

Молекулярно-генетический анализ мутации безантоциановости *vi3* у ржи

Н.В. Цветкова^{1*}, А.Н. Буланов², С.Б. Нопимбонг Нипимбо¹, П.А. Зыкин¹, А.В. Евстигнеева²,
Г.Д. Решетникова¹, Е.А. Андреева^{1,2}, А.В. Войлоков²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Санкт-Петербургский филиал, Санкт-Петербург, Россия

* n.tswetkova@spbu.ru

Цель: Широкий спектр окраски вегетативных и генеративных органов растений от розового до красного и фиолетового обеспечивают флавоноидные пигменты – антоцианы. Известно, что растения с антоцианами обладают адаптивным преимуществом, они более устойчивы к биотическим и абиотическим стрессам. В биосинтезе антоцианов принимают участие более десяти ферментов, а гены, кодирующие их структуру в геноме ржи представлены многими копиями (Rabanus-Wallace et al., 2021). Для проведения исследований, направленных на установление биологической функции этих генов, важным инструментом является использование мутантных форм. Генетическую природу признаков, связанных с антоциановой окраской различных органов у ржи *Secale cereale* L., в нашей стране начали изучать в середине 1950-х годов под руководством В. С. Федорова в Ленинградском университете (Смирнов, Соснихина, 1984). В настоящее время в Петергофской генетической коллекции, созданной им и его коллегами, представлены инбредные линии ржи мутантные по пяти разным генам биосинтеза антоцианов, характеризующиеся отсутствием антоцианов на всем растении, включая coleoptile, окраска которого у ржи является индикаторной (Войлоков, Лыхолай, Смирнов, 2014). Одним из генов безантоциановости является ген *vi3*, картированный нами в длинном плече хромосомы 3R в ортологичном положении генам пшеницы и ячменя, контролирующим структуру дигидрофлавонол-4-редуктазы (DFR). Целью настоящей работы являлось установление молекулярной структуры и функции гена *Vi3* у ржи.

Материалы и методы: Для проведения гибридологического анализа созданы две картирующие популяции ржи от скрещивания инбредных линий ржи с контрастным проявлением антоциановой окраски. Растения линии *vi3* характеризуются отсутствием антоциановой окраски на всех частях растения в процессе онтогенеза. Линии L7 и RMu12 характеризуются наличием окраски на растении (coleoptile, узлах, чешуях колоса). Фенотипирование растений F_{2:3} проводили, оценивая окраску coleoptile у десятидневных проростков, и подтверждали учетом антоциановой окраски у взрослых растений. Для секвенирования кодирующей последовательности гена *DFR* подобраны праймеры на основе референсного генома ржи Rye_Lo7_2018_v1p1p1 (Rabanus-Wallace et al., 2021), размещенного в базе NCBI (GenBankGCA_902687465.1) с использованием программ Primer-BLAST, OligoCalc и Multiple Primer Analyzer.

Результаты: Секвенирование кодирующей области гена *DFR* у трех инбредных линий *vi3*, L7 и Rmu12 позволило установить ее консервативность за исключением инсерции в 8 п.н. в третьем экзоне у безантоциановой линии *vi3*. Сопоставление амплифицированной последовательности гена *DFR* линии *vi3* с интрон-экзонной структурой этого гена в базе NCBI показало, что данная инсерция находится в третьем экзоне и приводит к мутации типа «сдвига рамки считывания», вследствие чего появляется преждевременный стоп-кодон TGA через 3 нуклеотида после инсерции. Наличие инсерции позволило нам разработать внутригенный кодоминантный InDel-маркер гена *DFR* – ScDFR-Ins. При анализе совместного расщепления по окраске coleoptile у 209 растений межлинейного гибрида (*vi3*xRMu12) и 116 растений комбинации (L7x *vi3*) была установлена косегрегация разработанного маркера и антоциановой окраски растения.

Выводы: Данные по косегрегации маркера гена *DFR* и мутации безантоциановости *vi3* у двух межлинейных гибридов ржи позволяют сделать вывод о том, что молекулярной функцией гена *Vi3* является кодирование структуры фермента дигидрофлавонол-4-редуктазы.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке СПбГУ, шифр проекта 124032000041-1.