

УДК 575.1:633.63

**ГЕТЕРОАЛЛЕЛЬНОСТЬ ВМЕСТО ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ  
У ГАПЛОИДОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ *BETA VULGARIS* L.**

**THE HETEROALLICITY INSTEAD OF HETEROZYGOSITY  
IN HAPLOIDS OF SUGAR BEET *BETA VULGARIS* L.**

©*Левитес Е. В.*

канд. биол. наук

Федеральный исследовательский центр  
институт цитологии и генетики СО РАН  
г. Новосибирск, Россия, [elevites@ngs.ru](mailto:elevites@ngs.ru)

©*Levites E.*

Ph.D., IC&G SB RAS

Novosibirsk, Russia, [elevites@ngs.ru](mailto:elevites@ngs.ru)

©*Кирикович С. С.*

канд. биол. наук

Федеральный исследовательский центр  
институт цитологии и генетики СО РАН  
г. Новосибирск, Россия, [svetak@bionet.nsc.ru](mailto:svetak@bionet.nsc.ru)

©*Kirikovich S.*

Ph.D., IC&G SB RAS

Novosibirsk, Russia, [svetak@bionet.nsc.ru](mailto:svetak@bionet.nsc.ru)

*Аннотация.* В статье пересмотрен взгляд на природу полиморфизма, обнаруженного ранее в гаплоидных линиях–регенерантах сахарной свеклы. Наличие изоферментных спектров, сходных с гетерозиготными, в гаплоидных линиях–регенерантах приводит к выводу о том, что в этих линиях хромосомы являются политенными. Обсуждается влияние политении хромосом гамет на изменчивость потомства.

*Abstract* The view on the nature of the polymorphism found earlier in the haploid lines–regenerantes of sugar beet is revised in the article. The presence of isoenzyme spectra, similar to heterozygous ones, in haploid lines–regenerantes leads to the conclusion that chromosomes in these lines are polytene. The influence of gamete chromosomes polyteny on the variability of the progeny is discussed.

*Ключевые слова:* гаплоиды, удвоенные гаплоиды, гиногенез *in vitro*, изоферменты, эпигенетическая изменчивость, политения хромосом, сахарная свекла.

*Keywords:* haploids, doubled haploids, *in vitro* gynogenesis, isoenzymes, epigenetic variability, polyteny of chromosomes, sugar beet.

Ранее нами были опубликованы данные по анализу изменчивости экспрессии ферментных генов в линиях регенерантов сахарной свеклы гиногенетического происхождения [1, 2]. Выявленный в этих линиях полиморфизм ферментов был объяснен соматклональной изменчивостью, возникающей обычно при культивировании растений *in*

*in vitro*, и наличием миксоплоидии, возникающей за счет спонтанного перехода части клеток гаплоидного растения–регенеранта на более высокий уровень пloidности. Изменение экспрессии генов при переходе растения на другой уровень пloidности — хорошо известный факт [3, 4]. В наших исследованиях аналогичный вывод был сделан как при выявлении полиморфизма ферментов в семенных потомствах удвоенных гаплоидов сахарной свеклы, так и в культивируемых *in vitro* гаплоидах и удвоенных гаплоидах [1, 2]. Этот полиморфизм был выше, чем в исходном диплоидном сорте.

Использование изоферментов в качестве маркеров в изучении репродуктивной биологии растений и, в частности, при анализе агамоспермных потомств сахарной свеклы позволило выдвинуть гипотезу о том, что в изменчивости растений существенную роль может играть политения хромосом [5–7]. Этот вывод побудил нас к повторному рассмотрению характеристики гаплоидов, принимая во внимание существование такого явления как политения.

В рассматриваемой работе [2] были исследованы культивируемые *in vitro* гиногенетические линии, каждая из которых происходила из одной неоплодотворенной семязпочки донорного диплоидного растения сортов Янаш А3, Белоцерковская односемянная 40 (Бц40), Белорусская односемянная 69 (Бел 69) и Ганусовская односемянная 55 (Ган 55). Эти линии были созданы А. М. Свирцевской и Л. В. Милько (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси). Спецификой исследованных гиногенетических линий являлось то, что каждая из них была получена микроклональным размножением *in vitro* единичного гаплоидного растения–регенеранта, полученного из неоплодотворенной семязпочки донорного диплоидного растения по хорошо отработанной методике [8, 9]. Анализ уровня пloidности у культивируемых *in vitro* растений–регенерантов проводился либо методом световой микроскопии [10] путем подсчета числа хромосом в листьях на стадии метафазы, либо цитофотометрированием [8, 9].

Из исследованных в этих линиях ферментов приведем данные по алкогольдегидрогеназе (ADH1, E.C.1.1.1.1.), и изоцитратдегидрогеназе (IDH1, E.C.1.1.1.42.), которые, как показано было ранее [11], контролируются, соответственно, локусами *Adh1* и *Idh1*.

Исходные диплоидные сорта сахарной свеклы Янаш А3 и Бел 69 были мономорфны по алкогольдегидрогеназе (ADH1) и изоцитратдегидрогеназе (IDH1), а сорт Бц40 был мономорфен только по ADH1, но полиморфен по IDH1 [1, 2].

Результаты анализа фенотипов ферментов в линиях регенерантов представлены в Таблице.

Все исследованные линии регенерантов мономорфны по алкогольдегидрогеназе; они имеют одинаковый фенотип FF в виде однополосного спектра с быстрой электрофоретической подвижностью. В то же время по изоцитратдегидрогеназе (IDH1) в некоторых линиях был выявлен полиморфизм. Согласно традиционным представлениям гаплоидные линии регенерантов должны иметь максимально простой фенотип, напоминающий фенотип гомозигот. Однако выявленный в линиях полиморфизм указывает на наличие у них изменчивости, которая требует объяснений.

Изоферментный спектр IDH1 на первый взгляд сложен, т. к. каждый из FF и SS фенотипов представлен тремя изоферментами с той лишь разницей, что быстромигрирующая тройка изоферментов FF располагается на электрофореграмме ближе к аноду, чем тройка изоферментов у фенотипа SS. Выявленный у гаплоидных регенерантов фенотип FS представлен на электрофореграмме всеми изоферментами, характерными для FF и SS фенотипов, причем соотношение интенсивности изоферментов в таком спектре свидетельствует о взаимодействии продуктов аллельных генов *Idh1-F* и *Idh1-S*, т. е. свидетельствует о гетероаллельности регенерантов, аналогичной обычной гетерозиготности растений.

У некоторых регенерантов, отнесенных к группе FS фенотип был мозаичный (м). Такое обозначение мы давали тем растениям, у которых какой-либо лист проявлял фенотип FS, а другой лист проявлял гомозиготный фенотип. Это можно было рассматривать как результат замолкания одного из аллелей. Фенотипы FS с постоянным проявлением мы классифицировали как стабильный (с).

Таблица.

ЧАСТОТЫ ФЕНОТИПОВ ADH1 И IDH1 У РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ  
 САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ГИНОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ [2]

Название линии	Данные цитофотометрии* и цитоанализа**: (общее число клеток / из них гаплоидных клеток)	Фенотипы по ADH1	Фенотипы по IDH1		
		FF-FS-SS	FF	FS	SS
Бел 69-3(5)-10(1)	10/10**	14-0-0	0	(4с + 6м)	4
Бел 69-3(5)-10(4)	10/10**	---	0	0	8
Бел 69-3(7)	30/30**	3-0-0	14	0	0
		5-0-0	9	0	0
Бел 69-3(14)	4621/2060*	9-0-0	7	1	0
		8-0-0	8	0	0
Бел 69-3(15)	3123/1050*	7-0-0	0	0	7
		8-0-0	0	0	8
		6-0-0	0	0	8
Бел 69-3(16)	4895/2544*	13-0-0	14	0	0
		8-0-0	8	0	0
Ган 55-5(2)	3209/854*	9-0-0	0	0	10
		---	0	0	9
		---	0	0	8
Ган 55-7(2)	4805/1513*	13-0-0	0	0	13
		---	0	0	13
Ган 55-7(5)	10/10**	16-0-0	2	(6 с + 8 м)	1
		---	0	(2 с + 9 м)	1
Янаш 2(2)	4573/1660*	9-0-0	10	0	0
		15-0-0	13	3 м	0
Янаш 58(4)	4049/1971*	11-0-0	4	(2 с + 3 м)	0
		---	13	0	0
Бц 40 35/3PK2	10/0** удвоенный гаплоид	6-0-0	11	0	0
		—	5	5	3

Появление фенотипа FS у линий Бел 69–3(5)–10(1) и Ган 55–7(5) указывает на то, что в клетках данных регенерантов присутствует как минимум по две дозы гена *Idh1*, одна из которых представляет собой исходную копию, присущую неоплодотворенной яйцеклетке. Поскольку фенотип FS выявлен в линиях, которые при цитологическом анализе идентифицированы как чисто гаплоидные, то необходимо объяснить следующее противоречие: набор хромосом одинарный, а кодирующих аллелей локуса *Idh1* — два. Возможен следующий ответ: хромосома, несущая локус *Idh1* политенизирована, т. е. содержит увеличенное число хроматид, каждая из которых несет либо исходный аллель локуса *Idh1*, либо другой аллель, отличающийся от исходного.

Кроме того, наблюдается интересная тенденция: те линии, которые анализировали только цитологически, имели чисто гаплоидный геном, а те, которые анализировали цитофотометрически, имели как гаплоидные клетки, так и клетки с гораздо большим, чем у гаплоидов содержанием ДНК. Выявленные цитофотометрическим методом различия в содержании ДНК в клетках регенерантов с малой вероятностью характеризуют уровень пloidности этих клеток, поскольку клетки с разным уровнем пloidности у растущих в одинаковых условиях регенерантов могли бы быть выявлены и при цитологическом анализе. Однако поскольку при цитологическом анализе это не было обнаружено, логично сделать следующий вывод: различия в содержании ДНК в клетках регенерантов обусловлены различиями в степени политении хромосом у этих растений

Допущение политении хромосом в клетках исследуемых линий–регенерантов снимает все противоречия в интерпретации результатов электрофоретического (биохимического) и цитофотометрического анализов.

Возникает вопрос: каково происхождение второго аллеля в клетках растения–регенеранта, имеющего FS фенотип? Этот может быть аллель, находящийся на дополнительной хроматиде и претерпевший соматональные изменения в ходе культивирования *in vitro*.

Но можно также предположить, что этот аллель был привнесен в яйцеклетку материнской хромосомой, состоящей из двух хроматид, несущих разные аллели исходного материнского гетерозиготного растения. Присутствие двух разных аллелей в одной хромосоме может быть обусловлено политенией хромосом материнского растения и кроссинговером в момент первого мейотического деления. На возможность политенного состояния хромосом в гаметах указывают данные анализа изоферментных фенотипов в гибридах сахарной свеклы [6, 7, 12]. Сделанное в этих экспериментах предположение о политенном состоянии хромосом в гаметах было обусловлено отсутствием в некоторых гибридных семенах экспрессии одного из родительских аллелей изоферментного локуса, которое рассматривалось как следствие случайной диминуции из зиготы перед ее вступлением в эмбриогенез избыточных копий привнесенных аллелей.

На возможность политенного состояния хромосом в гаметах указывают данные по сопоставлению относительных размеров сливающихся при сингамии ядер у некоторых видов хвойных [13].

Подтверждением возможности политении в женских гаметах являются результаты анализа изоферментов у линий удвоенных гаплоидов сахарной свеклы [14, 15]. Авторы рассматривают выявленный полиморфизм ферментов у полученных из гаплоидов диплоидных линий как следствие эпигенетических изменений. Однако наряду с этим механизмом возможен и другой путь изменчивости. Выявленную в этой работе в одной из линий гетерозиготность по локусу *Adh1* можно объяснить, на наш взгляд, тем, что здесь может принимать участие политения хромосом. Такой вывод основывается на том, что аллели локуса *Adh1-F* и *Adh1-S* различаются заменой двух нуклеотидов, находящихся на некотором расстоянии друг от друга: между ними находится 81 нуклеотид [16]. Независимое

эпигенетическое изменение сразу двух нуклеотидов, приводящее к выявляемому полиморфизму, маловероятно. Поэтому можно с высокой вероятностью заключить, что гетерозиготность полученной этими авторами линии удвоенного гаплоида обусловлена перенесением в яйцеклетку материнской хромосомой сразу двух разных аллелей одного локуса, что в свою очередь возможно лишь при политении материнской хромосомы.

Полученные результаты указывают на то, что изменчивость, выявляемая в культивируемых *in vitro* гаплоидах, может являться следствием не только соматональной изменчивости, но и политении хромосом в гаметах исходного материнского растения. Учет этого явления может снять многие неясности в понимании изменчивости в образующихся потомствах.

#### Список литературы:

1. Kirikovich S. S., Svirshchevskaya A. M., Levites E. V. Variation at isozyme loci in seed offspring of sugar beet gynogenetic lines // *Sugar Tech.* 2003. V. 5. №4. P. 289-292.
2. Levites E. V., Svirshchevskaya A. M., Kirikovich S. S., Milko L. V. Variation at isozyme loci in cultured *in vitro* sugar beet regenerants of gynogenetic origin // *Sugar Tech.* 2005. V. 7. №1. P. 71-75.
3. Scheid O. M., Jakovleva L., Afsar K. et al. A change of ploidy can modify epigenetic silencing // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996. V. 93. P. 7114-7119.
4. Matzke M. A., Scheid O. M., Matzke A. J. M. Rapid structural and epigenetic changes in polyploidy and aneuploidy genomes // *BioEssay.* 1999. V. 21. P. 761-767.
5. 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.
6. Levites E. V. Marker enzyme phenotype ratios in agamospermous sugarbeet progenies as a demonstration of multidimensional encoding of inherited information in plants // 2007. Режим доступа: <http://arxiv.org/abs/q-bio/0701027>.
7. Левитес Е. В. Сахарная свекла как модельный объект при исследовании кодирования наследственной информации у растений // *Энциклопедия рода Beta*. Новосибирск: Изд-во Сова, 2010. С. 510-525.
8. Svirshchevskaya A. M., Dolezel J. Production and performance of gynogenetic sugar beet lines // *J. of Sugar beet Research.* 2000. V. 37. №4. P. 117-133.
9. Svirshchevskaya A. M., Dolezel J. Karyological characterization of sugar beet gynogenetic lines cultured *in vitro* // *J. Appl. Genet.* 2001. V. 42. №1. P. 21-32.
10. Бормотов В. Е., Загрекова Н. Н., Матросов Б. Ф. и др. // *Обзоры по цитогенетике полиплоидных форм сахарной свеклы*. Минск: Наука и техника, 1976. С. 62-68.
11. Levites E. V., Garifullina F. Sh. Use of isozymes as genetic markers for identification of sugar beet varieties // *Mater. of III Intern. Symp. ISTA. Leningrad*, 1988. P. 104-109.
12. Levites E. V., Kirikovich S. S. Zygotic combinatorial process in plants // *Advances in Bioscience and Biotechnology.* 2013. №4. P. 798-803.
13. Романовский М. Г. Политения и гистогенез у лесных растений. Москва-Тула.: Гриф и К, 2014. 123 с.
14. Федулова Т. П. Теоретические и практические аспекты молекулярно-генетического маркирования в селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris L.*): дис. ... д-ра биол. наук. Рамонь, 2005. 326 с.
15. Жужжалова Т. П., Подвигина О. А., Знаменская В. В. и др. Гаплоидный партеногенез *in vitro* у сахарной свеклы (*Beta vulgaris L.*): факторы и диагностические признаки // *Сельскохозяйственная биология.* 2016. Т. 51. №5. С. 636-644.



16. Виниченко Н. А., Головнина К. А., Блинов А. Г., Антонова О. О., Левитес Е. В. Молекулярные различия аллелей Adh1-F и Adh1-S у сахарной свеклы *Beta vulgaris* L. // Генетика. 2004. Т. 40. №2. С. 232-238.

*References:*

1. Kirikovich S. S., Svirshchevskaya, A. M., & Levites E. V. (2003). Variation at isozyme loci in seed offspring of sugar beet gynogenetic lines. *Sugar Tech.*, 5, (4), 289-292
2. Levites, E. V., Svirshchevskaya, A. M., Kirikovich, S. S., & Milko, L. V. (2005). Variation at isozyme loci in cultured in vitro sugar beet regenerants of gynogenetic origin. *Sugar Tech.*, 7, (1), 71-75
3. Scheid, O. M., Jakovleva, L., Afsar, K., & al. (1996). A change of ploidy can modify epigenetic silencing. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93, 7114-7119
4. Matzke, M. A., Scheid, O. M., & Matzke, A. J. M. (1999). Rapid structural and epigenetic changes in polyploidy and aneuploidy genomes. *BioEssay*, 21, 761-767
5. Levites, E. V. (2005). Sugarbeet plants produced by agamospermy as a model for studying genome structure and function in higher plants. *Sugar Tech.*, 7, (2&3), 67-70
6. Levites, E. V. (2007). Marker enzyme phenotype ratios in agamospermous sugarbeet progenies as a demonstration of multidimensional encoding of inherited information in plants. Available at: <http://arxiv.org/abs/q-bio/0701027>
7. Levites, E. V. (2010). Sugar beet as a model object in the investigation of plant inherited information coding. *Encyclopedia of genus Beta. Beet biology, genetics and breeding. (Col. of sci. papers).* Novosibirsk, Sova, 302-317
8. Svirshchevskaya, A. M., & Dolezel, J. (2000). Production and performance of gynogenetic sugar beet lines. *J. of Sugar beet Research*, 37, (4), 117-133
9. Svirshchevskaya, A. M., & Dolezel, J. (2001). Karyological characterization of sugar beet gynogenetic lines cultured in vitro. *J. Appl. Genet.*, 42, (1), 21-32
10. Bormotov, V. E., Zagrekova, N. N., Matrosov, B. F. & al. (1976). Reviews of the cytogenetics of polyploid forms of sugar beet. Minsk, Science and Technology, 62-68
11. Levites, E. V., & Garifullina, F. Sh. (1988). Use of isozymes as genetic markers for identification of sugar beet varieties. *Mater. of III Intern. Symp. ISTA, Leningrad*, 104-109
12. Levites, E. V., & Kirikovich, S. S. (2013). Zygotic combinatorial process in plants. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, (4), 798-803
13. Romanowsky, M. G. (2014). *Polytene and Hystogenesis in forest plants.* Moscow-Tula, Grif & Co, 123
14. Fedulova, T. P. (2005). Theoretical and practical aspects of molecular-genetic marking in the selection of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Doct. Dis. Ramon*, 326
15. Zhuzhzhhalova, T. P., Podvigina, O. A., Znamenskaya, V. V., & al. (2016). Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) haploid parthenogenesis in vitro: factors and diagnostic characters. *Selskohozyaistvennaya biologiya*, 51, (5), 636-644
16. Vinichenko, N. A., Golovnina, K. A., Blinov, A. G., Antonova, O. O., & Levites, E. V. (2004). Molecular differences of Adh1-F and Adh1-S alleles in sugar beet *Beta vulgaris* L. *Genetics*, 40, (2), 232-238

Работа поступила  
в редакцию 14.04.2017 г.

Принята к публикации  
18.04.2017 г.

*Ссылка для цитирования:*

Левитес Е. В., Кирикович С. С. Гетероаллельность вместо гетерозиготности у гаплоидов сахарной свеклы *Beta vulgaris* L. // Бюллетень науки и практики. Электрон. журн. 2017. №5 (18). С. 32-38. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/levites> (дата обращения 15.05.2017).

*Cite as (APA):*

Levites, E., & Kirikovich, S. (2017). The heteroallicity instead of heterozygosity in haploids of sugar beet *Beta vulgaris* L. *Bulletin of Science and Practice*, (5), 32-38