

Влияние генов *Blp1* и *Ppo2* на биохимические характеристики зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

И.С. Добряк^{1, 2*}, О.Ю. Шоева^{1, 2}

¹ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

* dobryakis@bionet.nsc.ru

Цель: Ген *Blp1* ('Black lemma and pericarp') моногенно контролирует признак черной окраски чешуй и перикарпа зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.). Известно, что эта окраска обеспечивается накоплением в тканях пигмента меланина, который образуется в результате окисления фенольных соединений ферментом полифенолоксидазой (PPO). *Blp1* предположительно кодирует транспортер тирозина, обеспечивая таким образом поступление в клетку субстрата для синтеза меланина. А также, как было показано ранее, активирует экспрессию одного из генов, кодирующих PPO, – *Ppo2*. Целью работы является исследование влияния генов *Blp1* и *Ppo2* на биохимические характеристики зерна ячменя, такие как содержание фенольных соединений и антиоксидантная активность, отдельно в чешуях колоса и перикарпе зерна.

Материалы и методы: В исследовании использовались четыре почти-изогенные линии ячменя, отличающиеся аллельным состоянием *Blp1* и *Ppo2*: 'BW' (NGB22812; i:Bwblp1Ppo2) – служит генетическим фоном для остальных трех линий; '4xBW' (i:Bwblp1ppo2); 'BLP' (NGB20470; i:BwBlp1Ppo2); и '240xBLP' (i:BwBlp1ppo2). Аллельное состояние гена *Ppo2* было подтверждено с помощью секвенирования. Транскрипционная активность изучаемых генов оценена отдельно в чешуях колоса и перикарпе зерна на стадии ранней восковой спелости с помощью количественной ОТ-ПЦР. С помощью биохимического анализа определено общее содержание фенольных соединений, антиоксидантная и тирозиназная активности отдельно в чешуях колоса и в зерне ячменя по методикам, описанным в [1, 2] с модификациями. Корреляционный анализ между оцененными параметрами и уровнями транскрипции изучаемых генов проведен с помощью программы STATISTICA 12.

Результаты: Изучена транскрипционная активность генов *Blp1* и *Ppo2* в чешуях колоса и в перикарпе зерна, а также их влияние на экспрессию друг друга. В отличие от гена *Blp1*, который характеризуется одинаково высокой экспрессией в изучаемых тканях у чернозерных образцов BLP и 240xBLP, уровень транскрипционной активности гена *Ppo2* варьирует в зависимости от ткани (в чешуях колоса выше, чем в перикарпе), аллельного состояния гена (пониженная экспрессия нефункционального аллеля по сравнению с функциональным) и наличия функционального аллеля гена *Blp1* (повышенная экспрессия в чернозерных образцах по сравнению с белозерными). Уровень транскрипционной активности гена *Ppo2* положительно коррелирует с тирозиназной активностью: она выше у линий с функциональным аллелем гена *Ppo2* по сравнению с линиями, несущими нефункциональный аллель этого гена, как в чешуях колоса ($r = 0,8685$; $p = 2,67E-05$), так и в зерне, очищенном от чешуй ($r = 0,7221$; $p = 2,37E-03$). Содержание фенольных соединений в исследуемых тканях имеет положительную корреляцию с антиоксидантной активностью (в чешуях: $r = 0,6017$; $p = 1,76E-02$); в зерне без чешуй: $r = 0,9313$; $p = 4,57E-07$), что согласуется с данными об антиоксидантных свойствах данных соединений. При этом в чешуях колоса содержание фенольных соединений положительно коррелирует с уровнем транскрипции как гена *Blp1* ($r = 0,9332$; $p = 3,86E-07$), так и гена *Ppo2* ($r = 0,6793$; $p = 5,35E-03$), тогда как в зерне, очищенном от чешуй, содержание фенольных соединений положительно коррелирует только с уровнем транскрипции гена *Blp1* ($r = 0,9302$; $p = 5,07E-07$), что указывает на различия в функциональной активности гена *Ppo2* в различных тканях зерна.

Выводы: Благодаря использованию набора уникальных почти-изогенных линий ячменя, отличающихся аллельным состоянием генов *Blp1* и *Ppo2*, впервые выявлены тканеспецифические отличия в содержании фенольных соединений и антиоксидантной активности в чешуях колоса и в зерне ячменя в зависимости от аллельного состояния изучаемых генов.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 25-16-20101, <https://rscf.ru/project/25-16-20101/>.

Список литературы

- Sharma P., Gujral H.S. Antioxidant and polyphenol oxidase activity of germinated barley and its milling fractions. *Food Chemistry*. 2010;120:673-678. doi 10.1016/j.foodchem.2009.10.059
- Taranto F., Delvecchio L.N., Mangini G., Faro L.D., Blanco A., Pasqualone A. Molecular and physico-chemical evaluation of enzymatic browning of whole meal and dough in a collection of tetraploid wheats. *J Cereal Sci.* 2012;55:405-414. doi 10.1016/j.jcs.2012.02.005