

Гены халконсинтаз вовлечены в ответные реакции растений чеснока (*Allium sativum*) на абиотические стрессы

М.А. Филюшин*, О.К. Анисимова, А.В. Щенникова, Е.З. Кочиева

Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина ФИЦ Биотехнологии Российской академии наук, Москва, Россия

* michel7753@mail.ru

Цель: Флавоноиды являются одними из основных типов вторичных метаболитов растений и, обладая антиоксидантной активностью, играют важную роль в защите растений от биотических и абиотических стрессоров. Луковицы и листья чеснока *Allium sativum* содержат широкий спектр различных вторичных метаболитов, в том числе флавоноидов. Однако, несмотря на значимость, гены флавоноидного пути у чеснока не идентифицированы и не изучены. Целью проекта стала идентификация в геноме чеснока генов халконсинтаз (CHS), которые кодируют первый фермент пути биосинтеза флавоноидов, и определение профилей их экспрессии в ответ на абиотические стрессы и фитогормоны.

Материалы и методы: Поиск последовательностей генов халконсинтаз проводили в геномных и транскриптомных данных чеснока *A. sativum* (сорт Ershuizao; PRJNA606385) в базе данных AlliumDB (<https://allium.qau.edu.cn/>). Профили экспрессии *AsCHS* определяли в корнях и листьях проростков чеснока (сорт Сармат), подвергнутых воздействиям солевого стресса (100 мМ NaCl), засухи (10% PEG-6000), холодового стресса (+4°C), затемнения, абсцизовой кислоты (100 мкМ) и метилжасмоната (100 мкМ) в течение 6 и 24 часов.

Результаты: В геноме чеснока было идентифицировано восемь генов халконсинтаз (*AsCHS1–AsCHS8*). Последовательности генов различались по длине (1182–2010 п.н.) и содержали от одного до трех экзонов. Белки *AsCHS1–8* имели сходный размер (375–397 а.о.) и предсказанные физико-химические характеристики. Все последовательности *AsCHS* содержали халконсинтазные домены *Chal_sti_synt_N* (PF00195.16) и *Chal_sti_synt_C* (PF02797.12), консервативные остатки (Cys167, Phe218, His309, Asn342) активного центра фермента, сайты связывания с малонил-КоА и сигнатурную последовательность халконсинтаз, что может свидетельствовать об их функциональной значимости.

В ответ на стрессовые факторы в корнях и листьях проростков чеснока изучена динамика экспрессии генов халконсинтаз: выявлена значимые уровни экспрессии только *AsCHS8*, тогда как остальные гены либо не экспрессировались (*AsCHS1*, 5, 6, 7), либо выявлены следовые количества транскриптов (*AsCHS2*, 3, 4 в листьях при холодовом стрессе). Солевой стресс стимулировал экспрессию *AsCHS8*: в корнях экспрессия гена возрастала в 2.7 (6 ч) и 2.9 (24 ч) раза в сравнении с контролем; в листьях – повышалась в 1.3 раза (6ч), но снижалась в 1.2 раза через 24 ч воздействия. В условиях засухи экспрессия *AsCHS8* в корнях снижалась, тогда как в листьях сначала наблюдалась активация экспрессии, а затем через 24 ч стресса резкое снижение до следовых значений. Холодовой стресс индуцировал экспрессию *AsCHS8* в начале воздействия (6 ч) в корнях (в 6.6 раза) и листьях (в 8.6 раза); через 24 ч стресса уровень транскриптов в корнях возрастал в 113.3 раза, а в листьях, наоборот, уменьшался в 1.5 раза. Экзогенная обработка растений чеснока фитогормонами подавляла экспрессию *AsCHS8* в корнях до нулевых значений. В листьях экспрессия гена существенно снижалась на протяжении 24 ч в случае АБК, в то время как при обработке MeJA уровень транскриптов сначала увеличивался в 1.2 раза (6 ч) и через 24 ч после обработки уменьшался до следовых количеств.

Также проведен анализ зависимости экспрессии гена *AsCHS8* в корнях и листьях чеснока от наличия освещения. Полученные результаты свидетельствуют о светозависимой регуляции экспрессии гена *AsCHS8*: в корнях в норме, то есть в темноте, экспрессия данного гена минимальна, а при наличии освещения экспрессия гена значительно возрастает; в листьях при затемнении в течение 6 ч экспрессия гена драматически снижалась, но при длительном затемнении (24 ч) экспрессия гена восстанавливалась до уровня, сопоставимого с таковым в освещенных листьях, что может быть связано с активацией защитных механизмов и синтеза флавоноидов.

Выводы: В геноме чеснока впервые идентифицировано и охарактеризовано семейство генов халконсинтаз (*AsCHS1–8*), проанализирована их экспрессия в ответ на абиотические стрессоры (засоление, засуха, холод), экзогенные фитогормоны (АБК, MeJA) и наличие освещения. В листьях и корнях чеснока выявлена экспрессия только гена *AsCHS8*, остальные гены *AsCHS* либо не экспрессировались, либо выявлены следовые количества транскриптов. Абиотические стрессоры сходным образом влияли на экспрессию *AsCHS8* в листьях, в то время как эффект, оказываемый на корни, был специфичен для каждого стрессора.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-76-10005 (<https://rscf.ru/project/24-76-10005/>) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.