

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОЛА ЦВЕТКОВ И СОЗДАНИЕ НА ЕЕ ОСНОВЕ ОДНОДОМНЫХ ФОРМ КОНОПЛИ (CANNABIS SATIVA L.)

(к исследованиям Н.Н. Гришко 1930-х гг.)

С позиций современной теории наследственности анализируются две классические работы Н.Н. Гришко 1930-х годов, посвященные созданию однодомных форм конопли из двудомных. В своих исследованиях на двудомной конопле Н.Н. Гришко использовал изменчивость типа пола цветков у растений конопли, вызываемую эпигамным способом их детерминации. Этот тип изменчивости согласно современной терминологии обозначают как "эпигенетическая изменчивость", поскольку она не затрагивает кариотипические изменения в половых хромосомах, детерминирующие в норме пол цветков у конопли. Н.Н. Гришко показал, что эпигенетическая изменчивость признаков пола цветков охватывает как первичные, так и вторичные половые признаки растений. Эпигенетически измененные фенотипы растений наследуются, что успешно используют в селекционной практике. Исследования Н.Н. Гришко — это первый в мировой селекции эксперимент, в котором была эффективно использована эпигенетическая форма изменчивости половых признаков у растений, что позволило создать сорта одновременно созревающей конопли, а затем — сорта однодомной конопли.

Проблема наследственной детерминации пола цветков у растений относится к числу фундаментальных проблем общей биологии. В настоящее время детерминацию и экспрессию пола цветков у растений можно рассматривать с двух точек зрения — генетической и эпигенетической. В ретроспективном аспекте в статье анализируются две публикации Н.Н. Гришко 1930-х гг., которые являются пионерскими исследованиями, позволившими успешно реализовать в селекционной программе как генетическую, так и эпигенетическую изменчивость регуляции пола цветков у *Cannabis sativa* L. Это были первые в мире эксперименты, позволившие коренным образом перестроить селекционную технологию и создать однодомные формы конопли. "Задача создания из двудомных — однодомных и одновременно созревающих форм конопли ставится в науке впервые" (Гришко, 1935).

Наследственность и изменчивость. Онтологически понятие "наследственность" оз-

начает совокупное свойство видов обеспечивать материальную и функциональную преемственность между особями смежных поколений (воспроизводство видового архетипа). "Закон наследственной передачи <...> состоит в том, что каждое растение или животное производит однородных себе потомков: причем эта однородность заключается не столько в повторении индивидуальных признаков, сколько в повторении <...> общего строения. <...> Пшеница производит пшеницу, <...> каждый развивающийся организм принимает форму, свойственную классу, порядку, роду и виду, от которого он происходит. <...> В этом-то и проявляется, главным образом, наследственность" [15]. Из определения следует, что феномен наследственности носит сугубо типологический характер (воспроизведение инвариантных архетипов), т.е. это сущностное свойство, присущее видам, родам или другим таксономическим группам.

Наследственности сопутствует изменчивость: отдельные особи в пределах вида не являются точными копиями друг друга.

"Нет двух растений, которые нельзя бы было различить, и нет двух таких животных. Наследственность всегда сопровождается изменчивостью" [15]. Изменчивость растений в популяциях отражает их способность определенным образом перестраивать программы развития и реагировать на изменения среды обитания (биотической и абиотической), а потому в дочерних поколениях наследуются не отдельные признаки или свойства родительских растений, а их норма реакции на условия реализации онтогенетических программ развития.

На протяжении двух последних столетий трижды происходила смена взглядов на сущностные представления о наследственности, так называемая смена парадигм. В XIX в. господствовала парадигма *слитного наследования*, с начала XX в. преобладала парадигма *дискретного наследования* (менделизм), а с 1980-х годов началось становление парадигмы *эпигенетического наследования* признаков. Возникновению новых парадигм сопутствует изменение взглядов на проблему наследственности и, как следствие этого, возникают новые терминологические единицы и понятия для описания новых представлений. Смена парадигмы слитного наследования на парадигму дискретного наследования связана с развитием редукционистских взглядов на наследственность. Действительно, феномен наследственности в XX в. стали соотносить не со свойствами видовых архетипов при их воспроизведении, а со свойствами вещества наследственности в отдельной группе клеток у многоклеточных особей. Другими словами, феномен наследственности стали рассматривать не как свойство отдельного архетипа, а как облигатную совокупность свойств отдельных компонентов идиоплазмы клеток, из которых составлен индивид.

Слитное наследование признаков предполагало, что при скрещивании идиоплазмы обоих родителей сливаются (смешиваются), а изменчивость потомков (помесей) в дочерних поколениях вызвана перемешиванием у них признаков родителей. Дополнительный

источник изменчивости при слитном наследовании — случайная (ненаправленная) вариация признаков в популяциях, вызываемая влиянием на эти признаки среды обитания. Концепция слитного наследования гармонизировала с типологическим стилем мышления биологов XVIII—XIX вв., согласно которому каждому виду изначально присущ свой план строения, соответствующий его архетипу. Это представление способствовало развитию таких описательных дисциплин, как морфология, анатомия и эмбриология растений, на основе которых строилась классификация растений. Синтетический стиль мышления и эволюционизм, присущие биологам и ботаникам XVIII—XIX вв., позволили им построить филогенетические (кладистические) схемы, охватывающие множество видов растительного царства (множество архетипов). Впервые такую классификацию для растений создал шведский натуралист Карл Линней в первой половине XVIII в., положив в ее основу строение цветков. "Наиболее известная система классификации, составленная Линнеем, называлась "Система пола". Растительный мир был разделен им на 24 класса. Первые десять классов основывались на количестве тычинок, остальные — на различных характерных особенностях тычиночного комплекса, а также на связи их с плодолистиками. <...> Опубликование "Системы пола" имело шумный успех, объяснявшийся тем, что это была первая система, которая позволяла практически узнавать многие растения и каталогизировать их" [9]. К. Линней считал, что в природе ровно столько разных видов (архетипов) растений, сколько их было создано изначально (типологическая доктрина растительного разнообразия), а наблюдаемая внутривидовая изменчивость признаков (отклонения от архетипов) случайна и связана с условиями их произрастания.

Дискретное наследование признаков предполагает, что идиоплазмы двух гаметических клеток при оплодотворении совмещаются, но не смешиваются, а потому в

дочерних (гибридных) поколениях у потомков наблюдается сегрегация дискретных родительских признаков (менделевские правила наследования). Позже было установлено, что единицы наследственности (гены) локализуются в хромосомах клеточного ядра. Таким образом, идеи Менделя, Моргана и Вейсмана о принципах наследственности позволили изменить прежние представления о наследственности как о свойстве отдельных архетипов, заменив их представлением о наследственных факторах (генах), локализованных в клеточном ядре. Этот подход к природе наследственности и изменчивости породил новый (популяционный) стиль мышления в биологии: изменчивость признаков и свойств особей в популяциях, а также внутривидовое разнообразие особей стали описывать в понятиях дискретной наследственности: частота генов, генотипов и фенотипов.

Менделевский подход позволил четко регистрировать правила переноса дискретных единиц наследственности от родителей к потомкам, однако, эти правила никак не объясняли пути и способы реализации и становления изучаемых признаков в онто- и филогенезе. Источником наследственной изменчивости при дискретном наследовании служат случайные (ненаправленные) мутации генов, которые воспроизводятся (наследуются) в следующих поколениях. Естественным итогом развития менделизма стало появление в середине XX в. молекулярной биологии и генетики, согласно которым наследственными свойствами обладают не отдельные компоненты идиоплазмы и даже не отдельные сегменты хромосом, а отдельные сегменты молекул нуклеиновых кислот (химический код ДНК и РНК), точнее их кодирующие последовательности.

С установлением менделевских правил наследования признаков для многих групп растений и животных слитная форма наследственности как бы утратила значение при описании феномена наследственности, хотя все статистические методы оценки наследственной изменчивости, развитые в

XIX в. в рамках парадигмы слитной наследственности, полностью сохранили свою актуальность и донныне. Подчеркнем, что популяционное описание наследственности принципиально отличается от типологического: эти два стиля мышления не являются взаимозаменяемыми и соотносятся между собой так же как часть (или части) соотносятся с целым.

Эпигенетическое наследование признаков предполагает существование информационных дискретных единиц наследственности. Ее носителем являются компоненты идиоплазмы клеток, состоящие из дискретных единиц наследственности различной иерархической и композиционной сложности. Эти единицы в ходе индивидуального развития претерпевают изменения под влиянием внутренних или внешних воздействий и некоторые из этих изменений наследуются ("идиомодификации") [11, 18]. Точные механизмы эпигенетической изменчивости на клеточном и молекулярном уровнях остаются пока во многих случаях неизвестными. Наиболее изучен механизм эпимутаций, обусловленный химической модификацией хроматина (метилование цитозина в молекулах ДНК) в ядрах клеток [3]. Частота возникновения эпимутаций у растений достаточно высока, она превышает на порядки частоту возникновения генных мутаций. Эпимутации возникают и сегрегируют в дочерних поколениях, подчиняясь или не подчиняясь правилам Менделя.

Смена представлений о природе наследственности и изменчивости в биологии происходила всегда достаточно резко (феномен научных революций), хотя между тремя взглядами на наследственность фактически отсутствуют существенные противоречия. Все они охватывают различные аспекты наследственности и изменчивости индивидов и мультииндивидов в популяциях, дополняя друг друга и отражая видение одной и той же реальности под различными углами зрения. По нашему мнению, современные представления о наследственности и изменчивости признаков должны непроти-

воречивым образом совмещать принципы всех трех парадигм наследственности — слитной, дискретной и эпигенетической. Неудивительно, что эти парадигмальные установки о сущностной природе наследственности встречаются в различных пропорциях в работах многих авторов в течение всей истории биологии. Примером успешного сочетания двух представлений о наследственности и изменчивости (генетической и эпигенетической) могут служить исследования 1930-х годов выдающегося советского биолога и генетика Н.Н. Гришко и его учеников, впервые в науке успешно решивших задачу превращения двудомной конопля в однодомную [1, 6, 7].

Термин "эпигенетика", под которым понимают "изменение клеточного строения (клеточная дифференцировка, или гистогенез) и изменение геометрической формы (морфогенез)" [17], в работах Н.Н. Гришко не использовался. Однако онтологически Н.Н. Гришко вместе с Л.Н. Делоне достаточно четко сформулировали в предисловии к учебному пособию представление об эпигенетической наследственности, близкое к современному пониманию: "В буржуазной генетике проблема наследственности оказалась искусственно разбитой на проблему *наследственной передачи* и проблему *наследственного осуществления*, причем буржуазная генетика занималась и занимается только решением проблемы передачи, тогда как проблему осуществления она передала науке, названной "механикой развития". Такое раздробление проблемы наследственности на две проблемы, теряющие между собой связь, несомненно, является *глубоко неправильным*. Генетика, решающая проблему передачи, а не проблему осуществления, перестает видеть организм в его развитии..., а берет его в статике" [7]. Не принимая во внимание особенности лексики 1930-х гг., подчеркнем, что авторы четко формулируют понимание динамической, или эпигенетической наследственности ("наследственного осуществления"), а потому это определение можно считать од-

ним из первых определений понятия "эпигенетика".

Онтологические основы клеточной наследственности у растений и животных.

С начала XX в. центр тяжести в вопросах наследственности сместился с организменного на клеточный уровень, а чуть позже и на молекулярный. Клетка — основная структурная и функциональная единица живой материи и неудивительно, что важнейшим дополнением менделевской парадигмы наследования признаков стало представление о двух функционально различных группах клеток: соматических и генеративных (Вейсман, 1905). Формированию представлений о клеточных механизмах наследственности сопутствовало рождение концепции о зародышевом пути клеток (ЗПК), благодаря которым, как полагали, и осуществляется передача наследственных свойств от родителей к потомкам. Рождение этой концепции относится к концу XIX в. и связано с гипотезой А. Вейсмана о "веществе наследственности" (идиоплазме) клеток и о роли хромосом в наследственности. "Я называю наследственное вещество клетки ее идиоплазмой, следуя примеру Негели. <...> Он впервые уловил и обосновал понятие *идиоплазмы*, как "зачаткового вещества", определяющего все строение организма, в противоположность обыкновенной *протоплазме*. Каждая клетка содержит идиоплазму <...>, но идиоплазму зародышевой клетки я называю зародышевой плазмой или зачатковым веществом для всего организма" (Вейсман, 1905, с. 423). "Искомый носитель наследственности заключается в веществе хромосом. <...> Постоянство числа их у одного и того же вида и уменьшение путем деления при созревании дают нам право заключить, что они представляют собой постоянные образования. <...> Решающее значение имеет <...> одинаковость числа, в каком носители наследственности содержатся в обеих соединяющихся зародышевых клетках и которое всегда у растений и у животных составляет половину нормаль-

ного числа" (там же, с. 411). Представление о ЗПК позволило А. Вейсману понять, что именно генеративные клетки обеспечивают наследственную преемственность признаков и свойств между родителями и потомками. Изменения, возникающие в зародышевой плазме половых клетках, передаются потомству, а потому реальные эволюционные события, как полагал А. Вейсман, исходно возникают и фиксируются в клетках зародышевого пути. Отсюда логически следовал вывод, что эволюционные преобразования видов определяются, прежде всего, наследственными свойствами ЗПК (их идиоплазмы), тогда как идиоплазма соматических клеток (трофоплазма) никакого вклада в наследственность дочернего поколения приносить не может. Это умозаключение было сделано А. Вейсманом для животных ("неодарвинизм"), затем было автоматически перенесено на растения и в настоящее время считается общепринятым в рамках современной синтетической теории эволюции. Для корректного обсуждения мировоззренческого вопроса о роли генеративных и соматических клеток в передаче наследственных свойств от родительского поколения дочернему кратко обсудим вопрос о строении тел у животных и растений.

Животные (индивидуумы). Понятия "наследственность" и "изменчивость" одинаково актуальны как для животных, так и для растений, хотя между двумя царствами существуют принципиальные различия в морфобиологической организации их тела и, как следствие этого, — в организации и свойствах наследственных систем. Животные — это, как правило, индивидуумы, тогда как растения — мультивидуумы. Под индивидуумом (особью) понимается целостная биосистема или неделимая единица жизни. "Самый существенный признак особи — строгая взаимозависимость отдельных частей: разделить особь на части без потери "индивидуальности" невозможно. Понятие "особь" применимо лишь к высшим неколонизальным организмам"

(Биологический энциклопедический словарь, 1989, с. 435). Учитывая многоклеточность животных, определим понятие "особь" как *самовоспроизводящуюся многоклеточную систему, состоящую из двух автономных, но взаимообусловленных клеточных подмножеств, представленных соматическими и генеративными клетками* [13]. Понятия "особь" и "индивидуум" синонимичны: животное невозможно расчленить на две или большее количество частей, с условием, чтобы эти части сохраняли всю совокупность свойств, необходимых для воспроизводства потомков. У животных ЗПК вычленяется в самом начале эмбриогенеза, и в случае его повреждения восстановление не может произойти. У растений картина обратная.

Растения (мультивидуумы). В отличие от животных растения составлены из множества субиндивидов или фитомер, описываемого термином "мультивидуум". *Мультивидуум* — биосистема, составленная из множества повторяющихся единиц, реализующих собственные, включая эпигенетически измененные, программы индивидуального развития. Начало любому мультивидууму дает зиготическая или апозиготическая клетка и все субиндивиды (фитомеры) растения являются ее потомками. Любой мультивидуум делится на части — субиндивиды (черенкование, клонирование или вегетативное размножение растений), и каждая часть сохраняет всю совокупность свойств, необходимых для воспроизводства потомков. Таким образом, принципиальное отличие мультивидуума от индивидуума состоит в том, что у последних формируется лишь один ЗПК, а у мультивидуумов — множество: потенциально ЗПК может быть сформирован любым фитомером растения. Более того, у растений, в отличие от животных, любая соматическая клетка может приобрести статус стволовой клетки, сформировать зародышевые клетки и впоследствии цветков. В силу бисексуальности растительных клеток у растений активируется либо одна программа разви-

тия (закладываются тычиночные или пестичные цветки), либо одновременно две — закладываются обоеполые цветки (мультивидуальная изменчивость).

Сделаем заключение: изменения, происходящие в идиопазме соматических клеток растений, могут передаваться следующему поколению в том случае, если отдельная соматическая клетка в процессе развития становится стволовой. Подобный тип наследственной изменчивости не встречается у животных индивидуумов.

Хотя термин "мультивидуальная изменчивость" относительно новый, но подобный тип изменчивости наблюдали и ранее, обозначая его терминами "почковые вариации" или "спорты". Опираясь на многочисленные наблюдения "почковых вариаций" (мультивидуальной изменчивости) русский ботаник С.И. Коржинский в конце XIX в. впервые сформулировал понятие гетерогенезиса как основной формы наследственной изменчивости и эволюции растений [10]. Термин "гетерогенезис" по каким-то причинам не прижился в литературе, а двумя годами позже голландский ботаник Гуго де Фриз (1901 г.) применил для описания подобного рода изменчивости термин "мутация", которым пользуются и поныне. Наиболее наглядно мультивидуальная изменчивость проявляется в признаках цветков: на отдельном растении можно встретить не только тычиночные или пестичные цветки, но и одновременно тычиночные и пестичные, а также обоеполые цветки. Отсюда следует, что проблема изменчивости и наследования пола цветков, а значит и методы селекции по признакам цветков, предполагают не только знание кариотипа клеток, но и характер мультивидуальной изменчивости растений.

Пол у растений. Интерес биологов к проблеме пола цветков у растений прослеживается с давних времен, однако, начало научных исследований по данной проблеме датируется концом XVII в. (работы немецкого ботаника Р.Я. Камерариуса). "Именно Камерариус в сочинении "О поле

у растений" (1694 г.) показал, что при изоляции женских растений от мужских у двудомных растений или при удалении мужских цветков или пыльников у однодомных семена не образуются. Со времени Камерариуса мы считаем пестики женскими, а тычинки — мужскими половыми органами" [5].

Рассмотрим в ретроспективе эволюцию взглядов на проблему пола цветков у высших растений. Суть полового размножения состоит в формировании специализированных клеток — двух типов гамет, попарное слияние которых формирует зиготы, из которых развиваются эмбрионы (новые растения). В начале XX века центр тяжести исследований по проблеме пола цветков сместился с морфофизиологического на клеточный уровень (связь признаков пола цветков со структурами ядра клетки). В частности, в конце XIX — в начале XX в. появилась хромосомная теория пола, согласно которой пол цветков связан с наличием в ядрах клеток пары хромосом, отличающихся по морфологии и функции от других хромосом ядра (XY — половые, или идиохромосомы).

Мультивидуальное строение растений позволяет наблюдать на отдельном растении различные сочетания трех типов цветков: тычиночных, пестичных и обоеполых. Половой статус мультивидуума можно изобразить схематически: в квадратных скобках изображаются символы мужского и женского начала. Например, в раздельнополых или двудомных (диэцийных) популяциях представлены два типа растений — [♀] и [♂], каждый из которых формирует один тип цветков. У однодомных (моноэцийных) растений на одном растении формируются одновременно либо два типа однополых цветков [♀, ♂], либо обоеполые (гермафродитные) цветки [♂]. Возможны различные варианты мультивидуальной изменчивости. Встречаются растения, которые обозначают как субандроцийные [♂, ♀], — большая часть цветков на растении тычиночные, а меньшая — пестичные; суб-

гинецийные [♀ , ♂] — большая часть цветков на растении пестичные, а меньшая — тычиночные и т. д. Изменчивость по типам цветков на растениях популяции может быть качественной (один, два или три типа цветков на растении) и количественной: соотношение двух или трех типов цветков на растениях варьирует в различных пропорциях.

Половой статус мультивидаума определяет способы семенной репродукции растений (аутбридинг и инбридинг). В популяциях двудомных растений [♀] и [♂] материнским растениям гарантировано перекрестное оплодотворение (аутбридинг) и максимальное перекомбинирование наследственного материала в потомстве. Однако двудомность среди высших цветковых растений встречается не часто: обнаружено только около 4% раздельнополых видов, причем в большинстве ботанических семейств только единичные виды двудомны. Исключение составляет лишь семейство Salicaceae (ивы и тополя), представленное исключительно двудомными видами [23]. Большинство же растительных видов формируют либо цветки обоих полов (однодомные растения), либо только гермафродитные (обоеполые) цветки, либо цветки трех типов (♂ , ♀ и ♂). Растения с обоеполыми цветками могут размножаться как путем самооплодотворения (инбридинг), так и перекрестного оплодотворения (аутбридинг). Несмотря на широкое распространение гермафродитизма у цветковых растений, большинство растений с обоеполыми цветками размножаются путем аутбридинга, а предотвращение самоопыления у таких растений происходит благодаря генам самонесовместимости, подавляющим рост собственных пыльцевых трубок в тканях пестика [16, 22].

Половой диморфизм растений — один из наиболее наглядных примеров внутривидовой кариотипической, генетической и эпигенетической изменчивости. Соотношение половых фенотипов у животных и у двудомных растений близко к отношению $1[\text{♀}] : 1[\text{♂}]$. С генетической точки зрения это

означает, что в потомствах наблюдается моногибридная гаметическая сегрегация, т.е. пропорция двух половых фенотипов соответствует пропорции генотипов гамет у одного из родителей (гетерогаметного или "гетерозиготного" по какому-либо локусу). Распределение двух полов — прекрасный пример формально генетического описания внутривидового диморфизма. Менделевская генетика формализовала описание признаков, введя абстрактное понятие "ген", или фактор, контролирующей тот или иной признак. Первые опыты по наследованию пола цветков с использованием менделевских правил были выполнены К. Корренсом в 1907 г. на двудомной *Bryonia dioica* из семейства тыквенных (Cucurbitaceae). Результаты гибридологических экспериментов были объяснены на основе предположения: растения с тычиночными цветками — гетерозиготны (*Mm*), а с пестичными — гомозиготны (*mm*) по факторам (генам) пола цветков [23].

В дальнейшем К. Корренс углубил и расширил свои представления о наследовании и реализации пола у растений, рассматривая проблему детерминации пола цветков не только у двудомных, но и у однодомных растений [19]. Согласно его представлениям, в геномах всех покрытосеменных растений имеется AG комплекс генов, включающий два основных компонента: комплекс генов G (*gynoecia*), контролирующих развитие женских гаметофитов (пестичных цветков), и комплекс генов A (*androecia*), контролирующих развитие мужских гаметофитов (тычиночных цветков). Кроме того, в геноме есть ген или гены группы Z (*zeit*), определяющие место и время развития тычинок и пестиков у растений. Согласно представлениям К. Корренса, AGZ комплексы генов локализованы в аутосомах (или в цитоплазме клетки). У диплоидных растений присутствуют два набора этих факторов AAGGZZ, у гаплоидов только один — AGZ. Ансамбль AGZ генов контролирует формирование как первичных, так и вторичных половых признаков растений, обус-

лавливая фенотипические (гендерные) различия между полами. Каждая растительная клетка исходно бисексуальна, т. е. содержит в геноме две программы развития (AG), имея возможность реализовывать признаки, присущие либо женскому (G), либо мужскому (A) полу. Кроме комплексов AGZ в геноме имеются специфические гены, названные "реализаторами пола" и обозначенные греческими буквами α и γ . Корренс предполагал, что у растений с пестичными цветками активны $\gamma\gamma$ гены, тогда как у растений с тычиночными цветками — $\alpha\gamma$. Гены-реализаторы пола (α и γ) "решают", какая из двух потенциальных ("бисексуальных") возможностей развития AG комплекса реализуется в клетках отдельных субиндивидов или же в них реализуются обе программы одновременно.

У двудомных видов растений в реализации пола цветков, кроме AG комплекса, участвуют половые хромосомы (X и Y), действие которых аналогично действию генов-реализаторов. Половые хромосомы обычно морфологически отличны от аутосом (они могут быть мельче или крупнее аутосом), содержат больше гетерохроматина, могут вступать в конъюгацию или не конъюгировать вовсе в мейозе. Растения одного из полов (δ) обычно гетерогаметны по половым хромосомам (кариотип XY) — производят два типа гамет (X) и (Y), а другого (♀) — гомогаметны (кариотип XX) и производят один тип гамет (X). Наличие в геномах пары половых хромосом обеспечивает двудомным видам растений равенство полов в популяциях (гаметический тип сегрегации по признаку пола цветков — $1\text{♀}:1\delta$). Поскольку клетки зигот, из которых развиваются растительные эмбрионы, бисексуальны, то логично предположить, что в онтогенезе в клетках апикальных меристем, из которых дифференцируются пестичные цветки (XX-кариотип), не экспрессируется (подавлена) программа развития тычинок (мужского гаметофита) — *мужско-стерильные* растения, а в клетках, из которых дифференцируются тычиночные цветки

(XY-кариотип), — программа развития пестиков (женского гаметофита) — *женско-стерильные* растения.

Первые случаи обнаружения половых хромосом у двудомных видов растений относятся к 1920-м годам (*Elodea gigantea*, *Rumex acetosa*, *Melandrium alba*, *Humulus japonicum* и др.). "Y хромосома известна для 45 видов из 9 родов. ...Следует также отметить, что гетерохромосомы могут быть не всегда найдены. У 26 видов, принадлежащих к 22 родам, искание неодинаковых хромосом оказалось безуспешным" [14]. Известно большое количество двудомных видов растений, у которых половые хромосомы обнаружить не удалось: *Spinacea oleacea*, *Vitis cinerea*, *V. rupestris*, *V. vinifera*, *Carica papaya*, *Asparagus officinalis*, *Bryonia dioica* и др. [23]. Например, у двудомной земляники *Fragaria elator* половые хромосомы морфологически не отличаются от аутосом, а гетерогаметными являются растения с пестичными цветками (Staudt, 1952). Кроме того, известно еще два ботанических рода (*Potentilla* и *Cotula*), у которых гетерогаметны растения с пестичными цветками [23].

Конопля. Конопля посевная (*Cannabis sativa*, $2n = 20$) относится к двудомным видам растений, у которых пол цветков детерминируется половыми хромосомами: XX — растения с пестичными цветками (♀ — матерка), XY — растения с тычиночными цветками (δ — посконь). "В обычных посевах мы наблюдаем у конопли <...> отношение мужских и женских растений, близкое к 1:1, что считается результатом гетерохромосомности одного из полов" [6]. "Конопля — растение с исключительным проявлением полового диморфизма. Мужские растения отличаются от женских не только первичными признаками пола, связанными с половым размножением, но и общей архитектоникой и длиной вегетационного периода, а также рядом анатомических и физиологических признаков и другими биологическими особенностями. Переход к генеративной стадии у противо-

положных полов конопли наступает почти одновременно, однако мужские растения после дифференциации полов в течение 10—20 дней отцветают и вскоре <...> отмирают; женские же растения продолжают жить и созревают на 30—45 дней позже мужских. <...> У женских растений конопли корневая система по весу и объему в 6—8 раз более мощная, чем у мужских. Благодаря половому диморфизму у конопли ни один из вопросов биологии, физиологии, генетики и селекции <...> не могут быть изучены <...> без учета двудомности конопли" [7].

Эпигамный способ регуляция типа пола цветков у растений конопли. Кариотип конопли содержит пару половых хромосом (XY) и потому ей в норме присущ сингамный способ детерминации пола цветков (хромосомное определение пола реализуется в момент оплодотворения). Однако внешние и внутренние факторы могут оказывать влияние на экспрессию признаков пола цветков, несмотря на идентичность кариотипа клеток. Регуляция пола цветков в ходе индивидуального развития растений обозначается термином "эпигамное определение пола цветков": кариотипически идентичные фитомеры отдельного растения формируют либо тычиночные, либо пестичные, либо обоеполые цветки. Сочетание сингамной (генетической) и эпигамной (эпигенетической) форм детерминации пола цветков создает изменчивость в популяциях растений по этому признаку.

К началу работ по однодомной конопле в литературе накопилось достаточно много примеров изменчивости полового статуса цветков на отдельных растениях конопли под влиянием условий выращивания. "Еще в 1821 году Аутенрит <...> указывает, что у *Cannabis* встречаются смешаннополые индивиды. В дальнейшем целым рядом исследований, в особенности работами Мэк Фи и Шафнера, указано на переопределение пола под влиянием внешних условий. Так, Шафнер (1931) указывает, что ему удалось получить при более коротком дне в ноябре

100% превращения мужского пола в женский" [14].

Используя эпигамную форму определения пола цветков у конопли, Н.Н. Гришко в конце 1920-х годов приступил к работе по созданию: а) сортов одновременно созревающей конопли (одновременное созревание матерки и покоски) — изменение гендерных признаков растений; б) сортов однодомной конопли. Первая задача была успешно решена довольно быстро. "Такая, одновременно созревающая конопля в 1938 году занимала 13 000 га в колхозах разных областей СССР. <...> Гришко настолько феминизировал мужские растения, что, имея в начале явное преобладание мужских цветков, к концу образовывали массу обоеполых и женских цветков, дающих зрелые семена" [8].

Говоря современным языком, Н.Н. Гришко использовал мультивидуальную изменчивость растений конопли, вызванную эпигамным способом определения пола цветков. В популяциях были представлены следующие типы растений по половому статусу: диэцийные [♀, ♂] (одновременно формируются пестичные и тычиночные цветки) и триэцийные [♀, ♂, ♀] растения (одновременно формируются три типа цветков — пестичные, тычиночные и обоеполые цветки). "У конопли мы наблюдаем резкое и разнообразное изменение цветка под влиянием внешних условий. <...> Под влиянием укороченного дня, при выращивании в теплице, а также при травматических повреждениях у конопли появляются интерсексуальные цветки и цветки противоположного пола как на мужских, так и на женских растениях. <...> Эта пластичность признаков пола в цветке конопли интересна с точки зрения изучения половых различий у конопли и роли наследственности и среды в их реализации. Как мы видим, мужские и женские растения могут производить цветки противоположного пола и обоеполые. Это подтверждает правильность теории известного генетика проф. Гольдшмидта, который считает, что гены мужского пола ло-

кализованы в аутосомах, общих для обоих полов, а гены женского пола — в X и Y хромосомах. <...> Это говорит за то, что при селекционной работе травматические повреждения и фотопериоды могут быть использованы в качестве провокационного метода для выявления степени однодомности" [6].

Сегодня превращать тычиночные цветки в пестичные экспериментально можно различными путями: обрабатывая растения фитогормонами (ауксинами, цитокининами, гибберелловой кислотой), химическими веществами (абсцизовой кислотой и окисью углерода), изменяя длину фотопериода (выращивание растений при коротком или длинном световом периоде), а также травмируя цветки [20].

Программа Н.Н. Гришко по созданию однодомных форм конопли. Превращение двудомной конопли в однодомную в те годы представлялось почти неразрешимой задачей. "Управление полом у двудомных растений — задача трудная. Мы не можем пока предугадать, преодолимы ли вполне эти трудности, но пути, по которым должны быть направлены искания для получения желательных сексуальных форм, ныне намечаются" [14]. Решая задачу превращения двудомной конопли в однодомную, следовало опираться не только на изменчивость полового статуса растений, но и экспериментально доказать, что наблюдаемая изменчивость по полу цветков наследуется. Вот как формулирует эту проблему Н.Н. Гришко: "В отношении вторичных признаков мы различаем у конопли четыре основных типа: посконь, матерка, феминизированная посконь и маскулизованная матерка. Кроме того, у конопли выщепляются единичные бесполое (нейтральные) растения. <...> Эти растения не дают никаких цветов. Мы имеем здесь дело со стерильной, бесполой формой при наличии гетероморфных хромосом. <...> Перейдем теперь к полиморфизму первичных половых признаков, связанных с процессами оплодотворения у однодомных форм. Мы наб-

людаем здесь весьма разнообразные переходы, начиная от однодомных растений, где в основную массу вкраплены единичные цветки противоположного пола, и кончая однодомными растениями с обоеполыми цветками, т.е. с растениями-гермафродитами. У феминизированной поскони, кроме того, наблюдается явление последовательного гермафродитизма, а именно: после отцветания мужских цветков начинают развиваться обоеполые цветы, а после того как первые осыпятся, эти феминизированные мужские растения превращаются в типичные женские со значительным урожаем семян. Феминизированная посконь представляет также интерес для создания однодомной конопли, потому что мы имеем здесь развитие обоеполых растений в нормальных условиях" [6].

Практическая работа по созданию одновременно созревающей и однодомной конопли происходила с использованием ныне стандартных, а в 30-е годы — новейших генетических методов: инбридинга (инцухта), гаплоидии и отбора среди инбредных потомств. Очевидно, что использование инцухт-метода и отбора в инцухтированном материале возможно только по тем признакам, отбор по которым оказывается эффективным. "Безусловно, инцухт и отбор являются теми методами, которые должны получить наиболее широкое применение. Инцухт дает определенную концентрацию однодомности в потомстве. <...> Так, в первой генерации семьи №113 мы имели всего 5% однодомных, а во второй генерации после инцухта — 14%. То же мы наблюдаем и по другим семьям. <...> Кроме того, даже у двудомной конопли инцухт ведет к выщеплению рецессивной формы, какой является феминизированная посконь" [6]. Успешные селекционно-генетические исследования Н.Н. Гришко на конопле продолжались до конца 1930-х годов.

После ухода Н.Н. Гришко из Всесоюзного института лубяных культур, селекционная работа с однодомной коноплей продолжилась на базе материалов, созданных им в

предвоенные годы. Одна из учениц Гришко приводит динамику частотных соотношений одно- и двудомных форм конопля в ходе селекционных работ с 1944 по 1956 гг. и указывает, что доля однодомных растений в популяции за этот период возросла с 9,7 до 93%. "При проведении тщательной сортоочистки (удаление единичных растений поскони), однодомная конопля сохраняет в течение ряда лет до 98,5% однодомных растений. <...> Примесь обычной поскони не превышает 1%, снижаясь иногда до 0,3—0,5%. Если же сортоочистку не проводить, то в следующем году количество обычной поскони возрастает до 5%, а еще через год — до 10%. <...> Длина светового дня оказывает сильное влияние на проявление однодомности: наибольшее количество однодомных растений наблюдалось при естественном дне — 80,0—91,2 %, наименьшее — на укороченном дне — 32,5—63,3 %" [1].

Отличие эпимутаций от мутаций состоит в том, что первые встречаются в популяциях с достаточно высокой (10^{-1} — 10^0) частотой, тогда как вторые, напротив, с очень низкой (10^{-4} — 10^{-6}). Высокий уровень мультивариантной изменчивости по признакам пола цветков свидетельствует о том, что Н.Н. Гришко и его ученики имели дело с эпигенетической, а не с генетической изменчивостью. Как видно из материалов А.И. Аринштейн, прекращение отбора по признаку однодомности ведет постепенно к восстановлению соотношения половых типов в популяции конопля (частота возврата около 5% за поколение), т.е. в селекционируемой популяции наблюдалась нестабильность наследования и экспрессии признака однодомности. В 1930—1950-е гг. подобный тип изменчивости обозначали термином "модификация", которая могла быть ненаследуемой и наследуемой (идиомодификация). Идиомодификации в то время рассматривали как наследственные "аномалии", ибо они не подчинялись менделевским правилам сегрегации. Между тем, как писал И.И. Шмальгаузен, "идиомодификации входят в систему наследственности вида

наряду с генами ядра и другими единицами наследственности" [18].

Основой новых (однодомных) форм конопля были наследуемые модификации растений. "Наблюдая поведение потомства однодомных на протяжении нескольких генераций, можно сделать вывод, что признак однодомности представляет собой признак генетически обусловленный, передающийся в обычных полевых условиях по наследству. Создание однодомной конопля является поэтому задачей вполне реальной. То, что под влиянием среды мужские и женские растения могут образовывать цветы противоположного пола, нужно рассматривать как фенотипическую реализацию генотипа в условиях определенной среды. <...> Поражает та исключительная пластичность, которой обладают клетки мужских и женских растений. Из клеток с одним и тем же хромосомным набором и генотипом дифференцирующийся в пазухе листа бугорок под влиянием внешних условий дальше развивается либо в мужской, либо в женский репродуктивный орган, а иногда и в обоеполюй. <...> Мы заставляли растения путем декапитирования на втором междоузлии образовывать две ветки. Затем, произведя повреждение, травму на одном из "близнецов", мы получали превращение пола также и в другом. Это говорит о том, что на процесс детерминации клеток и на образование цветков (мужских, женских или обоеполюй) влияет состояние всего организма" [6].

Новизна исследований Н.Н. Гришко заключалась в том, что изменение полового статуса цветков у двудомной конопля происходило без изменения хромосомных формул растений, т.е. маскулицированная матерка имела кариотип XX, а феминизированная посконь — XY. Известно, что мутационную изменчивость связывают с изменениями в кодирующих последовательностях молекул ДНК, тогда так эпигенетическая не связана с подобными изменениями. У маскулицированной матерки и у феминизированной поскони никаких карио-

типических изменений в ядрах клеток не происходило: если бы это было не так, то повторное восстановление полового статуса растений было бы невозможным. Подобный тип эпигенетической изменчивости можно обозначить термином "трансдетерминация": на базе единой идиоплазмы у отдельного мультивидаума одновременно реализуются различные программы развития. Подобное перепрограммирование хода индивидуального развития позволяет получать растения как с раздельнополыми, так и с обоеполыми цветками (ротационный тип наследственной изменчивости) [12].

Известно, что в пределах отдельного клеточного ядра возможна реализация не одной, а двух или большего числа альтернативных программ развития (суперпрограмм), которые на фенотипическом уровне выглядят как вариации растений по каким-либо признакам, включая репродуктивные [12]. Изменение программ развития репродуктивных признаков связано с бисексуальностью растительных клеток, и вряд ли эти изменения связаны с какими-то нуклеотидными заменами в отдельных сайтах ДНК, вероятнее всего, они связаны с эпигенетическими (информационными) событиями в идиоплазме клеток — активацией или инактивацией отдельных генов или их ансамблей. Эпигенетическую изменчивость в популяциях растений можно обозначать термином "информационная изменчивость". Естественная изменчивость в популяциях растений по репродуктивным признакам (суперпризнакам) и выделение групп растений с альтернативными стратегиями репродукции позволяют использовать ротационную изменчивость в селекции, что и было успешно реализовано в экспериментах на конопле [1, 6, 7].

Очевидно, что кариотипическая, эпигенетическая и мутационная изменчивость в совокупности более полно описывают изменчивость растений по признакам пола цветков, чем каждая в отдельности. Созданные Н.Н. Гришко и его учениками формы

однодомной конопли имели высокий уровень мультивидуальной изменчивости. "Однодомные растения в отношении расположения обоеполых цветков противоположного пола представляют громадное разнообразие. Наряду с растениями, у которых образуются лишь единичные цветки другого пола, наблюдаются экземпляры со значительным количеством этих цветков, то собранных группами в пазухах листьев, то мозаично разбросанных по всему соцветию, то, наконец, сконцентрированных на отдельных ветках или на концах их. Весьма редко встречаются растения со всеми обоеполыми цветками, причем эти цветки в большинстве случаев уродливы и стерильны" [7].

В настоящее время сорта однодомной конопли создаются во многих странах, занимая в производственных посевах сотни тысяч гектаров [4]. Можно утверждать, что в своих теоретических поисках Н.Н. Гришко опирался на две парадигмальные концепции наследования: а) генетическое наследование пола цветков, контролируемое половыми хромосомами; б) эпигенетическую изменчивость признаков пола цветков у растений — эпигамную форму детерминации пола цветков у конопли. Осуществив отбор эпигенетически измененных растений конопли (феминизированная посконь и маскулизированная матерка), ему удалось создать формы однодомной конопли, пригодные для промышленного возделывания.

Очевидно, что интимные механизмы клеточного или молекулярного уровня, меняющие пол цветков, в 1930-е годы не были известны. Из истории селекции известно, что многие выдающиеся селекционные достижения могут быть получены без анализа молекулярных механизмов, контролирующих эти признаки. Это обычный путь в селекции растений, при котором селекционер работает с признаками, у которых, с одной стороны, имеется достаточный диапазон изменчивости, а с другой — отбор по этим признакам оказывается продуктивным. В настоящее время показано, что у двудомных видов однодомные растения можно по-

лучить не только путем длительного отбора, как это делал Н.Н. Гришко и его ученики, а прямым воздействием эпимутагенов на растения. Так, с помощью эпимутагена 5-азациитидина, подавляющего реакцию метилирования цитозина в ядрах клеток, удастся получить у двудомных растений потомство с гермафродитными цветками. Такие однодомные формы растений с помощью 5-азациитидина получены у двудомных дремы белой (*Melandrium album*) [21] и земляники восточной (*Fragaria orientalis*) [2].

Кроме анализа и описания мультивидуальной изменчивости по типам пола цветков, а также использования в работе методов инцухта и отбора, Н.Н. Гришко успешно развивал и другие популярные в 1930-е годы генетические методы модификации растений: "Наконец, последнее, над чем мы работали в целях ускорения разрешения проблемы, — это получение гаплоидов путем партеногенеза. <...> Наши собственные наблюдения <...> показывают, что партеногенетические семена у конопли могут быть получены. Кроме того, нам удалось в этом году проследить с помощью эмбриологических исследований возникновение партеногенетических зародышей из неоплодотворенной яйцеклетки у японской конопли. Это подтверждает возможность получения гаплоидов. Получение же партеногенетического потомства от однодомных позволит закрепить имеющиеся у нас сейчас формы. Таким образом, мы считаем, что при селекции однодомной формы основными методами являются инцухт с применением отбора или системы скрещиваний, а также получение полиплоидов и гаплоидов" [6].

Исследования Н.Н. Гришко в 1930-х годах открыли новую эру в методах селекции растений и позволили в короткие сроки создать сорта одновременно созревающей конопли, а позже — сорта однодомной конопли.

1. *Аринштейн А.И.* Переделка двудомных форм конопли в однодомные // *Наследственность и*

изменчивость растений, животных и микроорганизмов. — М.: Изд-во АН СССР, 1959. — Т. 2. — С. 104—110.

2. *Батурич С.О.* Сегрегация по типу пола цветков в потомстве *Fragaria orientalis* Loz после обработки семян 5-азациитидином // *Эпигенетика растений*. — Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 2005. — С. 306—310.

3. *Ванюшин Б.Ф.* Эпигенетическое метилирование ДНК — эпигенетический контроль за генетическими функциями клетки // *Биохимия*. — 2005. — **70**, № 5. — С. 598—611.

4. *Вировец В.Г., Лайко І.М., Ситник В.П. та ін.* Однодомні посівні коноплі (*Canabis sativa* L.) як приклад реверсної еволюції культури // *Фактори експериментальної еволюції організмів*. — К.: Логос, 2006. — Т. 3. — С. 18—22.

5. *Воронцов Н.Н.* Развитие эволюционных идей в биологии. — М.: Прогресс и традиция, 1999. — 640 с.

6. *Гришко Н.Н.* Новое в селекции конопли // *Доклады ВАСХНИЛ*. — 1935. — Сер. 3. — Вып. 1. — С. 5—14.

7. *Гришко Н.Н., Делоне Л.Н.* Курс генетики. — М.: Сельхозгиз, 1938. — 354 с.

8. *Джапаридзе Л.И.* Пол у растений. — Тбилиси: Изд-во АН Груз. ССР, 1963. — **1**. — 308 с.

9. *Жуковский П.М.* Ботаника. — М.: Колос, 1982. — 624 с.

10. *Коржинский С.И.* Гетерогенезис и эволюция. К теории происхождения видов // *Записки Императорской Академии наук*. — 1899. — Сер. 8, т. 9, № 2. — С. 1—94.

11. *Малецкий С.И.* Иерархия единиц наследственности, изменчивость, наследование признаков и видообразование у растений // *Эпигенетика растений*. — Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 2005. — С. 7—53.

12. *Малецкий С.И.* Ротационная изменчивость репродуктивных признаков у растений // *Фактори експериментальної еволюції організмів*. — К.: Логос, 2006. — Т. 3. — С. 274—280.

13. *Малецкий С.И., Юданова С.С.* Зародышевый путь и ствольные клетки у высших растений // *Цитология и генетика*. — 2007. — **41**, № 5. — С. 67—80.

14. *Розанова М.А.* Проблема пола у высших растений // *Теоретические основы селекции растений*. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1935. — Т. 1. — С. 145—162.

15. *Спенсер Г.* Наследственность // *Основания биологии*. — СПб.: Издание Н.П. Полякова, 1870. — С. 173—187.

16. *Суриков И.М.* Генетика внутривидовой несовместимости мужского гаметофита и пестика у

цветковых растений //Успехи современной генетики. — 1972. — № 4. — С. 119—169.

17. Уоддингтон К.Х. Основные биологические концепции //На пути к теоретической биологии. 1. Прологомены. — М.: Мир, 1970. — С. 11—38.

18. Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. — М.: Наука, 1982. — 384 с.

19. Correns C.E. Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts bei den h?hern Pflanzen // Handbuch der Vererbungswissenschaften. II. — Berlin: C. Borntraeger, 1928. — 138 S.

20. Freeman D.C., Harper K.T., Charnov E.L. Sex change in plants: old and new observation and new hypothesis // Oecologia. — 1980. — 47. — P. 222—232.

21. Janousek B., Siroky J., Vyskot B. Epigenetic control of sexual phenotype in a dioecious plant, *Melandrium album* // Mol. Gen. Genet. — 1996. — 250. — P. 483—490.

22. de Nettancourt D. Self-incompatibility in basic and applied research with higher plants //Genetica Agraria. — 1972. — 26. — P. 163—216.

23. Richards A.J. Plant breeding systems. — London: George Allen & Unwin, 1986. — 530 p.

Рекомендовал к печати Б.А. Левенко

С.І. Малецький

Інститут цитології і генетики
Сибірського відділення РАН,
Росія, м. Новосибірськ

**ЭПИГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ СТАТІ КВІТОК
І СТВОРЕННЯ НА ЇЇ ОСНОВІ ОДНОДОМНИХ
ФОРМ КОНОПЕЛЬ (*CANNABIS SATIVA* L.)**
(до досліджень М.М. Гришка 1930-х рр.)

З позицій сучасної теорії спадковості аналізуються дві класичні праці М.М. Гришка 1930-х років, присвячені створенню однодомних форм конопель із дводомних. У своїх дослідженнях на дводомних коноплях М.М. Гришко використав мінливість типу статі квіток у рослин конопель, яку спричиняє епігамний спосіб їхньої детермінації. Цей тип мінливості згідно із сучасною термінологією позначають

як "епігенетична мінливість", оскільки вона не зачіпає каріотипічні зміни у статевих хромосомах, що детермінують у нормі стать квіток у конопель. М.М. Гришко показав, що епігенетична мінливість ознак статі квіток охоплює як первинні, так і вторинні статеві ознаки рослин. Епігенетично змінені фенотипи рослин успадковуються, що успішно використовують у селекційній практиці. Дослідження М.М. Гришка — це перший у світовій селекції експеримент, в якому було ефективно використано епігенетичну форму мінливості статевих ознак у рослин, що дало змогу створити сорти конопель, які одночасно досягають, а згодом — сорта однодомних конопель.

S.I. Maletsky

Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,
Russia, Novosibirsk

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРЬИРУЕМОСТЬ ЦВЕТКОВОЙ
СТАТИ И СОЗДАНИЕ НА ЕЕ ОСНОВЕ ОДНОДОМНЫХ
ФОРМ КОНОПЛИ (*CANNABIS SATIVA* L.)**
(М.М. Гришко исследования в 1930 годах)

From positions of the modern theory of a heredity M.M. Gryshko's two classical works in 1930, devoted to creation of monoecious forms of a hemp from dioecious are analyzed. M.M. Gryshko used variability of flower type of hemp plants, caused by epigamic way of their determination. This type of variability in modern terminology designate as an epigenetic variability as it does not mention karyotypic changes in sexual chromosomes determining normally a flower sex in hemp. M.M. Gryshko has shown, that epigenetic variability of flower sexual status covers both primary and secondary characters of a sexual status in hemp. Epigenetically changed phenotypes of plants are inherited, and are successfully used in breeding of monoecious cultivars of hemp. M.M. Gryshko investigation is a first in world breeding practice experiment in which the variability of sexual characters of plants has been effectively used to create cultivars of simultaneously ripening hemp and then cultivars of monoecious hemp.