

- 7 Махмудова К.Х., Богданова Е.Д., Левитес Е.В. Индукция тритоном X-100 наследуемых изменений морфологических признаков у *Triticum aestivum* L. // Генетика. 2000. Т. 45. № 4. С. 564–568.
- 8 Кирикович С.С., Левитес Е.В. Изменение динамики прорастания семян и проявления стерильности пыльцы у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) под влиянием эпимутагена «Тритон X-100» // матер. VII Межрегиональной конференции молодых ученых и специалистов аграрных вузов Сибирского федерального округа "Инновационный потенциал молодых ученых в развитии агропромышленного комплекса Сибири", 3-5 июня 2009 г. Новосибирск, 2009. С. 48–52.
- 9 Kirikovich S.S., Levites E.V. Effect of epimutagene Triton X-100 on morphological traits in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) // Sugar Tech. 2009. V. 11. № 3. P. 66–69.
- 10 Левитес Е.В., Новожилова Т.И. Изучение активности и изоферментных спектров алкогольдегидрогеназы в полиплоидном ряду кукурузы (*Zea mays* L.) // Генетика. 1978. Т. 14. № 4. С. 581–589.
- 11 Левитес Е.В., Горенштейн Н.М., Денисова Ф.Ш., Тарасова Р.С. Изоферменты как маркеры нестабильности генома у сахарной свеклы // Генетика. 1991. Т. 27. № 11. С. 1937–1954.
- 12 Левитес Е.В., Шахова И.С., Кирикович С.С. Повторный цикл яровизации и цветения как фактор эпигенетической изменчивости у сахарной свеклы. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 9 с.
- 13 Levites E.V., Kirikovich S.S., Denisova F.Sh. Expression of enzyme genes in agamosperous progenies of reciprocal hybrids of sugar beet // Sugar Tech. 2001. V. 3. № 4. P. 160–165.
- 14 Levites E.V., Kirikovich S.S. Epigenetic variability of unlinked enzyme genes in agamosperous progeny of sugar beet // Sugar Tech. 2003. V. 5. № 1&2. P. 57–59.
- 15 Левитес Е.В., Малецкий С.И. Авто- и эписегрегация по репродуктивным признакам в агамоспермных потомствах свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. 1999. Т. 35. № 7. С. 939–948.
- 16 Тимирязев К.А. Чарльз Дарвин и полувекковые итоги дарвинизма // Сочинения. Т. 7. М.: Сельхозгиз, 1939. С. 211–240.
- 17 Соболев Д.Н. Начала исторической биогенетики. Симферополь: Гос. Изд-во Украины, 1924. 204 с.

Тўжырым

Жоғары сатыдағы өсімдіктерде бар эпигенетикалық өзгергіштік және оған әсер ететін ішкі және сыртқы факторлар қарастырылған. Эволюциялық процестегі эпигенетикалық өзгергіштіктің рөлі талқыланады.

Summary

Examples of epigenetic variability in higher plants and influencing on it external and internal factors are presented. Role of epigenetic variability in evolution processes is discussed.

УДК: 575.12 : 575.16 : 577.15 : 633.63

Левитес Е.В.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИЯ ХРОМОСОМ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ СПОСОБ КОДИРОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ У РАСТЕНИЙ (ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ)

(Институт цитологии и генетики СО РАН)

Представлена гипотеза о роли дифференциальной эндоредупликации хромосом в кодировании наследственной информации у растений, созданная на основании полученных экспериментальных и имеющихся в литературе данных

В середине двадцатого века были выявлены примеры изменчивости, возникающей при половом размножении и не укладывающейся в рамки законов менделевской генетики: парамутации [1], мобильные элементы [2]. Кроме того, в это же время стало все больше накапливаться данных о том, что у большого числа видов растений и у некоторых видов животных существуют способы размножения, которые не относятся к половым и при которых возникает изменчивость, не соответствующая законам менделевской генетики.

У растений способы семенного размножения, при которых образование потомства происходит только за счет одного родителя (за счет материнского растения), называют агамоспермными [3].

Развитие диплоидного зародыша без участия опылителя возможно лишь в том случае, когда в эмбриогенез вступает диплоидная яйцеклетка (при мейотической агамоспермии), либо диплоидная

соматическая клетка нуцеллуса, интегументов или даже зародышевого мешка, образовавшегося без мейоза (при митотической агамоспермии). Образование семян в таком случае можно назвать семенным клонированием, и теоретически такие потомства должны быть однородны. Однако в таких потомствах при использовании в качестве генетических маркеров изоферментов был выявлен полиморфизм [4]. Нами была предпринята попытка выявить различия между митотической и мейотической агамоспермией по соотношению фенотипических классов в агамоспермных потомствах, полученных от обработанных колхицином пыльцестерильных растений сахарной свеклы [5]. При сравнении изменчивости маркерного фермента (алкогольдегидрогеназы) в агамоспермных потомствах контрольных и опытных растений было обнаружено, что воздействие колхицином на материнское растение влияет на многие морфофизиологические признаки его потомства. Однако было установлено, что в группе измененных под действием колхицина растений не происходит увеличение доли потомств, в которых бы наблюдалось соотношение фенотипических классов, свидетельствующее о происхождении зародышей из диплоидных яйцеклеток. Это позволило предположить, что основная часть полученных в данном эксперименте потомств образовалась путем митотической агамоспермии, и что важнейшим фактором, определяющим переход соматических клеток данных растений к эмбриогенезу, является наличие не полиплоидных клеток, а клеток, содержащих эндоредуплицированные хромосомы [5]. Эта гипотеза подтверждалась существованием диплоидных растений сахарной свеклы, склонных к агамоспермии и обладающих высоким содержанием ДНК в ядрах клеток [6].

Представляло интерес также то, что в полученных агамоспермным путем растениях наблюдались различия в изменчивости сцепленных ферментных локусов *Adh1*, контролирующего алкогольдегидрогеназу (ADH1), и *Idh3*, контролирующего изоцитратдегидрогеназу (IDH3), расположенных друг от друга на расстоянии 17 сМ [7].

Необходимо заметить, что практически все полученные агамоспермным путем растения, классифицируемые как фенотипически измененные, т.е. имеющие не исходный гетерозиготный фенотип, а фенотип, сходный с гомозиготным, не несут аллелей, активность которых была бы равна нулю. Эти растения являются гомозиготами по аллелю, сохранившему свою экспрессию. Предположение о том, что возникшее сходство первоначально различных, присутствовавших у материнских растений аллельных вариантов фермента происходит вследствие произошедшей в структуре гена замены единичных нуклеотидов и соответствующей замены аминокислот в первичной структуре белка, отвергается в силу очень малой вероятности этого события. Это возражение тем более справедливо в отношении изоферментов алкогольдегидрогеназы ADH1, поскольку аллели этого локуса различаются сразу по двум нуклеотидам, находящимся друг от друга на расстоянии 84 нуклеотида [8]. Если допустить, что агамоспермия приводит к определенным замещениям в локусе *Adh1*, то необходимо предположить, что эти изменения затрагивают область гена, включающую в себя не менее 86 нуклеотидных пар. Тогда возникает другой вопрос: почему изменяется только часть гена? Может быть заменяется целый ген?

Представляется перспективным рассмотреть эти данные с позиции гипотезы о том, что в эмбриогенез путем митотической агамоспермии вступают клетки семязачки с высоким уровнем полипloidии [5]. Полипloidия довольно хорошо описана у многих видов растений [9-11]. Полипloidия часто наблюдается в генеративных органах растений, особенно в клетках семязачек и тапетума пыльника. Для дальнейших рассуждений важно также то, что хромосомы эукариот имеют много независимых точек начала редупликации [12].

Учитывая все изложенные факты можно предложить следующую модель для объяснения полученных результатов. Можно представить, что рассматриваемое здесь агамоспермное потомство, в котором выявляются только гетерозиготы по локусу *Adh1* и два фенотипических класса по локусу *Idh3* (*FF* и *FS*), получено от материнского растения, у которого в локусе *Adh1* оба аллеля были представлены только по одной дозе, а в локусе *Idh3* аллель *Idh3-F* был представлен в три раза большим числом копий. У этого растения генотип соматических клеток, способных перейти к эмбриональному развитию, условно можно обозначить как *FS* по локусу *Adh1*, и *FFFS* по локусу *Idh3*. Но клетка, вступающая в эмбриогенез, может содержать только две хроматиды. Это является причиной возникновения комбинаторного процесса, благодаря которому во вступающей в эмбриогенез клетке остается лишь пара хроматид (пара выступающих как единое целое комбинаторных единиц). Комбинаторный процесс заключается в выборе случайной пары из четырех имеющихся копий хроматид, несущих аллели локуса *Idh3*. Клетка, вступающая в эмбриогенез, может быть обозначена как апозигота (APZ). Равновероятная комбинация из четырех элементов по два приводит к образованию двух возможных генотипических классов в соотношении $1FF : 1FS$.

Попарная комбинация хроматид не означает, что они достигают одного и того же полюса при делении клетки. В данном случае это может определяться тем, что эти две хроматиды прикрепляются к фактору, представляющему собой либо ядерную мембрану, либо ядерный матрикс. Единообразие данного потомства по гетерозиготному спектру ADH1 обусловлено в данном случае отсутствием комбинаторного процесса, поскольку каждый из аллелей этого локуса представлен лишь одной дозой.

Вывод о прикреплении хромосом эукариот к ядерной мембране впервые был сделан А.Н. Мосоловым в 1972 году [13].

Прикрепленные к ядерной мембране или к ядерному матриксу хроматиды определяют генотип апозиготы (APZ). Другие две хроматиды, не прикрепившиеся к этому фактору, постепенно теряются из клеток, претерпевающих деление. Обозначив хроматиды, прикрепленные к ядерной мембране или к ядерному матриксу, как \underline{F} или \underline{S} , процессы можно схематически представить следующим образом:

$FFFS \rightarrow \underline{FF}$ (генотип APZ), а F и S теряются

$FFFS \rightarrow \underline{FS}$ (генотип APZ), а $2F$ теряются

В силу того, что хромосомы эукариот имеют множество независимых точек начала редупликации, потеря избыточных копий хроматид может происходить независимо на отдельных участках хромосом.

Вполне вероятно, что стимулом к эмбриогенезу и к тому, чтобы из клетки стали элиминироваться избыточные копии отдельных участков хроматид, может являться возрастание числа хроматид при эндоредупликации. Возникающее при эндоредупликации увеличение количества ДНК в клетке аналогично тому, что происходит при слиянии гамет. Комбинаторный процесс, предваряющий собой элиминацию участков хроматид, определяет генотип APZ и, соответственно, набор теряющихся на начальных стадиях развития зародыша избыточных копий этих участков.

Предложенная здесь гипотеза подтверждается данными, полученными при изучении зигот ячменя (*Hordeum disticum* cv. Nauchen) на начальных стадиях развития зародыша. Содержание ДНК в ядрах зигот *H. disticum* было 16C, но оно постепенно снижалось в ядрах клеток проэмбрио до 2C [14]. Тот факт, что может происходить потеря генетического материала в течение первых делений эмбриогенеза, хорошо продемонстрировано на *Cyclopoida* и *Ciliatae* [15]. В наших экспериментах доказательством такой потери является обнаружение нулевых фенотипов по ферментам в агамоспермных потомствах.

Возможность неравной редупликации гомологичных хромосом была показана ранее на бобах [16]. На возможность такой асимметрии в исследованных нами растениях указывает тот факт, что в некоторых семенных потомствах, полученных агамоспермным путем, выявлялось только два фенотипических класса в равных соотношениях. Существование агамоспермных потомств, содержащих два фенотипических класса, представляет собой интерес, поскольку указывает на наличие специфического механизма, лежащего в основе этого процесса.

Данные, полученные на *Phaseolus cocineus* [16], и выявленные нами соотношения фенотипических классов в агамоспермных потомствах сахарной свеклы позволяют говорить об еще одном пути кодирования наследственной информации у растений, основанном на эндоредупликации.

В предыдущих статьях было предложено рассматривать генетическое кодирование, основанное на эндоредупликации, как кодирование во втором измерении (2D), а кодирование, записанное последовательностью нуклеотидов, рассматривать как кодирование в первом измерении (1D) [17-19]. В этих статьях было предложено также рассматривать специфическое расположение хромосом в клеточном ядре как кодирование в 3D измерении, и также было сделано предположение о существовании временного кодирования наследственной информации у растений.

Легко видеть, что генетическое кодирование в различных измерениях в разной степени подвержено влиянию внешних и внутренних факторов. Изменения нуклеотидной последовательности в результате мутаций, представляющие собой замещения нуклеотидов, происходят очень редко, с частотой $10^{-5} - 10^{-6}$, а изменения в агамоспермных потомствах происходят с частотой десятков процентов. Зависимость соотношений фенотипов в агамоспермных потомствах от воздействия колхицина или от вклада родителей материнского растения [5, 20] свидетельствует о том, что генетическое кодирование во втором измерении (2D) зависит от внутренних и внешних условий. Можно полагать, что кодирование в третьем (3D) и во временном измерении также зависит от внутренних и внешних факторов, а также и от времени.

Учитывая влияние колхицина на соотношение фенотипов в агамоспермном потомстве и учитывая зависимость этих соотношений от происхождения аллелей маркерного гена, учитывая также увеличение содержания ДНК при возникновении под действием внешних факторов стойких

наследуемых изменений [21], а также тот факт, что репликация в целом зависит от питания, можно говорить о том, что дифференциальную эндоредупликацию хромосом можно рассматривать как способ записи наследственной информации о приобретенных признаках.

Литература

- 1 Brink R.A. *Paramutation and chromosome organization* // *Q. Rev. Biol.* 1960. V. 35. P. 120–137.
- 2 McClintock B. *Chromosome organization and genic expression. Cold Spring Harbor Symp // Quant. Biol.* 1951. V. 16. P. 13–47.
- 3 Gustafsson A. *Apomixis in higher plants* // *Lunds. Univ. Arsskz. N.S. Sect.2.* 1946–1947. V. 42. № 3. P. 1–67; V. 43. № 2. P. 71–179; V. 43. № 12. P. 184–370.
- 4 Левитес Е.В., Шкунник Т., Овечкина О.Н., Малецкий С.И. Псевдосегрегация в агамоспермных потомствах пыльцестерильных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Докл. РАН. 1998. Т. 362. № 3. С. 430–432.
- 5 Levites E.V., Denisova F.Sh., Kirikovich S.S., Judanova S.S. (Maletskaya S.S.) *Ratios of phenotypes at the Adh1 locus in the apozygotic offspring in sugarbeet (C₁ generation)* // *Sugar Tech.* 2000. V. 2. № 4. P. 26–30.
- 6 Maletskaya E.I., Maletskaya S.S. *The nuclear DNA mass variability in embryo root cells of sugarbeet* // *Sugar Tech.* 1999. V. 1. № 1/2. P. 30–36.
- 7 Левитес Е.В., Кудашева Т.Ю., Викслер Л.Н. *Изучение групп синтенных генов у сахарной свеклы.* Новосибирск: ИЦиГ СО АН, 1988. 24 с.
- 8 Виниченко Н.А. и др. *Молекулярные различия аллелей Adh1-F и Adh1-S у сахарной свеклы Beta vulgaris L.* // *Генетика.* 2004. Т. 40. № 2. С.232–238.
- 9 Курьянов Г.И., Поляков В.Ю., Ченцов Ю.С. *Биохимический подход к проблеме полиемности хромосом растений* // Докл. АН СССР. 1974. Т. 218. № 2. С. 485–488.
- 10 Nagl W. *Nuclear organization* // *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1976a. V. 27. P. 39–69.
- 11 Carvalheira G. *Plant polytene chromosomes* // *Genet. Mol. Biol.* 2000. V. 23. V. 4. P. 1043–1050.
- 12 Van't Hof J. *Functional chromosomal structure: the replicon* // *DNA replication in plants* / Ed: J.A. Bryant and V.L. Dunham / Boca Raton, FL, USA: CRC Press., 1988. P. 1–15.
- 13 Мосолов А.Н. *Новый подход к решению проблемы пространственного расположения хромосом в интерфазном ядре (полярная модель интерфазного ядра)* // *Цитология.* 1972. Т. 14. № 5. С. 542–552.
- 14 Mericle L.W., Mericle R.P. *Nuclear DNA complement in young proembryos of barley* // *Mutat. Res.* 1970. V. 10. № 10. P. 508–518.
- 15 Ammermann D. *Morphology and development of the macronuclei of the ciliates Stylonychia mytilus and Euplotes aediculatus* // *Chromosoma.* 1971. V. 33. P. 209–238.
- 16 Cionini P.G., Cavallini A., Corsi R., Fogli M. *Comparison of homologous polytene chromosome in Phaseolus cocineus embryo suspensor cells: morphological, autoradiographic and -cytophotometric analyses* // *Chromosoma.* 1982. V. 86. P. 383–396.
- 17 Levites E.V. *Theoretical and practical aspects of studies in epigenetic variability in sugarbeet* // *Sugar Tech.* 2003. V. 5. № 4. P. 209–211.
- 18 Levites E.V. *Sugarbeet plants produced by agamospermy as a model for studying genome structure and function in higher plants* // *Sugar Tech.* 2005. V. 7. № 2/3. P. 67–70.
- 19 Levites E.V. *Marker enzyme phenotype ratios in agamospermous sugarbeet progenies as a demonstration of multidimensional encoding of inherited information in plants* // on-line: <http://arxiv.org/abs/q-bio/0701027>
- 20 Levites, E.V., Kirikovich, S.S., and Denisova, F.Sh. *Expression of enzyme genes in agamospermous progenies of reciprocal hybrids of sugar beet* // *Sugar Tech.* 2001. V.3. N.4. P.160-165.
- 21 Богданова Е.Д. *Эпигенетическая изменчивость, индуцированная никотиновой кислотой у Triticum aestivum L.* // *Генетика.* 2003. Т. 39. № 9. С. 1221–1227.

Тұжырым

Тәжірибе нәтижесінде алынған және әдебиеттерде кездесетін мәліметтер негізінде жасалған өсімдіктердегі тұқымқуалаушылық ақпаратты кодтауда хромосоманың дифференциалды эндоредупликациясының рөлі жөнінде гипотеза ұсынылған.

Summary

Hypothesis about role of differential chromosomal endoreduplication in encoding of inherited information in plants is presented. This hypothesis was originated on the base of experimental and literary data.