

УДК 575.2:582.542.1

РЕОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА РАСТЕНИЙ В ХОДЕ АЛЛОПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ

© 2013 г. А.Б. Щербань

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: atos@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 20 марта 2013 г. Принята к публикации 6 мая 2013 г.

Рассмотрены молекулярно-генетические механизмы реорганизации генома растений в процессе аллополиплоидизации. Подчеркнута особая роль ранних генетических изменений, изучение которых проводилось с использованием уникальной модели синтетических аллополиплоидов. Обобщены данные о различных геномных изменениях на ранних стадиях аллополиплоидизации, включающих активацию мобильных элементов, хромосомные перестройки, эпигенетические и транскриптомные изменения и др. Отмечено важное значение этих изменений в формировании устойчивой организации аллополиплоидного генома, обеспечивающей эволюционный успех и распространенность аллополиплоидов среди высших растений.

Ключевые слова: аллополиплоидия, отдаленная гибридизация, высшие растения, мобильный элемент, полимеразная цепная реакция.

Синтетические аллополиплоиды растений являются уникальной моделью для изучения ранних стадий аллополиплоидизации, поскольку сравнение с материалом родителей дает возможность дискриминировать геномные изменения под действием аллополиплоидии от полиморфизмов внутри родительских видов. С использованием данной модели были получены доказательства ранних генетических изменений у таких объектов, как пшеница, рапс, хлопок, видов *Arabidopsis*, и при этом характер и масштаб изменений, а также время их появления отличались в зависимости от объекта. Генетические изменения в ходе аллополиплоидизации укладываются в концепцию «геномного шока», впервые предложенную Б. Мак-Клинтоком (McClintock, 1984). Она же высказала идею об участии мобильных генетических элементов (МЭ) в ответе на стрессовые факторы, в частности, отдаленную гибридизацию.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С МОБИЛЬНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ

Межвидовая гибридизация является стрессовым фактором, который может провоцировать транскрипцию и транспозицию МЭ (Comai *et al.*, 2000; Kashkush *et al.*, 2003; Parisod *et al.*, 2010). Накоплению инсерций МЭ в ходе аллополиплоидизации могут способствовать следующие процессы: 1) наличие «запасных» копий генов вызывает снижение давления отбора против инсерций, вызывающих негативный эффект (Matzke M.A., Matzke A.J., 1998); 2) эффект «бутылочного горлышка», связанный с редукцией размера популяции вновь образованного аллополиплоида, благоприятствует случайной фиксации нейтральных или умеренно негативных инсерций (Parisod *et al.*, 2010); 3) гибридизация между отдаленными геномами провоцирует «геномный шок», активирующий

МЭ и тем самым способствующий инсерционному мутагенезу (McClintock, 1984).

В ряде случаев были получены доказательства увеличения транспозиционной активности (пролиферации) уже в первых поколениях полиплоидных растений (Madlung *et al.*, 2005; Parisod *et al.*, 2009; Petit *et al.*, 2010; Sarilar *et al.*, 2013). Этот процесс затрагивал главным образом молодые и активные семейства МЭ с небольшой копийностью (Petit *et al.*, 2010; Sarilar *et al.*, 2013). В целом же пролиферация МЭ у аллополиплоидов носит строго избирательный характер и не приводит к общему взрыву транспозиционной активности (Kashkush *et al.*, 2003; Beaulieu *et al.*, 2009; Parisod *et al.*, 2009).

Более часто у аллополиплоидов наблюдалась элиминация специфических транспозон-ассоциированных ПЦР-фрагментов (ТА-фрагменты) того или другого родителя, что может быть связано с делецией соответствующих участков генома или с перестройками, затрагивающими сайты инсерции МЭ (Beaulieu *et al.*, 2009; Parisod *et al.*, 2009; Petit *et al.*, 2010). Как правило, эти делеции затрагивают либо отцовский, либо материнский геном, интенсивность их может сильно варьировать в зависимости от МЭ и его хромосомной локализации. Так, например, у синтетического *Nicotiana tabacum* ($2n = 48$) наблюдалась элиминация ТА-фрагментов отцовского генома (Petit *et al.*, 2010), тогда как у аллотетраплоида *Spartina anglica* ($2n = 124$) элиминировали фрагменты материнского происхождения (Parisod *et al.*, 2009). У синтетического аллотетраплоида *Brassica napus* ($2n = 38$) неаддитивный профиль ТА-фрагментов характерен для транспозона *MITE*, локализованного в интерстициальных районах хромосом, тогда как перичентромерный ретротранспозон *Athila* характеризуется преимущественно аддитивным ТА-профилем (Sarilar *et al.*, 2013).

Со временем процессы дифференциальной пролиферации и элиминации МЭ могут приводить к значительной реорганизации генома. Например, у аллополиплоидов хлопчатника (*Gossypium*) разные семейства МЭ распространились из одного генома в другой после аллополиплоидизации (Zhao *et al.*, 1998), а у аллополиплоидов *Nicotiana*, образовавшихся около 1 млн лет назад, произошел существенный обмен МЭ между субгеномами (Lim *et al.*,

2007). Однако существуют и другие примеры. У природного аллотетраплоида *B. napus* (геном ААСС) не выявлено распространение САСТА-транспозона *Bot1*, специфичного для С-генома, на хромосомы А-генома (Alix *et al.*, 2008). Анализ различных семейств МЭ (транспозонов и ретроэлементов) у мягкой пшеницы *T. aestivum* ($2n = 42$) также не выявил их обмена между субгеномами (Sergeeva *et al.*, 2010; Salina *et al.*, 2011; Щербань и др., 2012). В то же время в субгеномах *T. aestivum* происходили обширные делеции в результате неравного или незаконного кроссинговера между последовательностями МЭ, что указывает на важную роль последних в хромосомных реорганизациях под влиянием аллополиплоидии (Chantret *et al.*, 2005; Bento *et al.*, 2008). Модель незаконной рекомбинации с участием последовательностей МЭ рассматривается для объяснения факта делеции локуса *Hardness* в различных субгеномах полиплоидных пшениц (Chantret *et al.*, 2005).

Возникает вопрос: каким образом аллополиплоидный геном контролирует пролиферацию МЭ? Основную роль в активации/супрессии МЭ играют эпигенетические процессы, связанные с метилированием ДНК и модификацией гистоновых белков (Ng, Gurdon, 2008). Показано, что деметилирование ДНК обеспечивает транскрипцию белков, участвующих в процессах вырезания (копирования) и встраивания МЭ (Tsukahara *et al.*, 2009). Контролирующее влияние генома, приводящее к замолканию (сайленсингу) МЭ, осуществляется благодаря участию малой интерферирующей РНК (миРНК) (Ha *et al.*, 2009). Предложена модель дозозависимого влияния миРНК на пролиферацию МЭ в ходе аллополиплоидизации. В результате гибридизации количество материнской миРНК в F_1 зиготе недостаточно для полного контроля инсерций МЭ как материнского, так и отцовского происхождения. Редукция миРНК в F_1 приводит к активации мобильных элементов и, как следствие, индукции генетической нестабильности, которая может обуславливать низкую фертильность аллополиплоида. Со временем стабильность генома восстанавливается благодаря увеличению экспрессии миРНК, участвующей в сайленсинге МЭ (Ha *et al.*, 2009).

Следует отметить, что не всегда транспозиционная активность коррелирует с уровнем

транскрипции МЭ. Так, у синтетических аллополиплоидов пшеницы (Kashkush *et al.*, 2002) и у межвидового гибрида арабидопсиса (Madlung *et al.*, 2005) было обнаружено усиление транскрипции МЭ, которое, однако, не приводило к увеличению числа транспозиций. Эпигенетические изменения, связанные с усилением (ослаблением) транскрипции МЭ, могут оказывать влияние на экспрессию соседних генов, приводя к функциональной реорганизации генных сетей и фенотипической изменчивости (Kashkush *et al.*, 2003; Slotkin, Martienssen, 2007).

И наконец, принимая во внимание высокую мутагенность МЭ, можно рассматривать их роль в качестве модификаторов, направляющих структурную дивергенцию генов-гомеологов в сторону суб- или неофункционализации (см. далее) (Walsh, 2003). Косвенным свидетельством этой роли служат следы инсерций МЭ в регуляторных и кодирующих районах у большинства известных генов растений. Были предложены различные механизмы участия МЭ в структурно-функциональной дивергенции генов (Bennetzen, 2005), однако остается неясной степень реализации этих механизмов у тех или иных аллополиплоидов.

Таким образом, быстрые изменения МЭ на ранних стадиях аллополиплоидизации согласуются с концепцией геномного шока и предполагают их роль в качестве индукторов генетической изменчивости на разных уровнях организации генома (McClintock, 1984; Comai *et al.*, 2003). Индукция генетической нестабильности может иметь негативные последствия для организма, поэтому в процессе эволюции происходит постепенное восстановление контролирующего влияния генома на пролиферацию МЭ, что выражается в их количественных, структурных и эпигенетических изменениях.

ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ

С использованием методов хромосомного окрашивания (GISH, FISH), генетического картирования и молекулярного анализа получены доказательства геномных перестроек как внутри, так и между отдельными субгеномами у аллополиплоидов (Leitch, Bennett, 1997; Wendel, 2000; Chen *et al.*, 2004; Bento *et al.*, 2008). Предполагается, что хромосомные изменения

способствуют становлению вновь образованных аллополиплоидов в качестве отдельных видов (Hegarty, Hiscock, 2005). Наряду с этим указанные изменения способствуют адаптации к резко меняющимся условиям внешней среды, поскольку только такие изменения могут обеспечивать «экстремальное» фенотипическое разнообразие (Hegarty, Hiscock, 2005).

На моделях синтетических полиплоидов было показано, что хромосомные реорганизации возникают сразу после объединения геномов или в течение нескольких поколений после гибридизации (Song *et al.*, 1995; Feldman *et al.*, 1997; Lukens *et al.*, 2006). Менее охарактеризованы более поздние реорганизации, приводящие к изменению числа хромосом и редукции размера генома (Leitch, Bennett, 2004; Lysak *et al.*, 2006). Большая часть хромосомных изменений происходит в ходе мейоза и опосредована механизмом гомологичной рекомбинации (Gaeta, Pires, 2010). Делеции, дупликации и транслокации возникают при восстановлении двуцепочечных разрывов (ДЦР) на одной нити ДНК (внутрихромосомная рекомбинация), по всему геному (эктопическая рекомбинация) либо между гомеологичными хромосомами (гомеологичная рекомбинация). У аллополиплоидов, в отличие от диплоидных растений, происходит изменение сценария мейоза, связанное с добавлением гомеологичных хромосом другого генома. Ограничение спаривания только гомологичными хромосомами достигается благодаря генетическому контролю со стороны локусов, контролирующих конъюгацию хромосом (Griffiths *et al.*, 2006). Тем не менее у большинства аллополиплоидов наблюдается смешанный тип мейоза, а именно: некоторые хромосомы образуют биваленты, тогда как другие склонны образовывать мультиваленты – «сегментная аллополиплоидия» (Stebbins, 1971). Мультиваленты, состоящие из гомео- и гомологичных хромосом, могут давать различные конфигурации в ходе метафазы: перекрещенные структуры, кольца и сцепленные хромосомы. Гомеологичные ассоциации наряду с паралогичными приводят к различным перестройкам хромосом, анеуплоидии и усложненным вариантам наследования признаков (Gaeta, Pires, 2010). Так, например, в геноме аллотетраплоида *B. napus* многие генетические локусы имеют 6 копий, тогда как предковые диплоидные виды содер-

жат по три паралогичных локуса, возникших в результате древних дупликаций. Большинство бивалентов, наблюдаемых у аллогаплоидов этого вида в ходе мейоза, образуются между хромосомами-гомеологами, тогда как 30 % возникают внутри одного из субгеномов, по-видимому, в результате объединения хромосом, содержащих дублицированные районы (Nicolas *et al.*, 2009). Однако данные по генетическим изменениям, возникающим в результате паралогичных ассоциаций хромосом, пока весьма ограничены. В то же время имеется много данных, касающихся генетических изменений в результате гомеологичных рекомбинаций (Gaeta, Pires, 2010). Так, у синтетических полиплоидов *B. napus* анализ рестрикционного полиморфизма фрагментов ДНК выявил как делеции, так и дубликации гомеологичных локусов (Parkin *et al.*, 1995; Pires *et al.*, 2004; Gaeta *et al.*, 2007). У недавно сформированных аллополиплоидов *Tragopogon* изменения генетических маркеров были в ряде случаев обусловлены гомеологичной рекомбинацией (Tate *et al.*, 2009). У аллополиплоидов *Nicotiana* и *Arabidopsis* различные изменения (делеции, амплификации, транслокации) в локусах генов, кодирующих рибосомальную РНК (гены рРНК, или рДНК), могли возникнуть в результате гомеологичной рекомбинации, конверсии и неравного кроссинговера (Pontes *et al.*, 2004; Kovarik *et al.*, 2008). Предполагается, что важную роль в реорганизации рДНК у аллотетраплоида *A. suecica* играли транспозон-опосредованные разрывы и рекомбинации хромосом (Pontes *et al.*, 2004). Следует отметить, что ряд синтетических полиплоидов, например, хлопчатника (Rong *et al.*, 2004), арабидопсиса (Comai *et al.*, 2000) проявляли мейотическую стабильность и, как следствие, имели низкую частоту анеуплоидии и хромосомных реорганизаций. Тем не менее у них был обнаружен высокий уровень фенотипической вариабельности, по-видимому, связанный с другими механизмами генетической изменчивости (Comai *et al.*, 2000).

СТРУКТУРНАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ ГОМЕОЛОГИЧНЫХ ХРОМОСОМ

При рассмотрении влияния поведения хромосом в ходе мейоза на фертильность аллополиплоида предполагается, что фертильные

аллополиплоиды либо уже обладают определенным уровнем контроля над спариванием хромосом, либо приобретают этот контроль в ходе эволюции. В этой связи большое значение имеет структурная дивергенция хромосом-гомеологов, которая обеспечивает преимущественное спаривание гомологичных хромосом в ходе мейоза (Levy, Feldman, 2002). Свой вклад в структурную дивергенцию гомеологов могут вносить односторонняя элиминация и реорганизация повторяющихся последовательностей ДНК (Ozkan, Feldman, 2009).

Анализ различных межвидовых и межродовых гибридов *Aegilops* × *Triticum* показал, что элиминация ДНК происходит уже на ранних стадиях формирования аллополиплоида в F₁ и/или в первом поколении после хромосомного удвоения, при этом данный процесс является стабильно воспроизводимым и может захватывать до 15 % геномной ДНК (Ozkan *et al.*, 2001; Shaked *et al.*, 2001). Элиминация затрагивала главным образом только один из субгеномов у тетраплоидов и два субгенома у гексаплоидов и, как следствие, приводила к увеличению структурной дивергенции между хромосомами-гомеологами. Способность элиминировать часть ДНК положительно коррелировала с фертильностью гибридов и отрицательно коррелировала с частотой образования мультивалентов (Levy, Feldman, 2004). Наряду с изменением общего содержания ДНК у аллополиплоидов наблюдались количественные изменения в отдельных фракциях повторяющихся последовательностей. Так, значительная редукция повторяющейся субтеломерной последовательности Spelt1 была обнаружена в первом поколении искусственных амфиплоидов *Triticum*–*Aegilops*, при этом выявленные изменения не зависели ни от уровня пloidности, ни от направления скрещивания (Salina *et al.*, 2004). С использованием тех же амфиплоидов другие авторы показали, что примерно 70–90 % геном-специфичного tandemного повтора pGc1R-1a подверглись элиминации уже в S₂–S₃ поколениях (Han *et al.*, 2005).

Другим физическим изменением, которое может влиять на структуру хроматина и, как следствие, на спаривание хромосом, является изменение степени метилирования ДНК. У синтетических аллополиплоидов пшеницы ука-

занные изменения затронули 13 % генетических локусов (Shaked *et al.*, 2001). Интересно, что у синтетического аллотетраплоида *A. suecica* были случаи, когда метилирование затрагивало только один из двух родительских геномов (Madlung *et al.*, 2002), что указывает на эпигенетическую супрессию одного из геномов (см. в следующем разделе).

В настоящий момент не ясны механизмы, лежащие в основе всех вышеуказанных изменений геномной ДНК у аллополиплоидов, тем не менее показано, что они приводят к стабилизации генотипа и повышению уровня фертильности, что является необходимым условием для становления аллополиплоидов в качестве новых видов.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

К эпигенетическим изменениям, как известно, относят такие генетические изменения, которые могут стабильно поддерживаться на протяжении многих делений соматических клеток, но при этом не связаны с изменением первичной структуры ДНК (Ng, Gurdon, 2008). В рамках данного обзора будут рассмотрены транскрипционные механизмы, связанные с метилированием ДНК и модификациями гистоновых белков.

Одним из наиболее известных эпигенетических феноменов, наблюдаемых у аллополиплоидов, является «ядрышковое доминирование», или эпигенетическое подавление экспрессии генов рРНК в одном из субгеномов (Preuss, Pikaard, 2007). Ядрышковое доминирование возникает независимо от направления скрещивания, что указывает на отсутствие роли гаметного импринтинга. Направление доминирования не является случайным для каждой конкретной комбинации геномов, в то же время эффект доминирования является тканезависимым и определяется стадией развития и дифференцировки клеток (Chen, Pikaard, 1997). Участие эпигенетических механизмов в данном феномене подтверждается фактом дерепрессии рРНК генов у гибридов с помощью обработки ингибиторами ферментов, модифицирующих ДНК и гистоновые белки (Chen, Pikaard, 1997; Chen *et al.*, 1998; Lawrence *et al.*, 2004). Подхо-

ды обратной генетики позволили идентифицировать факторы модификации хроматина и раскрыть механизм ядрышковой супрессии, важную роль в котором играет миРНК (Chen, Pikaard, 1997; Preuss *et al.*, 2008). Последняя, как было показано выше, участвует также в сайленсинге транспозонов и повторяющихся последовательностей ДНК гетерохроматина (Lippman, Martienssen, 2004). Следует отметить, что в некоторых случаях, как, например, у синтетических аллополиплоидов пшеницы, была выявлена связь между подавлением транскрипции рДНК локусов и их делецией в первых поколениях после скрещивания (Shcherban *et al.*, 2008; Щербань и др., 2008).

При сравнительном анализе экспрессии генов у синтетических аллополиплоидов и соответствующих родителей были обнаружены два основных типа изменений генетической экспрессии: односторонняя экспрессия (как в случае доминирования генов рРНК) и неаддитивная экспрессия (когда суммарный уровень у гибрида не равен среднему значению уровней экспрессии у родителей) (Qi *et al.*, 2012). У синтетического аллогексаплоида пшеницы односторонний тип экспрессии был отмечен у 3 % генов-гомеологов, тогда как неаддитивный тип характерен для 16 % генов (Pumphrey *et al.*, 2009). У синтетического аллотетраплоида хлопчатника (AD-геном) 30 % гомеологичных генов проявляли односторонний паттерн экспрессии (А- или D-геном специфичный) на разных стадиях развития индивидуальных клеток волокна (Novav *et al.*, 2008). Большая часть этих генов проявляла D-геном специфичный паттерн экспрессии, что также характерно для природного аллотетраплоида. Односторонняя экспрессия гомеологов также обнаружена у аллополиплоидов арабидопсиса, сахарного тростника, у гибрида *Cucumis* × *hytivus* (Comai *et al.*, 2000; Mudge *et al.*, 2009; Zhuang, Chen, 2009). Во многих случаях было показано, что доминирование экспрессии одного из родителей имеет тканеспецифичный характер, т. е. зависит от органа, стадии развития, а также от воздействия биотического/ абиотического стресса (Adams *et al.*, 2004; Chaudhary *et al.*, 2009; Buggs *et al.*, 2010; Dong, Adams, 2011).

Было показано, что в основе транскриптомных изменений у аллополиплоидов лежат эпиге-

нетические механизмы, связанные с метилированием ДНК (Shaked *et al.*, 2001; Madlung *et al.*, 2002). Так, обработка растений 5-азациитидином (ингибитор ДНК-метилтрансферазы) приводила к появлению большого спектра фенотипических отклонений у синтетического аллотетраплоида *Arabidopsis suecica* по сравнению с родительскими видами (Madlung *et al.*, 2002). Это указывает на важное значение эпигенетических механизмов в поддержании баланса генов и их продуктов в ходе развития полиплоидного растения. Однако не всегда эпигенетические изменения обуславливают изменения экспрессии генов. У хлопчатника не выявлены изменения спектров метилирования ДНК, которые бы объясняли особенности экспрессии гомеологичных генов в составе природных и синтетических аллополиплоидов этого вида (Liu *et al.*, 2001). Это различие между арабидопсисом и хлопчатником указывает на отсутствие универсального механизма, контролирующего экспрессию генов у аллополиплоидов; по-видимому, для каждого вида характерно специфическое сочетание генетического и эпигенетического регуляторных механизмов (Chaudhary *et al.*, 2009).

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ ГОМЕОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ

Три основных пути определяют эволюцию гомеологичных генов с момента возникновения аллополиплоида (Adams, Wendel, 2005; Chaudhary *et al.*, 2009). Первый путь – субфункционализация, или разделение первоначальной функции между дублированными генами, при этом они функционально комплементируют друг друга. Данный феномен характерен для ранних стадий формирования аллополиплоидов и приводит к сохранению значительного числа генов в дублированном состоянии (Chaudhary *et al.*, 2009). Процесс субфункционализации преобладает над процессом элиминации гомеологичных генов, который является довольно редким (Grover *et al.*, 2007). В ходе дальнейшей эволюции аллополиплоида один из дублированных генов может приобрести новую функцию в результате неофункционализации. Наиболее ранние проявления неофункционализации в ходе формирования аллополиплоида

были обнаружены у синтетического хлопчатника (Chaudhary *et al.*, 2009). В этой работе уже в F₁ поколении было зафиксировано появление принципиально новых паттернов экспрессии у 15 генов. В эволюционной перспективе процесс неофункционализации так же, как в случае первого пути, приводит к сохранению обоих копий генов, но при этом накопление мутаций приводит к их постепенной дивергенции друг относительно друга. Исходя из этого следует предполагать, что наиболее ранними являются события субфункционализации генов и с возрастом аллополиплоида возрастает вероятность их неофункционализации (Adams, Wendel, 2005). Частным случаем неофункционализации является «уход от адаптивного конфликта», или разделение двух разных функций исходного гена между его копиями, хотя некоторые авторы рассматривают этот механизм как отдельный (Hittinger, Carroll, 2007; Des Marais, Rausher, 2008). И наконец, третий путь эволюции гомеологичных генов – это псевдофункционализация (когда один из генов теряет какую-либо функцию, превращаясь в псевдоген) (Adams, Wendel, 2005; Chaudhary *et al.*, 2009).

Скорость структурно-функциональной дивергенции генов-гомеологов в ходе аллополиплоидизации значительно варьирует в зависимости от вида. У недавно сформированного аллополиплоида *Tragopogon* субфункционализация целого ряда генов произошла в течение 80 лет (Buggs *et al.*, 2010). У межвидового гибрида арабидопсиса 5–6 % генов проявляли неаддитивный паттерн экспрессии (Wang *et al.*, 2006). Изменения паттернов экспрессии в природном аллотетраплоиде хлопчатника, возникшем 1–2 млн лет назад, произошли у 25 % гомеологичных генов (Adams *et al.*, 2003). В составе аллогексаплоидной пшеницы *T. aestivum* половина гомеологичных генов подверглась структурно-функциональным изменениям в течение 10 млн лет эволюции, а процесс псевдофункционализации завершился в течение 45–50 млн лет (Pont *et al.*, 2011). Рис (*Oryza sativa*) как пример палеополиплоида показал изменения экспрессии 88–96 % генов в течение 50–70 млн лет (Throude *et al.*, 2009). Таким образом, аллополиплоидизация уже на ранних стадиях индуцирует быстрые изменения экспрессии у большого числа генов, что приводит к ремо-

делированию генных сетей и создает основу для структурно-функциональной дивергенции генов, обеспечивающей широкую адаптацию полиплоидных растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование уникальной модели синтетических аллополиплоидов позволило установить, что уже на ранних стадиях формирования аллополиплоида происходят: хромосомные реорганизации (Song *et al.*, 1995; Feldman *et al.*, 1997; Wendel, 2000; Chen *et al.*, 2004; Bento *et al.*, 2008), изменения паттерна метилирования ДНК (Shaked *et al.*, 2001; Madlung *et al.*, 2002; Beaulieu *et al.*, 2009), активация мобильных генетических элементов (Comai *et al.*, 2000; Kashkush *et al.*, 2003; Parisod *et al.*, 2010) и изменения транскриптома (Adams *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006; Pumphrey *et al.*, 2009; Gaeta *et al.*, 2010). Все эти изменения обеспечивают стабилизацию генотипа аллополиплоида, восстановление его фертильности и расширение адаптационного потенциала, что позволяет осваивать новые экологические ниши и обуславливает эволюционный успех полиплоида в конкуренции с диплоидными видами.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (проект 6.14).

ЛИТЕРАТУРА

- Щербань А.Б., Адонина И.Г., Салина Е.А. Вклад Ty3-gypsy ретротранспозона *Lila* в специфичность D-генома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. // Молекуляр. биология. 2012. Т. 46. С. 584–593.
- Щербань А.Б., Сергеева Е.М., Бадаева Е.Д., Салина Е.А. Анализ изменений 5S рДНК у синтетических аллополиплоидов *Triticum* × *Aegilops* // Молекуляр. биология. 2008. Т. 42(4). С. 604–611.
- Adams K.L., Cronn R., Percifield R., Wendel J.F. Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 4649–4654.
- Adams K.L., Percifield R., Wendel J.F. Organ-specific silencing of duplicated genes in a newly synthesized cotton allotetraploid // Genetics. 2004. V. 168. P. 2217–2226.
- Adams K.L., Wendel J.F. Polyploidy and genome evolution in plants // Curr. Opin. Plant Biol. 2005. V. 8. P. 135–141.
- Alix K., Joets J., Ryder C.D. *et al.* The CACTA transposon Bot1 played a major role in *Brassica* genome divergence and gene proliferation // Plant J. 2008. V. 56. P. 1030–1044.
- Beaulieu J., Jean M., Belzile F. The allotetraploid *Arabidopsis thaliana* – *Arabidopsis lyrata* subsp. *petraea* as an alternative model system for the study of polyploidy in plants // Mol. Genet. Genomics. 2009. V. 281. P. 421–435.
- Bennetzen J.L. Transposable elements, gene creation and genome rearrangement in flowering plants // Curr. Opin. Genet. Develop. 2005. V. 15. P. 621–627.
- Bento M., Pereira H.S., Rocheta M. *et al.* Polyploidization as a retraction force in plant genome evolution: sequence rearrangements in *Triticale* // PLoS ONE. 2008. V. 3. e1402.
- Buggs R.J., Elliott N.M., Zhang L. *et al.* Tissue-specific silencing of homoeologs in natural populations of the recent allopolyploid *Tragopogon mirus* // New Phytol. 2010. V. 186. P. 175–183.
- Chantret N., Salse J., Sabot F. *et al.* Molecular basis of evolutionary events that shaped the *Hardness* locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *Aegilops*) // Plant Cell. 2005. V. 17. P. 1033–1045.
- Chaudhary B., Flagel L., Stupar R.M. *et al.* Reciprocal silencing, transcriptional bias and functional divergence of homeologs in polyploid cotton (*Gossypium*) // Genetics. 2009. V. 182. P. 503–517.
- Chen Z.J., Comai L., Pikaard C.S. Gene dosage and stochastic effects determine the severity and direction of uniparental rRNA gene silencing (nucleolar dominance) in *Arabidopsis* allopolyploids // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 14891–14896.
- Chen Z.J., Pikaard C.S. Transcriptional analysis of nucleolar dominance in polyploid plants: biased expression/silencing of progenitor rRNA genes is developmentally regulated in *Brassica* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 3442–3447.
- Chen Z., Wang J., Tian L. *et al.* The development of an *Arabidopsis* model system for genome-wide analysis of polyploidy effects // Biol. J. Linn. Soc. 2004. V. 82. P. 689–700.
- Comai L., Madlung A., Josefsson C., Tyagu A. Do the different parental ‘heteronomes’ cause genomic shock in newly formed allopolyploids? // Phil. Trans. Roy. Soc. London. 2003. Ser. B. Biological Sciences. V. 358. P. 1149–1155.
- Comai L., Tyagi A.P., Winter K. *et al.* Phenotypic instability and rapid gene silencing in newly formed *Arabidopsis* allotetraploids // Plant Cell. 2000. V. 12. P. 1551–1568.
- Des Marais D.L., Rausher M.D. Escape from adaptive conflict after duplication in an anthocyanin pathway gene // Nature. 2008. V. 454. P. 762–765.
- Dong S.W., Adams K.L. Differential contributions to the transcriptome of duplicated genes in response to abiotic stresses in natural and synthetic polyploids // New Phytol. 2011. V. 190. P. 1045–1057.
- Feldman M., Liu B., Segal G. *et al.* Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploid wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes // Genetics. 1997. V. 147. P. 1381–1387.
- Gaeta R., Pires J. Homoeologous recombination in allopolyploids: the polyploid ratchet // New Phytol. 2010. V. 186. P. 18–28.
- Gaeta R.T., Pires J.C., Iniguez-Luy F. *et al.* Genomic changes in resynthesized *Brassica napus* and their effect on gene expression and phenotype // Plant Cell. 2007. V. 19. P. 3403–3417.

- Griffiths S., Sharp R., Foote T.N. *et al.* Molecular characterization of *Ph1* as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat // *Nature*. 2006. V. 439. P. 749–752.
- Grover C.E., Kim H., Wing R.A. *et al.* Microcolinearity and genome evolution in the *AdhA* region of diploid and polyploid cotton (*Gossypium*) // *Plant J.* 2007. V. 50. P. 995–1006.
- Ha M., Lu J., Tian L. *et al.* Small RNAs serve as a genetic buffer against genomic shock in *Arabidopsis* interspecific hybrids and allopolyploids // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2009. V. 106. P. 17835–17840.
- Han F., Fedak G., Guo W., Liu B. Rapid and repeatable elimination of a parental genome-specific DNA repeat (pGc1R-1a) in newly synthesized wheat allopolyploids // *Genetics*. 2005. V. 170. P. 1239–1245.
- Hegarty M., Hiscock S. Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies // *New Phytol.* 2005. V. 165. P. 411–423.
- Hittinger C.T., Carroll S.B. Gene duplication and the adaptive evolution of a classic genetic switch // *Nature*. 2007. V. 449. P. 677–681.
- Hovav R., Udall J.A., Chaudhary B. *et al.* Partitioned expression of duplicated genes during development and evolution of a single cell in a polyploid plant // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008. V. 105. P. 6191–6195.
- Kashkush K., Feldman M., Levy A.A. Gene loss, silencing and activation in a newly synthesized wheat allotetraploid // *Genetics*. 2002. V. 160. P. 1651–1659.
- Kashkush K., Feldman M., Levy A.A. Transcriptional activation of retrotransposons alters the expression of adjacent genes in wheat // *Nat. Genet.* 2003. V. 33. P. 102–106.
- Kovarik A., Dadejova M., Lim Y.K. *et al.* Evolution of rDNA in *Nicotiana* allopolyploids: a potential link between rDNA homogenization and epigenetics // *Ann. Botany*. 2008. V. 101. P. 815–823.
- Lawrence R.J., Earley K., Pontes O. *et al.* A concerted DNA methylation/histone methylation switch regulates rRNA gene dosage control and nucleolar dominance // *Mol. Cell*. 2004. V. 13. P. 599–609.
- Leitch I., Bennett M. Polyploidy in angiosperms // *Trends Plant Sci.* 1997. V. 2. P. 470–476.
- Leitch I.J., Bennett M.D. Genome downsizing in polyploid plants // *Biol. J. Linn. Soc.* 2004. V. 82. P. 651–663.
- Levy A.A., Feldman M. The impact of polyploidy on grass genome evolution // *Plant Physiol.* 2002. V. 130. P. 1587–1593.
- Levy A.A., Feldman M. Genetic and epigenetic reprogramming of the wheat genome upon allopolyploidization // *Biol. J. Linn. Soc.* 2004. V. 82. P. 607–613.
- Lim K.Y., Kovarik A., Matyasek R. *et al.* Sequence of events leading to near-complete genome turnover in allopolyploid *Nicotiana* within five million years // *New Phytol.* 2007. V. 175. P. 756–763.
- Lippman Z., Martienssen R. The role of RNA interference in heterochromatic silencing // *Nature*. 2004. V. 431. P. 364–370.
- Liu F., Cui X., Horner H. *et al.* Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize // *Plant Cell*. 2001. V. 13. P. 1063–1078.
- Lukens L.N., Pires J.C., Leon E. *et al.* Patterns of sequence loss and cytosine methylation within a population of newly resynthesized *Brassica napus* allopolyploids // *Plant Physiol.* 2006. V. 140. P. 336–348.
- Lysak M.A., Berr A., Pecinka A. *et al.* Mechanisms of chromosome number reduction in *Arabidopsis thaliana* and related Brassicaceae species // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 5224–5229.
- Madlung A., Masuelli R.W., Watson B. *et al.* Remodeling of DNA methylation and phenotypic and transcriptional changes in synthetic *Arabidopsis* allotetraploids // *Plant Physiol.* 2002. V. 129. P. 733–746.
- Madlung A., Tyagi A.P., Watson B. *et al.* Genomic changes in synthetic *Arabidopsis* polyploids // *Plant J.* 2005. V. 41. P. 221–230.
- Matzke M.A., Matzke A.J. Polyploidy and transposons // *Trends Ecol. Evol.* 1998. V. 13. P. 241.
- McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge // *Science*. 1984. V. 226. P. 792–801.
- Mudge S.R., Osabe K., Casu R.E. *et al.* Efficient silencing of reporter transgenes coupled to known functional promoters in sugarcane, a highly polyploid crop species // *Planta*. 2009. V. 229. P. 549–558.
- Ng R.K., Gurdon J.B. Epigenetic inheritance of cell differentiation status // *Cell Cycle*. 2008. V. 7. P. 1173–1177.
- Nicolas S.D., Leflon M., Monod H. *et al.* Genetic regulation of meiotic cross-overs between related genomes in *Brassica napus* haploids and hybrids // *Plant Cell*. 2009. V. 21. P. 373–385.
- Ozkan H., Feldman M. Rapid cytological diploidization in newly formed allopolyploids of the wheat (*Aegilops-Triticum*) group // *Genome*. 2009. V. 52(11). P. 926–934.
- Ozkan H., Levy A.A., Feldman M. Allopolyploidy-induced rapid genome evolution in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group // *Plant Cell*. 2001. V. 13. P. 1735–1747.
- Parisod C., Alix K., Just J. *et al.* Impact of transposable elements on the organization and function of allopolyploid genomes // *New Phytol.* 2010. V. 186. P. 37–45.
- Parisod C., Salmon A., Zerjal T. *et al.* Rapid structural and epigenetic reorganization near transposable elements in hybrid and allopolyploid genomes in *Spartina* // *New Phytol.* 2009. V. 184. P. 1003–1015.
- Parkin I.A., Sharpe A.G., Keith D.J., Lydiate D.J. Identification of the A and C genomes of amphidiploid *Brassica napus* (oilseed rape) // *Genome*. 1995. V. 38. P. 1122–1131.
- Petit M., Guidat C., Daniel J. *et al.* Mobilization of retrotransposons in synthetic allotetraploid tobacco // *New Phytol.* 2010. V. 186. P. 135–147.
- Pires J.C., Zhao J., Schranz M.E. *et al.* Flowering time divergence and genomic rearrangements in resynthesized *Brassica* polyploids (Brassicaceae) // *Biol. J. Linn. Soc.* 2004. V. 82. P. 675–688.
- Pont C., Murat F., Confolent C. *et al.* RNA-seq in grain unveils fate of neo- and paleopolyploidization events in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Genome Biol.* 2011. V. 12. P. R119.
- Pontes O., Neves N., Silva M. *et al.* Chromosomal locus rearrangements are a rapid response to formation of the allotetraploid *Arabidopsis suecica* genome // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. P. 18240–18245.
- Preuss S., Costa-Nunes P., Tucker S. *et al.* Multi-megabase silencing in nucleolar dominance results from siRNA-directed *de novo* DNA methylation recognized by specific

- methylcytosine binding proteins // *Mol. Cell*. 2008. V. 32. P. 673–684.
- Preuss S., Pikaard C.S. rRNA gene silencing and nucleolar dominance: insights into a chromosome-scale epigenetic on/off switch // *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. V. 1769. P. 383–392.
- Pumphrey M., Bai J., Laudencia-Chingcuanco D. *et al.* Non-additive expression of homoeologous genes is established upon polyploidization in hexaploid wheat // *Genetics*. 2009. V. 181. P. 1147–1157.
- Qi B., Huang W., Zhu B. *et al.* Global transgenerational gene expression dynamics in two newly synthesized allohexaploid wheat (*Triticum aestivum*) lines // *BMC Biol.* 2012. V. 10. P. 3.
- Rong J., Abbey C., Bowers J.E. *et al.* A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals features of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*) // *Genetics*. 2004. V. 166. P. 389–417.
- Salina E.A., Numerova A.M., Ozkan H., Feldman M. Alterations in subtelomeric tandem repeats during early stages of allopolyploidy in wheat // *Genome*. 2004. V. 47. P. 860–867.
- Salina E.A., Sergeeva E.M., Adonina I.G. *et al.* The Ty3-gypsy group LTR retrotransposon *Fatima*: the impact on B-genome specificity of polyploid wheats // *BMC Plant Biol.* 2011. V. 11. P. 99.
- Sarilar V., Palacios P.M., Rousselet A. *et al.* Allopolyploidy has a moderate impact on restructuring at three contrasting transposable element insertion sites in resynthesized *Brassica napus* allotetraploids // *New Phytol.* 2013. doi: 10.1111/nph.12156.
- Sergeeva E.M., Salina E.A., Adonina I.G., Chalhoub B. Evolutionary analysis of the CACTA DNA-transposon *Caspar* across wheat species using sequence comparison and *in situ* hybridization // *Mol. Genet. Genomics*. 2010. V. 284. P. 11–23.
- Shaked H., Kashkush K., Ozkan H. *et al.* Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat // *Plant Cell*. 2001. V. 13. P. 1749–1759.
- Shcherban A.B., Badaeva E.D., Amosova A.V. *et al.* Genetic and epigenetic changes of rDNA in a synthetic allotetraploid *Aegilops sharonensis* × *Ae. umbellulata* // *Genome*. 2008. V. 51. P. 261–271.
- Slotkin R.K., Martienssen R. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome // *Nature Rev. Genet.* 2007. V. 8. P. 272–285.
- Song K.M., Lu P., Tang K.L., Osborn T.C. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. P. 7719–7723.
- Stebbins G.L. Chromosomal evolution in higher plants. London, UK: Edward Arnold, 1971.
- Tate J.A., Symonds V.V., Doust A.N. *et al.* Synthetic polyploids of *Tragopogon miscellus* and *T. mirus* (Asteraceae): 60 years after Ownbey's discovery // *Amer. J. Bot.* 2009. V. 96. P. 979–988.
- Throude M., Bolot S., Bosio M. *et al.* Structure and expression analysis of rice paleo duplications // *Nucl. Acids Res.* 2009. V. 37. P. 1248–1259.
- Tsukahara S., Kobayashi A., Kawabe A. *et al.* Bursts of retrotransposition reproduced in *Arabidopsis* // *Nature*. 2009. V. 461. P. 423–426.
- Walsh B. Population-genetic models of the fates of duplicate genes // *Genetica*. 2003. V. 118. P. 279–294.
- Wang J., Tian L., Lee H.S. *et al.* Genome wide nonadditive gene regulation in *Arabidopsis* allotetraploids // *Genetics*. 2006. V. 172. P. 507–517.
- Wendel J.F. Genome evolution in polyploids // *Plant Mol. Biol.* 2000. V. 42. P. 225–249.
- Zhao X.P., Si Y., Hanson R.E. *et al.* Dispersed repetitive DNA has spread to new genomes since polyploid formation in cotton // *Genome Res.* 1998. V. 8. P. 479–492.
- Zhuang Y., Chen J.F. Changes of gene expression in early generations of the synthetic allotetraploid *Cucumis* × *hytivus* Chen et Kirkbride // *Genet. Res. Crop Evol.* 2009. V. 56. P. 1071–1076.

THE REORGANIZATION OF PLANT GENOMES DURING ALLOPOLYPLOIDISATION

A.B. Shcherban

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: atos@bionet.nsc.ru

Summary

Molecular mechanisms governing plant genome reorganization in the course of allopolyploidization are reviewed. The special role of early genetic changes, which were studied by using a unique model of synthetic allopolyploids, is emphasized. The data on various genomic changes at early stages of allopolyploidization, including activation of mobile elements, chromosomal rearrangements, epigenetic and transcriptomic changes, etc., are summarized. We note that these changes provide evolutionary success of allopolyploids and their prevalence among higher plants due to formation of stable organization of the allopolyploid genome.

Key words: allopolyploids, remote hybridization, higher plants, mobile element, polymerase chain reaction.