

**Идентификация и структурно-функциональный анализ
гена-кандидата из локуса *Ant27*, контролирующего
синтез проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.)**

Орбант М.О. *, инженер, Шоева О.Ю., с.н.с.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*email: m.bobrova1@g.nsu.ru

*Рассматривается ген-кандидат на роль гена *Ant27*, участвующего в контроле синтеза проантоцианидинов. В двух независимых мутантах *ant27* были найдены мутации, затрагивающие кодирующую часть гена в случае *ant27.2043* и промотор в случае *ant27.488*.*

*Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, ген-кандидат, *Ant27*, *WRKY*, проантоцианидины, маркер-ориентированная селекция.*

**Identification and structural and functional analysis of a candidate gene
from the *Ant27* locus controlling the synthesis
of proanthocyanidins in barley grain (*Hordeum vulgare* L.)**

Orbant M.O. *, Engineer, Shoeva O.Yu., Senior Researcher.

ICiG SB RAS, Novosibirsk, Russia

*email: m.bobrova1@g.nsu.ru

*A candidate gene for the role of the *Ant27* gene involved in the control of proanthocyanidin synthesis is being considered. Mutations affecting the coding part of the gene in the case of *ant27.2043* and the promoter in the case of *ant27.488* were found in two independent mutants *ant27*.*

*Keywords: *Hordeum vulgare*, candidate gene, *Ant27*, *WRKY*, proanthocyanidins, marker-oriented selection.*

Ячмень – четвертая по значимости зерновая культура после риса, пшеницы и кукурузы. Ячмень и продукты его переработки используются в продовольственных, технических и кормовых целях. В том числе он широко используется в пивоваренной промышленности, является самым распространенным злаковым, из которого производится солод. Российская Федерация входит в число основных стран-производителей ячменя.

Зерно ячменя накапливает в оболочке (или тесте) ценные вторичные метаболиты – проантоцианидины – полимеры, мономерами которых являются флаван-3-олы (чаще всего катехин, эпикатехин и их сложные эфиры галловой кислоты) [4].

Биосинтез проантоцианидинов регулируется на уровне транскрипции. Важнейшим комплексом, участвующим в этом процессе, является MYB–bHLH(MYC)–WD40(MBW)-регуляторный комплекс.

Проантоцианидины обеспечивают защиту растения от биотических и абиотических стрессов. Они обеспечивают защиту от микробных патогенов, насекомых-вредителей, а их терпкость защищает от поедания растения травоядными животными [7]. Кроме того, проантоцианидины участвуют в контроле развития семян. Они являются ингибиторами роста растений и прорастания семян. Флавоноиды, к которым относятся проантоцианидины, также ответственны за удлинение периода покоя семян [3]. Регуляция прорастания семян проантоцианидинами опосредуется сигнальным путем абсцизовой кислоты [6].

Проантоцианидины также обладают множеством полезных для здоровья человека свойств. Они являются наиболее распространенными природными антиоксидантами и обеспечивают защиту от различных заболеваний, таких как диабет, рак или инсульт [2].

Проантоцианидины обладают антиоксидантной активностью, нейропротекторными и иммуномодулирующими свойствами, защищают сердечно-сосудистую систему, регулируют углеводно-липидный обмен и профилактируют ожирение, оказывают антидиабетическое, противомикробное и противораковое воздействие [8]

Таким образом, богатая проантоцианидинами растительная пища является источником полезных для здоровья соединений, а кроме того, зерно злаковых растений в отличие от других источников флавоноидов (плодовые и ягодные) отличается большей длительностью хранения и более частным употреблением.

В 70–90-х годах прошлого века была получена коллекция мутантов ячменя с нарушенным синтезом антоцианов и/или проантоцианидинов. С помощью теста на аллелизм мутанты были сгруппированы в 30 групп комплементации, названные *Ant* (*Anthocyanin-less*). Эти локусы называют генами синтеза антоцианов и/или проантоцианидинов. На данный момент не для всех локусов известна локализация и молекулярная функция. А выявленные локусы (*Ant13*, *Ant17*, *Ant18*, *Ant19*, *Ant22*, *Ant26*, *Ant30*) либо контролировали ферментативную активность, либо регулировали транскрипционную активность генов, задействованных в биосинтезе [5].

Гены регуляторного комплекса MBW, контролирующего синтез флавоноидных соединений, охарактеризованы не так подробно, как структурные гены биосинтеза проантоцианидинов. В настоящее время ведутся интенсивные работы по выявлению всех компонентов этого комплекса, контролирующих формирование пигментации в различных органах, а также в тканях зерна ячменя. *Ant 27* относится к генам, действие которых до конца не изучено. Он может быть регуляторным геном [5].

Исходя из вышесказанного актуальной задачей является выявление генов, контролирующих синтез проантоцианидинов в растениях для получения сортов злаков с повышенным содержанием этих соединений для потребления в пищу и с пониженным — для пивоваренной промышленности, так как у пива с пониженным содержанием проантоцианидинов не происходит коллоидного помутнения.

Целью работы является выявление и функциональная характеристика генов-

кандидатов из локуса *Ant27*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя.

Исследование было проведено с использованием мутантов *ant27.488* и *ant27.2043*. В качестве контроля использовали родительские сорта Zenit и Arena соответственно, на основе которых путем обработки азидом натрия были получены исследуемые мутанты.

Ранее в лаборатории молекулярной генетики полифенольного метаболизма растений ИЦиГ СО РАН с помощью массового сегрегационного анализа был выявлена локализация *Ant27* на хромосоме 5Н между маркерами SCRI_RS_232881 (позиция 330085368 – 330085482) и BOPA1_3928-513 (460768987 – 460769185) [1].

В ходе анализа ортологов генов арабидопсиса, контролирующих биосинтез проантоцианидинов, был выявлен ген-кандидат, относящийся к семейству WRKY ортологичный которому ген ячменя попадает в выявленный ранее район хромосомы 5Н, кроме того фенотип растений арабидопсиса с мутацией в гене WRKY схож с фенотипом мутантов *Ant27*. Была определена нуклеотидная последовательность гена-кандидата, включая промотор, у двух независимых мутантов *ant27.488* и *ant27.2043* и их родительских сортов Zenit и Arena. Кроме этого у исследуемых генотипов была измерена всхожесть и содержание антоцианов в листовых влагалищах для мутантов.

В результате секвенирования у мутанта *ant27.2043* была обнаружена 1 замена в кодирующей части гена WRKY: замена С на Т приводит к замене глутаминовой кислоты на стоп-кодон. У мутанта *ant27.488* не было обнаружено замен в кодирующей части белка относительно его родительского сорта Zenit, но была обнаружена замена G на A в промоторе.

В результате измерения всхожести в течение 7 дней было обнаружено, что всхожесть мутанта *ant27.488* достоверно ниже всхожести его родительского сорта Zenit, а всхожесть мутанта *ant27.2043* ниже его родительского сорта Arena.

В результате измерения содержания антоцианов в листовых влагалищах не было обнаружено различий между мутантами *ant 27.488* и *ant 27.2043* и их родительскими сортами – Zenit и Arena соответственно.

Благодаря выявленным мутациям становится возможной разработка маркеров для маркер-ориентированной селекции растений с повышенным содержанием проантоцианидинов для употребления в пищу и с пониженным – для пивоваренной промышленности.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-76-10024.

Список литературы

- 1 Шоева О. Ю. и др. Исследование генетических основ синтеза проантоцианидинов в зерне ячменя для направленной селекции сортов пивоваренного назначения. 2022.

- 2 Crozier A. Dietary phenolics, absorption, mammalian and microbial metabolism and colonic health //Molecular nutrition & food research. 2009. Т. 53. С. 5–6.
- 3 Debeaujon I., Leon-Kloosterziel K. M., Koornneef M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in Arabidopsis //Plant physiology. 2000. Т. 122. №. 2. С. 403–414.
- 4 Dong C. Protective effect of proanthocyanidins in cadmium induced neurotoxicity in mice // Drug Research. 2014. P. 555–560.
- 5 Jende-Strid B. Genetic control of flavonoid biosynthesis in barley // Hereditas. 1993. V. 119. №. 2. P. 187–204.
- 6 Jia L. et al. Proanthocyanidins inhibit seed germination by maintaining a high level of abscisic acid in Arabidopsis thaliana F // Journal of integrative plant biology. 2012. Т. 54. №. 9. С. 663–673.
- 7 Rauf A. et al. Proanthocyanidins: A comprehensive review //Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019. V 116. P. 108999.
- 8 Terao J., Kawai Y., Murota K. Vegetable flavonoids and cardiovascular disease // Asia Pacific journal of clinical nutrition. 2008. №. 17.

DOI 10.18699/GPB2024-62

Генетическая изменчивость изолятов пыльной головни пшеницы *Ustilago tritici* (Pers.) Jens.

Орлова Е.А. *, к.с.-х.н., в.н.с.; Агеева Е. В., к.с.-х.н., н.с.; Пискарев В. В. к. с.-х. н., зав. лабораторией.

Сибирский НИИ растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН, Краснообск, Россия
*email: Orlova.lena10@yandex.ru

Изучен расовый состав пыльной головни яровой мягкой пшеницы в Новосибирской области. Установлено, что 66 раса не однородна и состоит из более мелких биотипов, различающихся по реакции вирулентности на сортах – дифференциаторах и дополнительном наборе сортов, включенных в исследование.

Ключевые слова: пыльная головня пшеницы, изоляты, раса, сорта-дифференциаторы.

Genetic variability of isolates of the loose smut of wheat *Ustilago tritici* (Pers.) Jens.

Orlova E.A. *, Ageeva E. V. Piskarev V.V.

Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Krasnoobsk, Russia

The racial composition of the loose smut of spring soft wheat in the Novosibirsk region has been studied. It was found that the 66 race is not homogeneous and consists of smaller biotypes that differ in virulence response on differentiator varieties and an additional set of varieties included in the study.

Keywords: wheat dusty smut, isolates, race, differentiator varieties.

Расовая популяция пыльной головни пшеницы не стабильна. Причины возник-