

АКТИВАЦІЯ РОСЛИННИХ LTR-ВМІСНИХ РЕТРОТРАНСПОЗОНІВ У ВІДПОВІДЬ НА СТРЕС ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ *IN VITRO*

І. І. КОНВАЛЮК, О. М. БУБЛИК, І. О. АНДРЕЄВ

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Україна, 03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150
e-mail: o.m.bublyk@imbg.org.ua

*Ретротранспозони складають значну частину геному рослин і є найбільш динамічною його частиною, завдяки чому вони відіграють суттєву роль у формуванні генетичної мінливості. Зокрема, їхня активація може призводити до структурної реорганізації та зміни розміру геному, появи нових генетичних та фенотипових варіантів, а також зміни експресії окремих генів, створюючи таким чином первинний матеріал для адаптації та еволюції. В цьому огляді зібрано літературні дані щодо активації LTR-вмісних ретротранспозонів надродин Ту1/Соріа, Ту3/Гупсу у культурі *in vitro* та під дією абіотичних та біотичних стресів. Наведено дані про їх будову, класифікацію, значення для організації та функціонування геному. Розглянуто основні механізми активації LTR-вмісних ретротранспозонів за дії стресових чинників, зокрема шляхом зміни метилювання ДНК та взаємодії стрес-індукованих транскрипційних факторів з промоторами ретротранспозонів завдяки наявності в них специфічних сайтів зв'язування та інших регуляторних елементів. Розглянуто наслідки активації ретротранспозонів та її контроль шляхом самоінактивації та епігенетичного регулювання з боку генома.*

Ключові слова: абіотичний та біотичний стрес, культура *in vitro*, Ту1/Соріа, Ту3/Гупсу.

Вступ. Мобільні генетичні елементи (МГЕ), які відкрито Барбарою МакКлінток наприкінці 1940-х років (McClintock, 1956, 1984), у більшості вищих рослин складають понад половину (у деяких злаків — до 90 %) ядерного геному. На сьогоднішній день накопичується все більше даних про те, що поряд з іншими механізмами перебудов, важливу роль у забезпеченні адаптаційних процесів та еволюції у рослин відіграють транспозиції МГЕ (Bennetzen, 2000; Todorovska, 2007; Kunakh, 2013; Oliver et al., 2013).

Накопичені відомості про жорсткий контроль переміщень МГЕ у нормальних фізіологічних умовах факторами клітин-хазяїв вкладаються у рамки висловленої Б. МакКлінток гіпотези про індукцію переміщень МГЕ як найважливіше джерело генетичної варіабельності клітин-хазяїв в умовах стресу (Alzohairy et al., 2014). МакКлінток припускала, що головна роль мобільних елементів в еволюції полягає у створенні ресурсу гіпермутабельності в стресових умовах, що веде до виникнення в популяції особин, здатних вижити, коли основна частина популяції гине (McClintock, 1984).

Активация мобільних елементів може призводити до зміни структури і механізмів регуляції окремих генів та перебудови геномів шляхом модифікації хроматину та РНК-інтерференції (Casacuberta, Santiago, 2013), транспозицій (інсерцій, ексцизій) (Alzohairy et al., 2014), хромосомних розривів, внутрішньохромосомної гомологічної чи ектопічної рекомбінації (Bennetzen, 2000; Bennetzen et al., 2005). Делеції, інверсії, транслокації та дуплікації генів, які при цьому виникають, створюють первинний матеріал для еволюції. Ці та інші генетичні та епігенетичні ефекти зумовили широке застосування мобільних елементів для трансформації в еваріотів, клонування генів, пошуку енхансерів тощо (Todorovska, 2007; Kunakh, 2013; Alzohairy et al., 2014; Songstad et al., 2017). Однак, механізми та наслідки активації МГЕ, зокрема під дією стресу, потребують детального вивчення. Одним із стресових чинників, що може призводити до активації МГЕ в геномі еваріотів, є культивування *in vitro*.

Більша частина інформації про різноманітність, розповсюдження та еволюцію мобільних елементів обмежується видами рослин, які мають сільськогосподарське значення, і модельними об'єктами, такими як *Arabidopsis thaliana*. На даний момент в геномах більше 20 видів покритонасінних рослин описано тисячі родин LTR-ретротранспозонів — мобільних елементів, які відрізняються наявністю на кінцях довгих кінцевих повторів (long terminal repeats, LTR) (Orozco-Arias et al., 2019).

Метою даного огляду було узагальнення інформації про LTR-вмісні ретротранспозони рослин, які активуються під дією стресу, зумовленого введенням в культуру *in vitro*, та вивчення механізмів і наслідків їх активації.

Класифікація МГЕ. Для всіх МГЕ характерні дві ключові властивості. Перша — це здатність до зміни власного місця розташування у геномі, за що вони і одержали свою назву, другою є здатність до збільшення кількості власних копій внаслідок транспозиції. МГЕ відрізняються за структурою і особливостями транспозиції, що дозволило поділити їх на два класи — ретротранспозони (МГЕ I класу) і ДНК-транспозони (МГЕ II класу) (Wicker et al., 2007; Todorovska, 2007; Kunakh, 2013). Завдяки повному сиквенуванню геномів вчені знаходять нові великі групи МГЕ обох класів, а також групи, які можна віднести і до ретротранспозонів, і до ДНК-транспозонів (Wicker et al., 2007; Kunakh, 2013; Gozukirmizi, 2019).

Мобільні елементи II класу здатні переміщатися в геномі завдяки так званій нереплікативній транспозиції, що полягає у вирізанні та реінтеграції самої вихідної вставки (механізм «вирізання і вставки»). Оскільки цей механізм не потребує наявності проміжної РНК-матриці, такі мобільні елементи називають ДНК-транспозонами.

Реплікативний спосіб переміщення ретротранспозонів дозволяє швидко збільшувати кількість копій елемента, що супроводжується зрос-

танням розміру геному рослини (SanMiguel et al., 1996; Bennetzen, 2000). Мутації, які виникають внаслідок інсерції ретротранспозона, виявляються стабільними на відміну від мутацій, зумовлених ДНК-транспозонами, оскільки останні при переміщенні вирізають свою вихідну копію з геному і потім вбудовуються в інший сайт, тоді як копія ретротранспозона після вбудовування в геном уже нікуди не зникає (Caru et al., 2000; Todorovska, 2007; Kalendar et al., 2020).

Дослідження, зокрема з використанням даних сиквенування низки геномів, показали, що LTR-вмісні ретротранспозони, які належать до I класу МГЕ, відіграють ключову роль в еволюції геномів рослин і саме їхній вміст визначає вражаючу різницю у розмірі геномів філогенетично близьких видів рослин (Flavell et al., 1992; Kalendar et al., 2020; Orozco-Arias et al., 2019). У рослин LTR-ретротранспозони, як правило, мають більшу чисельність та більш активні, ніж представники інших груп ретротранспозонів (див. Lorens et al., 2011; Arabidopsis Genome Initiative, 2000). Наприклад, частка цих мобільних елементів складає близько 20 % геномних послідовностей у рису і не менше 60 % у пшениці та кукурудзи (SanMiguel et al., 1996). Ретротранспозони без довгих кінцевих повторів також містяться у геномах окремих рослин у значній кількості, наприклад, у винограду і арахісу їх частка становить до 10 % геному (Lanciano, Mirouze, 2018). Хоча найбільш поширені ретротранспозони розповсюджені по всьому геному, проте, найчастіше у зернових та цитрусових вони локалізовані в ділянках, які називають «морем ретротранспозонів», яке оточує «острівці генів» (SanMiguel et al., 1996).

Особливістю LTR-ретротранспозонів є наявність на їхніх кінцях довгих кінцевих повторів, які не кодують білки, але містять промотори, термінатори (Zhou et al., 2018) та енхансери, необхідні для реплікації (Giordani et al., 2016; Orozco-Arias et al., 2019) (рис. 1).

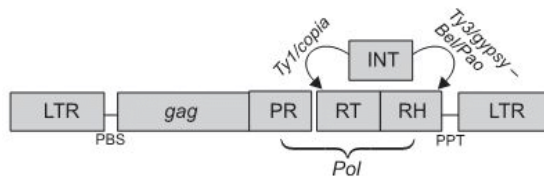


Рис. 1. Структурна організація LTR-ретротранспозонів (Lorens et al., 2011): LTR — довгий кінцевий повтор, gag — ген, який кодує білок, схожий з білком нуклеокапсида ретровірусів, PR — протеїназа, INT — інтеграза, RT — зворотна транскриптаза, RH — РНКаза H, PBS — ділянка зв'язування затравки (праймера) для зворотної транскриптази, PPT — поліпуриновий тракт, Pol — ген, який кодує довгу поліпептидну молекулу.

Основна частина LTR-ретротранспозону складається з послідовностей 2 генів — *gag* і *pol*. Ген *gag* кодує білок, схожий з білком нуклеокапсида ретровірусів. Ген *pol* кодує довгу поліпептидну молекулу (polyprotein). Його продуктами є протеїназа (PR), інтеграза (INT), зворотна транскриптаза (RT) та РНКазы Н (RN), які необхідні для реплікації / переміщення ретротранспозона.

Інша особливість LTR-ретротранспозонів — це наявність коротких послідовностей, відомих як ділянка зв'язування затравки (праймера) зворотної транскриптази (*primer binding site*, PBS), що комплементарна до аспарагінової (Asp)тРНК, і поліпуриновий тракт (*polypurine tract*, PPT). PBS розташовується відразу за 5'-LTR і необхідний для синтезу першого ланцюга кДНК. Окрім того, деякі LTR-ретротранспозони можуть містити додаткові відкриті рамки зчитування (Wicker et al., 2007; Kalendar et al., 2017; Vicient, Casacuberta, 2020).

LTR-вмісні ретротранспозони за розташуванням доменів зворотної транскриптази та інтегрази у складі гена *pol* поділяють на 2 надродини *Ty1/copia*-подібні і *Ty3/gypsy*-подібні (Todorovska, 2007; Kunakh, 2013), представники яких будуть розглянуті в даному огляді.

Останнім часом виокремлюють ще так звані гібридні послідовності, до яких належать Nikita та Sukkula (Bayram et al., 2012; Kartal-Alacam, 2014; Kalendar et al., 2017).

Активация LTR-ретротранспозонів рослин при введенні в культуру *in vitro*. Більшість LTR-елементів транскрипційно неактивні у соматичних тканинах рослин, проте активуються на певних етапах розвитку або за умов стресу (Horvath et al., 2017; Hou et al., 2019; Liang et al., 2020). Культивування рослин *in vitro* може бути одним із стресових факторів, що визначають поведінку мобільних елементів, які знаходяться в їхньому геномі (Bednarek, Orłowska, 2020).

Перший виявлений активний ретротранспозон тютюну в культурі *in vitro* був ідентифікований за його інсерцією в ген нітратредуктази (NR) при культивуванні протопластів тютюну.

Grandbastien зі співробітниками вдалося отримати 3 незалежні клітинні лінії з мутантним алелем NR, який з'явився в результаті інсерції в ген дикого типу *Ty1/Copia*-подібного транспозона Tnt1 (транспозон *Nicotiana tabacum*) (Grandbastien et al., 1989) (табл.). Оскільки ретротранспозони переміщуються за допомогою РНК-посередника, то пізніше було зроблено припущення про те, що один з чинників культивування клітин активував транскрипцію Tnt1. Вважається, що причиною її став грибовий екстракт, який використовували для лізису клітинної стінки при отриманні протопластів і який був індуктором захисної відповіді рослин. Одночасно цей екстракт активував промотор, що міститься на 5-кінці Tnt1 і контролюється сигналами, що запускають захисну відповідь рослин (Wessler, 1996).

В подальшому при пошуку *Ty1/Copia* ретротранспозонів методом ПЛР з використанням пари праймерів до консервативних ділянок гена зворотної транскриптази досліджено елементи Tto1 і Tto2 (табл.). Їхні транскрипти виявили в калюсних культурах тютюну на відміну від клітин рослин *in vivo*, більш того, ця транскрипція вела до продуктивної транспозиції цих мобільних елементів із збільшенням числа їх копій в калюсах та отриманих рослинах-регенерантах (Hirochika et al., 1996).

Пізніше ідентифікували перші активні ретротранспозони рису родини Tos (транспозон *Oryza sativa*) (табл.). Їх транскрипти спостерігали лише при отриманні калюсів, а число копій в геномі рослин-регенерантів, отриманих при подальшому культивуванні *in vitro*, збільшувалось (Hirochika et al., 1996). Слід звернути увагу на випадок пролонгованої транскрипції Tos17, яка відбувалася постійно при культивуванні калюсів і призводила до накопичення копій МГЕ при довготривалому культивуванні. Крім того, перманентний характер активності Tos17 вказував на потенційний механізм, що зумовлює підвищення частоти соматональної варіабельності у рослин-регенерантів, отриманих від довготривалої культури клітин порівняно з короткочасною (Wessler, 1996).

Таблиця. LTR-ретротранспозони рослин, для яких показано активацію в стресових умовах культивування *in vitro*.

Назва LTR-ретротранспозона	Вид рослин (родина), в яких виявлено активність МГЕ	Ідентифікаційний номер у базі даних GenBank	Вид стресу, який викликає активацію ретротранспозона	Перший автор та рік публікації
Тy1/Соріа-подібні ретротранспозони				
BARE-1a	<i>Hordeum spontaneum</i> (Poaceae)	Z17327	калюсоутворення	Suoniemi, 1998 Evrensel, 2011
BARE-1 GAG	<i>Hordeum vulgare</i> (Poaceae)	AJ295226	калюсоутворення	Vicient, 2005
OARE-1	<i>Avena sativa</i> (Poaceae)	AB061328	абіотичний, біотичний стрес, в т. ч. калюсоутворення	Kimura, 2001
Opie-2	<i>Zea mays</i> (Poaceae)	U68408	абіотичний стрес, в т. ч. калюсоутворення	SanMiguel, 1996
ZmMI1	<i>Zea mays</i> (Poaceae)	AF453523	холодовий стрес в культурі <i>in vitro</i>	Steward, 2002
Tnt 1	<i>Nicotiana tabacum</i> (Solanaceae)	X13777	калюсоутворення	Grandbastien, 1989
Tto 1–3	<i>Nicotiana tabacum</i> (Solanaceae)	D12827–D12829	калюсоутворення	Hirochika, 1996
Ros 1–23	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)	AB017978–AB018000	абіотичний стрес, в т. ч. калюсоутворення	Matsuoka, 1999
Tos 6–20	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)	D85865–D85879	калюсоутворення	Hirochika, 1996
RN 16	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)		калюсоутворення	Picault, 2009
HuTy1C3, HuTy1P4	<i>Hylocereus undatus</i> (Cactaceae)		культивування рослин <i>in vitro</i> та абіотичні стреси	Nie et al., 2019
Тy3/gypsy ретротранспозони				
<i>Glycine tomentella</i> Hayata	<i>Rumex acetosa</i> (Polygonaceae)	FJ402918	калюсоутворення	Skaptsov, 2017
RN304	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)		калюсоутворення	Picault, 2009
RIRE 9	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)	AF110183	калюсоутворення	Li, 2000
HuTy3A3	<i>Hylocereus undatus</i> (Cactaceae)		культивування рослин <i>in vitro</i> та абіотичні стреси	Nie et al., 2019

Sabot та співробітники виявили, що в геномі рису існує дві майже ідентичні копії Tos17 — на хромосомах 7 та 10. На 7-й хромосомі копія цього елемента є активною і здатною до транспозиції, зокрема у культурі *in vitro*, тоді як на 10-й — неактивна, сильно метильована і містить кілька стоп-кодонів. Також описано структуру активного ретротранспозона Tos17, встановлену з використанням комплексного біоінформатичного аналізу. Довжина повної копії ретротранспозона на 7-й хромосомі складає 4114 п.н. (Sabot, 2014).

Окрім того, у геномі рису були виявлені поспідовності повних ретротранспозонів RN16 надродини Ty1/Sorja і RN304 надродини Ty3/Gypsy, які також знаходяться на ділянці 7-ї хромосоми та індукуються при калюсоутворенні (Picault et al., 2009) (табл.).

При вивченні експресії елемента OARE-1 (Ty1/Sorja) в геномі вівса під дією абіотичних факторів, зокрема при культивуванні *in vitro*, під впливом ультрафіолету, жасмонової та саліцилової кислоти, виявлено, що за характером змін експресії він був подібним до гена PAL (phenylalanin ammonia lyase) (Kimura et al., 2001) (табл.).

У *Hylocereus undatus* (Cactaceae) ретротранспозони Tu1C3, HuTu1P4 та HuTu3A3 проявили реакцію на різні стресові умови: обробку гормонами, ультрафіолетовим опроміненням, NaCl, холодний і тепловий впливи, та особливо на культивування рослин *in vitro*. Наприклад, під час культивування *in vitro* експресія фрагментів HuTu1C3 зростала в 340 разів порівняно із контролем, а для HuTu1P4 рівень експресії у культивованих *in vitro* зразках був у 179 разів вище, ніж у контролі. Найбільша експресія HuTu3A3 також була виявлена у культивованих у пробірці пагонах (Nie et al., 2019) (табл.).

Досліджено активацію Tu1/Copia ретротранспозону BARE-1 при тривалому вирощуванні калюсу *Hordeum vulgare* (табл.). Evrensel та співавтори показали, що після культивування ембріонів ячменю протягом 30, 45 та 60 діб з метою індукції калюсоутворення, спостерігали варіабельність IRAP-профілів. При цьому, коефіцієнт подібності за Жакардом між 30-денним і 45-денним калюсами становив 84 %. Найбільшу подібність виявлено між вихідним ембріоном і 60-денним калюсом (86 %), найменшу — між зародком і 30- та 45-денними калюсами (78 % і 75 % відповідно) (Evrensel et al., 2011)

Yilmaz та співавтори вивчали індукцію BARE-1 на двох лініях калюсів ячменю різної тривалості вирощування (30, 60, 90 днів), та отриманих від них рослин-регенерантів пагоневого походження (Yilmaz, Gozukirmizi, 2013). Наявність поліморфних IRAP-смуг спостерігали в калюсних тканинах на 30-й день культивування та при подальшому вирощуванні. Також виявлено відсутність відмінностей IRAP-профілів калюсних культур та отриманих від них рослин-регенерантів.

Цікавим є той факт, що при цитогенетичному дослідженні активації BARE-1, викликаної умовами *in vitro*, виявили поліплоїдизацію двох генотипів ячменю на ранніх стадіях дедиференціації. Поліплоїдизація калюсу відбувалася після 3 діб вирощування на живильному середовищі. Автори припускають, що серед факторів, які можуть викликати поліплоїдизацію на ранніх стадіях калюсогенезу, слід зазначити ендоредуплікацію, ендомітоз, аномальне розташування мікротрубочок, пошкодження фрагментів ДНК і транспозицію мобільних елементів (Fras et al., 2007).

Bayram та співавтори вивчали індукцію ретротранспозона Nikita при вирощуванні калюсів різного віку (30-, 60-, 90-денні) 3 генотипів

Hordeum vulgare методом IRAP-ПЛР. Показано, що при використанні праймера E 2647 нові смуги з'являлись в одному з трьох досліджених генотипів при культивуванні 30-денного калюсу і зберігалися при подальшому вирощуванні. При використанні праймера N-57 нові фрагменти з'явилися у двох генотипів із трьох досліджених лише на 90-ий день вирощування (Bayram et al., 2012).

При вивченні ретроелемента Sukkula з використанням iPBS та IRAP-праймерів ячменю показано, що рівень відмінностей між 5 вихідними генотипами становив від 14 % і 29 % на 40-й день культивування, від 50 % до 74 % — на 80-й день культивування за обома типами праймерів. Автори припускають, що на транспозицію цього елемента мали вплив умов та тривалість культивування (Kartal-Alacam et al., 2014).

За допомогою методу IRAP проаналізували рівень поліморфізму в областях ДНК, фланкованих інвертованими LTR різних ретротранспозонів, у рослинах-регенерантах тритикале, отриманих після добору клітин на стійкість до осмотичного стресу. Поліморфні локуси отримали з праймерами до ретротранспозонів Sukkula, Wham, Wilma1 і Nikita. Виявлений поліморфізм міг бути пов'язаний з точковими мутаціями в сайтах зв'язування праймерів у регіонах LTR та / або делеціями, що може свідчити про активацію та транспозицію МГЕ у формах, отриманих шляхом відбору клітин. Також зафіксовано активацію ретротранспозону Cassandra у м'якої пшениці під час добору на стійкість до дефіциту води. Відмічено специфічні зміни в спектрах продуктів ампліфікації ДНК, що відбулися внаслідок прямого або поетапного добору клітин (Pukalo, Dubrovna, 2018).

Слід зазначити, що активація деяких елементів у процесі культивування залежить не лише від віку, а й від типу експланту та вихідного генотипу. Наприклад, активацію транскрипції RIRE9 (Tu3/Gypsy) у геномі *Oryza sativa* спостерігали лише у калюсах, отриманих з листових і стеблових експлантів (Li et al., 2000). Показано, що Tnt1 експресується лише у коренях; Tto1, Tos10 і Tos17 слабо експресуються в тканинах листків, а ретротранспозон ячменю BARE-1 виявлено лише у тканинах листка (Todorovska, 2007).

При вивченні BARE-1 (Todorovska, 2007; Evrensel et al., 2011) та Nikita (Bayram et al., 2012) за умов тривалого культивування *Hordeum vulgare*

виявили залежність варіабельності спектрів не лише від віку калюсів, а й від вихідних генотипів.

Слід зазначити, що активність BARE1-подібних елементів спостерігали і за нормальних, не стресових умов у мітотичних тканинах, зокрема тканинах кінчиків коренів та бруньок ячменю (Manninen, Schulman, 1993). Родина BARE-1 в геномі ячменю представлено 14 тис. повномірних копій, які розсіяні по всіх хромосомах і складають майже 2,9 % загального розміру геному ячменю. Перший повністю охарактеризований елемент, названий BARE-1a, має довжину 12088 п.н. і містить вставку довжиною 3135 п.н. у його 3'LTR (Manninen, Schulman, 1993). З використанням молекулярних маркерів, створених на основі консервативних мотивів BARE-1, виявлено значний поліморфізм різних видів *Hordeum* та сортів *H. vulgare*, який засвідчив, що в геномі ячменю відбувається активна транспозиція BARE-1-подібних елементів (Kalendar et al., 2000). Підгрупа BARE-1, виділена з ячменю, досить розповсюджена у трибі *Triticeae*, в тому числі у пшениці, жита, вівса. Результати досліджень особливостей організації елементів BARE-1 в геномі були використані для вивчення еволюції дикого ячменю *Hordeum spontaneum* (Kalendar et al., 2000) та геномних перебудов в культурі тканин і в рослин-регенерантів ячменю (Evrensel et al., 2011, Yilmaz, Gozukirmizi, 2013). Особливістю елемента BARE-1 є його транскрипційна активність у мітотичних тканинах як за нормальних умов росту, так і в культурі *in vitro*.

Отже, процеси калюсогенезу та регенерації у рослин *in vitro*, які можна розглядати як стресовий чинник, супроводжуються активацією ряду LTR-ретротранспозонів, що призводить до підвищення інтенсивності мутаційних процесів за рахунок вищої частоти переміщень МГЕ та / або їхнього «переспрямування» у ділянки активного еухроматину.

Механізми активації LTR-ретротранспозонів рослин в культурі *in vitro*. Більшість МГЕ знаходяться у стані спокою під час нормального розвитку і активуються при біотичному чи абіотичному стресі (Taspinar et al., 2018; Esposito et al., 2019; Nie et al., 2019; Yigider et al., 2020), зокрема в культурі *in vitro*, при пораненні, або при дії патогенних збудників (Voronova, 2019).

Здавалося б, така величезна кількість МГЕ, яка описана для геномів більшості рослин, повинна швидко дезорганізувати геном, однак

цього не відбувається. Відомо про існування принаймні двох шляхів регуляції активності мобільних елементів: 1) схильність МГЕ до власної інактивації — наприклад, автономні мобільні елементи можуть містити мотиви, що лімітують частоту своєї транспозиції подібно до того, як патогени зменшують свою вірулентність; 2) епігенетичне пригнічення активності ретротранспозона — у рослин епігенетичне сайленсування МГЕ відбувається за допомогою малих інтерферуючих РНК (siRNA), метилювання ДНК, гетерохроматинізації районів інтеграції МГЕ, утворення так званих solo-елементів за рахунок нерівної рекомбінації всередині елементів, накопичення невеликих делецій внаслідок нерівної рекомбінації (Benetzen et al., 2005; Kunakh, 2013; Lerat et al., 2019; Bednarek, Orlowska, 2020). Відомо, що різні групи LTR-ретротранспозонів значно відрізняються за своєю транскрипційною та транспозиційною активністю (Orozco-Arias et al., 2019).

На думку деяких дослідників, епігенетичні модифікації, особливо зміни метилювання, відіграють більш важливу роль у соматональній мінливості, ніж генетичні зміни (Evrensel et al., 2011). Метильований цитозин у геномі рослин розподілений нерівномірно і ретротранспозони знаходяться в сильно метильованих регіонах (Orlowska et al., 2016). Це може пояснити зміни числа копій ретротранспозонів при культивуванні тканин. Steward із співавторами при вивченні ZmMI1 кукурудзи показали, що холодовий шок в умовах культивування *in vitro* приводить до деметилювання одного специфічного фрагменту (Steward, 2002) (табл.).

Виявлено епігенетичну варіабельність Tos17 у кількох сортів рису при отриманні калюсу та подальшому вирощуванні рослин-регенерантів. Показано, що активність цього елемента на 7-й хромосомі тісно корелює зі ступенем метилювання при повній ідентичності ділянок ДНК у 2 сортів рису. В процесі калюсоутворення спостерігали активність Tos17, при цьому метилювання не відбувалось. З калюсу отримали рослини-регенеранти. Також показано, що із збільшенням часу вирощування цих рослин збільшувався ступінь метилювання Tos17. При тому, значне зростання рівня метилювання ДНК відбувалося в наступному поколінні після закінчення репродуктивного циклу. Збільшення метилювання ДНК призводило до пригнічення транскрипції копії Tos17, що знаходиться під управлінням власного, а також флан-

куючого геномного промотора. Дослідники прийшли до висновку, що метилювання ДНК Tos17 контролює активність цього ретротранспозона і модулює активність сусідніх генів. На підставі порівняльного аналізу з неактивною формою Tos17 на 10-й хромосомі запропоновано механізм транскрипційного втручання, який бере участь у контролі активності Tos17 (Cheng et al., 2006).

Відомо, що транспозиція Tos17 на хромосомі 7 сорту рису *Nipponbare* може викликати соматональний мутагенез з небажаними ознаками під час трансформації рису, що впливатиме на застосування трансгенів. Luo та співробітники з використанням системи редагування генів CRISPR/Cas9 отримали мутант D873 з редагованим Tos17 на хромосомі 7 (Tos17D873), який мав делецію ділянки, яка кодує домен GAG та основний домен інтегрази. Після цього, незважаючи на активацію транскрипції редагованого Tos17 в тканинах калюсу D873, транспозицій Tos17D873 у рослин-регенерантів D873 дослідникам виявити не вдалося. Цей результат свідчить про важливість доменів GAG та інтегрази для транспозиції Tos17 і нездатність інших ретротранспозонів, присутніх в геномі рису, компенсувати їх делецію. Подібний підхід з використанням CRISPR/Cas9 можна застосовувати з метою інактивації інших ретротранспозонів у селекції рослин для дослідження функцій генів (Luo et al., 2020).

У дослідженні Скапцова та співавторів виявлено зміни метилювання послідовностей ретротранспозонів обох надродин у процесі вирощування калюсів різного віку та регенерації рослин *Rumex acetosa* L. в умовах *in vitro*. У рослин-донорів і в калюсних лініях після трьох місяців культивування, ретротранспозони надродин *Ty3/Gypsy* і *Ty1/Copia* залишались повністю або частково метильованими. При цьому рівень метилювання змінювався відповідно до тривалості вирощування: у контрольній лінії та після трьох місяців вирощування культури тканин виявлено метилювання ретротранспозонів обох надродин — *Ty3/Gypsy* (Tat/Ogre, Bingo) та *Ty1/Copia* (Maximus/Sire), тоді як після 12 місяців вирощування культури тканин спостерігали метилювання лише ретротранспозона *Glycine tomentella Hayata*, який відносять до *Ty3/Gypsy* (табл.). Крім того, під час регенерації відбувалось метилювання ретротранспозона Tat/Ogre (*Ty3/Gypsy*) (Скапцов и др., 2017). Отже, часто-

та транспозицій може бути різна у різних типів ретротранспозонів. Схожі явища описано для *Ty3/Gypsy*, *Ty1/Copia* та LINE елементів у роботах (Wessler, 1996; Evrensel et al., 2011).

З іншого боку, наявність в геномі копій з порушеннями та невеликої кількості активних LTR-ретротранспозонів є індикатором того, що деяким елементам вдається уникнути пригнічення з боку клітини-хазяїна. Це може відбуватися зокрема завдяки ефекту специфічної хромосомної локалізації елементів, яка дозволяє їм уникнути сайленсингу. Інша можливість уникнути інактивації — висока варіабельність послідовностей мобільних елементів. Наприклад, для послідовностей Tnt1-ретротранспозона тютюну показано, що промоторний район, який є основною мішенню для інактивації шляхом метилювання, проявляє найбільшу варіабельність (Vernhettes et al., 1998).

Одним із механізмів активації МГЕ за дії стресових чинників, може бути наявність в промоторах деяких активних ретротранспозонів регуляторних елементів подібних до таких, що входять до складу промоторів генів захисної відповіді (Alzohairy et al., 2014). При цьому кореляція між стрес-індукованою активацією МГЕ та активацією фізіологічних механізмів захисту клітини від стресу може визначатися наявністю у мобільних елементів сайтів зв'язування транскрипційних факторів, які беруть участь в індукції генів захисних систем клітини (Caru et al., 2000; Mozgova et al., 2019). Дана ситуація має місце у рослин, ретротранспозони яких несуть в своєму промоторі численні мотиви сайтів зв'язування транскрипційних факторів, які беруть участь в індукції специфічних каскадів відповіді на стрес (Casacuberta, Santiago, 2013). Можна припустити, що протеолітичний каскад, що запускається стресом, веде до вивільнення активаторів транскрипції, необхідних для індукції експресії генів антистресового захисту та одночасно здатних активувати транскрипцію деяких МГЕ (Caru et al., 2000).

Наприклад, у промоторі елемента Tto1 ідентифіковано регуляторну *cis*-послідовність довжиною 13 п.н., яка впливає на експресію Tto1 під час відповіді на стрес (Takeda et al., 1999). Відомо, що з цим мотивом зв'язуються транскрипційні фактори MYB, в тому числі фактор LBM1, подібний до фактора MYB-1, який індукується вірусними інфекціями. Експресія другого транскрипційного MYB фактора NtMYB2 активує транскрипцію елементів Tto1 і PAL у

тютюну (Sugimoto et al., 2000). Крім того, існує гомологія між послідовностями промоторів елемента Tto1 і гена стресової відповіді *AoPR1 Asparagus officinalis* (Takeda et al., 1999). Ці дані дозволяють припустити, що обидва елементи, Tnt1 та Tto1, активуються у стані стресу, оскільки їхні промотори подібні до промоторів рослинних генів, які беруть участь у відповіді на стрес, і зв'язуються з тими ж транскрипційними факторами. Отже, регуляція транскрипції Tnt1- і Tto1-елементів добре вивчена і, як показують результати досліджень, є досить жорсткою (Takeda et al., 1999, Sugimoto et al., 2000).

Встановлено, що промотор Tnt1A містить дві різні регуляторні послідовності (коротку паліндромну послідовність BI і тандемний повтор BII довжиною 31 п.н.) в 5'LTR, які активно впливають на транскрипцію елемента і є подібними до послідовностей промоторів рослинних генів, які беруть участь у відповіді на стрес (Vernhettes et al., 1997). Послідовність BI специфічно взаємодіє з білками, які активуються при відповіді на стрес організму хазяїна (Vernhettes et al., 1997).

Слід зазначити, що активация рослинних ретротранспозонів при культивуванні рослин може відбуватися диференційно — по-різному у різних культурах *in vitro*. Наприклад, транспозиція Tnt1 A в гені нітратредуктази виявлена в рослинах-регенерантах непрямого походження, отриманих із протопластів. Однак, в суспензійних культурах клітин транскрипції Tnt1 A не спостерігали, незважаючи на слабе збільшення числа копій цього мобільного елемента в умовах *in vitro*. Однак, у культурі клітин тютюну виявили як експресію, так і транспозицію Tto1, Tos 10 і Tos17. Експресія Tto1 ще більше посилювалась при ізоляції протопластів, у той час як для Tos17 нічого подібного не спостерігали. Диференційну експресію різних рослинних МГЕ при різних умовах культивування *in vitro* можна пояснити тим, що регуляція як мінімум двох каскадів генів — системи захисту і системи клітинного поділу — може по-різному модулюватися в різних культурах *in vitro*, і рослинні МГЕ, які знаходяться під контролем факторів однієї з цих систем або під подвійним контролем, будуть по-різному вести себе в умовах вирощування *in vitro* (Wessler, 1996; Grandbastien, 1998; Sugimoto et al., 2000; Alzohairy et al., 2014). Транспозиція МГЕ при культивуванні, ймовірно, лежить в основі феномену так званої «соматичної активации». Транспозиції МГЕ виклика-

ють соматичні зміни при мікроклональному розмноженні рослин (Carrier et al., 2012), що дає можливість створити внутрішньогеномний потенціал як у соматичних тканинах, так і в зародкових клітинних лініях (Oliver, 2013). Мається на увазі підвищена частота появи мутантів серед рослин-регенерантів, отриманих із калюсів, яку спостерігали в багатьох видів рослин (Wessler, 1996). Однак, існує припущення, що подальше статеве розмноження регенерантів стабілізує активність ретротранспозонів (Orlowska et al., 2016). Тим не менше, частота транспозицій може бути різною у різних типів ретротранспозонів. Подібні явища встановлено у багатьох роботах для надродин *Ty3/Gypsy* та *Ty1/Copia* (Wessler, 1996; Evrensel et al., 2011).

Висловлено припущення, що варіабельність геномів клітин калюсних тканин у результаті транспозиції LTR-елементів може сприяти диверсифікації генотипу та фенотипу рослин (Yilmaz, Gozukirmizi, 2013). Присутність МГЕ проявляється у вигляді строкатих фенотипів, які описано для багатьох життєвих форм, перш за все у вищих рослин (Kunakh, 2005, розділ 4). Наприклад, виявлено, що колір насіння та квіток *Ipotoea purpurea* (L.) Roth., *Brassica rapa* L., зміни міжвузлів *Oryza sativa* L. і колір плодів *Vitis vinifera* L. опосередковані вставками мобільних елементів (Carrier et al., 2012). Однак, слід зазначити, що перерахованих вище механізмів недостатньо для пояснення наявності величезної кількості копій ретротранспозонів у геномах рослин.

Наслідки активации МГЕ. Наразі відомо, що наявність МГЕ у геномах еукаріотів зумовлює низку різноманітних генетичних наслідків (Todorovska, 2007; Кунах, 2013). Найвідомішими серед них на сьогодні є такі:

1) Переміщення і вбудовування мобільних елементів у гени, що може спричинити мутації. Величезна, а можливо й переважна, кількість «спонтанних» мутацій — це наслідок інсерцій мобільних генетичних елементів. Вбудовування мобільного елемента у ген може пошкодити екзон, «розірвавши» його. Це призведе до порушення нормальної експресії гена. При вбудовуванні у ділянку промотора чи енхансера, мобільний елемент може пошкодити регуляторну зону гена. Інсерція у ділянку інтрона може виявитися нешкідливою, оскільки вся послідовність інтрона разом із мобільним елементом буде вирізана під час процесингу мРНК, а сусідні екзони безперешкодно сплайсуватимуться.

Якщо ж транспозон вбудується у ділянку інтронів, яка контролює процес сплайсингу, може відбутися мутація.

2) Зміна активності генів. Довгі кінцеві повтори є промоторами ретротранспозона, причому як LTR, так і сам ретротранспозон містять нуклеотидні послідовності, що є енхансерами транскрипції. Тому переміщення цих сигналів у геномі може змінювати регуляцію активності генів (Han et al., 2017; Vicient, Casacuberta, 2017). Наприклад, якщо мобільний елемент виявився біля «мовчазного» гена, то результатом може бути його експресія.

3) Формування хромосомних перебудов. Унаслідок кросинговеру між однаково орієнтованими мобільними елементами виникають делеція і дуплікація матеріалу, розташованого між інсерціями (Vicient, Casacuberta, 2017).

4) Формування структурних елементів хромосом, включно із центромерами та теломерами.

5) Участь у горизонтальному перенесенні генів. Інфекційні ретровіруси здатні заражати організми, що належать до різних видів, і переносити їхній генетичний матеріал, утворюючи копії ДНК, що вбудовуються у геном.

6) Регуляція статі і вплив на мейоз (Todorovska, 2007, Кунах, 2013).

Заключення

Здійснено огляд літератури та короткий опис відомих послідовностей *Ty1/Copia* і *Ty3/Gypsy* надродин LTR-вмісних ретротранспозонів рослин, що активуються при введенні в культуру *in vitro*, як одному з видів стресу.

Дані про активацію транскрипції і транспозиції LTR-ретротранспозонів свідчать про наявність у них регуляторних механізмів, що контролюють експресію елементів у клітинах хазяїна. У культурі тканин можуть активуватися деякі МГЕ, тоді як інші залишаються неактивними. Розглянуто основні механізми активації LTR-вмісних ретротранспозонів за дії стресових чинників, а саме шляхом зміни метилювання ДНК та взаємодії стрес-індукованих транскрипційних факторів із промоторами ретротранспозонів завдяки наявності в них специфічних сайтів зв'язування та інших регуляторних елементів. Важливим наслідком активності МГЕ, в у тому числі LTR-вмісних ретротранспозонів є підвищення рівня генетичної мінливості популяції, у тому числі клітинної популяції *in vitro*, що в свою чергу підвищує її шанси пристосування до зміни умов середовища існування.

На сьогоднішній день є загальноновизнаним, що МГЕ є рушійною силою еволюції, яка приводить до появи нових генних функцій, викликає перебудови і різноманіття геномів. Припускається, що в найближчому майбутньому завдяки зростанню кількості доступних послідовностей геномів та розробці нових інструментів для виявлення та аналізу інсерцій МГЕ, в тому числі шляхом дослідження культури *in vitro*, можна буде довести відповідну роль ретротранспозонів в екологічній адаптації організму.

Перелік літератури:

1. Alzohairy A. M., Sabir J. S. M., Gyulai G., Younis R. A. A., Jansen R. K., Bahieldin A. Environmental stress activation of plant long-terminal repeat retrotransposons. *Funct. Plant. Biol.* 2014. Vol. 41. P. 557–567. doi:10.1071/FP13339.
2. Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. 2000. Vol. 408. P. 796–815. doi:10.1038/35048692.
3. Bayram E., Yilmaz S., Hamat-Mecbur H., Kartal-Alacam G., Gozukirmizi N. Nikita retrotransposon movements in callus cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Omics J.* 2012. Vol. 5. P. 211–215.
4. Bednarek P. T., Orłowska R. Plant tissue culture environment as a switch-key of (epi)genetic changes. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2020. Vol. 140. P. 245–257. doi:10.1007/s11240-019-01724-1.
5. Bennetzen J. L. Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. *Plant Mol. Biol.* 2000. Vol. 42. P. 251–269. doi:10.1023/A:1006344508454.
6. Bennetzen J. L., Ma J., Devos K.M. Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Ann. Bot.* 2005. Vol. 95. P. 127–132. doi:10.1093/aob/mci008.
7. Capy P., Gaspary G., Biemont C., Bazin C. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites? *Heredity*. 2000. Vol. 85. P. 101–106. doi:10.1046/j.1365-2540.2000.00751.x.
8. Carrier G., Le Cunff L., Dereeper A. et al. Transposable elements are a major cause of somatic polymorphism in *Vitis vinifera* L. *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7(3). P. e32973. doi:10.1371/journal.pone.0032973.
9. Casacuberta J. M., Santiago N. Plant LTR-retrotransposons and MITEs: control of transposition and impact on the evolution of plant genes and genomes. *Mol. Ecol.* 2013. Vol. 22. P. 1503–1517. doi:10.1111/mec.12170.
10. Cheng C., Daigen M., Hirochika H. Epigenetic regulation of the rice retrotransposon Tos17. *Mol. Genet. Genomics*. 2006. Vol. 276. P. 378–90. doi:10.1007/s00438-006-0141-9.

11. Esposito S., Barteri F., Casacuberta J. et al. LTR-TEs abundance, timing and mobility in *Solanum commersonii* and *S. tuberosum* genomes following cold-stress conditions. *Planta*. 2019. Vol. 250. P. 1781–1787. doi:10.1007/s00425-019-03283-3.
12. Evrensel C., Yilmaz S., Temel A. et al. Variations in BARE – 1 insertion patterns in barley callus cultures. *Genet. Mol. Res.* 2011. Vol. 10(2). P. 980–987. doi:10.4238/vol10-2gmr965.
13. Flavell A. J., Dunbar E., Anderson R., Pearce S. R., Hartley R., Kumar A. Tyl-copia group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. *Nucl. Acids. Res.* 1992. Vol. 20. P. 3639–3644. doi:10.1093/nar/20.14.3639.
14. Fras A., Juchimiuk J., Siwinska D., Maluszynska J. Cytological events in explants of *Arabidopsis thaliana* during early callogenesis. *Plant Cell. Rep.* 2007. Vol. 26. P. 1933–1939. doi:10.1007/s00299-007-0415-7.
15. Giordani T., Cossu R. M., Mascagni F., Marroni F., Morgante M., Cavallini A., Natali L. Genome-wide analysis of LTR-retrotransposon expression in leaves of populus X Canadianis water-deprived plants. *Tree Genet. Genomes*. 2016. Vol. 12. P. 75. doi:10.1007/s11295-016-1036-5.
16. Gozukirmizi N. Transposons continue the amaze. *Int. J. Sci. Lett.* 2019. Vol. 1(1). P. 1-13. doi:10.38058/ijsl.585052.
17. Grandbastien M. A. Activation of plant retrotransposons under stress conditions. *Trends Plant Sci.* 1998. Vol. 3. P. 181–187. doi:10.1016/S1360-1385(98)01232-1.
18. Grandbastien M. A., Spielmann A., Caboche M. Tnt1, a mobile retroviral-like transposable element of tobacco isolated by plant cell genetics. *Nature*. 1989. Vol. 337. P. 376–380. doi:10.1038/337376a0.
19. Han M., Sun Q., Zhou J. et al. Insertion of a solo LTR retrotransposon associates with spur mutations in 'Red Delicious' apple (*Malus × domestica*). *Plant Cell Rep.* 2017. Vol. 36. P. 1375–1385. doi:10.1007/s00299-017-2160-x.
20. Hirochika H., Sugimoto K., Otsuki Y. et al. Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1996. Vol. 93. P. 7783–7788. doi:10.1073/pnas.93.15.7783.
21. Horvath V., Merenciano M., Gonzalez J. Revisiting the relationship between transposable elements and the eukaryotic stress response. *Trends Genet.* 2017. Vol. 33(11). P. 832-841. doi:10.1016/j.tig.2017.08.007.
22. Hou J., Lu D., Mason A.S. et al. Non-coding RNAs and transposable elements in plant genomes: emergence, regulatory mechanisms and roles in plant development and stress responses. *Planta*. 2019. Vol. 250. P. 23–40. doi:10.1007/s00425-019-03166-7.
23. Kalendar R., Muterko A., Boronnikova S. Retrotransposable elements: DNA fingerprinting and the assessment of genetic diversity. In: Besse P. (ed.) *Molecular plant taxonomy. Methods in molecular biology*, vol 2222. New York, NY: Humana, 2021. P. 263-286. doi:10.1007/978-1-0716-0997-2_15.
24. Kalendar R., Tanskanen J., Immonen S. et al. Genome evolution of wild barley (*Hordeum spontaneum*) by BARE-1 retrotransposon dynamics in response to sharp microclimatic divergence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000. Vol. 97. P. 6603–6607. doi:10.1073/pnas.110587497.
25. Kalendar R.N., Aizharkyn K.S., Khapilina O.N., Amenov A.A., Tagimanova D.S. Plant diversity and transcriptional variability assessed by retrotransposon-based molecular markers. *Vavilov J. Genet. Breed.* 2017. Vol. 21(1). P. 128–134. doi:10.18699/VJ17.231.
26. Kartal-Alacam G., Yilmaz S., Marakli S. et al. Sukkula retrotransposon insertion polymorphisms in barley. *Russ. J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 61:828. doi:10.1134/S1021443714060107
27. Kimura Y., Tosa Y., Shimada S. et al. OARE-1, a Ty1-copia retrotransposon in oat activated by abiotic and biotic stresses. *Plant Cell Physiol.* 2001. Vol. 42. P. 1345–1354. doi:10.1093/pcp/pce171.
28. Kunakh V. A. Biotechnology of medicinal plants. Genetic, physiological and biochemical basis. Kyiv: Logos, 2005. 730 p. [in Ukrainian] / Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні і фізіолого-біохімічні основи. К.: Логос, 2005. 730 с.
29. Kunakh V. A. Mobile genetic elements and plant genome plasticity. Kyiv: Logos, 2013. 288 p. [in Ukrainian] / Кунах В.А. Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. Київ: Логос, 2013. 288 с.
30. Lanciano S., Mirouze M. Transposable elements: all mobile, all different, some stress responsive, some adaptive? *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2018. Vol. 49. P. 106–114. doi:10.1016/j.gde.2018.04.002.
31. Lerat E., Casacuberta J., Chaparro C., Vieira C. On the importance to acknowledge transposable elements in epigenomic analyses. *Genes*. 2019. Vol. 10:258. doi:10.3390/genes10040258
32. Li Z. Y., Chen S. Y., Zheng X. W., Zhu L. H. Identification and chromosomal localization of a transcriptionally active retrotransposon of Ty3-gypsy type in rice. *Genome*. 2000. Vol. 43. P. 404–408. doi:10.1139/g99-137.
33. Liang Zh., Anderson S. N., Noshay J. M. et al. Genetic and epigenetic contributions to variation in transposable element expression responses to abiotic stress in maize. *BioRxiv*. 2020. 2020.08.26.268102. doi:10.1101/2020.08.26.268102.
34. Lorens C., Futami R., Covelli L. et al. The Gypsy database (GyDB) of mobile genetic elements: release 2.0. *Nucl. Acids. Res. (NARESE)*. 2011. Vol. 39. P. 70–74. doi: 10.1093.

35. Luo Y., Tian D., Teo J. Ch., Ong K. H., Yin Z. Inactivation of retrotransposon Tos17Chr.7 in rice cultivar Nipponbare through CRISPR/Cas9-mediated gene editing. *Plant Biotechnol. — NAR*. 2020. Vol. 37. P. 69–75. doi:10.5511/plantbiotechnology.20.0123a.
36. Manninen O., Schulman A. H. BARE-1, a Copia-like retroelement in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Mol. Biol.* 1993. Vol. 22. P. 829–846. doi:10.1007/BF00027369.
37. Matsuoka Y., Tsunewaki K. Evolutionary dynamics of Ty1-copia group retrotransposons in grass shown by reverse transcriptase domain analysis. *Mol. Biol. Evol.* 1999. Vol. 16. P. 208–217. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026103.
38. McClintock B. Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1956. Vol. 21. P. 197–216. doi:10.1101/sqb.1956.021.01.017.
39. McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge. *Science*. 1984. Vol. 226. P. 792–801. doi:10.1126/science.15739260.
40. Mozgova I., Mikulski P., Pecinka A., Farrona S. Epigenetic mechanisms of abiotic stress response and memory in plants. In: Alvarez-Venegas R., Dela-Peña C., Casas-Mollano J. (eds.) *Epigenetics in plants of agronomic importance: fundamentals and applications*. Cham: Springer, 2019. P. 1–64. doi:10.1007/978-3-030-14760-0_1.
41. Nie Q., Qiao G., Peng L., Wen X. Transcriptional activation of long terminal repeat retrotransposon sequences in the genome of pitaya under abiotic stress. *Plant Physiol. Biochem.* 2019. Vol. 135. P. 460–468. doi:10.1016/j.plaphy.2018.11.014.
42. Oliver K. R., McComb J. A., Greene W. K. Transposable elements: powerful contributors to angiosperm evolution and diversity. *Genome Biol. Evol.* 2013. Vol. 5(10). P. 1886–1901. doi:10.1093/gbe/evt141.
43. Orłowska R., Machczynska J., Oleszczuk S. et al. DNA methylation changes and TE activity induced in tissue cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Biol. Res. (Thessalon)*. 2016. Vol. 23(19). doi:10.1186/s40709-016-0056-5.
44. Orozco-Arias S., Isaza G., Guyot R. Retrotransposons in plant genomes: structure, identification, and classification through bioinformatics and machine learning. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. P. 3837. doi:10.3390/ijms20153837.
45. Picault N., Chaparro C., Piegue B. et al. Identification of an active LTR retrotransposon in rice. *Plant J.* 2009. Vol. 58. P. 754–765. doi:10.1111/j.1365-313X.2009.03813.x.
46. Pykalo S.V., Dubrovna O.V. Variability of the triticale genome in culture *in vitro*. *Cytol. Genet.* 2018. Vol. 52. P. 385–393. doi:10.3103/S0095452718050092.
47. Sabot F. Tos17 rice element: incomplete but effective. *Mobile DNA*. 2014. Vol. 5(1). P. 10. doi:10.1186/1759-8753-5-10.
48. SanMiguel P., Tikhonov A., Jin Y.K. et al. Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. *Science*. 1996. Vol. 274. P. 765–768. doi:10.1126/science.274.5288.765.
49. Skaptsov M. V., Kutsev M. G., Krasnoborodkina M. A. et al. Variability of methylation of satellite DNA and mobile genetic elements of the *Rumex acetosa* in culture *in vitro*. *Problemy botaniki Yuzhnoy Sibiri i Mongolii*. 2017. Vol. 16. P. 264–267. [in Russian] / Скапцов М. В., Куцев М. Г., Краснобородкина М. А. и др. Изменчивость метилирования сателлитной ДНК и мобильных генетических элементов *Rumex acetosa* в культуре *in vitro*. *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*. 2017. Т. 16. С. 264–267.
50. Songstad D. D., Petolino J. F., Voytas D. F., Reichert N. A. Genome editing of plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 2017. Vol. 36(1). P. 1–23. doi:10.1080/07352689.2017.1281663.
51. Steward N., Ito M., Yamaguchi Y., Koizumi N., Sano H. Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress. *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277(40). P. 37741–37746. doi: 10.1074/jbc.M204050200.
52. Sugimoto K., Takeda S., Hirochika H. MYB-related transcription factor NtMYB2 induced by wounding and elicitors is a regulator of the tobacco retrotransposon Tto1 and defense-related genes. *Plant Cell*. 2000. Vol. 12. P. 2511–2527. doi:10.1105/tpc.12.12.2511.
53. Suoniemi A., Tanskanen J., Schulman A. H. Gypsy-like retrotransposons are widespread in the plant kingdom. *Plant J.* 1998. Vol. 13. P. 699–705. doi:10.1046/j.1365-313X.1998.00071.x.
54. Takeda S., Sugimoto K., Otsuki H., Hirochika H. A 13-bp cis-regulatory element in the LTR promoter of the tobacco retrotransposon Tto1 is involved in responsiveness to tissue culture, wounding, methyl jasmonate and fungal elicitors. *Plant J.* 1999. Vol. 18. P. 383–393. doi:10.1046/j.1365-313X.1999.00460.x.
55. Taspinar M.S., Aydin M., Sigmaz B. et al. Aluminum-induced changes on DNA damage, DNA methylation and LTR retrotransposon polymorphism in maize. *Arab. J. Sci. Eng.* 2018. Vol. 43. P. 123–131. doi:10.1007/s13369-017-2697-6.
56. Todorovska E. Retrotransposons and their role in plant — genome evolution. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2007. Vol. 21(3). P. 294–305. doi:10.1080/13102818.2007.10817464.
57. Vernhettes S., Grandbastien M. A., Casacuberta J. M. The evolutionary analysis of the Tnt1 retrotransposon in *Nicotiana* species reveals the high variability of its regulatory sequences. *Mol. Biol. Evol.* 1998. Vol. 15. P. 827–836. doi:10.1023/A:1005826605598.

58. Vicient C. M., Casacuberta J. M. Impact of transposable elements on polyploid plant genomes. *Ann. Bot.* 2017. Vol. 120. P. 195–207. doi:10.1093/aob/mcx078.
59. Vicient C. M., Casacuberta J. M. Additional ORFs in plant LTR-retrotransposons. *Front Plant Sci.* 2020. Vol. 11. P. 555. doi:10.3389/fpls.2020.00555.
60. Vicient C. M., Kalendar R., Schulman A. H. Variability, recombination, and mosaic evolution of the barley BARE-1 retrotransposon. *J. Mol. Evol.* 2005. Vol. 61. P. 275–291. doi:10.1007/s00239-004-0168-7.
61. Voronova A. Retrotransposon expression in response to *in vitro* inoculation with two fungal pathogens of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *BMC Res. Notes.* 2019. Vol. 12. P. 243. doi:10.1186/s13104-019-4275-3.
62. Wessler S. R. Turned on by stress. Plant retrotransposons. *Curr. Biol.* 1996. Vol. 6(8). P. 959–961. doi:10.1016/S0960-9822(02)00638-3.
63. Wicker T., Sabot F., Hua-Van A. et al. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat. Rev. Genet.* 2007. Vol. 8. P. 973–982. doi:10.1038/nrg2165.
64. Yigider E., Taspinar M.S., Aydin M. et al. Cobalt-induced retrotransposon polymorphism and humic acid protection on maize genome. *Biol. Futura.* 2020. Vol. 71. P. 123–130. doi:10.1007/s42977-020-00001-z.
65. Yilmaz S., Gozukirmizi N. Variation of retrotransposon movement in callus culture and regenerated shoots of barley. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2013. Vol. 27(6). P. 4227–4230. doi:10.5504/BBEQ.2013.0076.
66. Zhou M., Liang L., Hänninen H. A transposition-active *phyllostachys edulis* long terminal repeat (LTR) retrotransposon. *J. Plant Res.* 2018. Vol. 131. P. 203–210. doi:10.1007/s10265-017-0983-8.

Стаття надійшла до редакції 03.06.2020.
Прийнята до друку 22.08.2020

ACTIVATION OF PLANT LTR-RETROTRANSPOSONS UNDER *IN VITRO* CULTURE STRESS

I. I. Konvalyuk, O. M. Bublyk, I. O. Andreev

Institute of molecular biology and genetics of Natl. Acad. Sci. of Ukraine
Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 150
e-mails: o.m.bublyk@imb.org.ua

Retrotransposons make up a significant part of plant genome and are probably the most dynamic part of it, so they play a significant role in the generation of genetic variation. In particular, their activation can lead to structural reorganization of genome and changes in genome size, the emergence of novel genetic and phenotypic variants, as well as changes in gene expression, thus providing the raw material for adaptation and evolution. This review summarizes literature data on the activation of LTR-retrotransposons of the superfamilies Ty1/*Copia* and Ty3/*Gypsy* during *in vitro* culture and under various abiotic and biotic stress conditions. Their structure, classification, and significance for the organization and functioning of plant genome are reviewed. The main mechanisms of activation of LTR-retrotransposons under stress conditions are explored, including changes in DNA methylation and interaction of stress-induced transcription factors with retrotransposon promoters due to the presence of specific binding sites and other regulatory elements. The review also discusses consequences of activation of retrotransposons and control of their activity by self-inactivation mechanisms and the epigenetic regulation of genome.

Keywords: retrotransposons, Ty1/*Copia*, Ty3/*Gypsy*, *in vitro* culture, abiotic and biotic stress.