

Гетерозис: современные тенденции в изучении молекулярных механизмов

М.Н. Шаптуренко , Л.В. Хотылева

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Гетерозис как феномен превосходства гибридов F_1 над родителями служит основным механизмом повышения продуктивности в сельскохозяйственном производстве, но при этом остается одним из наиболее интригующих явлений с точки зрения генетики. Первые попытки выяснения его генетических основ базировались на использовании теоретических моделей, которые, хотя и были приняты научным сообществом, но не могли в полной мере охарактеризовать это уникальное явление. С разработкой и распространением молекулярных маркеров основные усилия были направлены на поиск геномных регионов, ответственных за формирование гетеротического ответа в F_1 , и выяснение перспектив использования оценки молекулярной дивергенции исходных родительских форм для предсказания урожайного потенциала гибридного потомства. Несмотря на некоторые успехи, эффективность такого подхода для практического использования оказалась ограниченной. Выполненные исследования подтвердили, что генетическая гетерогенность необходима, но не достаточна для получения гетерозисного фенотипа. Развитие современных методологических подходов функциональной геномики и смежных дисциплин обеспечило новые возможности для изучения основополагающих механизмов гетерозиса на уровне генома, транскриптома, метаболома и эпигенома в связи с различными типами взаимодействия генов (доминированием, сверхдоминированием, эпистазом). К настоящему времени описаны различия в геномной организации, генной экспрессии и эпигенетическом статусе гибридов F_1 и их родителей. На геномном уровне обнаружены QTL, ассоциированные с гетерозисом, изучена роль дивергенции ДНК в реализации генетического потенциала F_1 . На уровне транскриптома у гибридов, по сравнению с инбредными родителями, выявлены изменения в регуляции экспрессии генов, осуществляемой с участием генов циркадных часов. Определена важная роль эпигенетической модификации ДНК и геномного импринтинга в проявлении гетерозиса. Вся совокупность данных, накопленных к настоящему времени, свидетельствует о том, что гетерозис невозможно объяснить единственным общим механизмом, так как этот сложный феномен включает множественные компоненты, кумулятивный эффект которых приводит к формированию выдающегося фенотипа.

Ключевые слова: гетерозис; молекулярные маркеры; транскрипционные факторы; циркадные ритмы; эпигенетическая регуляция.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Шаптуренко М.Н., Хотылева Л.В. Гетерозис: современные тенденции в изучении молекулярных механизмов. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):683-694. DOI 10.18699/VJ16.188

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Shapturenko M.N., Khotyleva L.V. Heterosis: current advances in the search for molecular mechanisms. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(5):683-694. DOI 10.18699/VJ16.188

УДК 575.222.78:631.527.5:577.21
Поступила в редакцию 16.05.2016 г.
Принята к публикации 14.07.2016 г.
© АВТОРЫ, 2016

 e-mail: m.shapturenko@igc.by

Heterosis: current advances in the search for molecular mechanisms

M.N. Shapturenko , L.V. Khotyleva

Institute of Genetics and Cytology of National Academy
of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Heterosis as the increased performance of hybrid progeny compared to their inbred parents is one of the most intriguing phenomena in genetics. The first attempts to find out about underlying mechanisms were based on theoretical models, which were useful, but could not characterize this unique phenomenon as a whole. With the advent of molecular markers great efforts were made to identify genomic regions causing heterotic response and clarify prospects of using information about molecular divergence of parental forms as a criterion for the prediction of F_1 performance. Despite some achievements, the effectiveness of both molecular divergence and prospective heterotic QTL for practical goals was limited, confirming that genetic heterogeneity is necessary, but not sufficient to produce perfect phenotype. Current methodological tools of functional genomics and related disciplines have provided new opportunities for searching for mechanisms of heterosis at different levels in the context of relative importance of dominance, overdominance and epistasis. To date, differences in genome organization, gene expression and epigenetic status have been found between hybrids and their parents. At the genomic level, some QTLs associated with heterosis were identified and the impact of DNA divergence on F_1 performance was evaluated. At the level of transcriptome, it was shown that heterosis in hybrids occurs along with changes in gene expression regulation under the influence of circadian clock genes. Several studies have been conducted to clarify the role of epigenetic DNA modification and genomic imprinting in the manifestation of heterosis. Taken together, data indicates that heterosis cannot be explained by a single common mechanism, because this complex phenomenon involves many components, a cumulative effect of which leads to the formation of an outstanding phenotype.

Key words: heterosis; molecular markers; transcription factors; circadian clock; epigenetic regulation.

Гетерозис является фундаментальным механизмом повышения продуктивности в селекции растений, тем не менее его генетические и молекулярные основы остаются нераскрытыми. Благодаря недавнему прогрессу в функциональной геномике, эпигенетике, транскриптомике, протеомике и метаболомике, наиболее оптимальным для понимания молекулярных основ гетеротического ответа F_1 был признан системный подход. Отдельные части общего механизма, несомненно, имеют большое значение и подлежат рассмотрению, но только в контексте вероятностных событий и причинно-следственных связей на всех уровнях.

Геномный анализ гетерозиса

Классические теории рассматривают гетерозиготность гибридов F_1 как основной фактор, обуславливающий гетерозис, и в связи с этим предполагают существование линейной зависимости между генетическими дистанциями (GD) исходных родительских форм и гетеротическим ответом F_1 (Cox et al., 1984; Falconer, Mackay, 1996). Исходя из этого предположения, были предприняты попытки разработки критериев для отбора перспективных комбинаций скрещивания на основе использования различных типов маркеров (Reif et al., 2012). Исследования пшеницы (*Triticum aestivum*), овса (*Avena sativa*) и сои (*Glycine max*) подтвердили, что дивергенция между родителями, оцененная на основе коэффициента родства (Kempthorne, 1969), может быть использована для предсказания генетической вариации F_2 или последующих расщепляющихся популяций (Cowen, Frey, 1987; Manjarrez-Sandoval et al., 1997). В то же время аналогичные исследования этих видов показали, что отбор по родословным (педигри) недостаточно эффективен для обеспечения надежного предсказания. Альтернативная оценка, основанная на использовании молекулярных маркеров, была предложена М. Goodman и G. Lasker (1974) и М. Nei (1974), которые рассматривали долю несовпадений в нуклеотидных последовательностях гомологичных сайтов ДНК в качестве меры различий между генотипами, популяциями. Хотя такая оценка оказалась полезной для дифференциации генетического материала (Melchinger et al., 1998), связь между GD родителей и генетическим компонентом дисперсии потомства оказалась преимущественно слабой или незначимой, либо полученные результаты не воспроизводились в ином генофонде (Melchinger, 1998; Gumber et al., 1999; Brachi et al., 2010).

В наших исследованиях пшеницы на основе сбалансированного потомства анеуплоидов был построен дивергентный ряд, который включал дисомные линии с разной степенью фенотипической и генотипической изменчивости относительно исходного сорта Опал. Испытание этих линий в тестерных скрещиваниях и молекулярный анализ показали, что с увеличением дивергентности сила связи величины GD с гетерозисом ослабевает (Shapurenko et al., 2003). В другом исследовании, проведенном с использованием SNP-маркирования, было обнаружено, что оценка общей GD непредсказательна для отдельных признаков и требует отбора позитивных маркеров, т.е. сцепленных с соответствующими QTL. Более обнадеживающие результаты были получены при разработке

прогностических критериев отбора у овощных культур. Анализ сопряженности дивергенции родительских форм перца сладкого с компонентами урожая F_1 показал, что продуктивный потенциал гибридов циклического скрещивания обусловлен дивергенцией ISSR-локусов на 86 % и RAPD-локусов – на 69 % (Shapurenko et al., 2014). Поскольку в этом исследовании обе меры дивергенции ДНК обнаруживали тесную связь с абсолютным выражением признаков родителей, а также с продуктивностью F_1 , мы предполагаем, что часть полиморфных ДНК-фрагментов относится к гетеротическим локусам (HTL), которые могут рассматриваться как потенциальные маркеры для отбора исходного материала перца сладкого в селекции на гетерозис. Еще одно исследование, базирующееся на использовании микросателлитных маркеров, выявило тесную связь ($r = 0,71$) между GD и признаком «длина плода» у перца сладкого, что предполагает аддитивный эффект доминантных локусов. Аналогичная работа, направленная на изучение перспектив использования SSR-маркеров для предсказания генетического потенциала F_1 томата, показала, что оценка SSR-полиморфизма может быть полезна, однако имеет ограничения, так как только часть гетерозиготного преимущества F_1 может быть объяснена уровнем генетической дивергенции их родителей (Шаптуренко и др., 2014а, 2016б).

В этом исследовании для определения потенциальных гетеротических маркеров мы провели анализ комбинаций, проявлявших истинный (превосходство над лучшим из родителей) и гипотетический (превосходство над средней обоих родителей) гетерозис по целевым признакам. Такой подход позволил исключить из анализа те сочетания аллелей, которые не связаны с реализацией гетерозиса в F_1 . При оценке сопряженности GD с гетерозисом в данной выборке генотипов мы обнаружили, что суммарная оценка GD позитивно коррелировала с истинным гетерозисом на уровне 0,51–0,90 и с гипотетическим гетерозисом на уровне 0,61–0,81, в зависимости от признака. При выяснении роли дифференциального полиморфизма* родительских форм в реализации гетеротического потенциала F_1 мы обнаружили, что для общей выборки генотипов существуют достоверные положительные связи между общим числом полиморфных локусов, истинным и гипотетическим гетерозисом ($r = 0,42–0,47$), но их величина непредсказательна для отбора. В то же время дифференциальный полиморфизм в выборке гетерозисных комбинаций предопределяет превосходство гибридов F_1 над лучшим родителем и средней обоих родителей на 75 и 84 % соответственно. Число неполиморфных локусов связано с гетерозисом обратно пропорциональной зависимостью. Высокую прогностическую ценность, согласно полученным результатам, имеет коэффициент соотношения числа полиморфных локусов к общему числу неполиморфных локусов. Помимо этого, в нашем эксперименте наблюдался значимый вклад дифференциального полиморфизма родительских форм в константу специфической комбинационной способности, что позволяет обсуждать селекционную ценность отдельных комбинаций на основе этого показателя. Полученные ре-

* Характеризует число и соотношение полиморфных/неполиморфных локусов в парных комбинациях скрещивания.

зультаты свидетельствуют о том, что отдельные сочетания SSR-локусов можно использовать как прогностический критерий для отбора перспективных пар скрещивания. Несмотря на отсутствие линейной зависимости между уровнем генетических дистанций и продуктивностью F_1 , хорошие перспективы применения оценки GD были показаны в наших исследованиях для капусты белокочанной (Шаптуренко и др., 2014б, 2016а) и тритикале (Орловская и др., 2012). Все отобранные комбинации скрещивания проявляли гетерозис по отношению как к средней обоих родителей, так и к лучшему из родителей. Результаты опубликованных и полученных нами данных подтверждают вывод о необходимости детализации информации о GD для ее практического использования.

Картирование QTL при помощи ДНК-маркеров обеспечило дополнительные возможности для изучения генетических детерминант количественных признаков. В исследовании C.W. Stuber с коллегами (1992), проведенном на элитном гибриде кукурузы B73 × Mo17 с использованием NC Design III, авторы картировали 11 QTL, обуславливающих гетерозис в основном за счет проявления эффекта сверхдоминирования либо псевдосверхдоминирования. Несколько позже у образцов кукурузы из разных гетеротических групп было обнаружено высокое соответствие QTL позиций в прицентромерных областях хромосом. При этом каждая группа обладает специфичными аллелями, которые в комбинации с аллелями противоположного гетеротического пула в F_1 приводят к гетерозису (Schön et al., 2010). P.A. Quijada с коллегами (2006) и J.A. Udall с коллегами (2006) при выполнении картирования QTL у *Brassica napus* L. выявили несколько общих геномных областей, в которых обнаруживались гетеротические сочетания аллелей, обуславливающие увеличение продуктивного потенциала F_1 . Другие исследователи (Chen et al., 2007; Radoev et al., 2008; Basunanda et al., 2010) определили перекрывающиеся QTL с преимущественной локализацией в «горячих» точках отдельных хромосом. Сходные данные были получены R.C. Meyer с коллегами (2010) и J. Lisec с коллегами (2009) для *Arabidopsis thaliana*, которые свидетельствуют в пользу существования ключевых, т.е. определяющих формирование гетерозиса, локусов.

В целом данные QTL исследований подтверждают мультигенную природу гетерозиса. Вероятно, развитие гетеротического ответа в F_1 обусловлено действием многих локусов с малыми эффектами, которые взаимодействуют посредством разнообразных молекулярных механизмов (Semel et al., 2006; Garcia et al., 2008).

Транскриптомный анализ гетерозиса

В транскриптомном анализе выделяют качественные и количественные различия экспрессии генов. Количественная вариация включает неаддитивную и аддитивную экспрессию родительских генов у гибрида. Качественная вариация в основном связана с сайленсингом генов в F_1 .

Несмотря на то что гибрид сочетает наследственный материал родительских форм, часто выражение различных количественных и качественных признаков F_1 превосходит уровень исходных линий. Такие отклонения в значительной мере обязаны генетической вариации,

обуславливающей изменения транскрипции в F_1 . Их выявление достаточно сложно, поскольку экспрессия генов контролируется биохимическими взаимодействиями между cis- и trans-элементами, которые в совокупности образуют сложную сеть. В связи с этим выделяют: (1) cis-вариацию, которая предполагает внутримолекулярные взаимодействия и является результатом изменений в регуляторных последовательностях ДНК, таких как энхансеры и промоторы; (2) trans-вариацию, т.е. опосредованную межмолекулярными взаимодействиями trans-регуляторных элементов (РНК, протеинов) с отдаленными генами. Каждый компонент сети взаимодействий cis- и trans-действующих факторов является потенциальной мишенью для регуляторной дивергенции. Различия в структуре геноспецифичных регуляторных сетей усложняют интерпретацию генетических эффектов, так как оказывают влияние на восприимчивость отдельных генов к некоторым видам регуляторных изменений (Wittkopp, 2005; Landry et al., 2007). Предположительно, cis- и trans-факторы транскрипции оказывают влияние на то, какие уровни экспрессии генов наследуются и реализуются в F_1 (Ronald, Akey, 2007).

Если рассматривать данные транскриптомного анализа с позиции теоретических концепций гетерозиса, то уровни экспрессии генов можно связать с генетическими понятиями «доминирование» и «сверхдоминирование», хотя такая связь весьма условна (рис. 1, а–в) (Chen, 2010). Согласно доминантной модели, экспрессия генов у гибрида обусловлена аддитивным эффектом двух аллелей родителей (рис. 1, г), тогда как сверхдоминантная модель показывает, что аллельные взаимодействия в F_1 ведут к неаддитивной экспрессии (рис. 1, д, е). При этом может наблюдаться как позитивный (рис. 1, д), так и негативный (рис. 1, е) эффект. Частным случаем доминирования является псевдосверхдоминирование (рис. 1, в), которое обусловлено неравновесием по сцеплению (linkage disequilibrium; repulsion phase linkage) (Bingham et al., 1994). В данном случае в F_1 наблюдается комплементация между тесно сцепленными доминантными аллелями и различными вредными рецессивами, локализованными на разных гомологах. Новые, отличные от родителей, аллельные комбинации в F_1 могут приводить к взаимодействиям, которые изменяют экспрессионные профили, обуславливая гетерозис.

Основываясь на собственных экспериментальных данных, а также опубликованных результатах других исследователей, Н. Zhang с коллегами (2008) предложили рабочую модель, описывающую механизм гетеротической экспрессии посредством взаимодействий между транскрипционными факторами (ТФ) и соответствующими промоторами или cis-регуляторными областями, часть из которых подвергнута INDEL-полиморфизму и теряет функциональность (рис. 2).

Согласно этой модели, транскрипционные факторы (ТФ-А, ТФ-Р) регулируют экспрессию генов-мишеней путем связывания со специфическими cis-регуляторными элементами (промоторами). Полиморфизм в cis-элементах и дифференциальная экспрессия ТФ у родительских линий так же, как их уникальная комбинация в F_1 , могут привести к пяти возможным типам действия генов

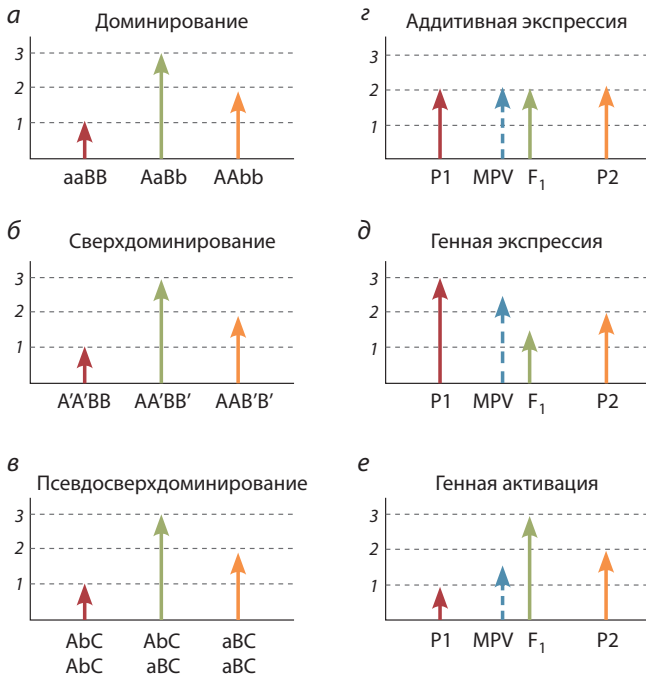


Рис. 1. Генетические модели (а–б) и экспрессия генов (г–е) при гетерозисе, согласно Z.J. Chen (2010).

1–3 – уровни выражения признака для а–в и экспрессии генов для г–е.

(аддитивность, отрицательное и положительное доминирование, сверхдоминирование, отрицательное сверхдоминирование).

Гибридное потомство наследует по одной копии гена от каждого из родителей. В случае аддитивной экспрессии (см. рис. 2, а) отсутствие (низкий уровень) транскрипции одного аллеля, как предполагается, может быть вызвано отсутствием или слабым связыванием транскрипционного активатора с промотором из-за мутации в *cis*-элементе. Гибриды F_1 при этом будут проявлять в экспрессии аддитивный эффект. При положительном доминировании, когда промоторы обоих родителей гомологичны, но у одного из них отсутствует (имеет низкую активность) ТФ-активатор, потомство будет иметь уровень экспрессии, соответствующий лучшему родителю. Положительное сверхдоминирование выражается в присутствии ТФ-активатора у родителя с нефункциональным промотором и его отсутствии у родителя с немутантным функциональным *cis*-элементом. Гибрид в этом случае будет иметь ТФ-А одного родителя и функциональный промотор второго, что обеспечит сверхэкспрессию гена-мишени в F_1 . Сходным образом действует ТФ-репрессор, обуславливая аддитивность, отрицательное доминирование и отрицательное сверхдоминирование (см. рис. 2, б).

Н. Ding с коллегами (2014) на основе полученных результатов пришли к заключению, что большинство SNP- и INDEL-полиморфизмов так же, как и PAV (present-absent variability), относятся к вариации 5'-областей дифференциально экспрессирующихся генов. Таким образом, полиморфизм *trans*- и *cis*-регуляторных элементов так же, как и их взаимодействия, могут играть ключевую

роль в гетеротической экспрессии генов в потомстве F_1 , обуславливая все возможные типы действия генов при гетерозисе.

В целом исследования механизмов экспрессии генов в F_1 не дают однозначного ответа относительно того, какие наблюдаемые изменения являются коррелятивными, причинными или предсказательными для гетерозиса. Тем не менее некоторые попытки связать уровень экспрессии генов с гетерозисом F_1 кажутся многообещающими. Результаты транскриптомного анализа, выполненного на кукурузе (Stupar, Springer, 2006; Ding et al., 2014), арабидопсисе (Vuylsteke et al., 2005) и рисе (Huang et al., 2006; Zhang et al., 2008) с использованием современных технологий генетического профилирования, показали, что при гетерозисе имеет место сложная регуляция. Если экспрессия гена, кодирующего ТФ-репрессор, подавляется, то активность других зависимых от данного репрессора генов этой сети будет восстановлена и приведет к каскадным эффектам на различных уровнях (в простейшем варианте – на генетическом, биохимическом, фенотипическом). С этой позиции транскриптомный подход вносит дополнительные нюансы в общую теорию гетерозиса с позиции причинно-следственных связей на различных уровнях организации.

Гетерозис и регуляторные сети, опосредованные действием генов циркадных часов

Многие регуляторные сети подчинены действию циркадных часов, которые координируют различные функциональные процессы в течение суточного цикла, в зависимости от смены фаз дня и ночи, регулируя суточную экспрессию по меньшей мере 30 % транскриптома, включая элементы, вовлеченные в фотосинтез и метаболизм крахмала (Harmer et al., 2000; Michael et al., 2008a, b). В этих системах осцилляция осуществляется посредством транскрипционно-трансляционных обратных связей с участием группы генов циркадных часов, организованных в сложную схему взаимодействий (рис. 3) (Pokhilko et al., 2012; Flis et al., 2015).

Компоненты дневного цикла включают MYB-связанные транскрипционные факторы *LHY* и *CCA1*, которые активируют экспрессию *PRR9*, *PRR7* и позже экспрессирующегося *PRR5*, но ингибируют *TOC1*. Факторы *PRR9*, *PRR7*, *PRR5* и *TOC1* образуют OR-комплекс, репрессирующий *LHY* и *CCA1* по принципу обратной связи (Pokhilko et al., 2010). Гены осцилляции *LHY* и *CCA1* подавляют экспрессию «вечерних» факторов *FLF3*, *FLF4* и *LUX (PCL1)*, чьи белковые продукты взаимодействуют и формируют другой репрессор – EC, который, как предполагается, ингибирует *ELF4*, *ELF3* и *LUX* также по принципу обратной негативной связи (Helfer et al., 2011; Nusinow et al., 2011; Pokhilko et al., 2012). G1 – крупный ритмично экспрессирующийся специфический протеин растений, функционирующий на посттрансляционном уровне посредством стабилизации *TOC1*-деградирующего фактора *ZTL* (Kim et al., 2007).

Регулирование по принципу обратной связи влияет на осцилляцию системы и зависимые механизмы, участвующие в поддержании амплитуды фаз циркадных часов (см. рис. 3, а). Нарушение осцилляторного контроля изме-

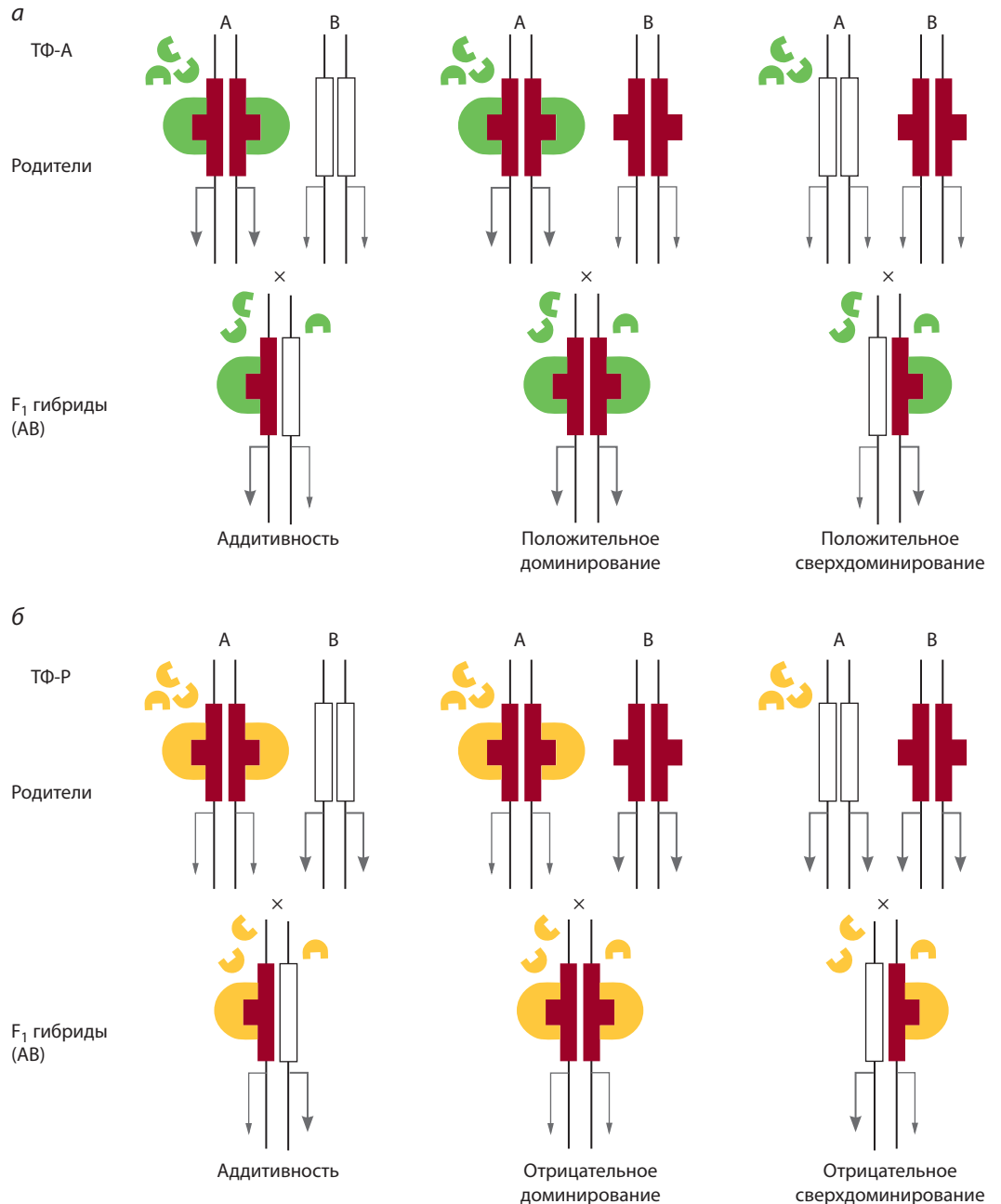


Рис. 2. Модель гетеротической экспрессии генов, согласно H. Zhang с коллегами (2008).

а – дифференциальная экспрессия транскрипционного активатора (ТФ-А) оказывает влияние на cis-элемент и обуславливает аддитивную экспрессию генов в F₁, превосходящую родительские линии (сверхдоминирование), либо сходную с лучшим родителем (доминирование); б – дифференциальная экспрессия транскрипционного репрессора (ТФ-Р) и его действие на cis-элемент приводят к аддитивной экспрессии генов в F₁ ниже обеих родительских линий (отрицательное сверхдоминирование) или сходной с худшим родителем (отрицательное доминирование).

Красная фигура соответствует cis-элементу; белый прямоугольник – отсутствие cis-элемента; зеленый эллипс – TF-активатор; желтый эллипс – TF-репрессор; серые линии – генные транскрипты.

няет экспрессию около 10 % генов *Arabidopsis*, тогда как поддержание регуляции циркадных часов на высоком уровне увеличивает фиксацию CO₂, рост и приспособительные характеристики (фитнесс) растений (Flis et al., 2015).

У арабидопсиса такие репрессоры часов, как *CCA1*, подавлены в течение дня, что обеспечивает активацию путей фотосинтеза, метаболизма углеводов, аккумуляцию

хлорофиллов, крахмала и сахаров (Ni et al., 2009; Miller et al., 2012). В результате в течение дня больше аккумулируется сахаров и крахмала, которые могут быть использованы ночью для обеспечения ростовых процессов (Graf et al., 2010; Shen et al., 2012). У супергибрида риса QTL основных компонентов урожая ассоциированы с экспрессионными изменениями генов циркадных часов

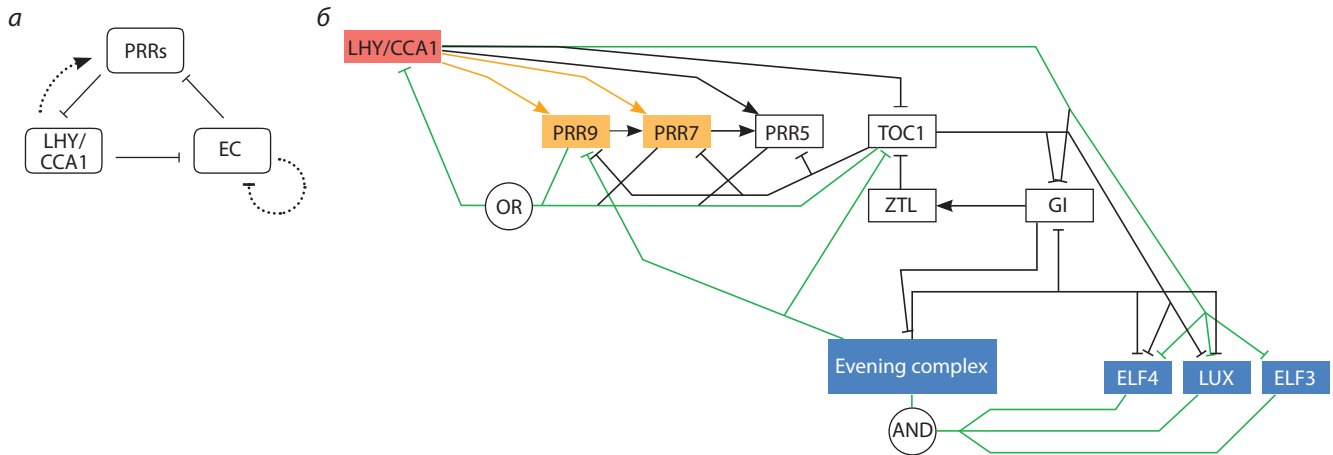


Рис. 3. Генные сети циркадных часов: *а* – упрощенная (Pokhilko et al., 2012); *б* – развернутая (Flis et al., 2015) модели.

LHY – late elongated hypocotyl; CCA1 – circadian clock associated; PRR – pseudo-response regulator; TOC – timing of cab expression; GI – gigantea; ZTL – zeitlupe; ELF – early flowering; LUX – lux arrhythmia или phyto clock 1; EC – evening complex.
Репрессоры – зеленые линии; утренние компоненты – желтый цвет; вечерние – синий цвет.

и световых сигнальных путей (Song et al., 2010). G. Shen с коллегами (2015) при проведении сравнительного анализа линий и реципрокных гибридов риса (*indica* × *indica*, *indica* × *japonica*, *japonica* × *japonica*) показали, что F_1 с урожайностью на уровне лучшего родителя имеют повышенную энергоаккумулирующую способность, которая пропорциональна экспрессии нижележащих в сети генов циркадных часов, что согласуется с данными R.Q. Fang с коллегами (2013). Изменение экспрессионных пиков генов циркадных часов может также влиять на такие биологические механизмы, как стрессоустойчивость, работа генов сигнальных путей фитогормонов, регулирование иммунитета растений, выражаемое в синхронизации защитного ответа с циркадным поведением насекомых, суточными ритмами патогенов (Mikkelsen, Thomashov, 2009; Wang et al., 2011; Goodspeed et al., 2012).

Уровень экспрессии генов циркадных часов у гибридов влияет на зависимые признаки и может приводить к более мощному росту. Механизм изменения амплитуды, вероятно, связан с модификациями гистонов. Как показано для *A. thaliana*, циркадная осцилляция в генной экспрессии происходит параллельно осцилляции модификаций гистонов H3K56ac, H3K9ac, H3K4me3, H3K4me2 (Malapeira et al., 2012). Это можно трактовать как модификацию хроматина, ведущую к репрессии или активации циркадных регуляторов, что, в свою очередь, изменяет экспрессию опосредованных их действием генов. Таким образом, связанное с изменением амплитуды циркадных ритмов увеличение экспрессии генов циркадных часов и зависимых генетических факторов цепи у гетеротических гибридов по сравнению с экспрессией инбредных родителей поддерживает модель мультигенного гетерозиса с позиции энергоэффективного использования и быстрой прогрессии эндогенных процессов, при которых гибриды развиваются более эффективно, чем исходные родительские формы. Все это свидетельствует о значимой роли амплитуды осцилляций циркадных часов для формирования гетеротического ответа гибридов F_1 .

Эпигенетические факторы и гетерозис

В последних исследованиях гетерозиса немаловажное значение придается эпигенетическим эффектам, которые регулируют транскрипцию, дифференцировку клеток и неменделеевское наследование. У растений наследуемые эпигенетические изменения в большей степени связаны с метилированием ДНК, которое чаще всего обнаруживается в повторяющихся последовательностях, транспозонах, промоторных и межгенных областях, псевдогенах и внутригенных регионах и может охватывать до 1/3 всех конститутивно экспрессирующихся генов, содержащих динуклеотиды CG (Zhang et al., 2006). Многие исследования подтвердили, что эпигенетические эффекты, включая метилирование цитозина (^mC) ДНК, могут быть причастны к проявлению гетерозиса (He et al., 2013). Эпигенетика способна объяснить один из наиболее интересных вопросов, связанный с проявлением значимого гетеротического эффекта в F_1 от генетически сходных родителей. Экспериментальные данные показывают, что родители с высоким сходством геномов могут иметь значительные различия в эпигеноме, что может быть существенным для формирования гетеротических фенотипов.

Исследования гибридов кукурузы выявили различия в шаблонах метилирования в сравнении с исходными родительскими линиями (Zhao et al., 2007). Аналогично, у риса уровень дифференциального метилирования инбредов коррелировал с транскрипционными изменениями в F_1 (He et al., 2010). H. Shen с коллегами (2012), осуществив полногеномное mC-профилирование линий Ler-0, C24 *A. thaliana* и их реципрокных гибридов, обнаружили, что уровень ДНК-метилирования в F_1 повышен. При изучении этих же линий I.K. Greaves с коллегами (2012) выявили 23 % различий, в которых наибольшая вариация соответствовала CNN-последовательностям внутригенных и фланкирующих областей, а уровень CNN-метилирования оказался значимо ниже, чем в среднем у родителей.

В наших исследованиях статуса метилирования в двух группах гетерозисных гибридов перца сладкого, полу-

ченных в независимых диаллельных схемах скрещивания, было обнаружено снижение числа метилированных локусов в F_1 как в дифференциально метилированных областях, так и в локусах со сходным эпигенетическим статусом (Шаптуренко и др., 2015). Общее число неметилированных локусов в F_1 было ассоциировано ($r = 0,65$) с гипотетическим гетерозисом по признаку «масса плодов с растения», тогда как влияние метилированных локусов оказалось недостоверным. При этом уровень детерминации (r^2) гипотетического гетерозиса эпигенетическим статусом dMet (деметилирование) в первой группе достигал 82 %. Интересен тот факт, что один из лучших гибридов характеризовался отсутствием метилирования во всех проанализированных локусах относительно родителей и при этом показал наиболее высокий гетерозисный эффект. Во второй группе гибридов также наибольшее значение ($r = 0,91$) имело снижение эффекта метилирования по ряду локусов и несколько меньший вклад ($r = 0,86$) привносило метилирование *de novo*. Существование тесных связей между гетерозисом и числом метилированных/неметилированных локусов свидетельствует о том, что гибридизация обуславливает возникновение эпигенетических модификаций гибридного генома, которые связаны с метилированием ДНК, либо снятием его эффекта – деметилированием. Такие модификации влияют на функциональное состояние различных генов, вызывая каскадные реакции в генных сетях, которые, в свою очередь, могут приводить к оптимальному протеканию метаболизма и способствовать формированию гетеротического ответа на уровне гибридного генома.

У гибридов риса значительное число локусов метилировано неаддитивно (He et al., 2010). При этом реципрокные гибриды различаются числом таких локусов, хотя в среднем около 75 % из них имеют повышенный уровень метилирования. Преобладание локусов с повышенным уровнем mC также обнаружено у гибридов *A. thaliana*, а неаддитивные эффекты в F_1 соответствуют локусам, дифференциально метилированным между родителями (Groszmann et al., 2011b). В обоих случаях, и у риса и у арабидопсиса, такое локус-специфическое увеличение уровня метилирования в отношении средней обоих родителей (mid parental value, MPV) свидетельствует о *trans*-хромосомном эффекте, при котором присутствие гиперметилированного аллеля вызывает метилирование гомолога. Хотя у обеих культур наблюдается тенденция к увеличению mC (метилцитозина) в неаддитивных локусах, выявляется значимая доля локусов со сниженным уровнем метилирования, что также можно интерпретировать как *trans*-хромосомный эффект (Groszmann et al., 2011b). В целом такие *trans*-эффекты можно рассматривать в контексте парамутаций, когда доминантный парамутационный аллель, эквивалентный «лучшему» родителю, индуцирует изменения в экспрессионном состоянии парамутационного аллеля, т. е. эквивалентного «слабому» родителю.

Эпигенетическая регуляция транскрипции в геноме осуществляется при помощи класса малых РНК, включающих интерферирующие РНК (siRNA), микроРНК (miRNA) и *trans*-действующие siRNA (ta-siRNA) (Chapman, Carrington, 2007; Chen, 2009). Биогенез основной

группы 24-нуклеотидных siRNA у растений зависит от RNA полимеразы IV (Pol IV), RNA-зависимой RNA-полимеразы 2 (RDR2) и эндонуклеазы DICER-LIKE 3 (DCL3). Эти РНК взаимодействуют с ARGONAUT4 (AGO4), что приводит к метилированию (RdDM – RNA directed DNA methylation) в локусе-мишени и сайленсингу генов (Law, Jacobsen, 2010; Naag, Pikaard, 2011). Большинство siRNA происходят от TEs и повторяющихся элементов и, следовательно, дивергируют между видами и отдельными линиями. Действительно, с siRNA связаны различия между аллотетраплоидами, гибридами F_1 и исходными родительскими линиями (He et al., 2010; Groszmann et al., 2011a; Barber et al., 2012; Shen et al., 2012), которые обусловлены изменениями шаблонов экспрессии (Ng et al., 2012). Как показано на рекомбинантных изогенных линиях (RIL), некоторые si- и miRNA вовлечены в процессы, обуславливающие формирование трансгрессивных фенотипов (Shivaprasad et al., 2012). Эти данные подтверждают их потенциальную роль в реализации гетеротического ответа в F_1 .

М. Groszmann с коллегами (2011a) показали, что изменения в экспрессии генов гибридов связаны с локус-специфическим метилированием, обусловленным ta-siРНК. В данном случае при объединении гамет в F_1 siРНК одного родителя находят новые мишени в геноме или транскриптоме противоположного родителя. Вызываемые этими взаимодействиями изменения влияют на уровни экспрессии в F_1 (Ong-Abdullah et al., 2015). Следовательно, ери-аллельная вариабельность может влиять на развитие организма, его функциональные свойства, а также обуславливать гетерозис в F_1 .

Как показала многочисленных исследований, локусы с измененными уровнями siRNA часто связаны с конститутивно экспрессирующимися генами (Groszmann et al., 2011a). Это говорит о том, что изменение активности немногих генов, подвергшихся эпигенетическим изменениям, может привести к каскадным эффектам в генной сети и способствовать гетерозису. Действительно ли эти изменения обуславливают гетерозис, зависит от конкретных ери-аллелей, присутствующих у родителей. Согласно М. Groszmann с коллегами (2011a), изменение ери-аллелей у гибридов вследствие изменения уровней siRNA, TCM (trans-chromosomal methylation), или TCdM (trans-chromosomal demethylation) может соответствовать классическим генетическим моделям доминирования и сверхдоминирования, что указывает на необходимость рассмотрения действия ери-аллелей в отношении механизмов гибридной силы. Основываясь на собственных и опубликованных экспериментальных данных, М. Groszmann с коллегами (2011a) заключили, что транскрипционная активность каждого аллеля опосредована состоянием хроматина, определяемого эпигенетическими модификациями, в том числе связанными с действием siRNA. Авторы выделили несколько возможных взаимодействий в гибридном эпигеноме, отличающихся от ожидаемого среднего родительских линий (рис. 4).

1. Отсутствие siRNA, ассоциированной с гиперметилированным P_1 -аллелем, приводит к аддитивному эффекту, что выражается в уровне транскрипции, соответствующему среднему обоих родителей.

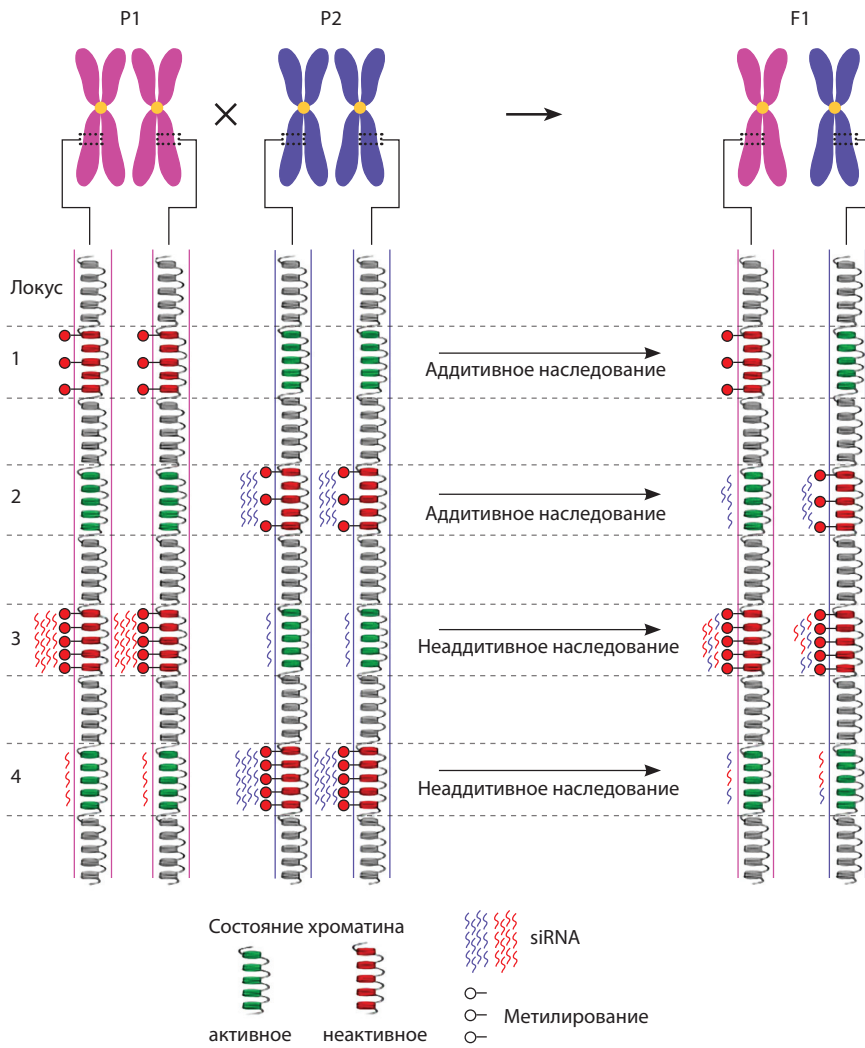


Рис. 4. Модель наследования локус-специфического уровня siRNA и метилирования ДНК гибридами F₁ (Groszmann et al., 2011a).

2. siRNA ассоциирована с метилированным P₂-аллелем. Унаследованные от P₂ siRNA действуют на оба аллеля на уровне, достаточном для поддержания метилирования P₂-аллеля, но недостаточном для преодоления порога, определяемого активным состоянием P₁-аллеля. Таким образом, родительские аллели в F₁ сохраняют исходный эпигенетический статус, что также приводит к аддитивному наследованию.
3. Полученные гибридом от P₁ siRNA ассоциированы с обоими аллелями. Их активность превышает пороговый уровень, позволяет поддерживать метилирование P₁-аллеля, а также осуществлять *de novo* метилирование P₂ аллеля, что приводит к сайленсингу. В результате ТСМ транскрипционный уровень гибрида оказывается ниже среднего родителей.
4. Наследуемая от P₂ siRNA ассоциируется в F₁ с обоими аллелями. Такая ко-ассоциация приводит к снижению уровня активности siRNA в каждом аллеле ниже порога, необходимого для поддержания метилирования и, как следствие, – к деметилированию обоих аллелей. Наблюдаемое неаддитивное наследование обусловлено TCdM, которое приводит к повышению уровня транскрипции в сравнении с родителями.

У гибридов риса и арабидопсиса выявляется значимая доля локусов с редуцированным уровнем метилирования. Локализованное неаддитивное снижение метилирования наблюдается у рекомбинантных изогенных линий

A. thaliana. Это подтверждает, что TCdM обусловлено взаимодействием родительских *eri*-аллелей и не зависит от различий в нуклеотидных последовательностях (Reinders et al., 2009). Предположительно, для проявления гетерозиса наибольшее значение имеет TCdM, которое обеспечивает повышение транскрипционного уровня и, как следствие, может приводить к более высокому выражению зависимых признаков. Снижение гетерозиса в последующих поколениях также можно объяснить с точки зрения эпигенетики. С одной стороны, это происходит в результате разрушения гетеротических агрегаций аллелей, с другой, в последующих поколениях *eri*-аллели, оказываясь в измененном генетическом окружении, могут меняться посредством тех же механизмов, которые ответственны за изменение эпигенома F₁.

К одному из возможных механизмов регуляции гетерозиса относят геномный импринтинг (англ. parent-of-origin эффект), при котором дифференциальная экспрессия генов зависит от принадлежности аллелей к материнскому или отцовскому типу (Garnier et al., 2008; Bauer, Fischer, 2011). Использование РНК-Seq и кДНК-AFLP позволило выявить большое число кандидатов на роль импринтированных генов как по материнскому (iMEGs), так и по отцовскому (iPEGs) типам у однодольных культур *Zea mays*, *Oryza sativa* (Luo et al., 2011; Waters et al., 2011) и *A. thaliana* (Wolff et al., 2011). У растений большинство примеров импринтинга наблюдается в ткани эндосперма (Jullien, Berger, 2009; Springer, Gutierrez-Marcos, 2009). В некоторых случаях обнаруживается параллелизм событий для разных культур, при котором выявляется импринтинг ортологов, как показано для кукурузы, риса и арабидопсиса (Waters et al., 2011). Важным и, возможно, основным компонентом регулирования импринтинга также является ДНК-метилирование, обуславливающее реорганизацию хроматина. В ряде исследований, выполненных на различных культурах, наблюдалось практически полное деметилирование материнского генома в тканях эндосперма (Lauria et al., 2004; Ze-

mach et al., 2010; Hsieh et al., 2011). Многие из таких областей соответствуют мобильным элементам (Gehring et al., 2009; Zemach et al., 2010). Предположительно, деметилирование в эндосперме необходимо для усиления эффекта сайленсинга мобильных элементов в прилежащей эмбриональной ткани (Springer, 2009; Mosher, Melnyk, 2010). В дополнение к ДНК-метилированию существуют доказательства участия в регуляции импринтинга группы Polycomb-протеинов, модифицирующих гистоны (Köhler, Weinhofer-Molisch, 2010; Raissig et al., 2011).

В настоящее время нет единого мнения о причинах возникновения импринтинга. С точки зрения молекулярной биологии, этот феномен может быть связан с большой группой *pol IV*-зависимой siRNAs (*p4 siRNAs*), так как эти интерферирующие РНК передаются от матерей (Mosher et al., 2009). В исследованиях *A. thaliana* было показано, что экспрессия материнских *p4 siRNAs* негативно коррелирует с экспрессией группы *AGL (AGAMOUS-LIKE)* генов, кодирующих транскрипционный фактор *MADS-box*, который экспрессируется в эндосперме и влияет на размер семян (Lu et al., 2012). Реципрокные гибриды выявили *parent-of-origin* эффект в уровне экспрессии генов *AGL* и, соответственно, в размере семян. Как предполагают авторы, различия между родителями в siRNA и статусе метилирования при объединении их генетического материала в F_1 приводят к возникновению у гибридов метилирования *de novo* через RdDM. Эпигенетические модификации, включая RdDM и гистоновые метки на родительских аллелях, могут обеспечивать «память», которая приводит к *parent-of-origin* эффектам в экспрессии и может влиять на формирование гетеротического фенотипа, как наблюдалось у реципрокных гибридов *A. thaliana*. В исследованиях P. Ryder с коллегами (2014), ориентированных на изучение эффекта полиплоидизации и гибридизации, была подтверждена роль *parent-of-origin* эффекта в проявлении гетерозиса гибридами *A. thaliana*. Некоторые модуляции выявлялись при скрещивании форм с одинаковым уровнем пloidности, тогда как другие соотносились только с межпloidными скрещиваниями.

Заключение

Совокупность исследований, выполненных на разных видах растений при изучении феномена гетерозиса, свидетельствует о сложной иерархии связей и взаимодействий между многочисленными компонентами генетических сетей, действие которых приводит к каскадным эффектам, затрагивающим эпигеном, транскриптом, протеом и метаболом, а, следовательно, и эффективность работы всех систем, обуславливая формирование гетеротического ответа в F_1 .

Очевидно, что гетерозис должен рассматриваться как результат сложных взаимодействий, которые приводят к комплексу изменений на уровне генных, эпигенетических, биохимических и регуляторных сетей. Такой подход связывает генетическую составляющую с биохимическими механизмами и служит основой интеграции данных полногеномных исследований, транскриптомики, эпигеномики, протеомики и метаболомики для построения всеобъемлющих генетической и математической моделей, описывающих механизмы формирования гетеротического

ответа в F_1 и позволяющих выявлять ключевые факторы для прикладного использования в селекции.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках договора Б14-131.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Орловская О.А., Корень Л.В., Хотылева Л.В. Влияние степени генетической дивергенции родителей на уровень гетерозиса F_1 -гибридов яровой тритикале. Экол. генетика. 2012;X(3):3-9. DOI http://www.ecolgenet.ru/ru/system/files/3-9_Orlovskaya_ecol_3_2012.pdf.
- Шаптуренко М., Вакула С., Тарутина Л., Мишин Л., Хотылева Л. MSAP-анализ дифференциального метилирования ДНК линий и гибридов F_1 перца сладкого (*Capsicum annuum* L.). Матер. II Междунар. науч. конф. «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы». Минск, Беларусь (13-16 октября 2015). Минск: Технология, 2015.
- Шаптуренко М.Н., Печковская Т.В., Вакула С.И., Якимович А.В., Забара Ю.М., Хотылева Л.В. Информативные EST-SSR-маркеры для типирования и внутривидовой дифференциации *Brassica oleracea* var. *capitata* L. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016a; 20(1):51-56. <http://vavilov.elpub.ru/jour/article/download/524/611>.
- Шаптуренко М.Н., Тарутина Л.А., Мишин Л.А., Кубрак С.В., Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Перспективы предсказания генетического потенциала F_1 томата (*Solanum lycopersicum* L.) на основе оценки SSR полиморфизма. Экол. генетика. 2014a;XII(3):3-11. DOI http://ecolgenet.ru/ru/system/files/EG_2014_3_03.pdf.
- Шаптуренко М.Н., Тарутина Л.А., Мишин Л.А., Кубрак С.И., Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Связь дифференциального ДНК-полиморфизма томата (*Solanum lycopersicum* L.) с гетеротическим потенциалом гибридов F_1 . Докл. НАН Беларуси. 2016b; 50(5):101-107.
- Шаптуренко М.Н., Якимович А.В., Забара Ю.М., Хотылева Л.В. Вклад молекулярно-генетической дивергенции капусты белокочанной в реализацию продуктивного потенциала гибридов F_1 . Докл. НАН Беларуси. 2014b;58(5):80-86.
- Barber W.T., Zhang W., Win H., Varala K.K., Dorweiler J.E., Hudson M.E., Moose S.P. Repeat associated small RNAs vary among parents and following hybridization in maize. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2012;109:10444-10449. DOI 10.1073/PNAS.1202073109.
- Basunanda P., Radoev M., Ecke W., Fridt W., Becker H.C., Snowdon R.J. Comparative mapping of quantitative trait loci involved in heterosis for seedling and yield traits in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Theor. Appl. Genet. 2010;120:271-281. DOI 10.1007/s00122-009-1133-z.
- Bauer M.J., Fischer R.L. Genome demethylation and imprinting in the endosperm. Curr. Opin. Genet. Dev. 2011;14:162-167. DOI 10.1016/J.PBI.2011.02.006.
- Bingham E.T., Groose R.W., Woodfield D.R., Kidwell K.K. Complementary gene interactions in alfalfa are greater in autotetraploids than diploids. Crop Sci. 1994;34:823-829. DOI 10.2135/cropsci1994.0011183X003400040001x.
- Brachi B., Faure N., Horton M., Flahauw E., Vazquez A., Nordborg M. Linkage and association mapping of Arabidopsis thaliana flowering time in nature. PLoS Genet. 2010;6:e1000940. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1000940>.
- Chapman E.J., Carrington J.C. Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways. Nat. Rev. Genet. 2007;8:884-896. DOI 10.1038/nrg2179.

- Chen W., Zhang Y., Liu X.P., Chen B.Y., Tu J.X., Fu T.D. Detection of QTL for six yield-related traits in oilseed rape (*Brassica napus*) using DH and immortalized F2 population. *Theor. Appl. Genet.* 2007;115(6):849-858. DOI 10.1007/s00122-007-0613-2.
- Chen X. Small RNAs and their roles in plant development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2009;25:21-44. DOI 10.1146/annurev.cellbio.042308.113417.
- Chen Z.J. Molecular mechanisms of polyploidy and hybrid vigor. *Trends Plant Sci.* 2010;15(2):57. DOI 10.1016/j.tplants.2009.12.003.
- Cowen N.M., Frey K.J. Relationship between genealogical distance and breeding behaviour in oats (*Avena sativa* L.). *Euphytica.* 1987;36(2):413-424. DOI 10.1007/BF00041484.
- Cox T., Kiang Y., Gorman M., Rodgers D. Relationship between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the soybean. *Crop Sci.* 1984;25:529-532. DOI 10.2135/cropsci1985.0011183X002500030023x.
- Ding H., Qin Ch., Luo X., Li L., Ch Z., Liu H., Gao J., Lin H., Shen Y., Zhao M., Lübberstedt Th., Zhang Zh., Pan G. Heterosis in early maize ear inflorescence development: a genome-wide transcription analysis for two Maize inbred lines and their hybrid. *Int. J. Mol. Sci.* 2014;15:13892-13915. DOI 10.3390/ijms150813892.
- Falconer D.S., Mackay T.F. Introduction to quantitative Genetics. London: Longman Group Ltd, 1996.
- Fang R.Q., Li L.Y., Li J.X. Spatial and temporal expression modes of microRNAs in an elite rice hybrid and its parental lines. *Planta.* 2013;238(2):259-269. DOI 10.1007/s00425-013-1881-5.
- Flis A., Fernández A.P., Zielinski T., Mengin V., Sulpice R., Stratford K., Hume A., Pokhilko A., Southern M.M., Seaton D.D., McWatters H.G., Stitt M., Halliday K.J., Millar A.J. Defining the robust behaviour of the plant clock gene circuit with absolute RNA time-series and open infrastructure. *Open Biol.* 2015;5(10):150042. DOI 10.1098/rsob.150042.
- Garcia A.A., Wang S., Melchinger A.E., Zeng Z.B. Quantitative trait loci mapping and the genetic basis of heterosis in maize and rice. *Genetics.* 2008;180:1707-1724. DOI 10.1534/genetics.107.082867.
- Garnier O., Laouielle-Duprat S., Spillane C. Genomic imprinting in plants. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2008;626:89-100.
- Gehring M., Bubb K.L., Henikoff S. Extensive demethylation of repetitive elements during seed development underlies gene imprinting. *Science.* 2009;324(5933):1447-1451. DOI 10.1126/science.1171609.
- Goodman M., Lasker G. Measurement of distance and propinquity in anthropological studies. Eds. J. Crow, C. Denniston. *Genetic Distance.* New York: Plenum Press, 1974;5-21. DOI 10.1007/978-1-4684-2139-2_2.
- Goodspeed D., Chehab E., Min-Venditti A., Braam J., Covington M. *Arabidopsis* synchronizes jasmonate-mediated defense with insect circadian behavior. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012;109(12):4674-4677. DOI 10.1073/pnas.1116368109.
- Graf A., Schlereth A., Stitt M., Smith A. Circadian control of carbohydrate availability for growth in *Arabidopsis* plants at night. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010;107:9458-9463. DOI 10.1073/pnas.0914299107.
- Greaves I.K., Groszmann M., Ying H., Taylor J.M., Peacock W.J., Dennis E.S. Trans chromosomal methylation in *Arabidopsis* hybrids. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012;109:3570-3575. DOI 10.1073/pnas.1201043109.
- Groszmann M., Greaves I.K., Albert N., Fujimoto R., Helliwell C.A., Dennis E.S., Peacock W.J. Epigenetics in plants – vernalisation and hybrid vigour. *Biochem. Biophys. Acta.* 2011a;1809:427-437. DOI 10.1016/j.bbagr.2011.03.006.
- Groszmann M., Greaves I.K., Albertyn Z.I., Scofield G.N., Peacock W.J., Dennis E.S. Changes in 24-nt siRNA levels in *Arabidopsis* hybrids suggest an epigenetic contribution to hybrid vigor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011b;108(6):2617-2622. DOI 10.1073/pnas.1019217108.
- Gumber R.K., Schill B., Link W., von Kittlitz E., Melchinger A.E. Mean, genetic variance, and usefulness of selfing progenies from intra- and inter-pool crosses in faba beans (*Vicia faba* L.) and their prediction from parental parameters. *Theor. Appl. Genet.* 1999;98:569-580. DOI 10.1007/s001220051106.
- Haag J.R., Pikaard C.S. Multisubunit RNA polymerases IV and V: purveyors of non-coding RNA for plant gene silencing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2011;12(8):483-492. DOI 10.1038/nrm3152.
- Harmer S.L., Hogenesch J.B., Straume M., Chang H.-S., Han B., Zhu T., Wang X., Kreps J.A., Kay S.A. Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science.* 2000;290(5499):2110-2113. DOI 10.1126/science.290.5499.2110.
- He G., He H., Wang Deng X. Epigenetic variations in plant hybrids and their potential roles in heterosis. *J. Genet. Genomics.* 2013;40(5):205e210. DOI 10.1016/j.jgg.2013.03.011.
- He G.M., Zhu X.P., Elling A.A., Chen L.B., Wang X.F., Guo L., Liang M.Z., He H., Zhang H.Y., Chen F.F., Qi Y.J., Chen R.S., Deng X.W. Global epigenetic and transcriptional trends among two rice subspecies and their reciprocal hybrids. *Plant Cell.* 2010;22:17-33. DOI 10.1105/tpc.109.072041.
- Helfer A., Nusinow D.A., Chow B.Y., Gehrke A.R., Bulyk M.L., Kay S.A. LUX ARRHYTHMO encodes a nighttime repressor of circadian gene expression in the *Arabidopsis* core clock. *Curr. Biol.* 2011;21:126-133. DOI 10.1016/j.cub.2010.12.021.
- Hsieh T.F., Shin J., Uzawa R., Silva P., Cohen S., Bauer M.J., Hashimoto M., Kirkbride R.C., Harada J.J., Zilberman D., Fischer R.L. Regulation of imprinted gene expression in *Arabidopsis* endosperm. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011;108(5):1755-1762. DOI 10.1073/pnas.1019273108.
- Huang Y., Zhang L., Zhang J., Yuan D., Xu C., Li X., Zhou D., Wang S., Zhang Q. Heterosis and polymorphisms of gene expression in an elite rice hybrid as revealed by a microarray analysis of 9198 unique ESTs. *Plant Mol. Biol.* 2006;62:579-591. DOI 10.1007/s11103-006-9040-z.
- Jullien P.E., Berger F. Gamete-specific epigenetic mechanisms shape genomic imprinting. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2009;12(5):637-642. DOI 10.1016/j.pbi.2009.07.004.
- Kempthorne O. An Introduction to Genetic Statistics.: Ames, Iowa: Iowa State Univ. Press, 1969.
- Kim W.Y., Fujiwara S., Suh S.S., Kim J., Kim Y., Han L., David K., Putterill J., Nam H.G., Somers D.E. ZEITLUPE is a circadian photoreceptor stabilized by GIGANTEA in blue light. *Nature.* 2007;449(7160):356-360. DOI 10.1038/nature06132.
- Köhler C., Weinhofer-Molisch I. Mechanisms and evolution of genomic imprinting in plants. *Heredity.* 2010;105(13):57-63. DOI 10.1093/jxb/ers145.
- Landry C.R., Lemos B., Rifkin S.A., Dickinson W.J., Hartl D.L. Genetic properties influencing the evolvability of gene expression. *Science.* 2007;317:18-21. DOI 10.1126/science.1140247.
- Lauria M., Rupe M., Guo M., Kranz E., Pirona R., Viotti A., Lund G. Extensive maternal DNA hypomethylation in the endosperm of *Zea mays*. *Plant Cell.* 2004;16(2):510-522. DOI 10.1105/tpc.017780.
- Law J.A., Jacobsen S.E. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat. Rev. Genet.* 2010;11:204-220. DOI 10.1038/nrg2719.
- Lisec J., Steinfath M., Meyer R.C., Selbig J., Melchinger A.E., Willmitzer L., Altmann T. Identification of heterotic metabolite QTL in *Arabidopsis thaliana* RIL and IL populations. *Plant J.* 2009;59(5):777-788. DOI 10.1111/j.1365-3113.2009.03910.x.
- Lu J., Zhang C., Baulcombe D.C., Chen Z.J. Maternal siRNAs as regulators of parental genome imbalance and gene expression in endosperm of *Arabidopsis* seeds. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012;109:5529-5534. DOI 10.1073/pnas.1203094109.
- Luo M., Taylor J.M., Spriggs A., Zhang H., Wu X., Russell S., Singh M., Koltunow A. A genome-wide survey of imprinted genes in rice seeds reveals imprinting primarily occurs in the endosperm. *PLoS Genet.* 2011;7(6):e1002125. DOI 10.1371/journal.pgen.2011.7(6):e1002125.
- Malapeira J., Khaitova L.C., Mas P. Ordered changes in histone modifications at the core of the *Arabidopsis* circadian clock. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012;109(52):21540-21545. DOI 10.1073/pnas.1217022110.

- Manjarrez-Sandoval P., Carter T.E., Webb D.M., Burton J.W. RFLP genetic similarity estimates and coefficient of parentage as genetic variance predictors for soybean yield. *Crop Sci.* 1997;37(3):698-703. DOI 10.2135/cropsci1997.0011183X003700030002x.
- Melchinger A.E., Gumber R.K., Leipert R.B., Vuylsteke M., Kuiper M. Prediction of testcross means and variances among F₃ progenies of F₁ crosses from testcross means and genetic distances of their parents in maize. *Theor. Appl. Genet.* 1998;96(3-4):503-512. DOI 10.1007/s001220050767.
- Meyer R.C., Kusterer B., Lisek J., Steinfath M., Becher M., Scharr H., Melchinger A.E., Selbig J., Schurr U., Willmitzer L., Altmann T. QTL analysis of early stage heterosis for biomass in *Arabidopsis*. *Theor. Appl. Genet.* 2010;120(2):227-237. DOI 10.1007/s00122-009-1074-6.
- Michael T.P., Breton G., Hazen S.P., Priest H., Mockler T.C., Kay S.A., Chory J. A morning-specific phytohormone gene expression program underlying rhythmic plant growth. *PLoS Biol.* 2008a;6(9):e225. DOI 10.1371/journal.pbio.0060225.
- Michael T.P., Mockler T.C., Breton G., McEntee C., Byer A., Trout J.D., Hazen S.P., Shen R., Priest H.D., Sullivan C.M., Givan S.A., Yanovsky M., Hong F., Kay S.A., Chory J. Network discovery pipeline elucidates conserved time-of-day-specific *cis*-regulatory modules. *PLoS Genet.* 2008b;4(2):e14. DOI 10.1371/journal.pgen.0040014.
- Mikkelsen M.D., Thomashow M.F. A role for circadian evening elements in cold-regulated gene expression in *Arabidopsis*. *Plant J.* 2009;60(2):328-339. DOI 10.1111/j.1365-313X.2009.03957.x.
- Miller M., Zhang Ch., Chen Z.J. Ploidy and hybridity effects on growth vigor and gene expression in *Arabidopsis thaliana* hybrids and their parents. *G3: Genes, Genomes, Genetics.* 2012;2(4):505-513. DOI 10.1534/g3.112.002162.
- Mosher R.A., Melnyk C.W. siRNAs and DNA methylation: Seedy epigenetics. *Trends Plant Sci.* 2010;15(4):204-210. DOI 10.1016/j.tplants.2010.01.002.
- Mosher R.A., Melnyk Ch.W., Kelly K.A., Dunn R.M., Studholme D.J., Baulcombe D.C. Uniparental expression of PolIV-dependent siRNAs in developing endosperm of *Arabidopsis*. *Nature.* 2009;460:283-286. DOI 10.1038/nature08084.
- Nei M. A new measure of genetic distance. Eds. J. Crow, C. Denniston. *Genetic Distance.* New York: Plenum Press, 1974;63-76.
- Ng D., Lu J., Chen Z. Big roles for small RNAs in polyploidy, hybrid vigor, and hybrid incompatibility. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2012; 15(2):154-161. DOI 10.1016/j.pbi.2012.01.007.
- Ni Z.F., Kim E.D., Ha M., Lackey E., Liu J.X., Zhang Y.R., Sun Q.X., Chen Z.J. Altered circadian rhythms regulate growth vigour in hybrids and allopolyploids. *Nature.* 2009;457:327-331. DOI 10.1038/nature07523.
- Nusinow D.A., Helfer A., Hamilton E.E., King J.J., Imaizumi T., Schultz T.F., Farré E.M., Kay S.A. The ELF4-ELF3-LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth. *Nature.* 2011;475:398-402. DOI 10.1038/nature10182.
- Ong-Abdullah M., Ordway J.M., Jiang N., Ooi S.-E., Kok S.-Y., Sarpan N., Azimi N., Hashim A.T., Ishak Z., Rosli S.K., Malike F.A., Bakar N.A., Marjuni M., Abdullah N., Yaakub Z., Amiruddin M.D., Nookiah R., Singh R., Low E.-T., Chan K.-L., Azizi N., Smith S.W., Bacher B., Budiman M.A., Brunt A., Wischmeyer C., Beil M., Hogan M., Lakey N., Lim C., Arulandoo X., Wong C., Choo Ch., Wong W., Kwan Y., Alwee S., Sambanthamurthi R., Martienssen R. Loss of Karma transposon methylation underlies the mantled somaclonal variant of oil palm. 2015;525:533-537. DOI 10.1038/nature15365.
- Pokhilko A., Fernandez A.P., Edwards K.D., Southern M.M., Halliday K.J., Millar A.J. The clock gene circuit in *Arabidopsis* includes a repressilator with additional feedback loops. *Mol. Syst. Biol.* 2012; 8:574. DOI 10.1038/msb.2012.6.
- Pokhilko A., Hodge S.K., Stratford K., Knox K., Edwards K.D., Thomson A.W., Mizuno T., Millar A.J. Data assimilation constrains new connections and components in a complex, eukaryotic circadian clock model. *Mol. Syst. Biol.* 2010;6:416. DOI 10.1038/msb.2010.69.
- Quijada P.A., Udall J.A., Lambert B., Osborn T.C. Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): Identification of genomic regions from winter germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 2006;113(3):549-561. DOI 10.1007/s00122-006-0323-1.
- Radoev M., Becker H.C., Ecke W. Genetic analysis of heterosis for yield and yield components in rapeseed (*Brassica napus* L.) by quantitative trait locus mapping. *Genetics.* 2008;179(3):1547-1558. DOI 10.1534/genetics.108.089680.
- Raissig M.T., Baroux C., Grossniklaus U. Regulation and flexibility of genomic imprinting during seed development. *Plant Cell.* 2011; 23(1):16-26. DOI 10.1105/tpc.110.081018.
- Reif J.C., Hahn V., Melchinger A.E. Genetic basis of heterosis and prediction of hybrid performance. *Helia.* 2012;35(57):1-8. DOI 10.2298/hel1257001r.
- Reinders J., Wulff B., Mirouze M., Mari-Ordonez A., Dapp M., Rozhon W., Bucher E., Theiler G., Paszkowski J. Compromised stability of DNA methylation and transposon immobilization in mosaic *Arabidopsis* epigenomes. *Gene Dev.* 2009;23(8):939-950. DOI 10.1101/gad.524609.
- Ronald J., Akey J.M. The evolution of gene expression QTL in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS ONE.* 2007;2:e678. DOI 10.1371/journal.pone.0000678.
- Ryder P., McKeown P.C., Fort A., Spillane Ch. Epigenetics and heterosis in crop plants. *Epigenetics in Plants of Agronomic Importance: Fundamentals and Applications. Transcriptional Regulation and Chromatin Remodeling in Plants.* Eds. R. Alvarez-Venegas, C. De la Pena, J.A. Casas-Mollano. 2014;X:13-31.
- Schön C.C., Dhillon B.S., Utz H.F., Melchinger A.E. High congruency of QT position for heterosis of grain yield in three crosses of maize. *Theor. Appl. Genet.* 2010;120(2):321-332. DOI 10.1007/s00122-009-1209-9.
- Semel Y., Nissenbaum J., Menda N., Zinder M., Krieger U. Overdominant quantitative trait loci for yield and fitness in tomato. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006;103(35):12981-12986. DOI 10.1073/pnas.0604635103.
- Shapturenko M., Kudelko L., Yatsевич A., Khotyleva L.V. Formation of new original material based on the genetic heterogeneity of the disomic offspring of aneuploids wheat plant. *Russ. J. Genet.* 2003; 39(11):1265-1270. DOI 10.1023/B:RUGE.0000004142.24920.d3.
- Shapturenko M.N., Tarutina L.A., Mishin L.A., Kilchevsky A.V., Khotyleva L.V. DNA divergence as a criterion of a Sweet Pepper (*Capsicum annum* L.) selection for heterosis. *Russ. J. Genet.* 2014; 50(2):138-146. DOI 10.1134/S1022795414020148.
- Shen G., Hu W., Zhang B., Xing Y. The regulatory network mediated by circadian clock genes is related to heterosis in rice. *J. Integr. Plant Biol.* 2015;57(3):300-312. DOI 10.1023/B:RUGE.0000004142.24920.d3.
- Shen H., He H., Li J. Genome-wide analysis of DNA methylation and gene expression changes in two *Arabidopsis* ecotypes and their reciprocal hybrids. *Plant Cell.* 2012;24(3):875-892. DOI 10.1105/tpc.111.094870.
- Shivaprasad P.V., Dunn R.M., Santos B.A., Bassett A., Baulcombe D.C. Extraordinary transgressive phenotypes of hybrid tomato are influenced by epigenetics and small silencing RNAs. *EMBO J.* 2012; 31(2):257-266. DOI 10.1038/emboj.2011.458.
- Song G.S., Zhai H.L., Peng Y.G., Zhang L., Wei G., Chen X.Y., Xiao Y.G., Wang L., Chen Y.J., Wu B., Chen B., Zhang Y., Chen H., Feng X.J., Gong W.K., Liu Y., Yin Z.J., Wang F., Liu G.Z., Xu H.L., Wei X.L., Zhao X.L., Ouwerkerk P.B., Hankemeier T., Reijmers T., van der Heijden R., Lu C.M., Wang M., van der Greef J., Zhu Z. Comparative transcriptional profiling and preliminary study on heterosis mechanism of super-hybrid rice. *Mol. Plant.* 2010;3(6):1012-1025. DOI 10.1093/mp/ssq046.
- Springer N.M. Small RNAs: How seeds remember to obey their mother. *Curr. Biol.* 2009;19(15):649-651. DOI 10.1016/j.cub.2009.06.049.
- Springer N.M., Gutierrez-Marcos J. Imprinting in maize. *The Maize Handbook.* Eds S. Hake, J. Bennetzen. New York: Springer, 2009: 429-440.

- Stuber C.W., Lincoln S.E., Wolff D.W., Helentjaris T., Lander E.S. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics*. 1992;132:823-839.
- Stupar R.M., Springer N.M. Cis-transcriptional variation in maize inbred lines B73 and Mo17 leads to additive expression patterns in the F₁ hybrid. *Genetics*. 2006;173:2199-2210. DOI 10.1534/genetics.106.060699.
- Udall J.A., Quijada P.A., Lambert B., Osborn T.C. Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): Identification of alleles from unadapted germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 2006;113:597-609. DOI 10.1007/s00122-006-0324-0.
- Vuylsteke M., Eeuwijk F., Hummel P., Kuiper M., Zabeau M. Genetic analysis of variation in gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*. 2005;171:1267-1275. DOI 10.1534/genetics.105.041509.
- Wang W., Barnaby J., Tada Y., Li H., Tör M., Caldelari D., Lee D., Fu X., Dong X. Timing of plant immune responses by a central circadian regulator. *Nature*. 2011;470:110-114. DOI 10.1038/nature09766.
- Waters A.J., Makarevitch I., Eichten S.R., Swanson-Wagner R.A., Yeh C.-T., Xu W., Schnable P.S., Vaughn M.W., Gehring M., Springer N.M. Parent-of-origin effects on gene expression and DNA methylation in the maize endosperm. *Plant Cell*. 2011;23:4221-4233. DOI 10.1105/tpc.111.092668.
- Wittkopp P.J. Genomic sources of regulatory variation in *cis* and in *trans*. *Cell Mol. Life Sci.* 2005;62:1779-1783. DOI 10.1007/s00018-005-5064-9.
- Wolff P., Weinhofer I., Seguin J., Roszak P., Beisel C., Donoghue M., Spillane C., Nordborg M., Rehmsmeier M., Köhler C. High-resolution analysis of parent-of-origin allelic expression in the Arabidopsis endosperm. *PLoS Genet.* 2011;7:e1002126. DOI 10.1371/journal.pgen.1002126.
- Zemach A., Kim M.Y., Silva P., Rodrigues J.A., Dotson B., Brooks M.D., Zilberman D. Local DNA hypomethylation activates genes in rice endosperm. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2010;107:18729-18734. DOI 10.1073/pnas.1009695107.
- Zhang H., Hea H., Chen L., Li L., Liang M., Wang X., Liu X., He G., Chen R., Ma L., Deng X.W. A genome-wide transcription analysis reveals a close correlation of promoter INDEL polymorphism and heterotic gene expression in rice hybrids. *Mol. Plant*. 2008;1(5):720-731. DOI 10.1093/mp/ssn022.
- Zhang X.Y., Yazaki J., Sundaresan A., Cokus S., Chan S.W.L., Chen H.M., Henderson I.R., Shinn P., Pellegrini M., Jacobsen S.E., Ecker J.R. Genome-wide high-resolution mapping and functional analysis of DNA methylation in Arabidopsis. *Cell*. 2006;126(6):1189-1201. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.08.003>.
- Zhao X.X., Chai Y., Liu B. Epigenetic inheritance and variation of DNA methylation level and pattern in maize intra-specific hybrids. *Plant Sci*. 2007;172:930-938. DOI 10.1016/j.plantsci.2007.01.002.