

ВЫЯВЛЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ДЛЯ МАРКЁР-ОПОСРЕДОВАННОЙ СЕЛЕКЦИИ РЖИ *SECALE CEREALE* L. НА ВЫСОКОЕ СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНОВКЕ

Буланов А. Н.^{1, 2}, Андреева Е. А.^{1, 2}, Зыкин П. А.², Цветкова Н. В.²,
Войлоков А. В.¹

¹ Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Санкт-Петербургский филиал

² Санкт-Петербургский государственный университет

an.bulanov20002014@gmail.com

Антоцианы являются нефотосинтетическими пигментами растений, выполняющими множество важных функций в первую очередь связанных с физиологическим ответом на неблагоприятные условия среды. Во множестве работ обсуждаются полезные для здоровья человека свойства антоцианов, прежде всего их высокая антиоксидантная активность. Имеются данные, свидетельствующие о том, что регулярное употребление антоцианов в пищу способно снижать риск развития многих заболеваний. В связи с этим в последние годы большое внимание приковано к селекции форм злаков, обогащённых антоцианами. Петергофская генетическая коллекция ржи включает десятки разнообразных форм, различающихся по антоциановой пигментации. В том числе поддерживаются инбредные линии, несущие рецессивные мутации генов, контролирующих биосинтез антоцианов, а также линии, фиксированные по доминантным мутациям, детерминирующим фиолетовую или зелёную пигментацию зерновки. В связи с этим коллекция представляет уникальную возможность для изучения генетического контроля биосинтеза антоцианов, а также может служить источником генов для селекции ржи на высокое содержание антоцианов и родственных им соединений.

Особое внимание при такой селекции уделяется регуляторным генам биосинтеза, транскрипционные факторы MYB и bHLH-MYC, формирующие с белками WD40 так называемый MBW-комплекс, который определяет пространственную, временную и биохимическую специфичность накопления антоцианов. К сожалению, особенности регуляции биосинтеза антоцианов у ржи изучены недостаточно. Для установления модели регуляции биосинтеза антоцианов у ржи, на основании оригинальных и литературных данных, нами был про биоинформатический анализ, позволивший обнаружить потенциальные позитивные регуляторы антоциановой пигментации. WD40-ген *PAC1*, вероятно, является универсальным регулятором биосинтеза антоцианов во всех тканях и органах ржи. MYB-ген *Mrc1-7R* и MYC-ген *Myc-7R1* входят вместе с геном ключевого фермента синтеза дельфинидина F3'5'H в состав трёхгенного кластера в хромосоме 7RS, определяющего у других видов Пшеницевых признак голубозёрности. Мы предполагаем, что гены данного кластера у ржи определяют признак серо-зелёной окраски зерновки, связанной с накоплением производных дельфинидина в алейроне. Ген *Mrc1-4R* в хромосоме 4RL, предположительно, является основным MYB-геном, определяющим биосинтез красно-фиолетовых антоцианов в вегетативных органах и перикарпе. Комплементарный ему MYC-ген *Myc-2R* в хромосоме 2RL, соответствует гену *Violet seed* (*Vs*), контролирующему у ржи фиолетовую окраску перикарпа. Мы провели секвенирование двух доминантных и трёх рецессивных аллелей гена *Vs*, фиксированных у инбредных линий Петергофской генетической коллекции. Было обнаружено, что отсутствие антоцианов в перикарпе у трёх линий связано с инсерцией *Mutator*-транспозона в промоторную область данного гена. На основании изученных последовательностей был разработан функциональный CAPS-маркёр гена *Vs*. В настоящее время проводится изучение аллельного разнообразия и функ идентифицированных MBW-генов ржи, а также разрабатываются маркёры для их эффективного использования в генетике и селекции ржи.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ в соответствии с согла No 075-15-2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета РФ.

IDENTIFICATION OF REGULATORY GENES FOR MARKER-ASSISTED BREEDING OF RYE (*SECALE CEREALE* L.) WITH HIGH ANTHOCYANIN CONTENT IN THE GRAIN

Bulanov A. N.^{1,2}, Andreeva E. A.^{1,2}, Zykin P. A.², Tsvetkova N. V.², Voylokov A. V.¹

¹ Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Science, Saint Petersburg branch

² Saint Petersburg State University

an.bulanov20002014@gmail.com

Anthocyanins are non-photosynthetic plant pigments that perform a variety of important functions, primarily related to the physiological response to environmental stressors. Numerous studies discuss the health benefits of anthocyanins particularly their high antioxidant activity. Multiple lines of evidence indicate that regular dietary intake of anthocyanins can reduce the risk of many diseases. Hence, in recent years, considerable attention has been focused on breeding cereal crops enriched with anthocyanins. The Peterhof Genetic Collection of Rye comprises dozens of diverse forms with varying levels of anthocyanin pigmentation. These forms include inbred lines with recessive mutations in genes controlling anthocyanin biosynthesis, as well as lines with dominant mutations that determine purple or green grain pigmentation. Therefore, the Collection provides a unique opportunity to study the genetic control of anthocyanin biosynthesis and serves as a potential source of genes for breeding rye varieties with high content of anthocyanins and related compounds.

Particular attention in such breeding is given to the regulatory genes of anthocyanin biosynthesis. These genes encode MYB and bHLH-MYC transcription factors that, together with WD40 proteins, form the so-called MBW complex. This complex determines the spatial, temporal, and biochemical specificity of anthocyanin accumulation. Unfortunately, the regulation of anthocyanin biosynthesis in rye is still poorly understood. To establish a model for the regulation of anthocyanin biosynthesis in rye, we conducted a bioinformatic analysis based on original and literature data that revealed potential positive regulators of anthocyanin pigmentation. The WD40 gene *PAC1* is highly likely to be a universal regulator of anthocyanin biosynthesis across all tissues and organs of rye. The MYB gene *Mpc1-7R* and the MYC gene *Myc-7R1*, along with the gene encoding the key enzyme for delphinidin synthesis, F3'5'H, are located within a trigenic cluster on chromosome 7RS. In other Triticeae species orthologous trigenic cluster controls the trait of blue grain color. We assume that this trigenic cluster in rye determines the trait of gray-green grain coloration, associated with the accumulation of delphinidin derivatives in the aleurone layer. The *ThMepc1-4R* gene on chromosome 4RL is presumably the primary MYB gene responsible for the biosynthesis of red-purple anthocyanins in vegetative organs and the pericarp. Its complementary MYC gene, *Myc-2R* on chromosome 2RL, corresponds to the *Violet seed (Vs)* gene, which determines purple pericarp coloration in rye. We sequenced two dominant and three recessive alleles of the *Vs* gene fixed in the inbred lines of the Peterhof Genetic Collection. It was found that the absence of anthocyanins in the pericarp of three lines is associated with the insertion of a *Mutator* transposon into the promoter region of this gene. Based on the studied sequences, a functional CAPS marker for the *Vs* gene was developed. Ongoing research is investigating the allelic diversity and functional roles of the identified MBW genes in rye. Meanwhile, molecular markers for these genes are being developed for their effective application in rye genetics and breeding.

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with Agreement No. 075-15-2022-322 dated 22.04.2022 for the provision of a grant in the form of a subsidy from the federal budget of the Russian Federation.