139/g84-005
- Paux E., Röger D., Badaeva E., Gay G., Bernard M., Sourdille P., Feuillet C. Characterizing the composition and evolution of homoeologous genomes in hexaploid wheat through BAC-end sequencing on chromosome 3B. *Plant J.* 2006;48:463-474. DOI 10.1111/j.1365-313X.2006.02891.x
- Ramage R.T., Hernandez-Soriano J.M. Desynaptic genes in barley. *Barley Genet. Newlett.* 1972;2:65-68
- Rey M.-D., Martín A.C., Higgins J., Swarbreck D., Uauy C., Shaw P., Moore G. Exploiting the *ZIP4* homologue within the wheat *Ph1* locus has identified two lines exhibiting homoeologous crossover in wheat-wild relative hybrids. *Mol. Breed.* 2017;37(8):95. DOI 10.1007/s11032-017-0700-2
- Rey M.-D., Martín A.C., Smedley M., Hayta S., Harwood W., Shaw P., Moore G. Magnesium increases homoeologous crossover frequency during meiosis in *ZIP4* (*Ph1* gene) mutant wheat-wild relative hybrids. *Front. Plant Sci.* 2018;9:509. DOI 10.3389/fpls.2018.00509
- Sears E.R. The Aneuploids of Common Wheat. Columbia MO, USA: Agric. Exp. Station, Univ. of Missouri, 1954
- Sears E.R. Genetics Society of Canada award of excellence lecture an induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. *Can. J. Genet. Cytol.* 1977;19(4):585-593. DOI 10.1139/g77-063
- Siddiqui N.U., Stronghill P.E., Dengler R.E., Hasenkampf C.A., Riggs C.D. Mutations in *Arabidopsis* condensin genes disrupt embryogenesis, meristem organization and segregation of homologous chromosomes during meiosis. *Development.* 2003;130(14):3283-3295. DOI 10.1242/dev.00542
- Silkova O.G., Dobrovolskaya O.B., Dubovets N.I., Adonina I.G., Kravtsova L.A., Roeder M.S., Salina E.A., Shchapova A.I., Shumny V.K. Production of wheat-rye substitution lines and identification of chromosome composition of karyotypes using C-banding, GISH, and SSR markers. *Russ. J. Genet.* 2006;42(6):645-653. DOI 10.1134/S1022795406060093
- Sutani T., Yuasa T., Tomonaga T., Dohmae N., Takio K., Yanagida M. Fission yeast condensin complex: essential roles of non-SMC subunits for condensation and Cdc2 phosphorylation of Cut3/SMC4. *Genes Dev.* 1999;13(17):2271-2283. DOI 10.1101/gad.13.17.2271
- Wada B., Kusunoki F. Spindle membrane in meiosis of pollen mother cells of *Tradescantia* and in mitosis of endosperm cells of *Zephyranthes*. *Cytologia (Tokyo).* 1964;29(1):109-117. DOI 10.1508/cytologia.29.109
- Zeng Q., Chen J.-G., Ellis B.E. AtMPK4 is required for male-specific meiotic cytokinesis in *Arabidopsis*. *Plant J.* 2011;67(5):895-906. DOI 10.1111/j.1365-313X.2011.04642.x
- Zhang P., Wanlong L., Fellers J., Friebe B., Gill B.S. BAC-FISH in wheat identifies chromosome landmarks consisting of different types of transposable elements. *Chromosoma.* 2004;112(6):288-299. DOI 10.1007/s00412-004-0273-9

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 12.01.2024. После доработки 25.03.2024. Принята к публикации 26.03.2024.