

Ю.А. Липихина<sup>1</sup>, Е.В. Евтушенко<sup>1</sup>, О.М. Люсиков<sup>2</sup>, И.С. Гордей<sup>2</sup>, И.А. Гордей<sup>2</sup>, А.В. Вершинин<sup>1</sup>

## РЖАНО-ПШЕНИЧНЫЕ АМФИДИПЛОИДЫ СЕКАЛОТРИТИКУМ — НОВАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ЦЕНТРОМЕРНОГО БЕЛКА CENH3

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН  
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр-т академика Лаврентьева, 8/2  
e-mail: avershin@mcb.nsc.ru

<sup>2</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси  
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27  
e-mail: I.Gordej@igc.by

Отдаленная гибридизация является стрессовым фактором, который вызывает реорганизацию родительских геномов в гибридном потомстве («геномный шок») и сопровождается потерей генов, изменениями в экспрессии генов, молчанием генов, делециями, инверсиями и транслокациями участков хромосом. Созданные аллополиплоидные гибриды секалотритикум являются новой интересной моделью для изучения влияния отдаленной гибридизации на участки генома, ответственные за правильное прохождение процессов деления и распределения хромосом в гибридных клетках. Центромера осуществляет интегральный контроль этих процессов. Основным признаком активной центромеры является присутствие в нуклеосомах центромер специфической модификации гистона H3, обозначаемой у растений CENH3. В данной работе приведены результаты цитогенетического анализа кариотипов гибридов секалотритикум и сравнение структуры N-концевого домена CENH3 между родительскими и гибридными формами. Показано, что кариотипы созданных секалотритикум являются стабильными сбалансированными гексаплоидами и не содержат мини-хромосом с делетированными плечами или участками плеч. Оба родительских генома участвуют в формировании структуры CENH3 у гибридов секалотритикум. Высокая идентичность последовательностей CENH3 ржи и пшеницы обеспечивает высокий уровень экспрессии обеих родительских форм в гибридных геномах.

**Ключевые слова:** рожь, пшеница, отдаленная гибридизация, ржано-пшеничные амфидиплоиды, тритикале, секалотритикум, аллополиплоиды, геном, цитогенетика, центромера, центромерный гистон H3 (CENH3), экспрессия генов.

### Введение

Аллополиплоидизация, возникающая вследствие отдаленной (межвидовой, межродовой) гибридизации, является одним из основных факторов в эволюции растений, ведущим к появлению новых видов [1, 2]. В селекционном процессе цель отдаленной гибридизации состоит в достижении у гибридов более полного проявления природного генетического потенциала или генетического разнообразия, присутствующего в каждой из родительских форм. При этом отдаленная гибридизация является стрессовым фактором, который вызывает быструю реорганизацию родительских геномов в гибридном потомстве («геномный шок» [3]), сопровождающуюся потерей генов, изменениями в экспрессии генов, молчанием

генов, делециями, инверсиями и транслокациями участков хромосом [4–6].

Принципиальное значение для расширения генофонда и создания селекционно ценных гибридов может иметь синтез ржано-пшеничных амфидиплоидов, при котором материнской формой служит рожь, а опылителем — пшеница. Такие скрещивания, как правило, затруднены вследствие проявления реакции односторонней несовместимости и ржано-пшеничные амфидиплоиды до сих пор изучены недостаточно. Преодоление этого барьера связано с большими перестройками в геномах родительских форм, что является наиболее ярким проявлением «геномного шока» и сопровождается различными хромосомными нарушениями, в том числе затрагивающими

структуру центромер. Исследованиями сотрудников лаборатории цитогеномики растений Института генетики и цитологии НАН Беларуси установлено, что использование в скрещиваниях с рожью вида-посредника тритикале в качестве источника геномов пшеницы оказалось эффективным для преодоления барьера односторонней прогамной несовместимости исходных видов [7]. Новые гибриды, у которых в качестве материнского растения использовали рожь, а в качестве отцовского источника пшеничного генома — тритикале, получили название секалотритикум (*×Secalotriticum*, син. *×Secalotriticum* = *Secale* L. *× Triticum* L.). У секалотритикум создаются более благоприятные условия для усиления экспрессии генетических систем ржи и проявления ее ценных адаптивных признаков.

Процесс образования гибридного генома и последующая его стабилизация напрямую связаны с нормализацией процесса мейоза и правильной сегрегацией хромосом. Именно центромера является тем участком хромосомы, который осуществляет контроль фундаментального процесса деления клеток, включающего спаривание и разделение сестринских хроматид, присоединение веретена деления, расхождение хромосом к полюсам клетки. Несовместимость центромер разных видов, по-видимому, является основной причиной элиминации хромосом одного из родительских геномов у гибридов [8, 9]. С молекулярной точки зрения, центромера представляет многокомпонентную структуру, состоящую из разнообразных классов последовательностей ДНК и белков. Центромерная ДНК показывает значительную вариабельность структуры между видами и даже между хромосомами одного кариотипа [10]. Среди центромерных белков, согласно исследованиям последнего десятилетия, особое место отводится центромерной модификации гистона H3, у растений обозначаемой как CENH3 [10, 11]. Это особое положение обусловлено тем, что на молекулярном уровне наиболее специализированной и универсальной характеристикой активной центромеры является присутствие CENH3 вместо канонического гистона H3 в нуклеосомах центромерного хроматина. Это свойство отмечено у хромо-

сом, имеющих разнообразные формы центромер: моноцентрические, дицентрические, голоцентрические, нецентромеры [11]. CENH3 вместе с другими окружающими белками хроматина непосредственно ответствен за формирование в данном участке хромосомы кинетохора, который взаимодействует с микротрубочками веретена деления, по которым хромосомы двигаются к полюсам клетки при ее делении [12]. Таким образом, CENH3 можно рассматривать как эпигенетическую «метку» центромеры [13]. Как показано на некоторых видах млекопитающих и дрозофиле, в случае его потери по каким-то причинам не происходит формирования кинетохора и правильного расхождения хромосом в ходе деления клеток [14].

В связи с особой ролью CENH3 в формировании и функционировании центромер представляет значительный интерес изучение влияния отдаленной гибридизации на структуру этого белка у гибридов относительно исходных родительских форм. В настоящей работе такое исследование проведено на примере альфа-вариантов CENH3 ржано-пшеничных амфидиплоидов секалотритикум. Кроме того, используя С-бэндинг, необходимо было сравнить кариотипы родительских и гибридных форм на предмет возможных видимых хромосомных перестроек вследствие отдаленной гибридизации.

### Материалы и методы

Две формы гибридов секалотритикум STr VM и STr ВД были созданы на основе гибридизации тетраплоидной ржи Верасень (<sup>S</sup>RRRR, 2n=4x=28) с гексаплоидными тритикале сортов Михась и Дубрава (<sup>T</sup>AABBRR, 2n=6x=42). Тритикале выступали в качестве вида-посредника — источника геномов пшеницы и ингибитора S-РНКаз ржи, что позволило преодолеть прогамную несовместимость ржи с пшеницей. Создание исходных форм тетраплоидной ржи описано в статье Гордей и др. [15].

Кариотипирование секалотритикум и молекулярно-цитогенетическую идентификацию хромосом исходных видов проводили на давленных препаратах апикальных меристем корня с помощью варианта метода дифференциального окрашивания по Гимза (C-banding) [16].

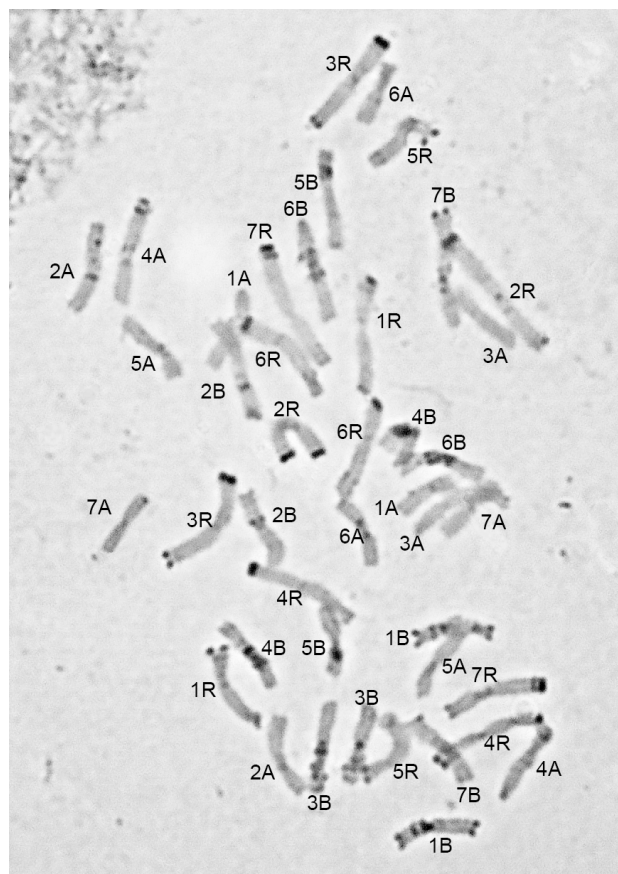
Молекулярный анализ проводили на растениях родительских форм и гибридов, выращенных в теплице. Суммарную РНК выделяли из листьев 10–12-дневных проростков из 4–5 растений родительских форм. У гибридных форм РНК выделяли из каждого растения отдельно. Выделение РНК проводили с использованием TRI Reagent (MRC, Ink., США) [17]. Чтобы избежать контаминации геномной ДНК, тотальную РНК обрабатывали RQ-RNase Free DNAase (Promega, Madison, США). Для синтеза кДНК использовали набор реактивов RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США). Полученную кДНК использовали в серии реакций ПЦР в качестве матрицы с праймерами, синтезированными специально для амплификации N-концевого участка (N-Terminal Tail, NTT) CENH3. Последовательности праймеров: 5' – ATGGCCCGCACCAAGC (F), 5' – GAAACTCGACCGACTTCTG (R). Размер продукта составлял 268 п. н. Продукты ПЦР клонировали в плазмиду pTZ57R/T (InsTAclone PCR cloning kit, Thermo Scientific, США) и секвенировали по Сэнгеру с использованием BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Продукты реакции разделяли на приборе 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Последовательности индивидуальных клонов, полученные для каждого образца, анализировали при помощи программы FinchTV 1.4 (Geospiza) и пакета программ FASTA [18]. Поиск идентичности нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма BLAST в базе данных NCBI. Графические изображения подготовлены с использованием программы Jalview.

### Результаты и обсуждение

Одним из проявлений геномного шока, возникающего вследствие объединения двух родительских геномов в гибридной клетке при отдаленной гибридизации, являются различные хромосомные изменения. Делеции и транслокации отдельных хромосомных районов и хромосомных плеч относятся к наиболее распространенным нарушениям и были обнаружены в цитогенетическом анализе как пшенично-ржаных замещенных и дополненных линий [19, 20], так и в тритикале и потомках

от скрещиваний тритикале × пшеница [21, 22]. Нарушения при этом отмечены в хромосомах обеих родительских форм.

Кариотипы секалотритикум STr BM (Верасень × Михась) и STr ВД (Верасень × Дубрава) (<sup>S</sup>RRAABB, 2n=6x= 42) были проанализированы методом дифференциального окрашивания (С-бэндинг). Этот метод выявляет паттерн локализации гетерохроматиновых районов, который является специфичным для каждой хромосомы ржи и пшеницы и, соответственно, позволяет провести идентификацию каждой хромосомы в гибридном кариотипе. На рис. 1 показан кариотип секалотритикум STr BM. Кариотипы созданных секалотритикум являются стабильными сбалансированными гексаплоидами и не содержат мини-хромосом с делетированными плечами или участками плеч. Рисунок С-бэндинга хромосом гибридных геномов и исходных форм ржи и тритикале совпадает. Стабилизации кариотипов спо-



**Рис. 1.** Кариотип секалотритикум STr BM (Верасень × Михась) после С-бэндинга представлен полными наборами хромосом R-, A-, B-геномов

сообствовали однократный беккросс ржано-тритикальных пентаплоидных гибридов  $F_1$  ( $^S$ RRABR,  $5x=35$ ) на тритикале с последующим самоопылением в течение 15 поколений и постоянный отбор на цитологическую стабильность и фенотипическую однородность.

Диплоидный RR-геном ржи у ржано-тритикальных гибридов  $F_1$  является фактором стабилизации мейоза и обеспечивает функциональность гамет различного хромосомного состава. Формирование генома секалотритикум происходит в  $F_1BC_1$  на основе частично нередуцированных 21-хромосомных гамет пентаплоидов  $F_1$ , сбалансированных по наборам хромосом гаплогеномов исходных видов (7(R) 7(A) 7(B)). Стабильность генома и генетическое разнообразие секалотритикум определяются типом цитоплазмы и следующими наследуемыми от генотипов ржано-тритикальных гибридов  $F_1$  цитогенетическими факторами, в основном, связанными со структурно-функциональным состоянием центромер в их геноме:

- формирование (псевдо)унивалентов в результате десинапсиса;
- сохранение ими униполярной ориентации центромер и редукционное I деление в мейозе;
- эквационное II деление мейоза с регулярной полярной сегрегацией и низким уровнем элиминации хромосом отдаленных гибридов.

Созданные секалотритикум при отборе на продуктивность претерпевали быструю стабилизацию в мейозе. Стабилизация происходила за счет сужения спектра и быстрого снижения в  $F_1-F_3$  частоты нарушений во втором мейотическом делении (на 15–50%), в том числе уровня элиминации хромосом (с ~30% до ~6% тетрад с микроядрами). В  $F_{3-5}$  и последующих поколениях у секалотритикум более выражена нормализация первого деления мейоза: средний уровень аномалий в MI снижался с 57,3% у секалотритикум  $F_3$  до 16,9% в  $F_{5-9}$ , а также в среднем с 25–30% до 8–10% в AI-AII, и достигал менее 5% на стадии тетрад. Цитологическая стабилизация их генома практически завершалась в  $F_5$  [7].

Хромосомные изменения, о которых говорилось выше, как правило, происходят быстро и наиболее интенсивно в первых

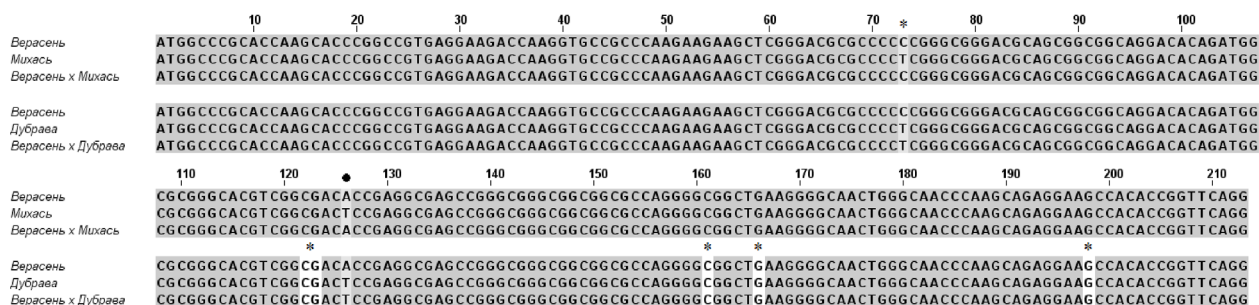
поколениях, до 5-го включительно [7, 21], и особенно в  $F_1$  до удвоения хромосом [21]. Таким образом, продолжительные циклы скрещиваний при получении секалотритикум сыграли значительную роль в стабилизации гибридного кариотипа и восполнении возможных потерянных в первых поколениях после гибридизации участков родительских геномов. В настоящее время созданный нами генофонд секалотритикум включает более 50 уникальных линий. Стабильные формы по продуктивности сравнимы или превосходят исходные тритикале, характеризуются сравнительно более широким диапазоном изменчивости, по некоторым признакам морфотипа ближе к ржи. Линии секалотритикум идентифицированы с использованием дифференциального окрашивания хромосом (C-banding) и рестрикционного анализа видоспецифических последовательностей цитоплазматической ДНК хлоропластов и митохондрий.

Различия в структуре SENH3 между родительскими формами позволяют судить о регуляции уровня экспрессии родительских форм белка в новом геномном окружении, возникающем в гибридной клетке при отдаленной гибридизации. Первая работа по изучению возможной связи между различиями в структуре SENH3 у родительских форм и процессами расхождения хромосом родительских геномов при делении гибридных клеток была проведена на гибридах, полученных от скрещивания культурного ячменя *H. vulgare* и его ближайшего дикого родственника *H. bulbosum* [23]. Молекулы SENH3 не включались в центромеры хромосом *H. bulbosum*, которые при этом инактивировались и элиминировались из гибридных эмбрионов. Возможно, отсутствие SENH3 в центромерах хромосом *H. bulbosum* обусловлено заметными различиями в структуре этого белка между видами ячменя, в особенности в структуре N-концевой (NTT) последовательности [23]. В отличие от видов ячменя последовательности ДНК  $\alpha$  и  $\beta$  форм SENH3 различных видов ржи и пшеницы имеют очень высокую (95–99%) идентичность [24], что значительно затрудняет поиск межвидовых различий и, соответственно, определение характера их наследования в гибридных геномах.

Консенсусные нуклеотидные последовательности NTT  $\alpha$ CENH3 родительских форм Верасень и Михась, приведенные на рис. 2, отличаются всего одной заменой в позиции 73, ведущей к несинонимичной замене аминокислоты серин на пролин. Она обнаружена у сорта Верасень в 73,3% проанализированных клонов (таблица), тогда как для отцовской формы тритикале Михась в этой позиции замена наблюдается только у 7,7% клонов. Полученный от скрещивания этих родительских форм гибрид секалотритикум STr VM наследует высокое содержание пролина от материнского родителя Верасень (67,4%, таблица). Однако эта тенденция не поддерживается в другом скрещивании, где гибрид STr ВД показывает столь же низкий процент замен, как и отцовский родитель — сорт тритикале Дубрава (рис. 2, таблица). С другой стороны, в этой комбинации скрещивания в нескольких позициях (122, 123, 161, 166, 198) у Дубравы наблюдается значительно высокий процент однонуклеотидных замен по сравнению с материнским родителем Верасень (рис. 2, таблица), что ведет к несинонимичным заменам аминокислот, а именно: аланин заменяется на валин, аланин на глицин, глутаминовая кислота на глутамин и лизин на аспарагин. Интересный результат заключается в том, что у гибрида секалотритикум STr ВД в этих позициях процент нуклеотидных замен (уровень полиморфизма) значительно превышает даже показатели тритикале Дубрава, демонстрируя своеобразный «гетерозисный эффект». Таким образом, полученные

результаты указывают, что оба родительских генома участвуют в формировании структуры CENH3 у гибридов секалотритикум. Вместе с тем, сравнение нуклеотидных последовательностей наиболее варибельной N-концевой части молекулы CENH3 у родительских форм и гибридов не выявляет определенной тенденции в наследовании.

Литературные данные о регуляции экспрессии различных генов и других классов последовательностей ДНК в гибридных геномах, полученных при скрещивании различных видов или контрастных популяций одного вида, указывают на сложный и неоднородный характер наследования. Явление ядрышкового доминирования, характерного для экспрессии генов рибосомальной РНК у тритикале, как пример геномного доминирования, заключается в репрессии генов рРНК ржи посредством метилирования цитозина [25]. Однако, такой тип наследования, а именно геномное доминирование одного из родителей, не характерно для большинства других примеров. Результаты изучения экспрессии генов у гибридов, полученных от различных комбинаций экотипов арабидопсиса, противоречивы. В одном случае идентифицировано общее материнское доминирование [26], тогда как в другом найдено, что материнский и отцовский геномы транскрипционно эквивалентны [27]. В следующей работе показано, что различные гибридные комбинации показывают значительные вариации в активации родительских аллелей [28]. У некоторых гибридов между экотипами арабидопсиса зафиксирован гетеро-



**Рис. 2.** Консенсусные нуклеотидные последовательности NTT-домена  $\alpha$ CENH3, полученных из родительских форм ржи (Верасень), тритикале (Михась, Дубрава) и амфидиплоидов секалотритикум (STr VM и STr ВД)

Позиции нуклеотидного полиморфизма (SNP, single nucleotide polymorphism) показаны: с частотой ниже 50% — белым цветом, с частотой выше 50% — светло-серым цветом. Точная количественная оценка SNP приведена в табл. Звездочки указывают на позиции SNP, ведущие к несинонимичным заменам аминокислот, черные круги — на SNP, ведущие к синонимичным заменам. Позиции 122 и 123 расположены в одном кодоне и ведут к замене аминокислоты аланин на валин.

Таблица

Количественное определение нуклеотидного полиморфизма (SNP) в NTT-домене  $\alpha$ CENH3, ведущего к заменам аминокислот (в % от числа секвенированных клонов)

Образец	Позиция в нуклеотидной последовательности				
	73	122, 123	161	166	198
Рожь Верасень ( <sup>S</sup> RRRR, 2n = 28)	73,3	6,7	-	-	-
Тритикале Михась ( <sup>T</sup> AABRR, 2n = 42)	7,7	-	-	-	-
Секалотритикум STr VM Верасень × Михась ( <sup>S</sup> RRAABB, 2n = 42)	67,4	4,7	-	-	2,3
Тритикале Дубрава ( <sup>T</sup> AABRR, 2n = 42)	6,7	6,7	13,3	13,3	20,0
Секалотритикум STr ВД Верасень × Дубрава ( <sup>S</sup> RRAABB, 2n = 42)	2,6	44,7	39,5	39,5	36,8

**Примечание.** Для каждого образца родительских форм было секвенировано по 15 клонов. Для гибридов секалотритикум в среднем по 15 клонов для каждого из 5 растений. Консенсусные нуклеотидные последовательности приведены на рис. 2, несинонимичные замены аминокислот, являющиеся следствием нуклеотидного полиморфизма, приведены в тексте

зис по биомассе и урожаю семян [29]. В них 95% экспрессирующихся генов имели промежуточный уровень экспрессии. Среди большинства остальных неаддитивно экспрессирующихся генов сдвиг экспрессии был в сторону материнского родителя [29].

При изучении транскрипционной и эпигенетической адаптации хромосом кукурузы в дополненных линиях овес-кукуруза, содержащих полный геном овса и отдельные хромосомы кукурузы, большинство генов кукурузы показало специфическую для кукурузы транскрипцию, однако подавление генной активности было более распространенной тенденцией, чем активация [30].

Наибольший интерес для нас представляют исследования экспрессии родительских генов в аллополиплоидных гибридах, полученных от скрещивания видов пшеницы и ржи. Такие исследования на секалотритикум нам не известны, однако на аллогексаплоидных тритикале от скрещивания *T. turgidum* × *S. cereale* был проведен обширный анализ экспрессии генов ржи в кДНК, выделенных из различных тканей гибридных растений [31]. Были определены классы отсутствующих или молчащих

генов ржи. Сравнение между диплоидной рожью и гексаплоидным тритикале выявило 112 контигов кДНК ржи (~0,5% от общего количества), которые не определялись анализом экспрессии ни в одной из тканей тритикале, хотя их экспрессия была относительно высока в тканях ржи. Особенно интересен факт, что неэкспрессирующиеся в тритикале гены ржи имели значительно меньшую гомологию к соответствующим гомеологам в геноме пшеницы или других видов *Triticum*, чем 200 случайно отобранных генов ржи. Таким образом, гены ржи с низким подобием к их гомеологам в геномах *Triticum* имеют более высокую вероятность быть репрессированными или отсутствовать вследствие делеций в геномах аллополиплоидов. Это заключение хорошо согласуется с нашими результатами. Высокая идентичность последовательностей CENH3 между рожью и пшеницей обеспечивает высокий уровень экспрессии обеих родительских форм в гибридных геномах секалотритикум. При этом у некоторых гибридов (STr ВД) наблюдается резкое возрастание полиморфизма по нескольким позициям в последовательностях CENH3.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-54-00013), Российской программы фундаментальных научных исследований (проект 0310-2018-0010) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Б18Р-170).

### Заключение

В данной работе приведены результаты цитогенетического анализа кариотипов гибридов секалотритикум и сравнение структуры N-концевого домена CENH3 между родительскими и гибридными формами. Показано, что кариотипы созданных секалотритикум являются стабильными сбалансированными гексаплоидами и не содержат мини-хромосом с делетированными плечами или участками плеч. Оба родительских генома участвуют в формировании структуры CENH3 у гибридов секалотритикум. Высокая идентичность последовательностей CENH3 ржи и пшеницы обеспечивает высокий уровень экспрессии обеих родительских форм в гибридных геномах.

### Список использованных источников

1. Wendel J.F. Genome evolution in polyploids // *Plant Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 42. – P. 225–249.
2. Feldman M., Levy A.A. Genome evolution due to allopolyploidization in wheat // *Genetics.* – 2012. – Vol. 36. – P. 763–774.
3. McClintock B. Mechanisms that rapidly reorganize the genome // *Stadler Genet. Symp.* 10. – 1978. – P. 25–48.
4. Lukaszewski A.J., Gustafson J.P. Translocations and modifications of chromosomes in triticale x wheat hybrids // *Theor. Appl. Genet.* – 1983. – Vol. 64. – P. 239–248.
5. Gustafson J.P., Lukaszewski A.J., Bennett M.D. Somatic deletion and redistribution of telomeric heterochromatin in the genus *Secale* and in *Triticale* // *Chromosoma.* – 1983. – Vol. 88. – P. 82–96.
6. Kashkush K., Feldman M., Levy A.A. Gene loss, silencing and activation in a newly synthesized wheat allotetraploid // *Genetics.* – 2002. – Vol. 160. – P. 1651–1659.
7. Гордей И.А., Белько Н.Б., Люсиков О.М. Секалотритикум (*xSecalotriticum*): генетические

основы создания и формирования генома. Минск: Беларуская навука. – 2011. – 214 с.

8. Sanei M., Pickering R., Kumke K. et al. Loss of centromeric histone H3 (CENH3) from centromeres precedes uniparental chromosome elimination in interspecific barley hybrids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2011. – Vol. 108. P. 498–505.

9. Ishii T., Karimi-Ashtiyani R., Houben A. Haploidization via chromosome elimination: means and mechanisms // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2016. – Vol. 67. – P. 421–438.

10. Amor D.J., Kalitsis P., Sumer H., Choo K. Building the centromere: from foundation proteins to 3D organization // *Trends Cell Biol.* – 2004. – Vol. 14. – P. 359–368.

11. Comai L., Maheshwari S., Marimuthu P.A. Plant centromeres // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2017. – Vol. 36. – P. 156–167.

12. Cheeseman I.M., Desai A. Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2008. – Vol. 9. – P. 33–46.

13. Allshire R.C., Karpen G.H. Epigenetic regulation of centromeric chromatin: old dogs, new tricks? // *Nat. Rev. Genet.* – 2008. – Vol. 9. – P. 923–937.

14. Talbert P.B., Bryson T.D., Henikoff S. Adaptive evolution of centromere proteins in plants and animals // *J. Biol.* – 2004. – Vol. 3. – P. 18.

15. Гордей И.А., Люсиков О.М., Гордей И.С. и др. Молекулярно-генетические основы создания нового генофонда ржи и ржано-пшеничных амфидиплоидов секалотритикум // *Молекулярная и прикладная генетика.* – 2017. – Т. 23. – С. 26–39.

16. Badaeva E.D., Sozinova L.F., Badaeva N.S. et al. “Chromosomal passport” of *Triticum aestivum* L. em Thell. cv. Chinese Spring and standardization of chromosomal analysis of cereals. // *Cereal Res Commun.* – 1990. – Vol. 18. – P. 273–281.

17. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* – 1987. – Vol. 162. – P. 156–159.

18. Pearson W. R., Lipman D. J. Improved tools for biological sequence comparison // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1988. – Vol. 85. – P. 2444–2448.

19. Alkhimova A.G., Heslop-Harrison J.S., Shchapova A.I., Vershinin A.V. Rye chromosome variability in wheat-rye addition and substitution lines // *Chromosome Res.* – 1999. – Vol. 7. – P. 205–212.
20. Fu S., Lv Z., Guo X., Han F. Alternation of terminal heterochromatin and chromosome rearrangements in derivatives of wheat-rye hybrids // *J. Genet. Genomics.* – 2013. – Vol. 40. – P. 413–420.
21. Appels R., Gustafson J.P., May C.E. Structural variation in the heterochromatin of rye chromosomes in triticale // *Theor. Appl. Genet.* – 1982. – Vol. 63. – P. 235–244.
22. Ma X., Gustafson J.P. Timing and rate of genome variation in triticale following allopoloidization // *Genome.* – 2006. – Vol. 49. – P. 950–958.
23. Sanei M., Pickering R., Kumke K. et al. Loss of centromeric histone H3 (CENH3) from centromeres precedes uniparental chromosome elimination in interspecific barley hybrids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2011. – Vol. 108. – P. 498–505.
24. Evtushenko E.V., Elisafenko E.A., Gatzkaya S.S. et al. Conserved molecular structure of centromeric histone CENH3 in *Secale* and its phylogenetic relationships // *Sci. Reports* 7. – 2017. – P. 17628.
25. Lima-Brito J., Guedes-Pinto H., Heslop-Harrison J.S. The activity of nucleolar organizing chromosomes in multigeneric F1 hybrids involving wheat, triticale and tritordeum // *Genome.* – 1998. – Vol. 41. – P. 763–768.
26. Autran D., Baroux C., Raising M.T. et al. Maternal epigenetic pathways control parental contributions to *Arabidopsis* early embryogenesis // *Cell.* – 2011. – Vol. 145. – P. 707–719.
27. Nodine M.D., Bartel D.P. Maternal and paternal genomes contribute equally to the transcriptome of early plant embryos // *Nature.* – 2012. – Vol. 482. – P. 94–97.
28. Del Toro-De Leon G., Garcia-Aguilar M., Gillmor C.S. Non-equivalent contributions of maternal and paternal genomes to early plant embryogenesis // *Nature.* – 2014. – Vol. 514. – P. 624–627.
29. Alonso-Peral M.M., Trigueros M., Sherman B. et al. Patterns of gene expression in developing embryos of *Arabidopsis* hybrids // *Plant J.* – 2017. – Vol. 89. – P. 927–939.
30. Dong Z., Yu J., Li H. et al. Transcriptional and epigenetic adaptation of maize chromosomes in Oat-Maize addition lines // *Nucl. Acids Res.* – 2018. – Vol. 46. – P. 5012–5024.
31. Khalil H.B., Ehdavevand M.-R., Xu Y. et al. Identification and characterization of rye genes not expressed in allohexaploid triticale // *BMC Genomics.* – 2015. – Vol. 16. – P. 281.



Y.A. Lipikhina<sup>1</sup>, E.V. Evtushenko<sup>1</sup>, O.M. Lyusikov<sup>2</sup>, I.S. Gordei<sup>2</sup>, I.A. Gordei<sup>2</sup>, A.V. Vershinin<sup>1</sup>

## **RYE-WHEAT AMPHIDIPOIDS SECALOTRITICUM IS A NEW MODEL FOR STUDYING THE ACTIVITY OF GENES OF CENTROMERE PROTEIN CENH3**

<sup>1</sup>Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS  
Novosibirsk, 630090, Russia

<sup>2</sup>Institute of Genetics and Cytology, NASB  
Minsk, 220072, the Republic of Belarus

Remote hybridization is stressful to plants. It causes rearrangements to parental genomes in hybrid progeny (“genome shock”), including loss of genes, changes in gene expression, silencing, deletions, inversions, and translocations of chromosome regions. The developed synthetic allopolyploids secalotriticum represent a new interesting model for studying the impact of remote hybridization on the genomic regions responsible for correct cell division and chromosome distribution in hybrid cells. These processes are orchestrated by the centromere. The hallmark of an active centromere is the presence of histone H3 in centromeric nucleosomes in the form of its centromere-specific modification denoted in plants as CENH3. This work provides results of a cytogenetic analysis of secalotriticum karyotypes and compares the N-terminal domains of CENH3 between the parental and hybrid forms. It has been demonstrated that secalotriticum plants are stable balanced hexaploids devoid of mini-chromosomes with deleted arms, either in full or in part. Both parental genomes contribute to CENH3 formation in secalotriticum. A high level of nucleotide identity between rye and wheat CENH3 provides for a high level of expression of both parental forms in hybrid genomes.

**Key words:** rye, wheat, remote hybridization, rye-wheat amphidiploids, triticale, secalotriticum, allopolyploids, genome, cytogenetics, centromere, centromere-specific histone 3 (CENH3), gene expression.

*Дата поступления статьи: 13 августа 2018 г.*