

Исследование хозяйственной ценности генов, контролирующих синтез меланинов в колосе ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

Шоева О.Ю.^{1*}, к.б.н., с.н.с.; Глаголева А.Ю.¹, к.б.н., м.н.с.; Шмаков Н.А.¹, к.б.н., м.н.с.; Вихорев А.В.¹, асп., лаб.; Молобекова К.А.¹, студент, лаб.; Кукоева Т.В.¹, ст. лаб.; Морозов С.В.², к.х.н., зав. лаб.; Черняк Е.И.², к.х.н., с.н.с.; Хлесткина Е.К.³, д.б.н., директор института.

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

³Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

*email: olesya_ter@bionet.nsc.ru

Меланины растений представляют собой полимерные пигменты полифенольной природы. Они зачастую присутствуют в семенах растений и издревле употребляются в пищу человеком, однако их потенциал в качестве функциональных пищевых ингредиентов исследован очень слабо и сегодня селекции, направленной на увеличение содержания данного типа пигментов в зерне сельскохозяйственных культур, не ведут. В представленной работе проводится изучение молекулярно-генетического контроля синтеза меланинов в зерне ячменя, а полученные данные используются для разработки генетических моделей для изучения хозяйственной ценности данного типа пигментов.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, полифенольные соединения, маркер-опосредованная селекция, *Blp1*, *Pro*.

Study of the economic value of genes that control the synthesis of melanins in barley (*Hordeum vulgare* L.) spike

Shoeva O.Yu.¹, Glagoleva A.Yu.¹, Shmakov N.A.¹, Vikhorev A.V.¹, Molobekova K.A.¹, Kukoeva T.V.¹, Morozov S.V.², Chernyak E.I.², Khlestkina E.K.³

¹Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

²N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS, Novosibirsk, Russia

³N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

*email: olesya_ter@bionet.nsc.ru

Plant melanins are polymer pigments of polyphenolic nature. They are often present in plant seeds and have been consumed by humans since ancient times, but their potential as functional food ingredients has been very poorly studied and today there is no targeted selection for increased content of these pigments in grains of agricultural crops. In this study, the molecular-genetic control of melanin synthesis in barley grain was investigated. The data obtained are used to develop genetic models to study the economic value of this type of pigments.

Key words: antioxidant activity, polyphenol compounds, marker-assisted breeding, Blp1, Ppo.

Меланины представляют собой полимерные полифенольные соединения с большим молекулярным весом и сложной кристаллической структурой [1]. Эти соединения широко представлены в природе. Они присутствуют во всех царствах живых организмов, включая бактерии, грибы, животные и растения. У растений эти пигменты синтезируются как правило в семенах, где они выполняет защитные функции. Показано, что образцы ячменя и овса, имеющие темное зерно, меньше поражаются фузариозом по сравнению с образцами со светлым зерном. Кроме этого, образцы с черными зернами более холодо- и засухоустойчивы по сравнению со светлозерными образцами [1].

Обладая антиоксидантной активностью, меланины проявляют высокую биологическую активность, что привлекают повышенное внимание к данной группе соединений в качестве пищевых добавок и ингредиентов, обладающих защитными, диетическими и лечебно-профилактическим действием [2]. Основными источниками растительного меланина являются чага березового гриба, но возобновление данного сырья в природных условиях является длительным процессом, и лужга подсолнечника с наличием балластной фракции и низким содержанием пигмента [2]. Поиск перспективных источников меланина является актуальной задачей.

У ячменя известны образцы с черной окраской колоса, которая обусловлена синтезом меланиновых пигментов в хлоропластах клеток перикарпа зерновки и чешуй колоса под контролем гена *Blp1* (*Black lemma and pericarp 1*), картированного на хромосоме 1HL [3]. В представленной работе проводится изучение молекулярно-генетического контроля синтеза меланинов в зерне ячменя, а полученные данные используются для разработки генетических моделей для изучения хозяйственной ценности данного типа пигментов.

Гены, вовлеченные в синтез меланина в колосе ячменя

С помощью анализа неравновесия по сцеплению в локусе *Blp1* было выявлено наличие ассоциации чёрной окраски колоса с заменами в нуклеотидной последовательности гена HORVU1Hr1G086780, что позволило разработать диагностические маркеры для локуса *Blp1*.

С помощью сравнительного транскриптомного анализа зерна черноколосой и белоколосой почти-изогенных линий ячменя показано, что образование меланина в зерне сопровождается изменением экспрессии генов биосинтеза фенилпропаноидов, жирных кислот и целлюлозы, что на биохимическом уровне сопровождалось изменением профиля фенольных соединений. Так, содержание бензойных кислот было выше, коричных – не отличалось, а флавоноидов – ниже в чёрноколосой линии, чем в линии, зерно которой не содержит меланин. Выявлена повышенная экспрессия гена *Ppo2* в оболочках зерна с черной окраской, с помощью генетического

анализа показано вовлечение этого гена в синтез меланиновых пигментов в чешуях колоса ячменя.

Генетические модели для изучения синтеза меланина и хозяйственной ценности генов, контролирующих его образование

С помощью маркер-опосредованной селекции был создан набор почти-изогенных линий ячменя на основе сорта Bowman, несущих ген *Blp1* в комбинации с генами *Ant1/Ant2*, *Alm1*, *Nud1*, *Ppo2*. Разработанные линии использовались для исследования особенностей генетической регуляции синтеза меланина в колосе ячменя, а также для выявления хозяйственной ценности генов, контролирующих синтез меланинов (см. таблицу).

Почти-изогенные линии ячменя, используемые в сравнительных исследованиях

№	Название линии	Аллельное состояние генов					Ссылка
		<i>Ant1, Ant2</i>	<i>Blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	
1	Bowman	<i>ant1, ant2</i>	<i>blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	[4]
2	i:Bw <i>Blp1</i>	<i>ant1, ant2</i>	<i>Blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	
3	i:Bw <i>Ant1Ant2</i>	<i>Ant1, Ant2</i>	<i>blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	
4	i:Bw <i>alm1</i>	<i>ant1, ant2</i>	<i>blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>alm1</i>	
5	i:Bw <i>Ant1Ant2Blp1</i>	<i>Ant1, Ant2</i>	<i>Blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	[5]
6	i:Bw <i>alm1Blp1</i>	<i>ant1, ant2</i>	<i>Blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>alm1</i>	[6]
7	i:Bw <i>Blp1Nud1</i>	<i>ant1, ant2</i>	<i>Blp1</i>	<i>Ppo2</i>	<i>nud1</i>	<i>Alm1</i>	[7]
8	i:Bw <i>Blp1ppo2</i>	<i>ant1, ant2</i>	<i>Blp1</i>	<i>ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	данное исследование
9	i:Bw <i>ppo2</i>	<i>ant1, ant2</i>	<i>blp1</i>	<i>ppo2</i>	<i>Nud1</i>	<i>Alm1</i>	

Комбинация доминантных аллелей гена *Blp1* с генами *Ant1*, *Ant2*, контролирующими образование антоцианов в зерне ячменя, показала, что ген *Blp1* положительно влияет на содержание антоцианов в зерновке, повышая их количество почти в два раза по сравнению с фиолетовозёрной линией, у которой ген *Blp1* находится в рецессивном состоянии (рис. 1).

При комбинировании доминантного аллеля гена *Blp1* и рецессивного аллеля гена *Alm1*, контролирующего образование хлорофилла в чешуях колоса, было показано замедление синтеза меланина в колосе ячменя по сравнению с контрольной линией, несущей доминантный аллель гена *Alm1*.

При комбинировании доминантного аллеля гена *Blp1* и рецессивного аллеля гена *Nud1*, контролирующего признак плёнчатости, была разработана генетическая модель, которая использовалась для анализа транскрипционной активности генов *Ppo* в тканях перикарпа и чешуй колоса по отдельности. Показан вклад гена *Ppo2* в образование меланина в чешуях колоса ячменя.

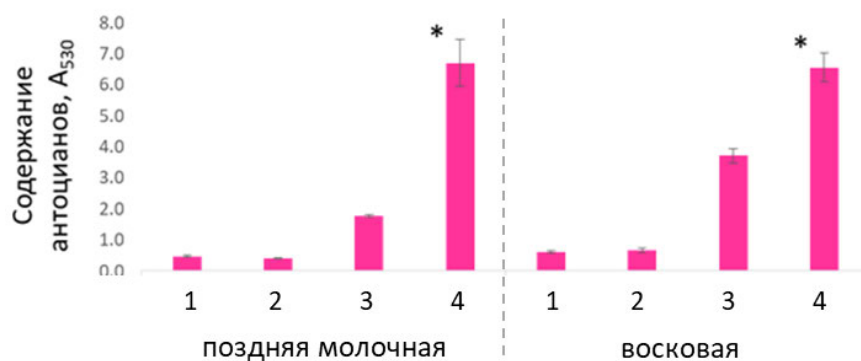


Рис. 1. Содержание антоцианов в зерне сорта Bowman (1) и линий i:BwBlp1 (2), i:BwAnt1Ant2 (3), i:BwAnt1Ant2Blp1 (4) на поздней молочной и восковой стадиях развития зерна.

* – достоверно большее содержание антоцианов по сравнению с фиолетовозёрной линией при $p < 0.05$ (U -тест)

Рецессивный аллель гена *Pro2* был скомбинирован с доминантным и рецессивным аллелями гена *Blp1*. Линия i:BwBlp1ppo2, несущая доминантный аллель *Blp1*, характеризовалась наличием светлых чешуй колоса, что подтверждает участие гена *Pro2* в синтезе меланина в чешуях колоса ячменя. При анализе общего содержания фенольных соединений в зерне созданных линий с помощью реактива Фолина-Чокалтеу показано достоверно большее содержание фенольных соединений как у белозерной i:Bwppo2, так и у чернозерной i:BwBlp1ppo2 линий, несущих рецессивный аллель гена *Pro2*, по сравнению с их сестринскими линиями Bowman и i:BwBlp1, у которой этого ген присутствовал в доминантном состоянии соответственно (рис. 2, А). При этом наибольшее содержания фенольных соединений наблюдалось у линии i:BwBlp1ppo2.

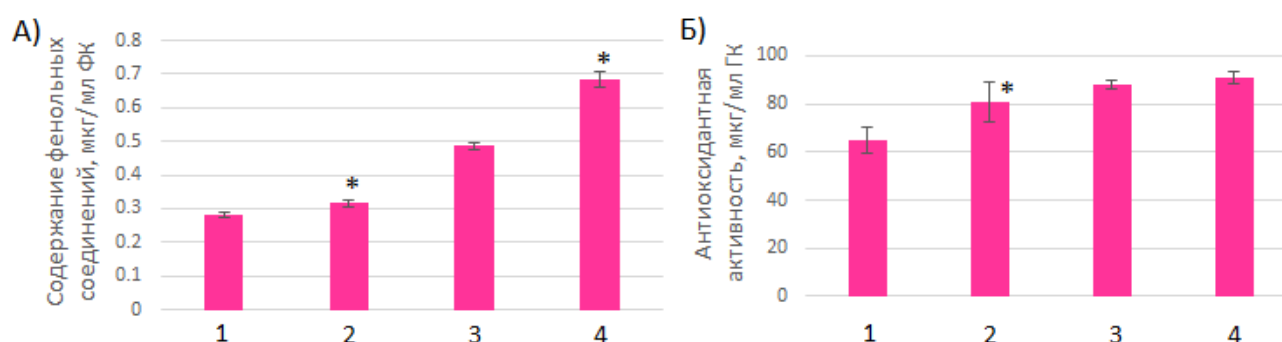


Рис. 2. Суммарное содержание фенольных соединений (А) и антиоксидантов (Б) в метанольных экстрактах зерна сорта Bowman (1) и линий i:Bwppo2 (2), i:BwBlp1 (3), i:BwBlp1ppo2 (4), измеренное в эквивалентах фолиевой (ФК) и галловой (ГК) кислот, соответственно.

* – достоверно большее значение по сравнению с линиями с доминантными аллелями гена *Pro2* при $p < 0.05$ (U -тест)

Линии, несущие рецессивный аллель гена *Pro2*, характеризовались повышенным суммарным содержанием антиоксидантов, которое в случае белозерной линии было достоверно выше, чем у сестринской линии, несущей доминантный аллель *Pro2* (см. рис. 2, Б).

На морфологическом уровне отрицательного влияния локуса *Blp1* на показатели продуктивности растений выявлено не было.

Таким образом, в ходе исследования были выявлены гены, контролирующих синтез меланиновых пигментов в колосе ячменя, и их перспективные комбинации, в том числе с другими генами, для проведения селекции на качество зерна.

Финансирование: работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-76-10024.

Список литературы

- 1 Glagoleva A.Y., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. Melanin pigment in plants: current knowledge and future perspectives // Front. Plant Sci. 2020. V. 11. № 770, P. 1–7.
- 2 Школьников М.Н., Кадрицкая Е.А. Обоснование использования лузги гречихи для получения функциональных пищевых красителей // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2020. № 4. С. 22–28.
- 3 Shoeva O.Y., Mursalimov S.R., Gracheva N.V., Glagoleva A.Y., Börner A., Khlestkina E.K. Melanin formation in barley grain occurs within plastids of pericarp and husk cells // Sci. Rep. 2020. V. 10. № 179. P. 1–9.
- 4 Druka A., Franckowiak J., Lundqvist U., Bonar N., Alexander J., Houston K., Radovic S., Shahinnia F., Vendramin V., Morgante M., et al. Genetic dissection of barley morphology and development // Plant Physiol. 2011. V. 155. P. 617–627.
- 5 Glagoleva A., Kukoeva T., Mursalimov S., Khlestkina E., Shoeva O. Effects of combining the genes controlling anthocyanin and melanin synthesis in the barley grain on pigment accumulation and plant development // Agronomy. 2022. V. 12. № 112. P. 1–12.
- 6 Mursalimov S., Glagoleva A., Khlestkina E., Shoeva O. Chlorophyll deficiency delays but does not prevent melanogenesis in barley seed melanoplasts // Protoplasma. 2022. V. 259. P. 317–326.
- 7 Glagoleva A.Y., Kukoeva T.V., Khlestkina E.K., Shoeva O.Y. Polyphenol oxidase genes in barley (*Hordeum vulgare* L.): functional activity with respect to black grain pigmentation // Front. Plant Sci. 2024. V. 14. № 1320770. P. 1–12.

DOI 10.18699/GPB2024-107

Результаты селекции гороха на повышение урожайности в Татарском НИИСХ

*Шурхаева К.Д.**, к.с.-х.н. с.н.с.; *Хуснутдинова А.Т.* к.с.-х.н., н.с.; *Абросимова Т.Н.*, н.с.
Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Федеральный
исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»,
Казань, Россия

*email: shurhaeva.k@yandex.ru

За три года исследования выявлены особенности различных морфологических групп сортов гороха по формированию урожайности в зависимости от погодных условий. В годы исследования обнаружена положительная взаимосвязь урожайности от продолжительности вегетационного периода ($r=0,44^{**}$, $r=0,54^{**}$). Селек-