
КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ. ЦИТОЛОГИЯ. ГИСТОЛОГИЯ

УДК 635.655:631.577.523.27.218

**КОЛХИЦИНОВЫЙ МИТОЗ КАК МОДЕЛЬ ПРОЦЕССА
АПОПТОЗА КЛЕТОК АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ**

Козак Маргарита Федоровна, доктор биологических наук, профессор, Астраханский государственный университет, 414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1, mkozak@yandex.ru

*В работе представлен анализ экспериментальных данных по исследованию особенностей пролиферации клеток апикальных меристем (АМ) при нормальном и колхициновом митозе зародышевого корня представителей двух видов сои: *Glycine max* (L.) Merrill., культурная соя, *G. soja* Sieb. & Zuck., дикая уссурийская соя, а также потомства межвидовых гибридов (МВГ) восьмого поколения (F₈). Поскольку филогенез многих высших, в том числе культурных растений, в том числе исследуемых представителей рода *Glycine* L., связан с полиплоидным происхождением, предлагается рассматривать колхициновый митоз (к-митоз) в качестве одной из моделей процесса апоптоза при изучении пролиферации и дифференцировки клеток АМ у высших растений, связанных с полиплоидным происхождением. Вычленение элементарных биологических систем (моделей) позволит по-новому оценить реальные события, происходящие при взаимодействии клеток дикого и культурного видов сои с экстремальными факторами воздействия и специфику ответной реакции при адаптации организма и гибридизации. Сами взаимоотношения исследуемых, близких в генетическом отношении видов сои, *Glycine max* (L.) Merr. и *G. soja* Sieb. & Zuss., при их гибридизации являются яркой моделью микро- и макроэволюционных событий.*

Ключевые слова: *Glycine max*, *Glycine soja*, межвидовые гибриды (МВГ), апоптоз, митоз, колхициновый митоз, ствольные клетки растений, апикальные меристемы (АМ), микроядра, многоядерность, циркадные ритмы митоза клеток апикальных меристем, митотический цикл, митотический индекс.

**COLCHICINE MITOSIS AS A MODEL OF THE APOPTOSIS OF
APICAL MERISTEM CELLS**

Kozak Margarita F., D.Sc. (Biology) Professor Astrakhan State University, 1 Shaumiana Sq., Astrakhan, 414000, mkozak@yandex.ru

*The paper presents an analysis of experimental data on the features of proliferation of apical meristem (AM) cells in normal and colchicin mitosis of the germinal root of representatives of two soybean species: *Glycine max* (L.) Merrill, cultivated soy, *Glycine soja* Sieb. & Zuck, Wild Ussuriensis soybeans, as well as offspring of interspecific hybrids (ISH) of the eighth generation (F₈). Since the phylogenesis of many higher, including cultivated plants, including the studied representatives of the genus *Glycine* L., is associated with polyploid origin, it is proposed to consider colchicine mitosis (k-mitosis) as one of the models of the apoptosis process in the study of proliferation and differentiation of AM cells in higher plants associated with polyploid origin. The isolation of elementary biological systems (models) will allow us to re-evaluate the real events that occur during the interaction of wild and cultured soybean cells with extreme exposure factors and the specifics of the response during the adaptation of the body. The relationships between the*

studied, genetically related soybean species, Glycine max (L.) Merr. and G. soja Sieb. & Zucc. When hybridized, they are a vivid model of micro- and macroevolutionary events.

Key words: *Glycine max, Glycine soja (wild soybean), interspecific hybrids (ISH); apoptosis, mitosis, colchizinitose, plant stem cells, apical meristems (AM), micronucleus, multinuclear, circadian rhythm apical meristems mitosis cells, crop improvement; crop wild relative; mitotic cycle, mitosis index.*

Существование апоптоза у растений признавалось давно [7, 8], однако изучение морфологических особенностей и молекулярных механизмов этого процесса у растительных организмов до последнего времени отставало и по-прежнему все еще отстает от всестороннего исследования апоптоза у животных. Термин апоптоз в переводе с греческого связан с растениями и означает опадение (подобное опадению лепестков и листьев у растений). Апоптоз разнообразен, поэтому проблема заключается в том, что наряду с собственно апоптозом, как генетически запрограммированной терминальной фазой клеточной дифференцировки у растений, существуют и другие процессы запрограммированной гибели клеток (ЗГК), которые происходят под влиянием факторов среды (патогены, химические и физические воздействия, в результате активации внутренних механизмов запрограммированной гибели клетки. Следовательно, понятие «запрограммированная гибель клеток» следует понимать значительно шире [7, 8, 88]. Поскольку наряду с ЗГК существует и запрограммированная гибель целого организма и отдельных органов, В.П. Скулачев предложил называть эти процессы соответственно фенотозом и органоптозом [48]. Очевидно, фенотоз у растений подобно фенотозу у животных контролируется гормонами, запускающими гены запрограммированной гибели. Поэтому гормон цветения (идея флоригена принадлежит М.Х. Чайлахяну [53] или комплексы природных регуляторов роста растений, индуцирующих цветение, могут оказаться и гормонами фенотоза. Особый интерес представляет вопрос соотношения и взаимозависимости фенотоза, органоптоза и апоптоза. В цепочке: апоптоз — органоптоз — фенотоз [48], то в начале этой цепи В.П. Скулачев помещает еще митоптоз (запрограммированная гибель митохондрий). Б.Ф. Ванюшин [8] не исключает, что органоптоз в одном органе (например, coleoptile пшеницы) может запускать апоптоз отдельных клеток в другом органе (лист) и наоборот. В клетках *Arabidopsis thaliana* [8, 56, 57, 58], гороха и риса обнаружен ген гомологичный гену животных *dad1* [75], который защищает клетки от апоптоза, свидетельствует о том, что механизмы апоптоза, животных и растений довольно сходны и весьма консервативны. Поскольку исследования апоптоза у растений более фрагментарны, иногда гипотетичны, многие особенности и факторы этого процесса обнаружены, в основном, по аналогии с апоптогенными факторами, уже известными для животных клеток. В этом аспекте весьма актуальным направлением исследования цитологических механизмов ЗГК является поиск факторов и моделей в реально существующих процессах пролиферации клеток растительных систем.

В обзорной работе Д.А. Зубова [21] представлен современный анализ данных по биологии стволовых клеток растений, функционированию меристем, в том числе по механизмам регенерации и процессам опухолеобразования. Сравнивая стволовые клетки растений и животных, автор рассматривает их возможное полифилетическое происхождение в аспекте дивергентной эволюции. Показано, что основные сигнальные пути, а именно; ауксиновый, цитокининовый и Rb-путь (*Retinoblastoma (Rb)-RELATED (RBR)-E2F-DP-cyclin D pathway*), вовлеченные в процесс регуляции ниши стволовых клеток растений, также вовлечены и в процессы растительного опухолеобразования. Подобное перекрытие сигнальных путей канцерогенеза и самообновления наблюдается у животных. При трансформации регулярного роста в опухолевый, клеточная популяция становится независимой от регуляторных систем пролиферации. Однако клетки растений менее подвержены онкогенной трансформации, по сравнению с клетками животных, ввиду наличия у них жесткой клеточной стенки, отсутствия подвижности соматических клеток, а также в связи с высокой пластичностью генома растений. У растений известны летальные мутанты с утраченными функциями регуляции клеточного цикла. Так, потеря функции гена RB является летальной мутацией для *Arabidopsis thaliana* (L.). Д.А. Зубов приходит к выводу о том, что «...для изучения генетического контроля пролиферации и дифференцировки клеток у высших растений валидной моделью является модель опухолеобразования». Стволовые клетки находятся в меристемах конусов нарастания побегов и корней. Они активны в течение всей жизни растения и являются основным источником практически всех органов и тканей растения. Система клеток апикальной меристемы AM [55] должна, используя генетические процессы регуляции, поддерживать стабильность своего состава, прежде всего, стабильность хромосомного набора, в том числе процесс апоптоза. Активность меристем обусловлена двумя противоположными тенденциями: пролиферацией и самообновлением стволовых клеток в центральной части меристемы и дифференцировкой специализированных клеток на периферии. Система *WOX-CLAVATA* – консервативный для разных меристем регуляторный компонент, который обеспечивает размер и постоянство состава меристемы, а также баланс пролиферации и дифференцировки стволовых клеток. Стволовые клетки растений (как и животных) находятся в определенном микроокружении, известном как ниша: Stahl Y., Simon R [70], в которой внеклеточные сигналы поддерживают популяцию этих клеток в недифференцированном состоянии, а также обеспечивают их симметричное и асимметричное деление с образованием дочерних транзиторных амплифицирующих клеток, которые вносят основной вклад в рост тканей и органов растения.

Поскольку филогенез многих высших, в том числе культурных растений, в том числе исследуемых представителей рода *Glycine* L., связан с полиплоидным происхождением [3, 12, 19, 20, 32, 42, 51, 66, 69, 71, 78, 79, 83 и многие другие], валидной моделью для изучения пролиферации и

дифференцировки клеток у высших растений может быть модель колхицинового митоза (к-митоз). Показано [36,45], что события палеоплоидизации претерпели все геномы древних видов, являющихся прародителями ныне существующих видов растений, и авторы приходят к выводу о том, что полиплоидия является основным механизмом видообразования среди цветковых растений. Развитие молекулярной генетики и геномики в конце XX, начале XXI века позволили найти примеры нейтрального полиморфизма в природных популяциях, обусловленные дупликациями разного масштаба, от полиплоидии до генных дупликаций [63 и другие]. Проблеме межвидовой гибридизации, получения полиплоидов у сои, исследованию их морфологических и цитогенетических особенностей посвящено ряд работ отечественных и зарубежных авторов [20, 27, 29, 33, 66, 68, 69, 71, 72, 78, 79, 83 и многие другие]. В этом аспекте, к числу недостаточно исследованных относится проблема специфики воздействия различных доз колхицина, особенностей колхицинового (к-митоза) *Glycine L.* при различных экспозициях действующего фактора (с учетом полиплоидного происхождения представителей рода *Glycine L.*). К-митоз (Levan, 1938), (нем.: Colchizinmitose, C-Mitose; англ.: C-mitosis), цит. по [43]: Ригер Р., Михаэлис А., 1967. К-митоз: форма митоза, заторможенного частичной или полной инактивацией веретена, что вызывается воздействием на делящееся ядро колхицина и ряда других к-митотических агентов [43]. Параллельно с этим происходит сокращение хромосом. При «полном» к-митозе происходит полная инактивация веретена. После деления хроматид образуются «реституционные» ядра. При частичном к-митозе веретено инактивировано, хотя и не полностью. Частичный к-митоз наблюдается при применении агентов более слабой концентрации [43]. Показано, что при ещё более слабой концентрации действующих агентов в тканях протекает как нормальный, так и к-митоз (К-митоз). Таким образом, к-митозы различной степени представляют собой типичную пороговую реакцию и никогда не наступают, если концентрация действующего агента будет ниже определённой величины. Следовательно, модель колхицинового митоза может быть весьма актуальной для исследования пролиферации и дифференцировки клеток апикальных меристем растений в норме и патологических процессах дифференцировки при внешних воздействиях.

Материал и методы исследования

Исследованию подвергались клетки апикальных меристем зародышевых корней трех представителей рода *Glycine L.*:

- культурный вид сои: *G. max* (L.) Merrill. (сорт Бельцкая 636),
- дикая уссурийская соя: *G. soja* Sieb. & Zuck.,
- потомство F₈ межвидовых гибридов (МВГ), полученные автором работы [27, 32, и другие].

Дикая соя, *Glycine soja* (Siebold & Zucc.), дикий предок культурной (одомашненной) сои (*Glycine max* (L.) Merr.). Обладает высоким уровнем генетической изменчивости, высокой репродуктивной способностью высокой

адаптационной способностью, устойчивостью к внешним воздействиям и патогенам [60, 61, 62, 71, 72, 78, 80 и другие]. В России дикая соя имеет название «уссурийская» (*Glycine ussuriensis* Regel et Maack). Существует значительная проблема обогащения генома культурной сои, учитывая рост мирового населения, колебания климата, необходимость селекции сортов, устойчивых к вредителям и патогенным микроорганизмам. Дикие сородичи сои обладают большим потенциалом в обеспечении потока полезных аллелей для обогащения генома сои. Развитие исследований в области сравнительной геномики рода *Glycine* L., в том числе, диких сородичей [72, 74, 76, 77, 79, 83, 84, 89 и другие] может значительно расширить понимание возможностей и ограничений использования диких «сородичей» для создания и улучшения сортов культурной сои. Более ранние исследования *G. soja*, в основном, касались истории происхождения сои, возможностей естественной и искусственной гибридизации с сортами культурной сои, но пока еще недостаточно сделано для изучения генетического разнообразия представителей данного вида, особенностей его биологии, генетических, цитологических особенностей [83].

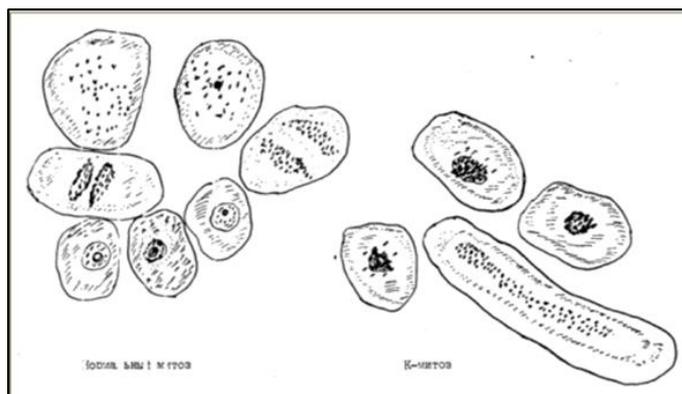
Целью данного раздела работы являлось определение специфики воздействия времени и доз воздействия колхицина на клетки апикальной меристемы корня, полученные при проращивании семян указанных видов и гибридов, а также исследование изменений периодов митоза и времени клеточных циклов исследуемых видов и гибридов высоких поколений при воздействии колхицина. Семена указанных форм проращивали в термостате в темноте при температуре 22°C в зимнее время года в строго контролируемых условиях, исключая случайное влияние внешних факторов. Циркадные ритмы митоза исследуемых видов и межвидовых гибридов изучались нами ранее путем темпоральной фиксации апикальных меристем зародышевых [30, 32, 67].

Для определения специфики воздействия времени и доз воздействия колхицина, исследования периодов митоза, митотического (клеточного) цикла зародышевые корешки всех трех исследуемых форм сои, длиной 8-10 мм, фиксировали в одно и то же время: в период с 12 до 13 часов. В это время была ранее установлена нами [30, 67] максимальная митотическая активность (митотический индекс, МІ%) клеток апикальной меристемы. Продолжительность митотического цикла и фаз митоза определяли колхициновым методом [15-18]. По каждому варианту эксперимента исследовали не менее 5-6 тысяч клеток меристемы. Для определения специфики воздействия времени и доз воздействия колхицина испытывались различные концентрации (0,1; 0,01; 0,001%) и время воздействия (0,5 часа, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа) водного раствора колхицина на делящиеся клетки меристемы в процессе роста зародышевого корня. Поскольку воздействие колхицина на делящиеся клетки при определенных дозах и времени экспозиции задерживает все клетки на стадии метафазы, накапливая их, имеется возможность получить информацию о количестве клеток,

вступающих в митоз за любой период времени. Окрашивание препаратов проводили ацетокармином по Ремедеру [44] с предварительным протравливанием материала в водном растворе железно-аммиачных квасцов. Для раздавливания использовали лишь апикальную часть меристемы. Чехлик и покоящийся центр также удаляли. Митотически активными считали клетки, находящиеся в профазе, метафазе, анафазе, телофазе. Установлено, что у всех исследуемых форм сои клетки апикальной меристемы находятся в состоянии высокой пролиферативной активности. Все фазы митоза у сои ясны, четки и хорошо различимы. Применяемые методы длительного окрашивания хромосом позволили различать профатические клетки очень рано (ранняя профаза), несмотря на то, что хромосомы сои ($2n=40$) мелкие ($0.650\div 1.038$ микрометров). Продолжительность времени воздействия колхицина для разных целей устанавливалась экспериментально.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ доз и времени воздействия водных растворов колхицина показал, что оптимальным периодом экспозиции колхицина для исследования клеточных циклов является четырехчасовое воздействие при концентрации



0,01 %. Этого времени воздействия достаточно, чтобы хромосомы делящихся клеток оказались «сжатыми» (рис. 1, 2) в неправильную, хорошо заметную метафазную пластинку – «комковатые метафазы» [1, 2]. При относительно кратковременном воздействии колхицина (2 часа) и

концентрации водного раствора 0,01 % происходит накопление метафаз, в которых хромосомы располагаются по всей клетке равномерно («метафазная пластинка», рис. 3).

При увеличении времени воздействия колхицина в меристеме образуются высоко полиплоидные клетки (рис. 2), которые обнаруживаются среди диплоидных. Число остановленных колхицином митозов ($MI_{колх.}$) тем больше, чем выше митотический индекс ткани ($MI, \%$), чем больше время действия колхицина ($t_{колх.}$) и чем быстрее протекает митоз [9, 10, 11, 15-18, 23, 24, 25, 26, 28, 30, 32, 67].



Рис 2. Полиплоидные клетки среди диплоидных при k-митозе в апикальной меристеме зародышевого корня сои. Увел. $\times 6000$.

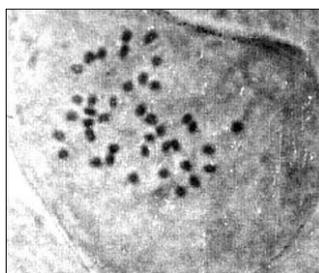


Рис. 3. Метафазная пластинка *Glycine ussuriensis* Regel et Maack. Увел. $\times 6000$.

При нормальном митозе исходные виды в 12 часов дня отличались по уровню митотической активности незначительно (табл. 1), однако ответная реакция АМ меристем на воздействие водных растворов колхицина оказалась различной. При колхициновом митозе митотический индекс клеток меристемы дикой уссурийской сои превысил на 3.4% аналогичный показатель представителей культурной сои (сорт Бельцкая 636) и составил 37.9% (табл. 1).

Таблица 1

Митотическая активность (МІ%) клеток апикальной меристемы при нормальном митозе (Н-митоз) и колхициновом митозе (К – митоз)

	Исследуемая форма	Митотический индекс, МІ%	
		Нормальный митоз (н-митоз)	Колхициновый митоз (к- митоз)
1	<i>G. max</i> (L) Мег. Культурная соя.	17.20 \pm 0,48*	34.50 \pm 1,60*
2	<i>G. soja</i> Sieb & Zuck. Дикая уссурийская соя	17.96 \pm 0,88*	37.90 \pm 1,37*
3	Межвидовые гибриды. (МВГ F8)	13.93 \pm 0,67*	38.20 \pm 1,87*

* $B > 0,95$

Митотический индекс гибридных растений при К-митозе оказался наиболее высоким – 38.2 % (табл. 1, рис. 4) по сравнению с представителями исходных видов. Таким образом, число остановленных митозов за единицу времени в меристеме МВГ оказалось максимальным. Гибридные формы растений, обладая изначально более высокой активностью ростовых

процессов, устойчиво сохраняют это свойство в потомстве (F_8). Полученные экспериментальные данные митотической активности клеток меристемы при нормальном и колхициновом митозе позволили определить различия во времени генерации клеток исследуемых форм сои. Продолжительность митоза (T_M) определяли по уравнению:

$$T_M = \frac{MI \times t_{колх.}}{MI_{колх.}}, \text{ где } t_{колх.} - \text{ время экспозиции колхицина [15, 16, 17, 18].}$$

Время интерфазы:

$$T_{интерфазы} = \frac{T_M \times N}{n}, \text{ где } N - \text{ число клеток в интерфазе, } n - \text{ число клеток в митозе (без колхицина).}$$

Продолжительность каждой фазы митоза (t_ϕ) определяли по уравнению: $t_\phi = \frac{a \times T_M}{n}$, где a – количество клеток в данной фазе (табл. 2).

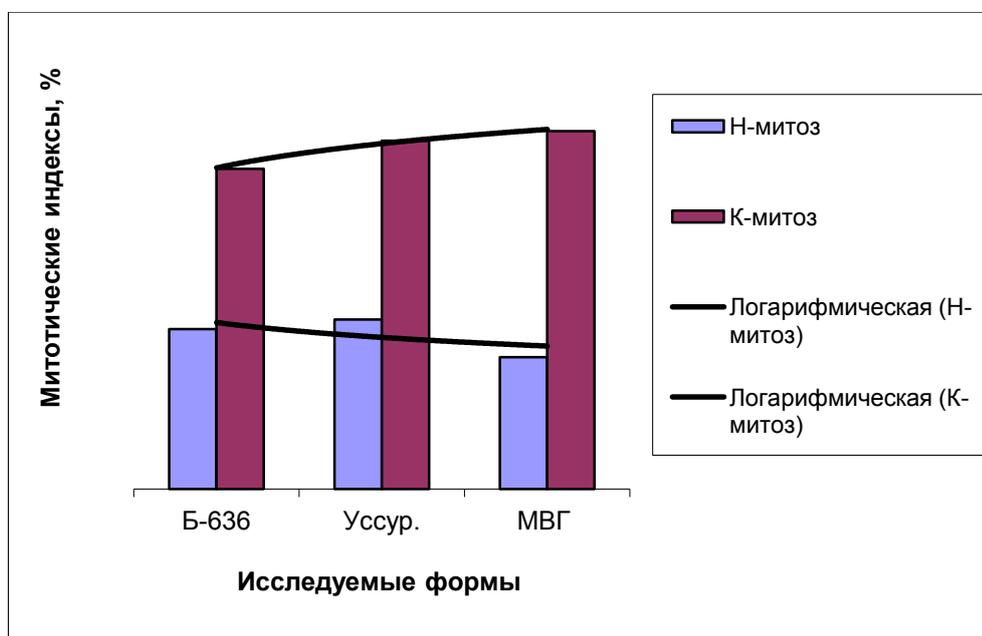


Рис. 4. Митотические индексы (MI, %) нормального (Н-митоз) и колхицинового (К-митоз) митоза.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что исследуемые виды отличаются по общей продолжительности митоза и отдельных его фаз. Так время митоза клеток апикальной меристемы корня дикой уссурийской сои – 1 час ÷ 50 мин, культурной сои сорта Бельцкая 636 – 2 часа, у гибридных растений – 1 час ÷ 27 мин. Различия между исследуемыми формами обнаружены также по продолжительности интерфазы. Так у сорта Бельцкая 636 продолжительность времени интерфазы на 1 час ÷ 19 минут больше, чем у уссурийской сои. Межвидовые гибриды приближаются по времени интерфазы к дикорастущей сое. Исследуемые виды сои *G. max* (L.) Merr., *G. soja* Sieb. & Zuck., гибриды (F_8) различаются по продолжительности митотического цикла клеток апикальных меристем соответственно: 11 часов ÷ 39 минут, 10 часов ÷ 39 минут, 10 часов ÷ 23 минуты и по времени митоза T_M , соответственно: 2.0 часа; 1 час ÷ 50 минут и 1 час ÷ 27 минут.

Таблица 2

Продолжительность митотического цикла (Т цикла) и фаз митоза у представителей двух видов сои и межвидовых гибридов (МВГ- F8)

Исследуемая форма		Продолжительность фаз митоза (часы ÷ минуты) и митотического цикла (Т цикла)						Интерфаза, Т инт.
		Время цикла, Т цикла час÷ мин	Митоз (ТМ) час÷ мин	Профаза час÷мин	Метафаза	Анафаза	Телофаза	
1	Бельцкая 636 (G. max)	11÷39	2÷00	0÷47	0÷21	0÷18	0÷34	9÷39
2	Дикая уссурийская (G. soja)	10÷39	1÷50	0÷53	0÷27	0÷10	0÷20	8÷20
3	♀ G. max × ♂G. soja, (МВГ F8)	10÷23	1÷27	0÷42	0÷20	0÷12	0÷13	8÷56

Следовательно, митотический цикл дикой уссурийской сои минимизирован по сравнению с культурной соей (сорт Бельцкая 636). Сокращение времени митотического цикла дикой уссурийской сои (10час÷39мин) может рассматриваться как тенденция минимизации затрат энергии на осуществление процессов клеточной пролиферации дикого вида сои.

Исследователями механизмов адаптационных процессов (Шварц, 1980; Озернюк, 1992; Озернюк, Нечаев, 2002 и другими) [37, 39, 40, 54] «минимизация энергозатрат» рассматривается как универсальная «цена» достижения адаптированности биологических систем. У константной гибридной формы F₈ культурного типа, отобранной из множества линий по комплексу ценных для селекции признаков, продолжительность митотического цикла оказалась на 1 час короче, чем у представителей культурного вида сои и даже несколько короче, чем у дикой уссурийской сои (табл. 2). Следовательно, в апикальной меристеме F₈ межвидовых гибридов сохраняется (наследуется) высокая интенсивность деления клеток, характерная для дикорастущих форм.

Кроме общей продолжительности митоза и митотического цикла, исследовано время отдельных фазы митоза (табл. 2). Гибридные растения F₈ характеризуются, в основном, более высокой интенсивностью прохождения всех фаз митоза по сравнению с каждым из исходных видов, сохраняя оптимальное время интерфазы, необходимое для синтеза основных пластических и энергетических веществ, на уровне продолжительности этой фазы у дикой уссурийской сои. Гомозиготные формы межвидовых гибридов имеют минимальную продолжительность митоза. Это определяется более быстрым протеканием всех фаз митоза в сравнении с представителями исходных видов: профаза – 42 мин, метафаза – 20 мин, анафаза – 12 мин, телофаза – 13 минут (табл. 2). Таким образом, генетически детерминированные активные ростовые процессы диких сородичей культурных растений, в том числе дикой уссурийской сои, являются основой их высокой адаптационной способности. Их исследование на клеточном и

молекулярном уровне у дикорастущих и культурных растений способствует пониманию элементарных адаптационных механизмов клеточной пролиферации. Минимизация энергозатрат рассматривается в современной эволюционной экологии как универсальная «цена» адаптации. Классификации адаптаций посвящено немало исследований, существуют различные определения понятия «адаптация»: Н.В. Тимофеев-Ресовский, Н.Н. Воронцов, А.В. Яблоков, 1969, и другие [52]. Элементарные адаптационные механизмы рассматриваются [49, 50], как переход живой системы любого уровня организации в новое гомеостатическое состояние. Общая высокая адаптационная способность дикорастущих видов растений осуществляется вследствие комплексного совмещения в геноме, многих мутаций, за которыми следует изменение уровня экспрессии новых (и «филогенетически старых») генов, приводящие к аминокислотным заменам и изменению свойств белков, а в дальнейшем метаболических, физиологических, морфологических признаков. В этом отношении, представители дикой и культурной сои в процессе эволюции значительно разошлись за исторически длительное время своей дивергенции. Сокращение продолжительности митотического цикла дикой уссурийской сои может рассматриваться как проявление адаптированности биологической системы, связанное с минимизацией энергозатрат и как переход системы в новое гомеостатическое состояние. Таким образом, *межвидовые гибриды F_8 обладают константной, генетически детерминированной, наследуемой потенциально высокой активностью ростовых процессов и могут представлять в этом отношении интерес в качестве доноров этих генов для обогащения генома культурной сои.*

Особенности колхицинового митоза у сои. При экспозиции водного раствора колхицина, концентрации 0.01%, в течение 4 часов 30 минут в зависимости от момента остановки митоза (или изменения процесса его протекания) образуются двуядерные, многоядерные или одноядерные (полиплоидные) клетки. При этом в меристеме отмечено резкое снижение доли клеток, находящихся в стадии профазы и метафазы, и следствием этого процесса является резкое снижение митотических индексов меристемы. Все ядра многоядерных симпластов («микроядра») находились в стадии интерфазы и были меньше по диаметру в два-пять и более раз, чем ядра одноядерных клеток. Микроядра имели ядрышки. Количество микроядер в клетках–симпластах варьировало от двух до тринадцати. Частота встречаемости таких клеток на отдельных препаратах достигала 1:10, 1:20.

Подобное явление при изучении цитологии k-митоза отмечено у других растений [38, 46]. Образование микроядер и многоядерных клеток под действием колхицина анализируется авторами [1, 2] следующим образом: отставание хромосом при расхождении к полюсам возникает при повреждении области центромеры или тиолового механизма формирования веретена деления. Хромосомы (или группы их) оттесняются цитоплазмой и образуют добавочные микроядра. В.Я. Бродский, И.В. Урываева полагают, что

«.....полиплоидия – удвоение числа хромосом в клетке – результат неполного митоза» [6]. По мнению В.Я. Бродского и И.В. Урываевой [6] «...механизм полиплоидизирующего митоза не ясен и недостаточность митотического аппарата – это продуктивная, но не вполне проверенная экспериментально идея». Авторы выражают сомнение в том, что нерасхождение хромосом или образование двуядерных клеток обусловлено только дефектами веретена. Нередко наблюдаемое в этих случаях отсутствие цитотомии (рис. 5), объясняется тем, что статмокинетические яды тормозят перемещение элементов фрагмопласта в экваториальную область и задерживают их слияние в межклеточную пластинку [1, 2]. Для обозначения процессов, происходящих при образовании клеток в таком случае, Б.Н. Сидоров, Н.Н. Соколов, Н.А. Вакуленко, А.Р. Огородникова [46] используют понятие «гипополиплоидный рост». Авторы рассматривают его, как процесс развития клеточной популяции, совершающийся при непрерывно продолжающихся и следующих один за другим ряде k -митозов.

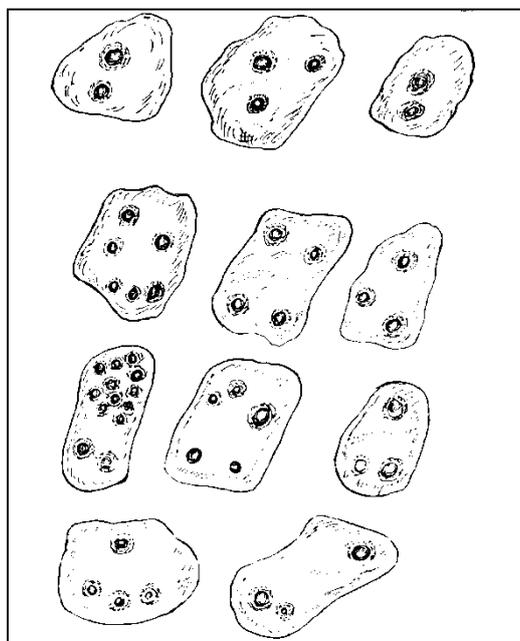


Рис. 5. Разнообразие вариантов многоядерности (микроядерности) клеток апикальной меристемы при k -митозе у представителей рода *Glycine* L.

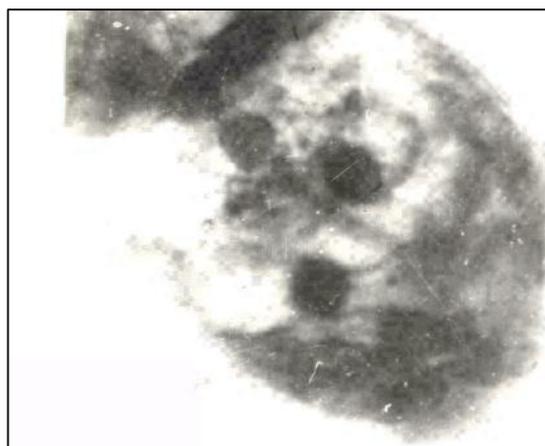


Рис. 6. Многоядерный симпласт в апикальной меристеме зародышевого корня сои при k -митозе. Увел. $\times 6000$.

Наблюдаемый в наших экспериментах «гипополиплоидный рост» сопровождается процессом образования многоядерных клеток, при этом с увеличением числа k -митозов закономерно возрастала в популяции доля многоядерных клеток. Стадии этого процесса приводят к появлению картин, характерных для амитоза, включающих образование «гантелевидных» фигур, перетяжек и других. Наблюдения Б.Н. Сидорова, Н.Н. Соколова, Н.А. Вакуленко, А.Р. Огородниковой [46] также показали, что после воздействия колхицина на клетки корешков лука встречается значительное количество амитозоподобных фигур: лопастных, гантелевидных и других полиморфных

ядер. Их было более половины от общего числа ядер, тогда как в контроле авторы нашли лишь два таких ядра из 1045 исследованных. По мнению авторов, лопастная форма ядра (вместо нормальной, шаровидной) в клетках корешка лука возникает в результате дезорганизации веретена деления в результате действия колхицина и незакономерного по этой причине перемещения хромосом.

Однако, определение количества ДНК и использование тимидиновой метки [6] доказали митотическое происхождение многих двуядерных и многоядерных клеток. По мнению Бродского и Урываевой [6] возникающие ядерные перетяжки являются результатом нарушенного распределения хромосом в митозе, а не следствием амитоза. Наши наблюдения позволяют согласиться с этим выводом. Деление клеток меристемы заключалось в образовании всевозможных вариантов многоядерных клеток (рис 1, 2, 5, 6). В наших опытах в первом k-митозе выявилась неправильная группировка хромосом в метафазе. В последующих митозах хромосомы видны в клетке сразу же после начала конденсации хроматина. Каждой неправильной форме ядра соответствовало сходное с ним расположение метафазных хромосом. Меристема корешков сои, содержащих в большом количестве симпласты с микроядрами, была сильно гипертрофирована. При дальнейшем культивировании проростков, обработанных колхицином, корешки были «вздутыми». Гипокотиль также был гипертрофирован и искривлен. Таким образом, клетки меристемы корешков сои при колхицинировании является мозаичными по числу хромосом вследствие «гипополиплоидного роста» при k-митозе. Часть клеток являются анеуплоидными вследствие фрагментации ядер при k-митозе, другие – высоко полиплоидными. Колхицинированные проростки в дальнейшем являются деформированными, и погибают на стадии развития семядольных листьев. При малых концентрациях водного раствора колхицина (0.001%) и времени воздействия 1-2 часа, наряду с цитологическими картинами задержанного k-митоза в апикальной меристеме зародышевого корня культурного вида сои, дикой уссурийской сои и межвидового гибрида преобладает нормальный митоз без видимых нарушений.

Цитологические картины патологии митоза, наблюдавшиеся нами при действии колхицина в АМ у двух видов сои и межвидовых гибридов, имеют достаточно высокую степень гомологии с другими объектами и исследованиями, проведенными без преднамеренных экспериментальных воздействий. Процессы запрограммированной гибели клеток (ЗГК) отмечены нами [35] на АМ меристемы почек тополя черного (*Populus nigra* L.) по содержанию микроядер в условиях высокой антропогенной нагрузки территории вблизи новой автомагистрали и тех же деревьев до ее появления. Растения чутко реагировали на повышение антропогенной нагрузки повышением вероятности встречаемости клеток с микроядрами в АМ побегов с уровня $p=0.02^{***}$ до 0.07-0.08 (***)). При этом линии клеток, имеющие повышенное число микроядер, закономерно снижают митотическую

активность (MI). В дальнейшем уровень «микроядерности» клеток AM тех же деревьев постепенно снизился до вероятности $p=0.02 - 0.03$ (***) вследствие постепенной элиминации клеток с микроядрами в результате естественных адаптационных процессов. Подобные закономерности отмечены нами в AM зародышевых корней *Allium cepa* L. Цитологические картины образования микроядер в AM *Populus nigra* L. и *Allium cepa* L. представлены нами в предыдущих работах [31, 32, 35 и других]. В подобных случаях также развиваются события, характерные для апоптоза, сходные с картинами к-митоза.

Заключение. Вычленение элементарных биологических систем (моделей) позволит по-новому оценить реальные события, происходящие при взаимодействии клеток живых систем с факторами внешней среды и специфику ответной реакции при адаптации организма. Сами взаимоотношения исследуемых, близких в генетическом отношении видов сои, *Glycine max* (L.) Merr. и *G. soja* Sieb. et Zucc., при их гибридизации [32] являются яркой моделью микро- и макроэволюционных событий. Согласно В.В. Суходольцу (2003, 2007) [49, 50] вид достигает приспособленности путем наследственной адаптации его популяций, т.е. путем микроэволюционных событий и возникновения рас, узкоспециализированных для конкретных условий существования. Экологическая устойчивость вида в условиях меняющейся среды -свидетельство повышения его биологической организации. Согласно В.В. Суходольцу специализированные расы одного вида объединяют свои «достижения» путем гибридизации и последующей рекомбинации генов, что при действии естественного отбора приводит к макроэволюционному событию. Благодаря тому, что виды сои, *Glycine max* (L.) Merr. и *G. soja* Sieb. & Zucc. являются достаточно открытыми генетическими системами, способными к естественному и искусственному скрещиванию, обитание их популяций в едином географическом пространстве Дальнего Востока России, Японии и Китая способствует их постоянному взаимному обогащению генома путем обмена генами и блоками генов для повышения продуктивности и адаптационной способности. Высокое геномное разнообразие популяций дикой сои, исключительно высокая репродуктивная способность и пластичность делают популяции *G. soja* неисчерпаемым источником для обогащения генома *Glycine max* (L.) Merr., особенно, для расширения генетической основы таких признаков, как устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам. Вычленение элементарных биологических систем (моделей) может способствовать объективной оценке событий, происходящих при пролиферации и взаимодействии клеток не только растений, животных и человека с факторами внешней среды, но и специфику ответной реакции при адаптации. *Первичной моделью специфики действия митозотормозящих препаратов в фармакологии* [14] могут также стать клетки AM растений.

Апикальные меристемы (AM) растений выполняют функцию центров органогенеза. Поскольку органы растений образуются в течение всего

жизненного цикла, новым подходом является то, что АМ имеют в своем составе популяцию стволовых клеток. Временная нестабильность хромосомного набора клеток АМ во многих случаях сопровождается появлением микроядер. Начало процесса характеризуется выбросом хромосом или их фрагментов за пределы митотического аппарата с образованием везикул, окруженных мембранами. Ядро клетки фрагментируется, постепенно формирует «лопасти», которые отделяясь, образуют микроядра различной величины, формы и количества. Как правило, они сформированы из весьма конденсированного структурного хроматина. Присутствие микроядер отмечено нами и при отсутствии деления клеток АМ, в интерфазе. Митотическое образование микроядер – это путь устранения генетически поврежденного хроматина. Элиминация клеток с поврежденным хроматином стабилизирует хромосомный набор АМ побега и зародышевого корня. Таким образом, апоптоз есть путь стабилизации хромосомного набора всей системы АМ. Этот механизм может запускаться различными сигналами внешней и внутренней среды (не обязательно мутагенными), но связанными с нехваткой факторов роста и выживания, повреждениями ДНК, разрушениями цитоскелета, гипоксией, ингибиторами и стимуляторами деления клетки.

Список литературы

1. **Алов И.А.** К вопросу о соотношении между митозом и амитозом. // Известия А.Н. СССР. Серия биол. 1958. № 4. С.403 – 407.
2. **Алов И.А.** Цитофизиология и патология митоза. 1972. М. 209 с.
3. **Амато Ф.Д.** Значение полиплоидизации органов и тканей репродуктивной системы // Эмбриология растений. Перевод с англ. Э.С. Терехина, Н.П. Матвеевой. Под ред. И.П. Ермакова. 1990. М. Агропромиздат. Т.2. С. 92-142.
4. **Батыгина Т.Б., Рудский И.В.** Роль стволовых клеток в морфогенезе растений // Докл. Академии наук. Общая биология. – 2006. – 410, № 5. – С.702–704.
5. **Беляченко Ю. А.** Пролиферация клеток растений при воздействии низкочастотного магнитного поля: дис. Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского. 2009. 112 с.
6. **Бродский В.Я., Урываева И.В.** Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. 1981. М. Наука. 260с.
7. **Ванюшин Б.Ф., Бердышев Г.Д.** Молекулярно-генетические механизмы старения. М. Медицина, 1977. 295 с.
8. **Ванюшин Б.Ф.** Апоптоз у растений. Успехи биологической химии, т. 41, 2001, С. 3-38.
9. **Гриф В.Г., Иванов В. Б.** Временные параметры митотического цикла у цветковых растений // Цитология. 1975. Т. 17. № 6. С.694-717.
10. **Гриф В.Г., Иванов В.Б.** Данные о временных параметрах митотического цикла у цветковых растений // Цитология. 1980. Т.22. № 2 С.107-120.
11. **Гриф В.Г.** Митотический цикл и функциональная морфология хромосом растений при низких температурах: Автореферат диссертации д-ра биологических наук. Л. 1981. 42 с.
12. **Добжанский Ф.Г.** Генетика и происхождение видов. М. Ижевск. Институт компьютерных исследований. НИЦ «Регуляция и хаотическая динамика». 2010. – 384 с.
13. **Додуева И.Е.** Стволовые клетки растений: единство и многообразие. / И.Е. Додуева, В.Е. Творогова, М. Азарахш, М.А. Лебедева, Л.А. Лутова. //Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016; 20 (4): 441-458. DOI 10.18699/VJ16.172

14. **Еникеева З.М.** Противоопухолевая активность и другие биологические свойства новых производных колхицина и колхамина: автореферат дис...доктора биологических наук: 14.00.14. – Ташкент, 2000. – 36 с.
15. **Епифанова О.И.** Гормоны и размножение клеток. М.: Наука, 1965. 244с.
16. **Епифанова О.И.,** Терских В. В. Метод радиоавтографии в изучении клеточных циклов. 1969. М.: Наука. 283 с.
17. **Епифанова О. И.,** Терских В. В., Полуновский В. А. Регуляторные механизмы пролиферации клеток //М. ВИНТИ. – 1988.
18. **Епифанова, О.И.** Лекции о клеточном цикле. / О. И. Епифанова. Изд. 2, доп. и перераб. Москва: КМК Scientific Press. 2003. – 159 с.
19. **Жуковский П.М.** Эволюционные аспекты полиплоидии растений // Полиплоидия и селекция / Минск: «Наука и техника». 1972. С. 9-18.
20. **Зеленцов С.В.** Полиплоидная рекомбинация генома, как фактор формообразования у высших растений. Электронный журнал «Исследовано в России». С.357-365. <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2002/035.pdf>.
21. **Зубов Д.А.** Стволовые клетки растений и животных: две стороны одной медали. Часть 2. //Гены и клетки. Том XI, №4, 2016. Обзоры. С. 6-17. Изд.-во: ООО Гены и Клетки (Москва). ISSN: 2313-1829. 2016. [PDF]
22. **Карпеченко Г.Д.** Полиплоидные гибриды *Raphanus sativum* L. × *Brassica oleracea* L. (К проблеме экспериментального видообразования) // Классики советской генетики. Л. Наука. 1968. С.461-511.
23. **Иванов В.Б.** Проблема стволовых клеток у растений. //Онтогенез. 2003. Т.34, №4, с.253-261.
24. **Ivanov V.B.** Stem cells in the root and the problem of stem cells in plants. Russ. J. Dev. Biol. 2007.38. (6). С. 338-349.
25. **Иванов В.Б.** Меристема как самоорганизующаяся система: поддержание и ограничение пролиферации клеток /В.Б. Иванов – Физиология растений, 2004 – eLibrary.ru
26. **Кулаева О.Н.** Цитокинины, их структура и функция. М. Наука. 1973. 264 с.
27. **Козак М.Ф.** Генетические особенности межвидовых гибридов сои. //Вопросы биологии. Хабаровск. 1972: 66-72.
28. **Козак М.Ф.** Межвидовая гибридизация, как фактор изменения клеточных циклов. / Материалы 5 съезда Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова. М. 1987. Т. IV. Ч. 4. С.9–10.
29. **Козак М.Ф.** Результаты цитогенетических исследований гибридов культурной и дикорастущей сои. //Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции: Всесоюзный институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова. ВИР. Ленинград. Том: 135. Год: 1990. С. 96-100. Тема выпуска: Исходный материал, генетика, систематика и селекция зерновых бобовых культур.
30. **Козак М.Ф.** Митотическая активность и временные параметры митоза и митотического цикла у двух видов сои и межвидового гибрида. // Цитология и генетика. 1993. Т. 27. № 1. С. 18–22.
31. **Козак М.Ф.** Исследование состояния воздушной среды различных районов города Астрахани с помощью микроядерного тестирования. //Естественные науки. 2002. № 4. С.13-20. Астрахань. Изд.-во Астраханский гос. пед. университет.
32. **Козак М.Ф.** Вопросы эволюционной морфологии и цитогенетики сои. Монография. /М.Ф. Козак; М-во образования и науки Рос. Федерации, Астрах. гос. ун-т. Астрахань, 2004. 160с. ISBN 5-88200-774-7.
33. **Козак М.Ф.** Межвидовая гибридизация и проблема обогащения структуры генома сои. (*Glycine max* (L.) Merr.): XXXIV Международные научные чтения (памяти СИ Вавилова..., 2018 – efig-msk.ru. С. 23-32.

34. **Козак М.Ф.** Биометрические методы в научных исследованиях. Монография: /М.Ф. Козак, М.В. Козак. – Астрахань: Астраханский государственный университет. Изд. дом «Астраханский университет». 2019. – 168 с. — ISBN 978-5-9926-1076-5.
35. **Козак М.Ф.** Апоптоз как путь стабилизации хромосомного набора системы клеток апикальных меристем. В книге: VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы. Сб. тезисов Международного Конгресса. 2019. С. 969.
36. **Логинова Д.Б.,** Силкова О.Г. Геном мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. уникальность структуры и функционирования. //Генетика. – 2018. – Т. 54. – №. 4. – С. 412-425
37. **Левонтин Р.** Генетические основы эволюции. М.1978. 351 с.
38. **Навашин М.С.,** Чуксанова Н.А. Число хромосом и эволюция. // Генетика. 1970. Т. VI. № 4. С.71-83.
39. **Озернюк Н.Д.** Механизмы адаптаций. [Текст]. М. Наука. 1992. 272 с.
40. **Озернюк Н.Д.,** Нечаев С.К. Анализ механизмов адаптационных процессов [Текст] // Изв. РАН. Серия биол. 2002. № 4. С. 457-462.
41. **Омельчук Л.В.** Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация. / Л.В. Омельчук, С.А Трунова., Л.И. Лебедева., С.А. Федорова [Текст]. // Генетика. 2004. Т.40. № 3. С. 293-310.
42. **Рейвн П.** Современная ботаника. [Текст]. / П. Рейвн, Р. Эверт, С. Айкхорн. Перевод с англ. / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. 1990. М. Мир. Т. 2. 344с.
43. **Ригер Р.,** Михаэлис А. Генетический и цитогенетический словарь. Перевод с нем. М: «Колос». 1967. 607 с.
44. **Ромейс Б.** Микроскопическая техника. [Текст] Перевод с немецкого В.Я. Александрова, З.И. Крюковой. М.: Изд-во И.*Л. 1953. С. 57-575.
45. **Родионов А.В.** Полиплоидия и межвидовая гибридизация в эволюции цветковых растений. // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2015 – vavilov.elpub.ru 2013, Т. 17, № 4/2. 916-929.
46. **Сидоров Б.Н.** Блокада веретена и гипополиплоидный рост при колхициновом митозе. / Б.Н. Сидоров, Н.Н. Соколов, Н.А. Вакуленко, А.Р. Огородникова. / Полиплоидия и селекция. М.Л.: Наука 1965. С. 109-122.
47. **Скворцов, Б.В.** Дикая и культурная соя Восточной Азии. /Б.В Скворцов. //Вестник Маньчжурии. Харбин. Изд-во общества по изучению Маньчжурского края. Секция естественной истории. 1927. № 9. С. 35-43
48. **Скулачев В.П.** // Биохимия. 1999. Т. 64. С. 1418-1426.
49. **Суходолец В.В.** Генетическая теория вертикальной эволюции. М. 2003. 148с.
50. **Суходолец В.В.** Основные положения теории вертикальной эволюции. // Генетика. 2007. Т.43. С.887-890.
51. **Тахтаджян А.Л.** На пути к универсальной эволюционной науке. Грани эволюции. Статьи по теории эволюции. СПб. Наука. 2007. 326 с.
52. **Тимофеев –Ресовский Н.В.** Краткий очерк теории эволюции. / Н.В. Тимофеев – Ресовский, Н.Н. Воронцов, А.В. Яблоков. Изд.-во Наука. Москва. 1962. 408с.
53. **Чайлахян М.Х.** Регуляция цветения высших растений. М. Наука. 1988. 558 с.
54. **Шварц С.С.** Экологические закономерности эволюции. М.: Наука. 1980. С. 280.
55. **Эсау, К.** Анатомия растений. Перевод с 2-го английского издания А.Е. Васильева, М.Ф. Даниловой, Н.В. Первухиной, Н.С. Снигиревской. Под ред. проф. Л.В. Кудряшова. Изд.-во МИР. Москва, 1969 г. 564 с. С илл. (Esau K., Plant Anatomy. New York -London – Sydney. John Wiley and Sons, 1965).
56. **Choi С. М.** et al. Composition, roles, and regulation of cullin-based ubiquitin E3 ligases //The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists. – 2014. – Т. 12.
57. **Chanderbali А. S.** et al. Evolving ideas on the origin and evolution of flowers: new perspectives in the genomic era //Genetics. – 2016. – Т. 202. – №. 4. – С. 1255-1265.

58. **Foster, A.S.**; Gifford, E.M. Comparative morphology of vascular plants. — San Francisco, 1959. — 555 p.
59. **Frank M.**, Rupp H.M., Prinsen E. et al. Hormone autotrophic growth and differentiation identifies mutant lines of *Arabidopsis* with altered cytokinin and auxin content or signaling. *Plant Physiology* 2000; 122: 721-9.
60. **Fukuda H.** *Plant Cell*. 1997. Vol. 9. P. 1147—1156.
61. **Goto Hidetoshi.** Likelihood assessment for gene flow of transgenes from imported genetically modified soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) to wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) in Japan as a component of environmental risk assessment. / Hidetoshi Goto, Marc A. McPherson, Bradley A. Comstock, Duška Stojšin and Ryo Oshawa. // *BS: Breeding Science Preview* doi:10.1270/jsbbs.16134.
62. **Kadu R. N.** Genetic divergence and variability studies in soybean (*Glycine max*. (L.) Merrill: дис. – Mahatma Phule Krishi Vidyapeeth, Rahuri., 1989.
63. **Kimura, M.** The neutral theory of molecular evolution. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1983. 367.
64. **Kozak, M.F.** Cytological analysis of meiosis in Microsporogenesis in interspecific soybean hybrids. // *Cytology and genetics (USA)*, 1986. agris.fao.org v. 20, p. 49-51.
65. **Kozak, M.F.** The circadian mitotic rhythms in representatives of soybean *Glycine L.* / M.F. Kozak // *Tsitologiya i Genetika*. 2004. T. 38. №. 6. C. 7-12.
66. **Kozak, M.** Evolutionary aspects Microsporogenesis and Microgametogenesis interspecific hybrids within the genus *Glycine L.* [Text] / M.F. Kozak / *Soybean Genetics Newsletter*, 2009 – soybase.org // Journal Volume Issue: 2009, v. 36. Electronic Database Name: Article Citation Database [PDF]
67. **Kozak, Margarita.** Circadian Rhythm of Root's Apical Meristem Mitosis Cells of Soybean. M. Kozak // *JLS: Journal of Life Sciences*. Volume 5, Number 5, May 2011 (Serial Number 37). 2011. P. 364-368. DOI: 10.17265/1934-7391/2011.05.007.
68. **Kozak M.** Inheritance of the Anatomy—Morphological Structure of the Stalk by Interspecific Hybrids of the *Glycine L.* // *JLS: Journal of Life Sciences*. – 2014. – T. 8. – №. 9. – C. 768-774. DOI:10.17265/1934-7391/2014.09.006
69. **Singh, R. J.** The genomic relationship between *Glycine max* (L.) Merr. and *G. soja* Sieb. and Zucc. as revealed by pachytene chromosome analysis [Text] . /R.J. Singh, T. Hymowitz // *TAG: Theoretical and Applied Genetics*. 1988. T. 76. №. 5. C. 705-711.
70. **Stahl Y.**, Simon R. Plant stem cell niches. *Int. J. Dev. Biol.* 2005; 49: 479-89.
71. **Henry T.** Nguyen, Madan Kumar Bhattacharyya Editors. The Soybean Genome. ISSN 2199-4781 ISSN 2199-479X (electronic) Compendium of Plant Genomes. ISBN 978-3-319-64196-6 ISBN 978-3-319-64198-0 (eBook). DOI 10.1007/978-3-319-64198-0. Library of Congress Control Number: 2017947456. © Springer International Publishing AG 2017. p. 73-82.
72. **Hyten, DL**, et al. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. *Proc Natl Acad. Sci USA*. 2006; 103: 16666-16671. [PMC free Article] [PubMed]
73. **Perilli S.** The molecular basis of cytokinin function. *Curr Opin Plant Biol.* 2010. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19850510>.
74. **Schmutz, J.**, et al. Genome sequence of the paleopolyploid soybean. *Nature*. 2010; 463: 178-183.[PubMed]
75. **Sugimoto A.**, Hozak R.R., Nakashima T., Nishimoto T., Rothman J.H. // *EMBO J*. 1995. Vol. 14. P. 4434—4441.
76. Kim, MY, et al. Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) Genome. *Proc .Natl Acad. Sci. USA*. 2010; 107: 22032-22037. [PMC free article] [PubMed].
77. **Kushwah S.**, Laxmi A. The interaction between glucose and cytokinin signaling in controlling *Arabidopsis thaliana* seedling root growth and development // *Plant signaling & behavior*. 2017. T. 12. №. 5. C. e1312241.

78. **Ramanathan K.** Addendum to list of chromosome numbers in economic plants // Current Science. 1950. V. 19. № 5: 155
79. **Singh R. J.** Botany and Cytogenetics of Soybean. Pages 11-40. /Ram Janam Singh, Publ. 2017.
80. **Skvortzow B.V.** The soybean-wild and cultivated in Eastern Asia. Proc. Manchurian. 1927. Res. Soc. Publ. Ser. A. Nat. History Sect. No. 22. P. 1-8/
81. **Stahl Y., Simon R.** Plant stem cell niches. Int. J. Dev. Biol. 2005; 49: 479-489.
82. **The Untapped Genetic Reservoir: The Past, Current, and Future Applications of the Wild Soybean (*Glycine soja*).**
83. **Kofsky J, Zhang H, Song BH.** Ecol Evol. 2013. Jul; 3(7): 2150–2168. Published online 2013 Jun 5. doi: 10.1002/ece3.606
84. **Lehti-Shiu MD, Shiu SH.** Diversity, classification and function of the plant protein kinase superfamily. Philos Trans R Soc. Lond B Biol Sci. 2012. 367. (1602):2619–2639. doi:10.1098/rstb.2012.0003.
85. **Jin, J.** Modular evolution of phosphorylation-based signalling systems <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3415845> – 2012.
86. **Yosuke Kuroda, Akito Kaga, et al.** QTL affecting fitness of hybrids between wild and cultivated soybeans in experimental fields. // Ecol. Evol. 2013. Jul; 3(7): 2150–2168. Published online 2013 Jun 5. doi: 10.1002/ece3.606
87. **Yuichiro Nakayama, Hirofumi Ymaguchi.** Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max ssp. soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max ssp. max*) in a designed population. First published: 02 February 2006 <https://doi.org/10.1046/j.1445-6664.2002.00043.x>
88. **Vanyushin B.F.** Apoptosis in plants: specific features of plant apoptotic cells and effect of various factors and agents. / B.F. Vanyushin, L.E. Bakeeva, V.A. Zamyatnina.../ Int Rev ..., 2004 – books.google.com
89. **Wang X., Chen L., Ma J.** Genomic introgression through interspecific hybridization counteracts genetic bottleneck during soybean domestication // Genome biology. 2019. T. 20. № 1. C. 22.

References

1. Alov I. A. On the question of the relationship between mitosis and amitosis. // Proceedings of A.N. THE USSR. Series biol. 1958. No. 4. P.403 – 407.
2. Alov I. A. Cytophysiology and pathology of mitosis. 1972. M. 209 p.
3. Amato F.D. The value of polyploidization of organs and tissues of the reproductive system // Embryology of plants. Translation from English E.S. Terekhina, N.P. Matveeva. Ed. I.P. Ermakova. 1990. M. Agropromizdat. T.2. S. 92-142.
4. Batygina T.B., Rudsky I.V. The role of stem cells in plant morphogenesis // Dokl. Academy of Sciences. General biology. – 2006. – 410, No. 5. – S.702–704.
5. Belyachenko Yu. A. Proliferation of plant cells under the influence of a low-frequency magnetic field: dis. Saratov State University named after N.G. Chernyshevsky. 2009. 112 p.
6. Brodsky V.Ya. Uryvaeva I.V. Cell polyploidy. Proliferation and differentiation. 1981. M.: Science. 260s
7. Vanyushin B.F., Berdyshev G.D. Molecular genetic mechanisms of aging. M. "Medicine", 1977. 295 c. [PDF]
8. Vanyushin B. F. Apoptosis in plants. Advances in Biological Chemistry, Vol. 41, 2001, S. 3–38. [PDF]
9. Grif V.G., Ivanov V.B. Temporal parameters of the mitotic cycle in flowering plants // Cytology. 1975. Vol. 17. No. 6. S. 694-717.
10. Grif V.G., Ivanov B.B. Data on the temporal parameters of the mitotic cycle in flowering plants // Cytology. 1980. V. 22. No. 2 S. 107-120.

11. Grif V.G. Mitotic cycle and functional morphology of plant chromosomes at low temperatures: Abstract of the dissertation of the Doctor of Biological Sciences. L. 1981. 42p.
12. Dobzhansky F.G. Genetics and origin of species. M. Izhevsk. Institute for Computer Research. SIC "Regulation and chaotic dynamics". 2010.-384 p.
13. Doduyev I.E. Plant stem cells: unity and diversity. / I.E. Dodueva, V.E. Tvorogova, M. Azarashsh, M.A. Lebedeva, L.A. Lutova. // Vavilovsky journal of genetics and selection. 2016; 20 (4): 441-458. DOI 10.18699 / VJ16.172
14. Enikeeva Z.M. Antitumor activity and other biological properties of new derivatives of colchicine and colchamine: abstract of the dissertation ... Doctors of biological sciences: 14.00.14. – Tashkent, 2000. 36 p.
15. Epifanova O.I. Hormones and cell reproduction. M. Nauka, 1965. 244s.
16. Epifanova OI, Terskikh VV. The method of radio autography in the study of cell cycles. 1969. M.: Science. 283 p.
17. Epifanova O. I., Terskikh V. V., Polunovsky V. A. Regulatory mechanisms of cell proliferation // M. VINITI. – 1988.
18. Epifanova, Olga Igorevna. Lectures on the cell cycle. / O. I. Epifanova. Ed. 2, add. and reslave. Moscow: KMK Scientific Press, 2003. – 159 p.
19. Zhukovsky P.M. Evolutionary aspects of plant polyploidy // Polyploidy and selection / Minsk: "Science and technology". 1972. P. 9-18.
20. Zelentsov S.V. Polyploid recombination of the genome as a factor in the formation of higher plants. The electronic journal "Investigated in Russia". S.357-365. <http://zhurnal.apelarn.ru/articles/2002/035.pdf>.
21. Zubov D.A. Stem cells of plants and animals: two sides of the same coin. Part 2. // Genes and cells. Volume XI, No. 4, 2016. Reviews. S. 6-17. Publishing House: LLC Genes and Cells (Moscow). ISSN: 2313-1829. 2016. [PDF]
22. Karpechenko G.D. Polyploid hybrids of *Raphanus sativum* L. × *Brassica oleracea* L. (On the problem of experimental speciation) // Classics of Soviet Genetics. L. Science. 1968. S. 461-511.
23. Ivanov V.B. The problem of stem cells in plants. //Ontogenesis. 2003. V. 34, No. 4, p. 253-261.
24. Ivanov V.B. Stem cells in the root and the problem of stem cells in plants. Russ. J. Dev. Biol. 2007.38. (6). S. 338-349.
25. Ivanov V.B. Meristem as a self-organizing system: maintaining and limiting cell proliferation / B.B. Ivanov – Plant Physiology, 2004 – elibrary.ru
26. Kulaeva O.N. Cytokinins, their structure and function. M. Science. 1973. 264 p.
27. Kozak M.F. Genetic features of interspecific soybean hybrids. // Questions of biology. Khabarovsk 1972. S. 66-72.
28. Kozak M.F. Interspecific hybridization as a factor in changes in cell cycles. / Materials of the 5th Congress of the All-Union Society of Genetics and Breeders. N.I. Vavilov. M. 1987.V. IV. Part 4. S.9–10.
29. Kozak M.F. The results of cytogenetic studies of hybrids of cultivated and wild soybeans. // Transactions on applied botany, genetics and selection: All-Union Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilova. VIR. Leningrad. Volume: 135. Year: 1990. S.96-100. Issue: Source material, genetics, systematics and selection of leguminous crops.
30. Kozak, M.F. Mitotic activity and temporal parameters of mitosis and the mitotic cycle in two soyabean species and the interspecific hybrid. Tsitologiya i Genetika. 1993. 27(1): 18-22.
31. Kozak M.F. The study of the state of the air environment in various areas of the city of Astrakhan using micronuclear testing. //Natural Sciences. 2002. No. 4. P.13-20. Astrakhan. Publishing House of Astrakhan State. ped university.
32. Kozak M.F. Questions of evolutionary morphology and cytogenetics of soy. Monograph. / M.F. Kozak M-in education and science Ros. Federation, Astrakhan State un-t Astrakhan, 2004.160s. ISBN 5-88200-774-7.

33. Kozak M.F. Interspecific hybridization and the problem of enrichment of the structure of the soybean genome. (*Glycine max* (L.) Merr.): XXXIV International Scientific Readings (in memory of S.I. Vavilov ..., 2018 – efir-msk.ru. P. 23-32.
34. Kozak M.F. Biometric methods in scientific research. Monograph: / M.F. Kozak, M.V. Kozak. – Astrakhan: Astrakhan State University. Ed. House "Astrakhan University". 2019. – 168 c. – ISBN 978-5-9926-1076-5.
35. Kozak M.F. Apoptosis as a way to stabilize the chromosome set of the apical meristem cell system. In the book: VII Congress of the Vavilov Society of Genetics and Breeders, dedicated to the 100th anniversary of the Department of Genetics, St. Petersburg State University, and associated symposia. Sat abstracts of the International Congress. 2019. S. 969.
36. Loginova D.B., Silkova O.G. GENE OF SOFT WHEAT *Triticum aestivum* L. UNIQUENESS OF STRUCTURE AND FUNCTIONING // Genetics. – 2018. – Т. 54. – No. 4. – S. 412-425
37. Levontin R. Genetic basis of evolution. M.1978. 351 p.
38. Navashin M.S., Chuksanova H.A. The number of chromosomes and evolution. // Genetics. 1970.V. VI. No. 4. S. 71-83.
39. Ozernyuk N.D. Adaptation mechanisms. M. Science. 1992. 272 p.
40. Ozernyuk N.D., Nechaev S.K. Analysis of the mechanisms of adaptation processes [Text] // Izv. RAS. Series biol. 2002. No. 4. P. 457-462.
41. Omelchuk L.V. The main events of the cell cycle, their regulation and organization. / L.V. Omelchuk, S.A. Trunova. L.I. Lebedeva., S.A. Fedorovna [Text]. // Genetics. 2004. V. 40. No. 3. S. 293-310.
42. Raven P., Evert R., Eikhorn S. Modern botany. Translation from English. / Ed. A.L. Tahtajyan. 1990. M. Mir. T. 2.344s.
43. Rieger R., Michaelis A. Genetic and cytogenetic dictionary. Translation from it. M: "Ear". 1967. 607 p.
44. Romeis B. Microscopic technology. [Text] Translation from German by V.Ya. Alexandrova, Z.I. Hook. M.: Publishing house I. * L. 1953. S. 57-575.
45. Rodionov A.V. Polyploidy and interspecific hybridization in the evolution of flowering plants. // Vavilov Journal of Genetics and Selection, 2015 – vavilov.elpub.ru 2013, V. 17, No. 4/2. 916-929.
46. Sidorov B.N. Spindle blockade and hypopolyploid growth in colchicine mitosis. / Sidorov B.N. Socolow N.N. Vakulenko N.A. Ogorodnikova A.R. / Polyploidy and selection. M. L. Science 1965.S. 109-122.
47. Skvortsov, B.V. Wild and cultivated soybean of East Asia./ B.V Skvortsov. // Bulletin of Manchuria. Harbin. Publishing House of the Society for the Study of the Manchurian Territory. Section of natural history. 1927. No 9. S. 35-43.
48. Skulachev V.P. // Biochemistry. 1999.V. 64.S. 1418-1426.
49. Sukhodolets V.V. Genetic theory of vertical evolution. M. 2003. 148s.
50. Sukhodolets V.V. The main provisions of the theory of vertical evolution. // Genetics. 2007. V. 43. S.887-890.
51. Takhtadzhyan A.L. On the way to universal evolutionary science. Facets of evolution. Articles on the theory of evolution. SPb. The science. 2007. 326 s.
52. Timofeev –Resovsky N.V. A brief outline of the theory of evolution. / N.V. Timofeev – Resovsky, N.N. Vorontsov, A.V. Apples. Publishing House of Science. Moscow. 1962. 408s.
53. Chaylakhyan M. Kh. Regulation of flowering of higher plants. M. Science. 1988. 555 s.
54. Schwartz S.S. Ecological laws of evolution. M. Science. 1980. S. 280.
55. Esau, K. Plant anatomy. Translation from the 2 nd English edition of A.E. Vasiliev, M.F. Danilova, N.V. Pervukhina, N.S. Snigirevskaya. Ed. prof. L.V. Kudryashova. Publishing House of the World. Moscow, 1969 564 p. With ill. (Esau K., Plant Anatomy. New York -London – Sydney. John Wiley and Sons, 1965).

56. Choi C. M. et al. Composition, roles, and regulation of cullin-based ubiquitin E3 ligases //The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists. – 2014. – Т. 12.
57. Chanderbali A. S. et al. Evolving ideas on the origin and evolution of flowers: new perspectives in the genomic era //Genetics. – 2016. – Т. 202. – №. 4. – С. 1255-1265.
58. Foster, A.S.; Gifford, E.M. Comparative morphology of vascular plants. — San Francisco, 1959. — 555 p.
59. Frank M., Rupp H.M., Prinsen E. et al. Hormone autotrophic growth and differentiation identifies mutant lines of Arabidopsis with altered cytokinin and auxin content or signaling. Plant Physiology 2000; 122: 721-9.
60. Fukuda H. Plant Cell. 1997. Vol. 9. P. 1147—1156.
61. Goto Hidetoshi. Likelihood assessment for gene flow of transgenes from imported genetically modified soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) to wild soybean (*Glycine soja* Seib. et Zucc.) in Japan as a component of environmental risk assessment. / Hidetoshi Goto, Marc A. McPherson, Bradley A. Comstock, Duška Stojšin and Ryo Oshawa. // BS: Breeding Science Preview doi:10.1270/jsbbs.16134.
62. Kadu R. N. GENETIC DIVERGENCE AND VARIABILITY STUDIES IN SOYBEAN (*Glycine max*. (L.) Merrill: дис. – Mahatma Phule Krishi Vidyapeeth, Rahuri., 1989.
63. Kimura, M, The neutral theory of molecular evolution. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1983. 367.
64. Kozak, M.F. Cytological analysis of meiosis in Microsporogenesis in interspecific soybean hybrids. // Cytology and genetics (USA), 1986. agris.fao.org v. 20, p. 49-51.
65. Kozak, M.F. The circadian mitotic rhythms in representatives of soybean *Glycine* L.] / M.F. Kozak //Tsitologiya i Genetika. 2004. Т. 38. №. 6. С. 7-12.
66. Kozak, M. Evolutionary aspects Microsporogenesis and Microgametogenesis interspecific hybrids within the genus *Glycine* L. [Text] / M.F. Kozak /Soybean Genetics Newsletter, 2009 – soybase.org //Journal Volume Issue: 2009, v. 36. Electronic Database Name: Article Citation Database [PDF]
67. Kozak, Margarita. Circadian Rhythm of Root's Apical Meristem Mitosis Cells of Soybean. M. Kozak // JLS: Journal of Life. Sciences. Volume 5, Number 5, May 2011 (Serial Number 37). 2011. P. 364-368. DOI: 10.17265/1934-7391/2011.05.007.
68. Kozak M. Inheritance of the Anatomy—Morphological Structure of the Stalk by Interspecific Hybrids of the *Glycine* L. //JLS: Journal of Life Sciences. – 2014. – Т. 8. – №. 9. – С. 768-774. DOI:10.17265/1934-7391/2014.09.006
69. Singh, R. J. The genomic relationship between *Glycine max* (L.) Merr. and *G. soja* Sieb. and Zucc. as revealed by pachytene chromosome analysis. /R.J. Singh, T. Hymowitz //TAG: Theoretical and Applied Genetics. 1988. Т. 76. №. 5. С. 705-711.
70. Stahl Y., Simon R. Plant stem cell niches. Int. J. Dev. Biol. 2005; 49: 479-89.
71. Henry T. Nguyen, Madan Kumar Bhattacharyya Editors. The Soybean Genome. ISSN 2199-4781 ISSN 2199-479X (electronic) Compendium of Plant Genomes. ISBN 978-3-319-64196-6 ISBN 978-3-319-64198-0 (eBook). DOI 10.1007/978-3-319-64198-0. Library of Congress Control Number: 2017947456. © Springer International Publishing AG 2017. p. 73-82.
72. Hyten, DL, et al. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. Proc Natl Acad. Sci USA.2006; 103: 16666-16671. [PMC free article] [Pub Med]
73. Perilli S. The molecular basis of cytokinin function. Curr Opin Plant Biol. 2010. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19850510>.
74. Schmutz, J, et al. Genome sequence of the paleopolyploid soybean. Nature. 2010; 463: 178-183.[PubMed]
75. Sugimoto A., Hozak R.R., Nakashima T., Nishimoto T., Rothman J.H. //EMBO J. 1995. Vol. 14. P. 4434—4441.
76. Kim, MY, et al. Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) Genome. Proc .Natl Acad. Sci USA. 2010; 107: 22032-22037. [PMC free article] [PubMed].

77. Kushwah S., Laxmi A. The interaction between glucose and cytokinin signaling in controlling *Arabidopsis thaliana* seedling root growth and development // Plant signaling & behavior. 2017. T. 12. №. 5. C. e1312241.
78. Ramanathan K. Addendum to list of chromosome numbers in economic plants // Current Science. 1950. V. 19. № 5: 155
79. Singh R. J. Botany and Cytogenetics of Soybean. Pages 11-40. /Ram Janam Singh, Publ. 2017.
80. Skvortzow B.V. The soybean-wild and cultivated in Eastern Asia. Proc. Manchurian. 1927. Res. Soc. Publ. Ser. A. Nat. History Sect. No. 22. P. 1-8.
81. Stahl Y., Simon R. Plant stem cell niches. Int. J. Dev. Biol. 2005; 49: 479-489.
82. The Untapped Genetic Reservoir: The Past, Current, and Future Applications of the Wild Soybean (*Glycine soja*).
83. Kofsky J, Zhang H, Song BH. Ecol Evol. 2013. Jul; 3(7): 2150–2168. Published online 2013 Jun 5. doi: 10.1002/ece3.606.
84. Lehti-Shiu MD, Shiu SH. Diversity, classification and function of the plant protein kinase superfamily. Philos Trans R Soc. Lond B Biol Sci. 2012. 367. (1602):2619–2639. doi:10.1098/rstb.2012.0003
85. Jin, J. Modular evolution of phosphorylation-based signalling systems <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3415845/> – 2012.
86. Yosuke Kuroda, Akito Kaga, et al. QTL affecting fitness of hybrids between wild and cultivated soybeans in experimental fields. // Ecol. Evol. 2013. Jul; 3(7): 2150–2168. Published online 2013 Jun 5. doi: 10.1002/ece3.606
87. Yuichiro Nakayama, Hirofumi Ymaguchi. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. First published: 02 February 2006 <https://doi.org/10.1046/j.1445-6664.2002.00043.x>
88. Vanyushin B.F. Apoptosis in plants: specific features of plant apoptotic cells and effect of various factors and agents. / 98. B.F. Vanyushin, L.E. Bakeeva, V.A. Zamyatnina.../ Int Rev ..., 2004 – books.google.com
89. Wang X., Chen L., Ma J. Genomic introgression through interspecific hybridization counteracts genetic bottleneck during soybean domestication // Genome biology. – 2019. – T. 20. – №. 1. – C. 22.

