

STANISŁAWA M. ROGALSKA, MAGDALENA ACHREM, ANNA KALINKA

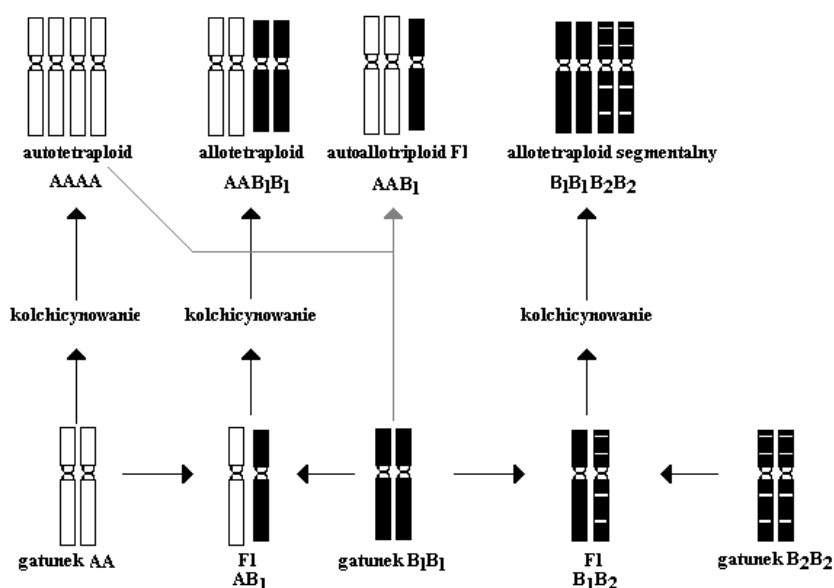
*Katedra Biologii Komórki
Wydział Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Szczeciński
Wąska 13, 71-415 Szczecin
E-mail: strog@univ.szczecin.pl
biolmagda@poczta.onet.pl
akali@op.pl*

MECHANIZMY ZMIAN GENOMOWYCH I ZMIAN W EKSPRESJI GENÓW W MIESZAŃCOWYCH POLIPLOIDACH ROŚLIN

POLIPLOIDY I ICH FORMY

Termin poliploidy został wprowadzony przez WINKLERA (1916), który mianem tym określił organizmy posiadające w komórkach somatycznych więcej niż dwa genomy. Wyróżnia się dwa podstawowe procesy prowadzące do powstania i ustalenia poliploidów. Pierwszym z nich są zaburzenia przebiegu mitozy w komórce merystematycznej we wczesnej fazie rozwoju rośliny, drugi to zaburzenia w procesie mejozy (Ryc. 1). Poliploidalność, jako rodzaj mutacji liczby chromosomów (mutacji genomowej), zdecydowanie łatwiej się ustala u gatunków wieloletnich niż jednorocznych, szczególnie tych, które rozmnażają się wegetatywnie lub przez samozapylenie (ROGALSKA 2005a). Historycznie WINGE (1917) jako pierwszy zwrócił uwagę na ważność poliploidy w ewolucji roślin okrytozależnych. Poliploidy stanowią około 70% roślin okrytozależnych (MASTERTON 1994) i 95% paprotników (GRANT 1981). U jednoliściennych ich udział wynosi około 50%, natomiast spośród roślin dwuliściennych około 30% to poliploidy. Analiza sekwencji nukleotydowych DNA najlepiej obecnie poznanych roślin, jak *Arabidopsis* i *Oryza* wykazała, że rośliny te, dotychczas uważane za diploidy, są paleoploidami, czyli starymi

ewolucyjnie poliploidami, których przodków nie można zidentyfikować. Zatem istnieje prawdopodobieństwo, że więcej gatunków uważanych za diploidy powstało drogą poliploidy. Poliploidalny organizm ma zwiększoną dawkę genów i większe możliwości dostosowania się do ciągle zmieniających się warunków środowiska. Z tego względu, poliploidy są bardziej ekspansywne i charakterystyczne dla flor młodych, kolonizujących nowo dostępne tereny (ADAMS i WENDEL 2005). Wyróżnia się cztery podstawowe typy poliploidów: autopoliploidy, allopoliploidy, autoallopoliploidy i allopoliploidy segmentalne (Ryc. 1). Wśród znaczących gospodarczo roślin uprawnych wyróżniają się alopoliploidy; należy tu wymienić pszenicę, bawełnę, tytoń czy rośliny z rodziny krzyżowych. Są one efektem krzyżowania oddalonego (międzygatunkowego) oraz podwojenia liczby chromosomów w genomach rodzicielskich. Kolejnym, jako skutek, następuje proces „diploidy” prowadzący do stabilizacji genetycznej, cytogenetycznej i fenotypowej mieszańców. Podsumowując, można powiedzieć, że mutacje i krzyżowanie roślin są procesami pierwszoplanowymi w ich ewolucji.



Ryc. 1. Schemat powstawania różnych typów poliploidów.

Autopoliploidy to organizmy, u których w komórkach somatycznych ten sam haploidalny zespół chromosomów jest reprezentowany więcej niż dwa razy. Allopoliploidy to inaczej poliploidy mieszańcowe, u których w komórkach somatycznych znajdują się genomy pochodzące z różnych gatunków, każdy w podwójnej dawce. Autoallopoliploidy są to allopoliploidy, u których niektóre genomy są zwielokrotnione (np. AAAABB). Allopoliploidy segmentalne charakteryzują się obecnością homologicznych odcinków w chromosomach należących do różnych genomów (ROGALSKA 2005a).

WSPÓŁZAWODNICTWO RÓŻNYCH GENOMÓW W JĄDRZE KOMÓRKOWYM MIESZAŃCÓW I ELIMINACJA CAŁYCH GENOMÓW

Wzorując się na naturze, wielu hodowców indukuje sztuczne mieszańce i allopoliploidy, czego dobrym przykładem jest pszenżyto – triticales (*X Triticosecale* Witt.) lub mieszańce z rodzaju *Brassica*.

Indukuje się nie tylko allopoliploidy, ale za pomocą nieco innego rodzaju hybrydyzacji międzygatunkowej możliwe jest uzyskanie roślin haploidalnych. Najlepiej poznane jest krzyżowanie uprawnego jęczmienia *Hordeum vulgare* z dzikim gatunkiem *H. bulbosum*. W jądrze komórkowym zygoty F1 następuje konflikt genomowy. Jest on rozwiązany poprzez natychmiastową eliminację całego genomu *H. bulbosum* w czasie pierwszych podziałów komórek zarodka. W jądrach komórkowych pozostają tylko chromosomy *H. vulgare*. Po izolacji zarodka i wyłożeniu go na pożywkę otrzymuje się siewki, które poddaje się działaniu kolchicyny. W efekcie tych działań otrzymuje się podwójne haploidy (CHAPMAN i MILLER 1977, KASHA i REINBERGS 1981). Obserwacja chromosomów *H. bulbosum* wykazała, że w porównaniu z chromosomami *H. vulgare* mają one mniejsze centro-

mery i są ulokowane na peryferiach płytek metafazowych. Prawdopodobnie w genomie *H. bulbosum* został zmieniony wzór metylacji DNA. Stwierdzono także, że szybkość eliminacji była genotypowo-zależna. Podobny scenariusz można zaobserwować w innych krzyżówkach np. pszenica x kukurydza (PASAKINSKIENE i JONES 2003), triticales x kukurydza (ROGALSKA i MIKULSKI 1996) oraz *Nicotiana tabacum* x *Nicotiana africana* (BURK i współaut. 1979). Eliminacja całych genomów z zarodków mieszańcowych jest radykalnym rozwiązaniem konfliktowej sytuacji spowodowanej ulokowaniem różnych genomów w jednym jądrze komórkowym. U ziemniaka taki mechanizm nastąpił podczas introgresji genu „induktora”. Po skrzyżowaniu *Solanum tuberosum* z *S. phureja* otrzymano mieszańce, u których segment *S. phureja* był translokowany do genomu *S. tuberosum*. Miało to miejsce najprawdopodobniej w czasie wczesnych podziałów zarodkowych na skutek somatycznej translokacji. W wyniku konfliktu genomowego został wyeliminowany genom *S. phureja*. W efekcie, pozostał genom

S. tuberosum zawierający segment *S. phureja* z genem induktora (PASAKINSKIENE i JONES 2003). Innym przykładem całkowitej eliminacji jednego z genomów rodzicielskich z mieszańców jest krzyżowanie pszenicy (*Triticum aestivum*) z prosem (*Pennisetum glaucum*) (GERNAND i współaut. 2005). W mieszańcach pszenica x proso wszystkie chromosomy prosa były eliminowane losowo w okresie od 6 do 23 dni po zapyleniu. W jądrach komórek mieszańców genomy rodzicielskie były

oddzielone, a chromosomy prosa zajmowały obszary peryferyjne, podobnie jak w wyżej wymienionym przypadku chromosomów *H. bulbosum*. Obserwowano zjawisko „wypychania” chromatyny prosa z jądra w czasie interfazy oraz pomitotyczne formowanie mikrojąder. Struktura chromatyny tych mikrojąder była różna, obserwowano jej heterochromatyzację, fragmentację DNA, co stanowiło ostatni etap w haploidytacji pszenicy.

ELIMINACJA SEKWENCJI NUKLEOTYDOWYCH DNA W PIERWSZYCH POKOLENIACH POLIPLOIDÓW MIESZAŃCOWYCH I DIPLOIDYZACJA GENETYCZNA

Mieszańcowy organizm poliploidalny staje w obliczu problemu dotyczącego obecności dwóch zestawów homeologicznych chromosomów (pochodzących z różnych gatunków rodzicielskich) wystarczająco podobnych do siebie, aby tworzyć pary w mejozie i zakłócić prawidłowe parowanie homologów. W tym wypadku proces diploidytacji u allopoliploidów polegałby na dążeniu do zwiększenia różnic pomiędzy homeologicznymi chromosomami, ułatwiając prawidłową koniugację homologom (FELDMAN i współaut. 1997, WENDEL 2000).

Badania przeprowadzone przez SHAKEDA i współaut. (2001) oraz OZKANA i współaut. (2001) ukazały, że główną i bezpośrednią reakcją na allopoliploidyzację jest eliminacja sekwencji nukleotydowych, mogąca obejmować do 15% loci.

Według FELDMANA i współaut. (1997) występują cztery rodzaje sekwencji nukleotydowych DNA: niespecyficzne, obecne we wszystkich chromosomach; sekwencje występujące w homeologach, kodujące, grupowo-specyficzne; genomowo-specyficzne; chromosomowo-specyficzne. OZKAN i współaut. (2001) krzyżowali różne gatunki *Aegilops* z *Triticum*. W roślinach pokolenia F1 i allopoliploidach stwierdzano eliminację różnych typów sekwencji nukleotydowych DNA występujących w niewielkiej liczbie kopii. Sekwencje te były obecne we wszystkich diploidalnych gatunkach pszenicy, natomiast w mieszańcowych poliploidach występowały w jednym genomie, jako sekwencje chromosomowo-specyficzne albo genomowo-specyficzne. Natomiast SHAKED i współaut. (2001) analizowali za pomocą metod AFLP (ang. amplified fragment length polymorphism) i MSAP (ang. methylation sensitive amplifica-

tion polymorphism) dużą liczbę loci w rodzicielskich, diploidalnych gatunkach z rodzajów *Aegilops* i *Triticum*, w mieszańcach F1 i uzyskanych z nich allotetraploidach. W wyniku tych badań wykazano, że eliminacja sekwencji nukleotydowych była powszechną i natychmiastową reakcją na allopoliploidyzację. Często była to eliminacja nielosowa, preferencyjna, dotycząca jednego z genomów rodzicielskich. OZKAN i współaut. (2001) bardziej szczegółowo przebadali formy rodzicielskie i czas, w którym następowały zmiany genomowe. Uzyskane dane sugerują, że eliminacja różnych sekwencji nukleotydowych DNA z genomów rodzicielskich w pierwszym pokoleniu allopoliploidów ma bezpośredni wpływ na wzrost różnic pomiędzy chromosomami homeologicznymi.

Hipoteza FELDMANA i współaut. (1997) głosząca, że nielosowa eliminacja sekwencji nukleotydowych DNA prowadzi do diploidytacji jest bardzo atrakcyjna i wydaje się pasować do danych uzyskanych z badań nad allopoliploidami pszenica x kozińce (OZKAN i współaut. 2001, SHAKED i współaut. 2001). Znajduje również poparcie w wynikach badań prowadzonych nad allopoloidalnymi gatunkami *Brassica* (SONG i współaut. 1995). FELDMAN (1993) postuluje, że mechanizm diploidytacji działa niezależnie od drugiego, dobrze znanego mechanizmu związanego z locus *Ph1*, które kontroluje parowanie homologiczne u pszenicy. Aktywność locus *Ph1* hamuje parowanie homeologiczne u poliploidalnej pszenicy, podczas gdy mutanty *ph1* charakteryzują się wysokim poziomem homeologicznej rekombinacji (LUO i współaut. 1996). Formy roślinne badane przez wyżej wymienionych autorów były otrzymane przez kolchicynowanie mieszańców F1, czy

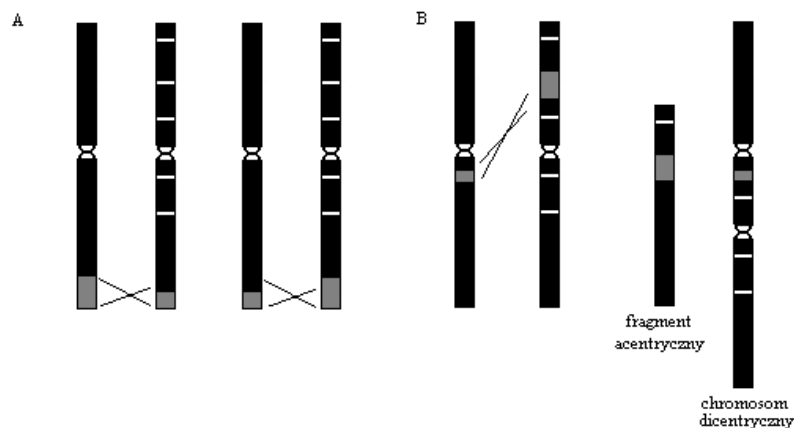
jednak te same zdarzenia genomowe dotyczące form sztucznych zachodzą w allopoliploidach spontanicznych? OZKAN i współaut. (2001) badali szereg mieszańcowych poliploidów powstałych spontanicznie. Nie stwierdzili istotnych różnic we wzorze eliminowanych sekwencji u tych roślin w porównaniu z mieszańcami sztucznymi. Co więcej, wzór eliminacji sekwencji DNA u sztucznych form był podobny do wzoru eliminacji sekwencji u allopoliploidów powstałych spontanicznie. Jest interesujące, że wzory eliminowanych sekwencji u sztucznych allopoliploidów były zróżnicowane i nie miały genomowej modyfikacji analogicznej do żadnego alloploida spontanicznego. Sekwencje nukleotydowe były także eliminowane w amfiploidach pszenicy i żyta. Eliminacja dotyczyła przede wszystkim sekwencji żytnich, w tym głównie sekwencji wysoce powtarzalnych (MA i współaut. 2004, SALINA i współaut. 2004, ROGALSKA 2005b). Analiza genomu alloploidów *Triticum-Aegilops* wykazała dość istotną redukcję wielkości genomów w porównaniu z genomami rodzicielskimi, chociaż nie zidentyfikowano specyficznych sekwencji ulegających eliminacji (OZKAN i współaut. 2003). Przypuszczalnie w następstwie allopoliploidyzacji,

pewne genomowo-specyficzne sekwencje nukleotydowe stają się ekstremalnie labilne i mogą ulegać stopniowej lub gwałtownej eliminacji. W konsekwencji może dochodzić do zmniejszenia różnic lub zniesienia rozbieżności między genomami rodzicielskimi w mieszańcowych poliploidach. Na podstawie tych danych można domniemywać, że eliminacja sekwencji nukleotydowych DNA może być częścią mechanizmu stabilizującego genomu allopoliploidalne (FELDMAN i LEVY 2005). Nie u wszystkich jednak poliploidów mieszańcowych występuje eliminacja sekwencji nukleotydowych DNA. Przykładem są sztuczne alloplidy bawełny (LIU i współaut. 2001). Badania 22 tysięcy loci za pomocą AFLP i MSAP nie wykazały zmian wyrażających się eliminacją lub zmianą wzoru metylacji w odniesieniu do gatunków rodzicielskich. Natomiast badania innych sztucznych lub naturalnych alloploidów takich jak *Brassica* (OSBORN i współaut. 2003a, OSBORN 2004), *Arabidopsis* (MADLUNG i współaut. 2005) i *Nicotiana* (LIM i współaut. 2004) wskazują, że głównym czynnikiem wpływającym na przemiany genomu allopoliploidów jest rekombinacja homeologiczna.

ZJAWISKO HOMEOLOGICZNEJ REKOMBINACJI U MIESZAŃCÓW

Rekombinacja homeologiczna jest zazwyczaj bardzo niekorzystna. Jeżeli zachodzi pomiędzy obszarami zajmowanymi przez sekwencje powtarzalne może destabilizować genom. Pojawiają się bowiem delecje i reorganizacja struktury chromosomów (inwersje, translokacje, duplikacje), powodując zakłócenia mejozy (Ryc. 2). Często także z powodu braku naprawy błędnie włączonych nukleotydów w czasie replikacji DNA dochodzi do wzrostu częstotliwości mutacji i niehomeologicznej rekombinacji. Jeśli taka rekombinacja ma miejsce w komórkach nowo powstałego alloploida, a jej częstość jest stosunkowo wysoka, to prowadzi do rearanżacji genomu. U alloploidów ustabilizowanych rekombinacja homeologiczna jest rzadka. Przykładem genomowej niestabilności alloploidów, do której przyczynia się niesprawny mechanizm naprawczy błędnie włączonych nukleotydów są sztuczne alloplidy *Brassica*. Jako główny powód tych zmian podaje się homeologiczną rekombinację (SONG i współaut. 1995). Trzy gatunki diploidalne z genomami AA, BB i CC były ze sobą krzyżowane w kombi-

nacjach zwrotnych. Przeprowadzona analiza RFLP (ang. restriction fragment length polymorphism) wykazała, że u kilku mieszańców allotetraploidalnych AB sonda hybrydizowała do nowego, mniejszego niż oczekiwano fragmentu restrykcyjnego. Ten nowy prążek RFLP nie występował w rodzicielskich genomach A i B, a co dziwne, obecny był w genomie C. Ten niezwykle przypadek można zinterpretować zakładając, że przodek *Brassica* miał proste powtórki w tym obszarze genomu. Po wyłonieniu się gatunku z genomem C zdarzenie rekombinacyjne pomiędzy powtórkami spowodowało delecję leżącego między nimi fragmentu DNA. Zdarzenie takie nie wystąpiło w genomie B, który zatrzymał ten wewnętrzny segment. W kombinacji genomowej AB nastąpiło obniżenie funkcji naprawczej błędnie włączonych nukleotydów. Upodobniło to ten obszar genomów A i B w takim stopniu, że możliwa była rekombinacja homeologiczna pomiędzy powtórzeniami, powodując delecję i stworzenie specyficznego dla genomu C prążka RFLP.



Ryc. 2. Niesymetryczna rekombinacja pomiędzy chromosomami homeologicznymi może prowadzić np. do A – translokacji wzajemnej odcinków terminalnych lub do B – powstania chromosomu dicentrycznego i fragmentu acentrycznego.

Postępujące zróżnicowanie genomów rodzicielskich może zapobiegać homeologicznemu parowaniu i rekombinacji. Zróżnicowanie to sprawia, że mejoza przebiega tak jak w organizmie diploidalnym. Dodatkowo specjalne geny, jak np. *PrBn* u *Brassica napus* (JENCZEWSKI i współaut. 2003) czy gen *Ph1* w pszenicy hamują homeologiczną koniugację chromosomów. Na temat mechanizmu działania genu *Ph1* jest kilka koncepcji. Jedna z nich (MOORE 1998) głosi, że gen *Ph1* koduje lokalnego edytora, który kontroluje każdy segment DNA partnerów do koniugacji, pozwalając na rekombinację wtedy, gdy znajdzie wystarczającą liczbę podobieństw sekwencyjnych. Według innej hipotezy gen *Ph1* mógłby kontrolować ruchy chromosomów lub ich kondensację, a rozpoznanie mogłoby się odbywać nie tylko na podstawie sekwencji ale innych cech chromosomów (ARAGON-ALCAIDE i współaut. 1997, VEGA i FELDMAN 1998a, b).

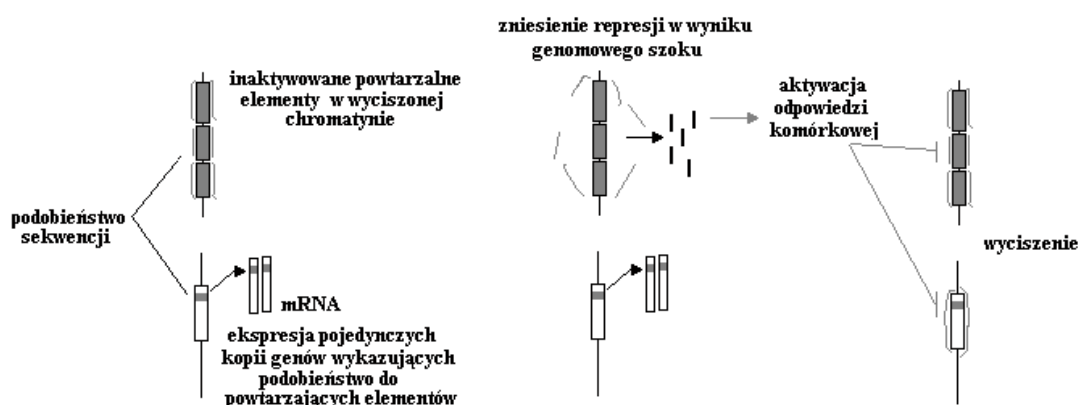
Wiele zmian genomowych obserwowanych u allotetraploidów *Brassica* było spo-

wodowanych translokacjami oraz transpozycją pomiędzy chromosomami homeologicznymi (OSBORN i współaut. 2003a, b; UDALL i współaut. 2005). Interesujące jest to, że zmiany strukturalne nie były widoczne we wczesnych pokoleniach samozapylanych roślin. Dopiero w okresie od S3 do S6 (S-samozapylenie) wystąpiły masowe rearanżacje genomowe powodujące redukcję płodności roślin i zmiany w czasie kwitnienia *Brassica*. Podobne zmiany obserwowano w spontanicznych alloplodach *Brassica*. W sztucznych alloplodach *Arabidopsis* występowały gwałtowne zmiany strukturalne, w niektórych specyficznych obszarach genomu, takich jak np. loci rDNA. Obserwowano zróżnicowany poziom zmian genomowych w różnych formach allotetraploidów, co może być spowodowane selekcją najlepiej dopasowanych form, które przezwyciężyły mejozyczne nieregularności i bariery niezgodności genomowej (CHEN i NI 2006).

ZMIANY AKTYWNOŚCI GENÓW W ALLOPOLIPLDACH

Nadmiar informacji genetycznej w alloplodach implikuje wyłączenie zduplikowanych loci bez funkcji użytecznych. W tych rozważaniach posłużono się dwoma terminami – inaktywacją genów i wyciszeniem genów w odmiennym znaczeniu. Inaktywacja genów jest to utrata funkcji genu na skutek zmian genetycznych, natomiast wyciszenie genów jest to utrata funkcji genu na skutek zmian epigenetycznych (Ryc. 3). Zmiany rodzicielskiej regulacji genów w mieszańcach międzygatunkowych po raz pierwszy zasugerowali NAVASHIN (1934) i MCCLINTOCK (1934), w zjawisku znanym

jako dominacja jąderkowa. Dominacja jąderkowa dotyczy selektywnego wyciszenia jednego z rodzicielskich loci rRNA u mieszańców międzygatunkowych lub alloplodów (PIKAARD 2000). W celu wyjaśnienia tego zjawiska zaproponowano model „enhancer-imbals” (brak równowagi aktywatorowej) (REEDER 1985). Zakłada on, że aktywne geny rRNA to te, które mają większą liczbę i silniejsze aktywatory (enhancer-y). Geny aktywne zwyciężają we współzawodnictwie o ograniczone, gatunkowo-specyficzne czynniki transkrypcyjne z genami mającymi mniejszą liczbę i słabsze aktywa-



Ryc. 3. Model wyciszania genów przez aktywowane powtórki heterochromatyny.

Sekwencje powtarzalne w heterochromatynie są wyciszone, a geny zawierające podobne powtórki ulegają ekspresji. Środowisko mieszańcowe stanowi genomowy szok, w wyniku którego zostaje zniesiona represja ekspresji powtarzalnych elementów w heterochromatynie. Jeśli sytuacja ta dotyczy elementów ruchomych dochodzić może do ich przemieszczania. Ekspresja sekwencji heterochromatynowych wywołuje odpowiedź komórkową, która prowadzi do wyciszenia sekwencji powtarzalnych, w tym także genów, w których znajdują się podobne powtórki (wg COMAI 2000).

tory, które tym samym pozostają nieaktywne. Zgodnie z tym modelem u heksaploidalnej pszenicy geny dominujące mają dłuższe przestrzenie rozdzielające (domniemane enhancery) niż geny nieaktywne (FLAVELL 1986). Natomiast w allotetraploidach *Arabidopsis* i *Brassica* zróżnicowana ekspresja genów rRNA nie jest związana z aktywatorem albo z dostępnością gatunkowo specyficznych czynników transkrypcyjnych (CHEN i współaut. 1998, FRIEMAN i współaut. 1999). Wyciszone geny rRNA u tych form były reaktywowane przez chemiczne inhibitory metylacji DNA i/lub deacetylacji histonów. Sugerowało to, że były one wyciszone przez modyfikację DNA i histonów, która to modyfikacja jest związana przede wszystkim z nieaktywną strukturą chromosomów (CHEN i PIKAARD 1997a, b).

Zmiany aktywności niektórych genów badano u sztucznych i spontanicznych allotetraploidów *Arabidopsis*, bawełny i pszenicy (COMAI 2000, LEE i CHEN 2001, KASHKUSH i współaut. 2003, HE i współaut. 2003, ADAMS 2004 i współaut.). W alloplodach spontanicznych *Arabidopsis suecica*, które są mieszańcami *A. thaliana* i *A. arenosa*, około 2,5% genów wykazuje odmienną ekspresję w porównaniu z genami rodzicielskimi. Wykazano, że poziom zróżnicowanej ekspresji genów był wyższy u sztucznych allopliploidów niż u allopliploidów spontanicznych. Zmiany w ekspre-

sji genów mogą pojawiać się bezpośrednio po powstaniu allopliploida lub stochastycznie, w potomstwie samozapyłanym (CHEN i współaut. 1998, WANG i współaut. 2004). Dla takich genów jak np. rRNA potrzeba 1-2 pokoleń do ustalenia ekspresji (aktywności lub wyciszenia), a dla innych genów nawet pięciu pokoleń. Ponadto poziom ekspresji niektórych genów jest bardzo zmienny, nawet pomiędzy członkami rodziny genowej. Być może przyczynia się to do adaptacji i ustalenia zbalansowanej populacji alloploidalnej.

Istnieją też dane, które udowadniają, że geny zduplikowane lub homeologiczne mogą zmieniać swoją ekspresję w różnych organach czy tkankach w ramach odpowiedzi na zaprogramowane procesy rozwojowe. Przykładowo, wykryto, że wyciszone geny rRNA są reaktywowane w organach kwiatowych, co sugeruje wpływ czynników rozwojowych, a jest sprzeczne z postulatem, że reaktywacja następuje po rozdeleniu represorów w mejozie (MCCLINTOCK 1934, CHEN i PIKAARD 1997b). U allotetraploidów bawełny prawie wszystkie geny homeologiczne o niejednakowej ekspresji, wykazują wzór ekspresji specyficzny dla różnych organów (ADAMS i współaut. 2003). Wzór ten jest genotypowo-zależny i występuje zarówno w sztucznych, jak i spontanicznych allotetraploidach bawełny (ADAMS i współaut. 2004).

ZMIANY WZORU EKSPRESJI GENÓW

Występujące po allopoliploidyzacji różnice ekspresji genów ortologicznych stanowią niezwykle bogate źródło zmienności genetycznej i dywersyfikacji genotypowej. W połączeniu z naturalną selekcją wpływa to na ewolucję poliploidów (CHEN i NI 2006). W ostatnich badaniach nad allotetraploidami rzodkiewnika (*Arabidopsis*) (WANG i współaut. 2006) i jego formami rodzicielskimi wykazano, że ponad 15% transkryptomu wykazywało zróżnicowaną ekspresję pomiędzy roślinami potomnymi, z czego 8% i 7% genów było wysoce aktywnych, odpowiednio w genomach pochodzących z *A. thaliana* i *A. arenosa*. Prawdopodobnie jest to wynikiem zmian w regulacji „gatunkowo-specyficznej”. W allopoliploidach sztucznych ponad 5% genów wykazywało nieaddytywną, odmienną ekspresję od średniej rodziców. Z tego około 68% to geny specyficzne gatunkowo, z czego można wnosić, że dywergencja transkryptomu jest efektem reprogramowania w czasie formowania allopoliploida (COMAI 2000, PIKAARD 2000). Co zadziwia, to fakt, że w syntetycznych allopoliploidach następowała zmiana w ekspresji genu *HSP90* i innych genów *HSP*, która może stanowić pojemność buforową dla ewolucji morfologicznej. Ponadto, geny zaangażowane w regulację hormonalną jak np. kodujące szlak syntezy etylenu podlegają skoordynowanej ekspresji w syntetycznych allopoliploidach sugerując istnienie szerokiego zakresu genomowej modulacji szlaków regulacyjnych (CHEN i NI 2006). Badania prowadzone przez BIRCHLERA (2001) nad autotetraploidami *Arabidopsis* wykazały, że po allopoliploidyzacji przeważają mechanizmy regulacyjne zależne od dawki genomu. W innych opracowaniach (HEGARTY i współaut. 2005) stwierdzono wyraźne różnice w ekspresji

genu kwiatowego pomiędzy alloheksploidalnym mieszańcem *Senecio cambrensis*, jego formami rodzicielskimi *S. squalidus* (2x) i *S. vulgaris* (4x) oraz w sterylnym triploidzie *Senecio x baxteri*. Zatem za reprogramowanie genomowej siatki regulacyjnej w mieszańcach międzygatunkowych i allotetraploidach odpowiada raczej dywergencja transkryptomu, pojawiająca się w genomach obu gatunkach, niż proste zdublowanie chromosomów. Nieaddytywna regulacja genów wydaje się być procesem, który nie tylko reprogramuje różnicowość genomów pomiędzy potomstwem krzyżówek międzygatunkowych, ale też wpływa na zróżnicowaną ekspresję genów, tak jak w aneuploidach kukurydzy (BIRCHLER i NEWTON 1981) i tetraploidach *Chenopodium* (WILSON i współaut. 1983). Nieaddytywną ekspresję wielu genów wykryto w diploidalnych i w triploidalnych mieszańcach kukurydzy. Stwierdzono także, że zakres zmienności ekspresji genów wśród mieszańców międzygatunkowych, wewnątrzgatunkowych i między liniami wsobnymi przekracza zakres zmienności ekspresji pomiędzy formami wyjściowymi (BIRCHLER i współaut. 2003). Ponadto, zmiany ekspresji genów w allotetraploidach i mieszańcach inbredowych (pomiędzy liniami wsobnymi) mają charakter heterozyjny, a interakcje międzygenomowe pomiędzy allelami lub genami zależą od odległości genetycznych lub poziomów dywergencji sekwencji DNA pomiędzy gatunkami (WANG i współaut. 2006). Te dane mogą rzucić światło na relacje pomiędzy heterozją a ewolucyjnym sukcesem allopoliploidów. W istocie, allopoliploidyzacja umożliwia długotrwałe ustabilizowanie wigoru mieszańcowego – heterozji w mieszańcach (RAMSEY i SCHEMSKE 1998, BIRCHLER i współaut. 2003).

REGULACJA TRANSKRYPCYJNA

U sztucznych allopoliploidów najbardziej drastycznym symptomem niestabilności genomowej i zmian w regulacji genów są sterylność i letalność. Większość mieszańców wykazuje zaburzenia rozwojowe, zredukowaną przeżywalność gametofitów, trudności w zapłodnieniu, wysoką letalność zygot, zwykle w czasie rozwoju embrionalnego i w stadium siewek (MARUBASHI i współaut. 1999). Znacznie mniej poznany jest wpływ allopoloidalno-

ści na regulację aktywności genów. Można domniemywać, że może być on znaczny, ze względu na to, że niezgodność międzygenomowa jest bardziej destrukcyjna niż zmiany powodowane przez dodatkową kopię tego samego genomu, jak to ma miejsce u auto-poliploidów (SCOTT i współaut. 1998). U allopoliploidów zmiany w ekspresji dotyczyły represji genów (lub wyciszenia, które jest ekstremalną formą represji), dominacji genetycznej,

subaktywacji i nowej aktywacji genów (CHEN i NI 2006). Niektóre z tych zmian mogą być przypisane zmianom w sekwencji DNA, u podstawy których leżą delecje lub aberracje chromosomowe, a inne mogą być spowodowane zmianami na poziomie transkrypcyjnym i potranskrypcyjnym. Ustalono wzory ekspresji są utrzymywane przez modyfikacje chromatyny i metylację DNA (MARTIENSSEN i COLOT 2001). Geny mogą też być inaktywowane na skutek mutacji. Wyniki uzyskane z badań nad allopoliploidami sugerują, że inaktywacja genów powodowana mutacją genu jest stosunkowo rzadka. Zarówno formy wyjściowe, jak i allopoloidy wykazują tę samą częstotliwość mutacyjną, inaktywującą nadmiar genów. Nie wszystkie mutacje można wykryć na poziomie transkrypcji. Chociażby mutacje zmiany sensu nie zmieniają transkrypcji zmutowanego genu, czy też powstawanie epialeli nie jest wynikiem zmian mutacyjnych w sekwencji nukleotydowej genu (SONG i OSBORN

1994, JACOBSEN i MEYEROWITZ 1997, CRONN i współaut. 1999).

Poznanym niedawno mechanizmem regulacji genów jest RNAi – interferencyjny RNA. Krótkie antysensowe RNA są wytwarzane w wyniku cięcia dwuniciowego prekursora dsRNA do docelowego RNA przeznaczonego do degradacji. W efekcie siRNA – krótkie interferencyjne RNA i miRNA – mikro RNA, są negatywnymi regulatorami akumulacji transkryptów. Oba rodzaje kwasów rybonukleinowych mają różne pochodzenie i sposób działania (BARTEL i BARTEL 2003). siRNA powstaje głównie z transpozonów, powtórek heterochromatynowych i sekwencji wiralnych, a działa jako negatywny regulator lub modulator chromatynowy. Natomiast miRNA jest kodowany w obszarach międzygenowych i reguluje inne geny, ważne w rozwoju zwierząt i roślin (KASHKUSH i współaut. 2003, LAWRENCE i PIKAARD 2003, YAMADA i współaut. 2003, ALLEN i współaut. 2005, CHEN i NI 2006).

ZMIANY EPIGENETYCZNE W ALLOPOLIPLLOIDACH

METYLACJA DNA I CHEMICZNA MODYFIKACJA HISTONÓW

Epigenetyka zajmuje się dziedzicznymi zmianami w ekspresji genów, które nie są wywołane zmianami w sekwencji nukleotydowej, ale powodują zmiany fenotypowe i wpływają na ewolucję organizmów (LIU i WENDEL 2003). Zmiany epigenetyczne mogą być spowodowane kowalencyjnymi modyfikacjami DNA i białek histonowych, zmianami w strukturze chromatyny (remodelowanie) i zmianami pozycji nukleosomów. Zmiany te składają się na epigenetyczną kontrolę ekspresji genów, która jest istotna dla zapewnienia właściwego wzrostu i rozwoju organizmu (LIU i WENDEL 2003).

Najważniejszym procesem kontroli ekspresji genów odpowiedzialnych za rozwój i utrzymanie integralności genomu w różnych organizmach jest specyficzna i programowa metylacja cytozyny (FINNEGAN i współaut. 1998, 2000; FINNEGAN 2001). Hipermetylacja charakteryzuje heterochromatynę i wyciszone geny euchromatynowe. Natomiast hipometylacja często dotyczy genów aktywnych (NG i BIRD 1999, MARTIENSSEN i COLOT 2001). U roślin wzory metylacji cytozyny są stabilne, utrzymywane poprzez mejozę i w kolejnych pokoleniach. U *Arabidopsis* przeprowadzono doświadczalne zakłócenie wzorów metyla-

cji cytozyny oraz określono związek między allopolloidami i metylacją cytozyny. Działano 5'-aza-2'-deoksycytydyną (azaC), inhibitorem metylaz cytozyny w DNA. Z uwagi na to, że azaC derepresuje wyciszone geny (BENDER i FINK 1995) oczekiwano, że potraktowane azaC sztuczne allopoloidy będą wykazywać mniej cech nietypowych. Jednakże uzyskane wyniki zaprzeczyły tym spekulacjom i pokazały coś wręcz przeciwnego. Mianowicie, podczas gdy tetraploidalni rodzice i pięć diploidalnych ekotypów *A. thaliana* traktowanych azaC rosło bez zakłóceń, to sztuczne allopoloidy wykazywały wysoki stopień takich zmian jak: karłowatość, nienormalne rozgałęzianie, fascjacje, fenotypy homeotyczne i tumory. Sugerowało to, że niektóre geny regulujące rozwój funkcjonowały nieprawidłowo. Formy kontrolne, czyli sztuczne allopoloidy, ale nie traktowane azaC, wykazywały zwykłą zmienność bez nasilenia aberracyjnych fenotypów obserwowanych w populacji traktowanej azaC. Wyniki te wykazały, że sztuczne allopoloidy były wrażliwe na demetylację i zareagowały zwiększoną częstością nienormalności rozwojowych.

Z kolei, allopoliploidy sztuczne wykazywały losowe zmiany w metylacji cytozyny zarówno hiper-, jak i hipometylację nieokreślonych loci genomowych u *Brassica* i w okre-

ślonych miejscach genomu u pszenicy (SONG i współaut. 1995, LIU i współaut. 1998a, SHAKED i współaut. 2001). W alloplloidach pszenicy w pierwszym pokoleniu z notowanych 11 prążków AFLP, które wykazywały dziedziczne zmiany metylacji (po zdublowaniu genomów) 10 prążków pochodziło od jednego rodzica, a tylko jeden prążek pochodził od drugiego (SHAKED i współaut. 2001). Zmiany we wzorze metylacji DNA są zazwyczaj konsekwencją, a nie przyczyną innych zmian epigenetycznych (GEIMAN i ROBERTSON 2002, PIKAARD i LAWRENCE 2002). Na przykład u *Neurospora* metylacja cytozyny we wszystkich kontekstach sekwencyjnych CpG, CpNpG i CpXpX (X = A, C lub T) zależy od metylacji lizyny 9 w H3 (TAMARU i SELKER 2001). Podobnie zresztą jest u *Arabidopsis*, gdzie metylacja cytozyny w CpNpG i CpXpX jest także sterowana modyfikacją H3 poprzez aktywność roślinnej specyficznej metylotransferazy - chromometylazy (CMT) i rearanżację domen metylazy (DRM) (JACKSON i współaut. 2002). Zmiany we wzorze metylacji cytozyny w DNA obserwowano także w genach kodujących rRNA w alloplloidach pszenno-żytnich, *Brassica* i *Arabidopsis* (CHEN i PIKAARD 1997a, b; NEVES i współaut. 1997). W spontanicznych i sztucznych alloplloidach ma miejsce wcześniej wspomniane zjawisko dominacji jąderkowej. Co jest jednak ważniejsze, to fakt, że geny rRNA wyciszone w komórkach organów wegetatywnych ulegają derepresji w organach reprodukcyjnych. Wskazuje to na odwracalny charakter wyciszenia, ale także na zróżnicowanie ekspresji zbiorów rDNA w czasie rozwoju rośliny allotetraploidalnej. Wykazano także, że w tym zjawisku działają razem mechanizmy prowadzące do metylacji cytozyny i deacetylacji histonów (CHEN i PIKAARD 1997). Dogłębne studia nad allotetraploidami *Arabidopsis-Cardaminopsis* pokazały epigenetyczne wyciszenie wielu genów mających różne funkcje biologiczne (LEE i CHEN 2001, LIU i WENDEL 2002). Podobne obserwacje pochodzą z badań nad pszenicą (FELDMAN i LEVY 2005). Stwierdzono mianowicie, że wyciszenie zestawu genów następowało gwałtownie w sztucznej pszenicy heksaploidalnej. Niektóre z tych genów ponownie były aktywne w allotetraploidach wyselekcjonowanych z tych mieszańców. Skala tego zjawiska i jego ważność ewolucyjna zostały wykazane nie tylko dla mieszańców *Arabidopsis* i pszenicy, ale też dla bawełny. Przy użyciu cDNA-AFLP wykazano, że w sztucznych alloplloidach pszenicy, że 1-5% transkryptomu

ulegało wyciszeniu w pierwszym pokoleniu alloplloidów (KASHKUSH i współaut. 2002). U bawełny ADAMS i współaut. (2003) badali transkrypty 40 różnych zduplikowanych genów. Poprzez pomiary gromadzenia transkryptów w różnych organach u spontanicznych i sztucznych alloplloidów bawełny wykazano, że 20% badanych genów miało zmienioną ekspresję w jednym lub większej liczbie organów. Najważniejsze dane uzyskane z tych doświadczeń, to wskazanie na regulację rozwojową i organo-specyficzną w wyciszeniu genów. Oznacza to, że jeden z duplikowanych genów był aktywny w jednym organie (np. pręcik), a jego odpowiednik z kolei w innym (np. słupek). Stwierdzono, że w niektórych przypadkach wyciszenie to może być odwracalne. Mało tego, badania wykazały, że epigenetyczne wyciszenie genów organo-specyficznie nie wymagało modyfikacji w metylacji cytozyny. Wskazuje to na inny mechanizm epigenetyczny działający na ekspresję genów prawdopodobnie wynikający ze zmian w strukturze chromatyny (ADAMS i współaut. 2004).

AKTYWACJA TRANSPOZONÓW

Elementy transpozycyjne są ruchomymi sekwencjami DNA, obecnymi u wszystkich Eucaryota. Występują w dużej obfitości w genomach roślin (KUMAR i BENNETZEN 1999, BENNETZEN 2000). Większość transpozonów, które występują w dużej liczbie kopii, prawie wyłącznie lokuje się w ściśle upakowanej i wysoce zmetylowanej heterochromatynie. Z tego względu, w warunkach normalnych są one nieaktywne (OKAMOTO i HIROCHIKA 2001, ROGALSKA i ACHREM 2003). W warunkach stresowych niektóre z nich mogą być aktywowane, przypuszczalnie na skutek zniesienia ściśle kontrolowanego stanu heterochromatynowego (BENNETZEN 1996, GRANDBASTIEN 1998). McCLINTOCK (1934) przewidziała, że stan mieszańcowy może potencjalnie wyzwać aktywność nieczynnych transpozonów, które przemieszczając się mogą wpływać na strukturę genomu. Częste zmiany w liczbie kopii i pozycja powtórzeń w chromosomach mogą wynikać właśnie z aktywności elementów transpozycyjnych (FLAVELL i współaut. 1994; FELDMAN i współaut. 1997; LIU i współaut. 1998a, b). Pośrednie dane o aktywacji transpozonów pochodzą z badań nad mieszańcami *Nicotiana otophora* i *N. tabacum*. W tych mieszańcach fragment chromosomowy z *N. otophora* zawierający węzeł heterochromatynowy i gen koloru kwiatów był spontanicz-

nie niestabilny (BURNS i GERSTEL 1967). Było to powiązane z pękaniem chromosomu i ekspansją heterochromatyny w miejscu węzła, który podwajał swoją wielkość. W niektórych komórkach wspomniany chromosom podlegał dalszym dramatycznym zmianom, wydłużając się 20–30-krotnie i przekształcając się w megachromosom. Komórki, w których zbierały się megachromosomy, miały w jądrach interfazowych skondensowaną heterochromatynę przypominającą ciało Barra, co wskazywało na upakowanie nadmiaru DNA w formie heterochromatyny. Ciekawe, że komórki z megachromosomami były otoczone komórkami z chromosomami niezmiennymi. Sugerowało to, że formowanie megachromosomów następowało w cyklu jednej komórki, a ich obecność blokowała dalsze podziały komórkowe. Można wnioskować, że w mieszańcach allopoloidalnych występuje ekspansja heterochromatyny i niestabilność genomowa, a ich przyczyną jest aktywacja transpozonów.

W allotetraploidach pszenicznych i *Arabidopsis* obserwowano reaktywację transpozonów i retrotranspozonów (COMAI 2000, KASHKUSH i współaut. 2003, MADLUNG i współaut. 2005). U pszenicy aktywacja retrotranspozonów *Wis2-1A* prowadziła do produkcji transkryptów czytanych z sąsiednich genów w orientacji sensowej i antysensowej. Stwier-

dzono, że ponad 7% transkryptów zawierających *Wis2-1A* występowało u nowych amploidów i były one nieobecne w formach rodzicielskich oraz na odwrót – te, które stwierdzono w formach rodzicielskich nie występowały w mieszańcach. Ponadto, geny sąsiadujące były aktywne i dawały nadprodukcję transkryptów sensownych lub były wyciszone na skutek transkryptów antysensownych, działających jako negatywny regulator poprzez interferencyjny RNA. Dane te wskazują, że u tych allopoliploidów aktywacja retrotranspozonów odgrywa ważną rolę w regulacji genów sąsiednich w układzie *cis/trans* u tych allopoliploidów (WITTKOPP i współaut. 2004). W sztucznych allopoliploidach *Arabidopsis* reaktywowane były dwa transpozony typu *En/Spm*, należące do podrodziny *Sunfish* (*Suf*) oraz retrotranspozon *Ty-1copia*. Reaktywacja *Suf* jest skorelowana z redukcją metylacji CG i CNG wewnątrz sekwencji kodujących transpozonu. *Sunfish* jest metylowany w rodzicielskiej formie autotetraploidalnej, ale ulega demetylacji i reaktywacji w allotetraploidach. Sugeruje to, że allopoloidyzacja prowokuje zakłócenia w strukturze genomu i remodelowaniu chromatyny, co stwarza możliwość reaktywowania lub wyciszenia transpozonów (MADLUNG i współaut. 2002) i genów kodujących białka (MATZKE i współaut. 1999, WANG i współaut. 2004).

ZWIĄZEK ALLOPOLIPLILOYDYZACJI ZE ZMIANAMI EPIGENETYCZNYMI

W wyniku licznych badań przeprowadzonych na sztucznych i spontanicznych allopoliploidach rodzi się pytanie czy allopoliploidyzacja może wywoływać inne zmiany epigenetyczne niż zmiany we wzorze metylacji DNA. Wiele danych wskazuje na to, że zmiany w metylacji DNA i towarzyszące im wyciszenie genów nie są jedynymi zmianami epigenetycznymi wywołanymi allopoloidyzacją. Ostatnie prace wskazują na to, że prawidłowo funkcjonujące metylotransferazy wymagają odpowiednio remodelowanej chromatyny i modyfikacji histonowych (BURGERS i współaut. 2002). Potwierdzeniem tego jest odkrycie w *Arabidopsis* DDM1, czynnika remodelującego chromatynę, który należy do rodziny ATPazowej – SWI2/SNF2 drożdży, kontrolującej remodelowanie chromatyny (JEDDELOH i współaut. 1999, SINGER i współaut. 2001, BRZESKI i JERZMANOWSKI 2003). Stwierdzono, że mutacja w genie kodującym DDM1 (*ddm1*) powoduje redukcję metylacji

DNA o 70%. Na tej podstawie można przypuszczać, że funkcją DDM1 jest umożliwienie dostępu metylotransferazie do poszczególnych substratów heterochromatynowych (MARTIENSSEN i COLOT 2001). Powstaje jednak pytanie, które z tych zdarzeń epigenetycznych jest pierwsze? Otóż ostatnie badania wykazały, że wzór metylacji DNA zależy od DDM1 (GENDREL i współaut. 2002). Odkrycie metylotransferazy 3, specyficznej dla roślin, z chromodomeną CMT3 potwierdza również ścisły związek pomiędzy metylacją cytozyny a remodelowaniem chromatyny (BARTEE i współaut. 2001, LINDROTH i współaut. 2001). Inne badania wskazują, że metylacja DNA jest zależna od remodelowania chromatyny i modyfikacji histonów (TAMARU i SELKER 2001, JACKSON i współaut. 2002).

Biorąc pod uwagę wszystkie wymienione wyżej badania można powiedzieć, że allopoliploidalność indukuje być może globalne remodelowanie chromatyny poprzez wpływ na

funkcjonowanie takich enzymów jak DDM1, które z kolei wpływają na zmiany w modyfikacji histonów i na wzory metylacji DNA. Należy przy tym pamiętać o tym, że metylazy DNA nie wykazują specyficzności sekwencyjnej i ich działanie w określonych obszarach DNA musi być kierowane przez inne czynni-

ki, takie jak zmiany we wzorze modyfikacji chemicznej (metylacji) histonów (LIU i WENDEL 2003). Na tej podstawie można przypuszczać, że indukowane allopolipoidalnością mogą być, oprócz zmian we wzorze metylacji cytozyny, także inne zmiany epigenetyczne.

MECHANISMS OF GENOME CHANGES AND GENE EXPRESSION IN PLANT HYBRID POLYPLAIDS

Summary

Polyploidy is created by multiplication of a single genome or combination of different genomes (allopolyploids). This paper reviews literature data obtained from a study of synthetic plant allopolyploids. The available data shed light on: dynamic and stochastic changes in genome structure and function,

genome and sequences elimination, changes in gene control systems and expression, novel activation and gene repression, epigenetic changes, transposons activation and RNA role in gene regulation.

LITERATURA

- ADAMS K. L., WENDEL J. F., 2005. *Polyploidy and genome evolution in plants*. Curr. Opin. Plant Biol. 8, 135-141.
- ADAMS K. L., CRONN R., PERCIFIELD R., WENDEL J. F., 2003. *Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 4649-4654.
- ADAMS K. L., PERCIFIELD R., WENDEL J. F., 2004. *Organ-specific silencing of duplicated genes in a newly synthesized cotton allotetraploid*. Genetics 168, 2217-2226.
- ALLEN E., XIE Z., GUSTAFSON A. M., CARRINGTON J. C., 2005. *MicroRNA-directed phasing during transacting siRNA biogenesis in plants*. Cell 121, 207-221.
- ARAGON-ALCAIDE L., READER S., MILLER T., MOORE G., 1997. *Centromeric behavior in wheat with high and low homoeologous pairing*. Chromosoma 106, 327-333.
- BARTEE L., MALAGNAC F., BENDER J., 2001. *Arabidopsis cmt3 chromomethylase mutations block non-CG methylation and silencing of an endogenous gene*. Genes Dev. 15, 1753-1758.
- BARTEL B., BARTEL D. P., 2003. *MicroRNAs: at the root of plant development?* Plant Physiol. 132, 709-717.
- BENDER J., FINK G. R., 1995. *Epigenetic control of an endogenous gene family is revealed by a novel blue fluorescent mutant of Arabidopsis*. Cell 83, 725-734.
- BENNETZEN J. L., 1996. *The contributions of retroelements to plant genome organization, function and evolution*. Trends Microbiol. 4, 347-353.
- BENNETZEN J. L., 2000. *Transposable elements contributions to plant gene and genome evolution*. Plant Mol. Biol. 42, 251-269.
- BIRCHLER J. A., 2001. *Dosage-dependent gene regulation in multicellular eukaryotes: implications for dosage compensation, aneuploid syndromes, and quantitative traits*. Dev. Biol. 234, 275-288.
- BIRCHLER J. A., NEWTON K. J., 1981. *Modulation of protein levels in chromosomal dosage series of maize: the biochemical basis of aneuploid syndromes*. Genetics 99, 247-266.
- BIRCHLER J. A., AUGER D. L., RIDDLE N. C., 2003. *In search of molecular basis of heterosis*. Plant Cell 15, 2236-2239.
- BRZESKI J., JERZMANOWSKI A., 2003. *Deficient in DNA methylation 1 (DDM 1) defines a novel family of chromatin - remodeling factors*. J. Biol. Chem. 278, 823-828.
- BURGERS W. A., FUKS F., KOUZARIDES T., 2002. *DNA methyltransferases get connected to chromatin*. Trends Genet. 18, 275-277.
- BURK L. G., GERSTEL D. V., WERNSMAN E. A., 1979. *Maternal haploids of Nicotiana tabacum L. from seed*. Science, 206, 585-590.
- BURNS J., GERSTEL D. V., 1967. *Flower color variegation and instability of a block of heterochromatin in Nicotiana*. Genetics 57, 155-167.
- CHAPMAN V., MILLER T. E., 1977. *Haploidy in the genus Aegilops*. Wheat Info. Serv. 44, 21-22.
- CHEN Z. J., PIKAARD C. S., 1997a. *Epigenetic silencing of RNA polymerase I transcription: A role for DNA methylation and histone modification in nucleolar dominance*. Genes Dev. 11, 2124-2136.
- CHEN Z. J., PIKAARD C. S., 1997b. *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 94, 3442-3447.
- CHEN Z. J., NI Z., 2006. *Mechanisms of genome rearrangements and gene expression changes in plant polyploids*. BioEssays 28, 240-252.
- CHEN Z. J., COMAI L., PIKAARD C. S., 1998. *Gene dosage and stochastic effects determined severity and direction of uniparental ribosomal RNA gene silencing (nucleolar dominance) in Arabidopsis allopolyploids*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 14891-14896.
- COMAI L., 2000. *Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants*. Plant Mol. Biol. 43, 387-399.
- CRONN R. C., SMALL R. I., WENDEL J. F., 1999. *Duplicated genes evolve independently after polyploid formation in cotton*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 14406-14411.

- FELDMAN M., 1993. *Cytogenetic activity and mode of action of the pairing homoeologous (Ph1) gene of wheat*. *Crop Sci.* 33, 894–897.
- FELDMAN M., LEVY A. A., 2005. *Allopolyploidy – a shaping force in the evolution of wheat genomes*. *Cytogenet. Genome Res.* 109, 250–258.
- FELDMAN M., LIU B., SEGAL G., ABBO S., LEVY A. A., VEGA J. M., 1997. *Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploidy wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes*. *Genetics* 147, 1381–1387.
- FINNEGAN E. J., 2001. *Is plant gene expression regulated globally*. *Trends Genet.* 17, 361–365.
- FINNEGAN E. J., GINGER R. K., PEACOCK W. J., DENNIS E. S., 1998. *DNA methylation in plants*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 223–247.
- FINNEGAN E. J., PEACOCK W. J., DENNIS E. S., 2000. *DNA methylation a key regulator of plant development and other processes*. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 10, 217–223.
- FLAVELL R. B., 1986. *The structure and control of expression of ribosomal RNA genes*. *Oxford Surv. Plant Mol. Cell Biol.* 3, 252–274.
- FLAVELL R. B., PEARCE S. R., KUMAR A., 1994. *Plant transposable elements and the genome*. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 4, 838–844.
- FRIEMAN M., CHEN Z. J., SAEZ-VASQUEZ J., SHEN L. A., PIKAARD C. S., 1999. *RNA polymerase I transcription in a Brassica interspecific hybrid and its progenitors: tests of transcription factor involvement in nucleolar dominance*. *Genetics* 152, 451–460.
- GEIMAN T. M., ROBERTSON K. D., 2002. *Chromatin remodeling histone modification and DNA methylation – how does it all fit together*. *J. Cell Biochem.* 87, 117–125.
- GENDREL A. V., LIPPMAN Z., YORDAN C., COLOT V., MARTIENSSSEN R. A., 2002. *Dependence of heterochromatic histone H3 methylation patterns on Arabidopsis gene DDM1*. *Science* 297, 1871–1873.
- GERNAND D., RUTTEN T., VARSHNEY A., RUBTSOVA M., PRODANOVIC S., BRUES C., KUMHELN J., MATZKE F., HOUBEN A., 2005. *Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in wheat and pearl millet crosses involves micronucleus formation, progressive heterochromatinization and DNA fragmentation*. *Plant Cell* 17, 2431–2438.
- GRANDBASTIEN M. A., 1998. *Activation of plant retrotransposons under stress conditions*. *Trends Plant Sci.* 3, 181–187.
- GRANT V., 1981. *Plant Speciation*. Columbia, New York.
- HE P., FRIEBE B. R., GILL B. S., ZHOU J. M., 2003. *Allopolyploidy alters gene expression in the highly stable hexaploid wheat*. *Plant Mol. Biol.* 52, 401–414.
- HEGARTY M. J., JONES J. M., WILSON I. D., BARKER G. L., COGHILL J. A. i współpracownicy, 2005. *Development of anonymous cDNA microarrays to study changes to the Senecio floral transcription during hybrid speciation*. *Mol. Ecol.* 14, 2493–2510.
- JACKSON J. O., LINDROTH A. M., CAO X., JACOBSEN S. E., 2002. *Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase*. *Nature* 416, 556–560.
- JACOBSEN S. E., MEYEROWITZ E. M., 1997. *Hypermethylated SUPERMAN epigenetic alleles in Arabidopsis*. *Science* 277, 1100–1103.
- JEDDELOH J. A., STOKES T. L., RICHARDS E. J., 1999. *Maintenance of genomic methylation requires a SWI2/SNF2-like protein*. *Nat. Genet.* 22, 94–97.
- JENCZEWSKI E., EBER F., GRIMAUD A., HUET S., LUCAS M. O. i współpracownicy, 2003. *PrBn, a major gene controlling homoeologous pairing in oilseed rape (Brassica napus) haploids*. *Genetics* 164, 645–653.
- KASHA K. J., REINBERGS E., 1981. *Recent developments in the production and utilization of haploids in barley*. [W:] *Barley Genetics*. ASHER M. J. C. (red.). Edinburgh, UK, 655–665.
- KASHKUSH K., FELDMAN M., LEVY A. A., 2002. *Gene loss, silencing, and activation in a newly synthesized wheat allotetraploid*. *Genetics* 160, 1651–1659.
- KASHKUSH K., FELDMAN M., LEVY A. A., 2003. *Transcriptional activation of retrotransposons alters the expression of adjacent genes in wheat*. *Nat. Genet.* 33, 102–106.
- KUMAR A., BENNETZEN J. L., 1999. *Plant retrotransposons*. *Annu. Rev. Genet.* 33, 479–532.
- LAWRENCE R. J., PIKAARD C. S., 2003. *Transgene-induced RNA interference: a strategy overcoming gene redundancy in polyploids to generate loss-of-function mutations*. *Plant J.* 36, 114–121.
- LEE H. S., CHEN Z. J., 2001. *Protein-coding genes are epigenetically regulated in Arabidopsis polyploids*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 6753–6758.
- LIM K. Y., MATYASEK R., KOVARIK A., LEITCH R. R., 2004. *Genome evolution in tetraploid Nicotiana*. *Biol. J. Linn. Soc.* 82, 599–606.
- LINDROTH A. M., CAO X., JACKSON J. P., ZIBERMAN D., MCCALLUM C. M., HENIKOFF S., JACOBSEN S. E., 2001. *Requirement of CHROMOMETHYLASE3 for maintenance of CpXpG methylation*. *Science* 292, 2077–2080.
- LIU B., WENDEL J. F., 2002. *Non-Mendelian phenomena in allopolyploid genome evolution*. *Curr. Genomics* 3, 489–506.
- LIU B., WENDEL J. F., 2003. *Epigenetic phenomena and the evolution of plant allopolyploids*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 29, 365–379.
- LIU B., VEGA J. M., FELDMAN M., 1998a. *Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of Triticum and Aegilops. II. Changes in low-copy coding DNA sequences*. *Genome* 41, 535–542.
- LIU B., VEGA J. M., SEGAL G., ABBO S., RODOVA M., FELDMAN M., 1998b. *Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of Triticum and Aegilops. I. Changes in low-copy non-coding DNA sequences*. *Genome* 41, 272–277.
- LIU B., BRUBAKER C. L., MERGAEI G., CRONN R. C., WENDEL J. F., 2001. *Polyploid formation in cotton is not accompanied by rapid genomic changes*. *Genome* 43, 874–880.
- LUO M. C., DUBCOVSKY J., DVORAK J., 1996. *Recognition of homeology by the wheat Ph1 locus*. *Genetics* 144, 1195–1203.
- MA X. F., FANG G., GUSTAFSSON J. P., 2004. *Polyploidization-induced genome variation in triticale*. *Genome* 47, 839–848.
- MADLUNG A., MAUSELLI R. W., WATSON B., REYNOLDS S. H., DAVISON J., COMAI L., 2002. *Remodeling of DNA methylation and phenotypic and transcriptional changes in synthetic Arabidopsis allotetraploids*. *Plant Physiol.* 129, 733–746.
- MADLUNG A., TYAGI P. A., WATSON B., JIANG H. M., KAGUCHI T., GOERGE R. W., MARTIENSSSEN R. A., COMAI L., 2005. *Genomic changes in synthetic Arabidopsis polyploids*. *Plant J.* 41, 221–230.
- MARTIENSSSEN R. A., COLOT V., 2001. *DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi*. *Science* 293, 1070–1074.
- MARUBASHI W., YAMADA T., NIWA M., 1999. *Apoptosis detected in hybrids between Nicotiana glutinosa and N. repanda expressing lethality*. *Planta* 210, 168–171.
- MASTERSON J., 1994. *Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms*. *Science* 264, 421–424.
- MATZKE M. A., SCHEID O. M., MATZKE A. J., 1999. *Rapid structural and epigenetic changes in polyploid and aneuploid genomes*. *Bioessays* 21, 761–767.

- McCLINTOCK B., 1934. *The relationship of a particular chromosomal element to the development of the nuclei in Zea mays*. Zeit Zellforsch. Mik. Anat. 21, 294-328.
- MOORE G., 1998. *To pair or not to pair: chromosome pairing and evolution*. Curr. Opin. Plant Biol. 1, 116-122.
- NAVASHIN M., 1934. *Chromosomal alterations caused by hybridization and their bearing upon certain general genetic problems*. Cytologia 5, 169-203.
- NEVES N., SILVA M., HESLOP-HARRISON J. S., VIEGAS W., 1997. *Nucleolar dominance in triticales: control by unlinked genes*. Chromosome Res. 5, 125-131.
- NG H. H., BIRD A., 1999. *DNA methylation and chromatin modification*. Curr. Opin. Genet. Develop. 9, 158-163.
- OKAMOTO H., HIROCHIKA H., 2001. *Silencing of transposable elements in plants*. Trends Plant Sci. 6, 527-534.
- OSBORN T. C., 2004. *The contribution of polyploidy to variation in Brassica species*. Physiol. Plantarum 121, 531-536.
- OSBORN T. C., BUTRULLE D. V., SHARPE A. G., PICKERING K. J., PARKIN I. A. i współaut., 2003a. *Detection and effects of a homeologous reciprocal transposition in Brassica napus*. Genetics 165, 1569-1577.
- OSBORN T. C., PIRES J. C., BIRCHLER J. A., AUGER D. L., CHEN Z. J., 2003b. *Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids*. Trends Genet. 19, 141-147.
- OZKAN H., LEVY A. A., FELDMAN M., 2001. *Allopolyploidy-induced rapid genome evolution in the wheat (Aegilops-Triticum) group*. Plant Cell 13, 1735-1747.
- OZKAN H., TUNA M., ARUMUGANATHAN K., 2003. *Non-additive changes in genome size during allopolyploidization in the wheat (Aegilops-Triticum) group*. J. Hered. 94, 260-264.
- PASAKINSKIENE I., JONES R. N., 2003. *Challenging genome integrity*. Biologija 1, 3-9.
- PIKAARD C. S., 2000. *Nucleolar dominance uniparental gene silencing on a multi-megabase scale in genetic hybrids*. Plant Mol. Biol. 43, 163-177.
- PIKAARD C. S., LAWRENCE R. J., 2002. *Uniting the path to gene silencing*. Nat. Genet. 32, 340-341.
- RAMSEY J., SCHEMSKE D. W., 1998. *Pathways, mechanisms and rates of polyploid formation in flowering plants*. Annu. Rev. Ecol. System. 29, 467-501.
- REEDER R. H., 1985. *Mechanisms of nucleolar dominance in animals and plants*. J. Cell Biol. 101, 2013-2016.
- ROGALSKA S. M., 2005a. *Zmienność liczby chromosomów i układów chromosomowych. Podstawy cytogenetyki roślin*. PWN, Warszawa, 173-196.
- ROGALSKA S. M., 2005b. *Genome diversity of triticales (X Triticosecale Witt.) using the chromosome heterochromatin marker*. [W:] *Plant Genome: Biodiversity and Evolution*. SHARMA A. K., SHARMA A. (red.). Science Publ., Inc, Enfield USA 1, B, 179-194.
- ROGALSKA S. M., MIKULSKI W., 1996. *Induction of haploids in triticales (Xtriticosecale Witt.) by crossing it with maize (Zea mays)*. [W:] *Triticale Today and Tomorrow*. GUEDES PINTO H. (red.). Kluwer Acad Publ, Netherlands, 379-382.
- ROGALSKA S. M., ACHREM M., 2003. *The transposase of Ac/Ds. System is located at rye telomeric heterochromatin*. Ann. Genetiq. 46, 300-301.
- SALINA E. A., NUMEROVA O. M., OZKAN H., FELDMAN M., 2004. *Alteration in subtelomeric tandem repeats during early stages of allopolyploidy in wheat*. Genome 47, 860-867.
- SCOTT R. J., SPIELMAN M., BAILEY J., DICKINSON H. G., 1998. *Parent-of-origin effects on seed development in Arabidopsis thaliana*. Development 125, 3329-3341.
- SHAKED H., KASHKUSH K., OZKAN H., FELDMAN M., LEVY A. A., 2001. *Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat*. Plant Cell 13, 1749-1759.
- SINGER T., YORDAN C., MARTIENSSSEN R. A., 2001. *Robertson's Mutator transposons in A.thaliana are regulated by the chromatin-remodeling gene Decrease in DNA methylation (DDM1)*. Genes Develop. 15, 591-602.
- SONG K., OSBORN T. C., 1994. *A method for examining expression of homologous genes in plant polyploids*. Plant Mol. Biol. 26, 1065-1071.
- SONG K., LU P., TANG K., OSBORN T. C. 1995. *Rapid genome change in synthetic polyploids of Brassica and its implication for polyploidy evolution*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 7719-7723.
- TAMARU H., SLEKR E., U., 2001. *A histone H3 methyltransferase controls DNA methylation in Neurospora crassa*. Nature 414, 277-283.
- UDALL J. A., QUIJADA P. A., OSBORN T. C., 2005. *Detection of chromosomal rearrangements derived from homologous recombination in four mapping populations of Brassica napus L*. Genetics 169, 967-979.
- VEGA J. M., FELDMAN M., 1998a. *Effect of the pairing gene Ph1 and premeiotic colchicines treatment on intra- and interchromosome pairing of isochromosomes in common wheat*. Genetics 150, 1199-1208.
- VEGA J. M., FELDMAN M., 1998b. *Effect of the pairing gene Ph1 on centromere misdivision in common wheat*. Genetics 148, 1285-1294.
- WANG J., TIAN L., MADLUNG A., LEE H. S., CHEN M. i współaut., 2004. *Stochastic and epigenetic changes of gene expression in Arabidopsis polyploids*. Genetics 167, 1961-1973.
- WANG J., TIAN L., LEE H. S., WEI E. N., LEE. J. i współaut., 2006. *Genome-wide nonadditive gene regulation in Arabidopsis allotetraploids*. Genetics 172, 507-517.
- WENDEL J. F., 2000. *Genome evolution in polyploids*. Plant Mol. Biol., 42, 225-249.
- WILSON H. D., BARBER S. C., WALTERS T., 1983. *Loss of duplicate gene expression in tetraploid Chenopodium*. Biochem. Sys. Ecol. 11, 7-13.
- WINGE O., 1917. *The chromosomes: their number and general importance*. [W:] *Polyploidy*. JACKSON R. C., HUBER D. (red.). Stroudsbury, PA: Hurchinson Ross, 131-175.
- WINKLER H., 1916. *Über die experimentelle Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromozomenzahlen*. Zeitsch. f. Bot. 8, 417-531.
- WITTKOPP O. J., HAERUM B. K., CLARK A. G., 2004. *Evolutionary changes in cis and trans gene regulation*. Nature 430, 85-88.
- YAMADA K., LIM J., DALE J. M., CHEN H., SHINN P i współaut., 2003. *Empirical analysis of transcriptional activity in the Arabidopsis genome*. Science 302, 842-846.