

ISSN: 2658-6266 (Print)

ISSN: 2658-6258 (Online)

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

4(3), 2021



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ИМЕНИ Н.И. ВАВИЛОВА (ВИР)



THE MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER
EDUCATION OF THE RUSSIAN FEDERATION
FEDERAL RESEARCH CENTER
THE N.I. VAVILOV ALL-RUSSIAN INSTITUTE OF
PLANT GENETIC RESOURCES (VIR)

НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

2021, 4(3)

ОСНОВАН В 2018 ГОДУ
ПЕРИОДИЧНОСТЬ 4 РАЗА В ГОД

*Для биотехнологов, селекционеров, генетиков,
преподавателей вузов биологического
и сельскохозяйственного профиля.*

e-mail: pbi@vir.nw.ru

190000 Россия, г. Санкт-Петербург,
ул. Б. Морская, 42, 44

© Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)

DOI: 10.30901/2658-6266-2021-2
УДК: 573.6:631.527

ПИ № ФС 77–74475
ISSN: 2658-6266 (Print)
ISSN: 2658-6258 (Online)

SCIENTIFIC PEER REVIEWED JOURNAL

PLANT BIOTECHNOLOGY AND BREEDING

2021, 4(3)

FOUNDED IN 2018
PUBLISHED 4 TIMES ANNUALLY

*Addressed to biotechnologists, geneticists,
plant breeders and lecturers of biological
and agricultural universities and colleges.*

e-mail: pbi@vir.nw.ru

42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia

© Federal Research Center
the N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources (VIR)

Используемые на обложке фотографии:

материал к статье «Идентификация носителей аллеля *mlo11(cnv2)* устойчивости к мучнистой росе среди ячменей коллекции ВИР»
(Р. А. Абдуллаев, Н. В. Алпатьева*, Т. В. Лебедева, О. Н. Ковалева, Е. Е. Радченко, И. Н. Анисимова)
Колосья коллекционных образцов ячменя *Hordeum vulgare* L. (Дагестанская опытная станция – филиал ВИР)

On the Cover:

Materials to the article «Identification of barley accessions from VIR collection carrying the *mlo11(cnv2)* powdery mildew resistance allele»
(R. A. Abdullaev, N. V. Alpatieva*, T. V. Lebedeva, O. N. Kovaleva, E. E. Radchenko, I. N. Anisimova).
The ears of collection accessions of barley *Hordeum vulgare* L. (Dagestan Experimental Station of VIR)

Главный редактор:

Е. К. Хлесткина – д.б.н., профессор РАН.

Заместитель главного редактора:

Т. А. Гавриленко – д.б.н.

Ответственные секретари:

И. Н. Анисимова – д.б.н.

Л. Ю. Новикова – д.с.-х.н.

Редакционный совет:

О. С. Афанасенко – д.б.н., академик РАН (Россия)

Г. А. Баталова – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

Р. К. Берсимбаев – д.б.н., академик НАН РК (Казахстан)

Л. А. Беспалова – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

А. И. Грабовец – д.с.-х.н., чл.-корр. РАН (Россия)

С. И. Гриб – д.с.-х.н., академик НАНБ (Беларусь)

Е. А. Егоров – д.э.н., академик РАН (Россия)

В. Г. Еремин – д.с.-х.н., профессор РАН (Россия)

Г. В. Еремин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

Г. И. Карлов – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)

А. В. Кильчевский – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)

Э. А. Козловская – д.с.-х.н. (Беларусь)

Н. А. Колчанов – д.б.н., академик РАН (Россия)

В. Н. Корзун – д-р (Германия)

А. В. Кочетов – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)

Н. В. Кухарчик – д.с.-х.н. (Беларусь)

В. М. Лукомец – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

Л. А. Лутова – д.б.н. (Россия)

С. Мишева – д-р (Болгария)

А. И. Моргунов – д-р (Турция)

В. Ройчев – д.с.-х.н. (Болгария)

А. А. Романенко – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

А. В. Рындин – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

Е. Н. Седов – д.с.-х.н., академик РАН (Россия)

И. А. Тихонович – д.б.н., академик РАН (Россия)

П. Н. Харченко – д.б.н., академик РАН (Россия)

Л. В. Хотылева – д.б.н., академик НАНБ (Беларусь)

В. К. Шумный – д.б.н., академик РАН (Россия)

Редакционная коллегия:

Е. Е. Андронов – к.б.н. (Россия)

Д. А. Афонников – к.б.н. (Россия)

А. Х. Баймиев – д.б.н. (Россия)

И. А. Белан – к.с.-х.н. (Россия)

А. Г. Беседин – к.с.-х.н. (Россия)

М. А. Вишнякова – д.б.н. (Россия)

В. А. Гаврилова – д.б.н. (Россия)

С. В. Гаркуша – д.с.-х.н. (Россия)

Т. А. Гасанова – к.с.-х.н. (Россия)

С. В. Герасимова – к.б.н. (Россия)

М. С. Гинс – д.б.н., чл.-корр. РАН (Россия)

С. В. Гончаров – д.б.н. (Россия)

Р. О. Давоян – д.б.н. (Россия)

Я. Н. Демурич – д.б.н. (Россия)

М. Г. Дивашук – к.б.н. (Россия)

С. Н. Еланский – д.б.н. (Россия)

О. В. Еремина – д.с.-х.н. (Россия)

А. П. Ермишин – д.б.н. (Беларусь)

М. В. Ефимова – к.б.н. (Россия)

Р. Ш. Заремук – д.с.-х.н. (Россия)

С. В. Зеленцов – д.с.-х.н., чл.-корр. РАН (Россия)

Е. Т. Ильницкая – к.б.н. (Россия)

Р. Н. Календарь – к.б.н. (Казахстан)

Н. Н. Карпун – к.б.н. (Россия)

В. С. Ковалев – д.с.-х.н. (Россия)

Н. Н. Коваленко – д.б.н. (Россия)

Е. З. Кочиева – д.б.н. (Россия)

Б. Р. Кулуев – д.б.н. (Россия)

К. У. Куркиев – д.б.н. (Россия)

С. В. Кушнаренко – к.б.н. (Казахстан)

И. Н. Леонова – д.б.н. (Россия)

И. Е. Лихенко – д.с.-х.н. (Россия)

В. В. Лиховской – д.с.-х.н. (Россия)

П. Н. Мальчиков – д.с.-х.н. (Россия)

Т. В. Матвеева – д.б.н. (Россия)

Н. В. Мироненко – д.б.н. (Россия)

И. В. Митрофанова – д.б.н. (Россия)

Е. И. Михайлова – д.б.н. (Россия)

С. В. Осипова – д.б.н. (Россия)

В. Н. Подорожный – к.с.-х.н. (Россия)

Т. Г. Причко – д.с.-х.н. (Россия)

Т. А. Рожмина – д.б.н. (Россия)

А. В. Смыков – д.с.-х.н. (Россия)

А. А. Соловьев – д.б.н., профессор РАН (Россия)

И. И. Супрун – к.б.н. (Россия)

Е. К. Турусбеков – к.б.н. (Казахстан)

Е. В. Ульяновская – д.с.-х.н. (Россия)

О. Ю. Урбанович – д.б.н. (Беларусь)

Ю. В. Фотев – к.с.-х.н. (Россия)

Э. Б. Хатефов – д.б.н. (Россия)

Я. А. Цепилов – к.б.н. (Россия)

М. Н. Шаптуренко – д.б.н. (Беларусь)

О. Ю. Шоева – к.б.н. (Россия)

Л. А. Эльконин – д.б.н. (Россия)

Г. В. Якуба – к.б.н. (Россия)

Editor-in-Chief:

E. K. Khlestkina – Dr. Sci. in Biol., Professor.

Deputy Editor-in-Chief:

T. A. Gavrilenko – Dr. Sci. in Biol.

Executive Secretaries:

I. N. Anisimova – Dr. Sci. in Biol.

L. Yu. Novikova – Dr. Sci. in Agricul.

Editorial council:

O. S. Afanasenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
G. A. Batalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
R. K. Bersimbaev – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS RK (Kazakhstan)
L. A. Bespalova – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
E. A. Egorov – Dr. Sci. in Econ., Full Member of the RAS (Russia)
G. V. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. G. Eremin – Dr. Sci. in Agricul., Professor (Russia)
A. I. Grabovets – Dr. Sci. in Agricul., Corr. Member of the RAS (Russia)
S. I. Grib – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)
G. I. Karlov – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)
P. N. Kharchenko – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
L. V. Khotyleva – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the NAS of Belarus (Belarus)
A. V. Kilchevsky – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the NAS of Belarus (Belarus)
A. V. Kochetov – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)
N. A. Kolchanov – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
V. N. Korzun – Dr. (Germany)
Z. A. Kozlovskaya – Dr. Sci. in Agricul. (Belarus)
N. V. Kukharchik – Dr. Sci. in Agricul. (Belarus)
V. M. Lukomets – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
L. A. Lutova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. Misheva – Dr. (Bulgaria)
A. I. Morgunov – Dr. (Turkey)
A. A. Romanenko – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
A. V. Ryndin – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. Roychev – Dr. Sci. in Agricul. (Bulgaria)
E. N. Sedov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)
V. K. Shumny – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)
I. A. Tikhonovich – Dr. Sci. in Biol., Full Member of the RAS (Russia)

Editorial board:

D. A. Afonnikov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. E. Andronov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
A. H. Bajmiev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. A. Belan – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
A. G. Besedin – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
R. O. Davoyan – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
Ya. N. Demurin – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
M. G. Divashuk – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
M. V. Efimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
S. N. Elansky – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
L. A. Elkonin – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
O. V. Eremina – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
A. P. Ermishin – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)
Yu. V. Fotev – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
S. V. Garkusha – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
T. A. Gasanova – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
V. A. Gavrilova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Gerasimova – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
M. S. Gins – Dr. Sci. in Biol., Corr. Member of the RAS (Russia)
S. V. Goncharov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. T. Ilnitskaya – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
R. N. Kalendar – Cand. Sci. in Biol. (Kazakhstan)
N. N. Karpun – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. B. Khatefov – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. Z. Kochieva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
N. N. Kovalenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
V. S. Kovalev – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
B. R. Kuluev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
K. U. Kurkiev – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Kushnarenko – Cand. Sci. in Biol. (Kazakhstan)
I. N. Leonova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. E. Lihenko – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
V. V. Likhovskoi – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
P. N. Malchikov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
T. V. Matveeva – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
N. V. Mironenko – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
I. V. Mitrofanova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
E. I. Mikhailova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
S. V. Osipova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
V. N. Podorozhniy – Cand. Sci. in Agricul. (Russia)
T. G. Prichko – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
T. A. Rozhmina – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
M. N. Shapturenko – Dr. Sci. Biology (Belarus)
O. Yu. Shoeva – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
A. V. Smykov – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
A. A. Soloviev – Dr. Sci. in Biol., Professor (Russia)
I. I. Suprun – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
Ya. A. Tsepilov – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
E. K. Turuspekov – Cand. Sci. in Biol.
E. V. Ulyanovskaya – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
O. Yu. Urbanovich – Dr. Sci. in Biol. (Belarus)
M. A. Vishnyakova – Dr. Sci. in Biol. (Russia)
G. V. Yakuba – Cand. Sci. in Biol. (Russia)
R. Sh. Zaremuk – Dr. Sci. in Agricul. (Russia)
S. V. Zelentsov – Dr. Sci. in Agricul., Full Member of the RAS (Russia)

СОДЕРЖАНИЕ

ОТ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА	4
<i>Хлесткина Е. К.</i> ВСТУПИТЕЛЬНАЯ СТАТЬЯ	
РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ	5
<i>Лукина К.А., Шоева О.Ю., Ковалева О.Н., Лоскутов И.Г.</i> СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ОБРАЗЦАХ ЗЕРНОВОК ЯЧМЕНЯ И ОВСА ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР	
<i>Крылова Е.А., Михайлова А.С.</i>	15
РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРИБЫ ФАСОЛИЕВЫЕ Phaseoleae DC	
МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ	26
<i>Ригин Б.В., Зувев Е.В., Матвиенко И.И., Андреева А.С.</i> МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ <i>Vrn</i> , <i>Ppd</i> И РЕАКЦИЯ НА ЯРОВИЗАЦИЮ УЛЬТРАСКОРОСПЕЛЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ <i>Triticum aestivum</i> L.	
<i>Абдуллаев Р.А., Алпатъева Н.В., Лебедева Т.В., Ковалева О.Н., Радченко Е.Е., Анисимова И.Н.</i>	37
ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ АЛЛЕЛЯ <i>mlo11(cnv2)</i> УСТОЙЧИВОСТИ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ СРЕДИ ЯЧМЕНЕЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИР.	

CONTENTS

FROM THE EDITOR IN CHIEF	4
<i>Khlestkina E. K.</i> INTRODUCTORY ARTICLE	
DEVELOPMENT OF MODERN BREEDING METHODS	5
<i>Lukina K.A., Shoeva O.Y., Kovaleva O.N., Loskutov I.G.</i> ANTHOCYANIN CONTENT IN GRAINS OF BARLEY AND OAT ACCESSIONS FROM THE VIR COLLECTION.	
<i>Krylova E.A., Mikhailova A.S.</i>	15
REGULATION OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS IN REPRESENTATIVES OF THE TRIBE PHASEOLEAE DC	
METHODS OF MOLECULAR GENETICS IN PLANT BREEDING	26
<i>Rigin B.V., Zuev E.V., Matvienko I.I., Andreeva A.S.</i> MOLECULAR LABELING OF <i>Vrn</i> , <i>Ppd</i> GENES AND VERNALIZATION RESPONSE OF THE ULTRA-EARLY LINES OF SPRING BREAD WHEAT <i>Triticum aestivum</i> L.	
<i>Abdullaev R.A., Alpatieva N.V., Lebedeva T.V., Kovaleva O.N., Radchenko E.E., Anisimova I.N.</i>	37
IDENTIFICATION OF BARLEY ACCESSIONS FROM THE VIR COLLECTION CARRYING THE <i>mlo11(cnv2)</i> POWDERY MILDEW RESISTANCE ALLELE	



Уважаемые читатели!

Актуальным трендом в селекции различных культур является создание сортов для функционального и диетического питания. На сегодняшний день результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что вторичные метаболиты флавоноидной природы – антоцианы – являются природными антиоксидантами и оказывают профилактическое действие.

В частности, антоцианы сдерживают развитие нейродегенеративных заболеваний, укрепляют кровеносную систему, снижают гликемический индекс, обладают противоопухолевой активностью. Антоцианами богаты многие ягодные культуры, но особый интерес представляют растительные продукты, включенные в каждодневный рацион питания, в частности получаемые из зерновых и зернобобовых культур. Всё более заметным трендом становятся «цветная» пшеница и «цветной» рис, характеризующиеся антоциановой окраской. Антоцианы являются природными пигментами, обеспечивающими окраску зерна от фиолетовой, до серовато-голубой и иссиня-черной. В текущем выпуске представлены результаты исследования образцов ячменя и овса из коллекции ВИР – выделены источники с наибольшим содержанием антоцианов, которые могут быть использованы для расширения ассортимента функциональных продук-

тов. Также представлена обзорная статья, обобщающая сведения о регуляции биосинтеза и особенностях накопления антоцианов и других флавоноидных пигментов у основных представителей трибы Phaseoleae DC: сои, фасоли обыкновенной, адзуки и коровьего гороха (вигны китайской или спаржевой фасоли).

Создание сортов для здорового питания помимо акцента на биохимический состав и содержание полезных нутриентов и биологически-активных добавок (БАВ), ставит задачу достижения максимальной пригодности таких сортов для выращивания в условиях экологического земледелия, минимизации химических обработок средствами защиты. Это в свою очередь требует усиления исследований в области генетической защиты растений. В выпуске представлены результаты маркер-контролируемого отбора генотипов, которые могут служить источниками аллеля *mloll(cnv2)*, устойчивости ячменя к мучнистой росе, и быть использованы в практической селекции.

Производство продукции с высокой добавленной стоимостью на основе сортов зерновых, предназначенных для здорового питания, может стать своеобразной нишей для сельхозтоваропроизводства в регионах рискованного земледелия, которым трудно конкурировать в одном сегменте с более южными регионами. Однако в таком случае появляется требование адаптировать сорта к условиям длинного дня и короткого вегетационного периода. В выпуске представлены результаты работы, направленной на диагностику аллельного состава генов *Vrn* и *Ppd* линий яровых форм мягкой пшеницы. Охарактеризованы ультраскороспелые линии, которые могут быть эффективными источниками генов скороспелости в селекции. Сведения об аллельном составе соответствующих генов этих линий делают их так называемыми «донорами нового поколения», источником нужных аллельных вариантов целевых генов в совокупности с технологией ускоренного маркер-контролируемого отбора.

Главный редактор,
Профессор РАН
Е.К. Хлесткина

СОДЕРЖАНИЕ АНТОЦИАНОВ В ОБРАЗЦАХ ЗЕРНОВОК ЯЧМЕНЯ И ОВСА ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Лукина К. А.¹, Шоева О. Ю.², Ковалева О. Н.^{1*}, Лоскутов И. Г.¹

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН), 630090 Россия, г. Новосибирск, пр.ак. Лаврентьева, 10;

* ✉ o.kovaleva@vir.nw.ru

Актуальность. Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) и овес (*Avena sativa* L.) – зерновые культуры, относящиеся к одним из основных источников питания и кормов в Российской Федерации. Они содержат белки, различные группы витаминов, жиры, углеводы, β-глюканы, минеральные вещества и разнообразные биологически активные соединения, в том числе антоцианы. Антоцианы привлекают все больше внимания в связи с широким спектром полезных свойств для человека. Все это позволяет рассматривать зерно ячменя и овса как потенциально перспективный экономический продукт и компонент функционального питания. Цель данной работы оценить относительное содержание антоцианов в образцах ячменя и овса с различной пигментацией зерновки и цветковых чешуй. **Материалы и методы.** Изучено 32 образца ячменя и 11 образцов овса спектрофотометрическим методом. Экстрагирование антоцианов из зерновок ячменя и овса проводилось 1% раствором HCl в метаноле. **Результаты и обсуждение.** В результате изучения выделены образцы и разновидности с наибольшим содержанием антоцианов: ячмень – к-15904 (Китай), к-19906 (Монголия), к-18709 (Япония), к-18723, к-18729 (Канада), к-17725 (Турция), относящиеся к разновидности var. *violaceum*; к-29568 (Япония) – var. *densoviolaceum*; к-8690 (Эфиопия) – var. *griseinigrum*; к-28205 (Германия) – var. *nudidubium*; овес – к-15527 (*A. abyssinica* Hochst. var. *braunii* Koern., Эфиопия) и к-15245 (*A. strigosa* Schreb. subsp. *brevis* var. *tephera* Mordv. ex Sold. et Rod., Польша). **Заключение.** Полученные результаты показывают, что коллекция ВИР включает потенциально ценные образцы для разработки сортов с повышенным содержанием антоцианов, которые могут быть использованы для расширения ассортимента функциональных продуктов.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., *Avena sativa* L., антоцианы, спектрофотометрический метод, генетические ресурсы растений

Для цитирования:

Лукина К.А., Шоева О.Ю., Ковалева О.Н., Лоскутов И.Г. Содержание антоцианов в образцах зерновок ячменя и овса из коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(3):5-14. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-04

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-04> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования России в рамках соглашения № 075-15-2020-911 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

ANTHOCYANIN CONTENT IN GRAINS OF BARLEY AND OAT ACCESSIONS FROM THE VIR COLLECTION

Lukina K. A.¹, Shoeva O. Y.², Kovaleva O. N.^{1*}, Loskutov I. G.¹

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia

² Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS),
10, Acad. Lavrentieva Ave., Novosibirsk 630090, Russia;

*  o.kovaleva@vir.nw.ru

Background. Barley (*Hordeum vulgare* L.) and oat (*Avena sativa* L.) are grain crops belonging to one of the main sources of food and forage in the Russian Federation. They contain proteins, various groups of vitamins, fats, carbohydrates, β -glucans, minerals and different bioactive compounds, including anthocyanins. Recently, much attention has been given to anthocyanins due to their various valuable properties. Therefore, the grain of barley and oat is a potentially promising economic product and a component of functional nutrition. The aim of this work was to estimate the content of anthocyanins in barley and oat accessions with different pigmentation of kernels and lemma. **Materials and methods.** 32 barley and 11 oat accessions were studied by spectrophotometry. Anthocyanins were extracted from barley and oat kernels with a 1% HCl solution in methanol. **Results and discussion.** As a result of the study, accessions and varieties with the highest content of anthocyanins were identified: for barley these are k-15904 (China), k-19906 (Mongolia), k-18709 (Japan), k-18723, k-18729 (Canada), k-17725 (Turkey) belonging to var. *violaceum*; k-29568 (Japan) – var. *densoviolaceum*; k-8690 (Ethiopia) – var. *griseinigrum*; k-28205 (Germany) – var. *nudidubium*; and for oat these are k-15527 (*A. ayssinica* Hochst. var. *braunii* Koern., Ethiopia) and k-15245 (*A. strigosa* Schreb. subsp. *brevis* var. *tephera* Mordv. ex Sold. et Rod., Poland). **Conclusion.** The obtained results demonstrated that the VIR collection includes accessions with potential value for the development of varieties with an increased anthocyanin content, which can be used as functional food products.

Key words: *Hordeum vulgare* L., *Avena sativa* L., anthocyanins, spectrophotometric method, plant genetic resources

For citation:

Lukina K.A., Shoeva O.Y., Kovaleva O.N., Loskutov I.G. Anthocyanin content in grains of barley and oat accessions from the VIR collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(3):5-14. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-04

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-04> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Lukina K.A. <https://orcid.org/0000-0001-5477-8684>

Shoeva O.Y. <https://orcid.org/0000-0001-5289-8631>

Kovaleva O.N. <https://orcid.org/0000-0002-3990-6526>

Loskutov I.G. <https://orcid.org/0000-0002-9250-7225>

УДК 543.4:543.86:547.973:633.16:633.13

Поступила в редакцию: 19.11.2021

Принята к публикации: 15.12.2021

Acknowledgments: The work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of Agreement No. № 075-15-2020-911 of 16.11.2020 on providing a grant in the form of subsidies from the federal budget for the implementation of state support for the creation and development of the world-class scientific center “Agrotechnologies for the future”.

Введение

Зерновые культуры являются основными источниками питания и кормов во всем мире, обеспечивая более половины калорий, потребляемых человеком. В последнее время селекция зерновых культур направлена на создание высокопродуктивных сортов с высоким качеством зерна.

Помимо белка, зерно злаков богато жирами, витаминами, макро- и микроэлементами, а также разнообразными биологически активными соединениями (фенольными соединениями, каротиноидами, токоферолами и другими) (Loskutov, Khlestkina, 2021). В последние годы на мировом рынке появилось большое количество новых продуктов из ячменя и овса, предназначенных для диетического питания. Ячмень и овес являются одними из наиболее востребованных и распространенных зерновых культур.

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) – важная продовольственная, кормовая и пивоваренная культура, отличающаяся хорошей адаптивностью к различным условиям выращивания. Зерно ячменя отличается высоким содержанием белков, углеводов, в том числе β-глюканов, минеральных веществ, витаминов А, D, Е, РР, В, фенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью (Shvachko et al., 2021; Francavilla, Joye, 2020). Все это позволяет рассматривать зерно ячменя как перспективный экономический продукт и компонент функционального питания (Yudina et al., 2021).

Овес (*Avena sativa* L.) – зерновая культура, выращиваемая, в основном, для кормовых и пищевых целей. Овес содержит ценные питательные вещества, такие как белки, ненасыщенные жирные кислоты, минералы, липиды, витамины, клетчатку, что объясняет его использование для профилактики распространенных заболеваний (Shvachko et al., 2021).

Все больше привлекают внимание антоцианы основных зерновых культур (Bellido, Beta, 2009) как природные антиоксиданты. Зерно с высоким содержанием этих соединений может быть использовано для разработки новых функциональных пищевых продуктов (Abdel-Aal et al., 2006).

Антоцианы относятся к группе водорастворимых флавоноидов, отвечающих за различную пигментацию тканей растений (Castañeda-Ovando et al., 2009). У ячменя различные части могут иметь антоциановую окраску: листовые пластинки, листовое влагалище, ушки листового влагалища, стебель, ости, жилки колосковой чешуи и зерновки (Lundqvist et al., 2003).

Антоциановые пигменты у овса встречаются намного реже и пока мало изучены, но всходы и стебель ряда сортов несут следы присутствия антоциана (Tikhvinsky, Doronin, 2007). Кроме того, темная окраска (коричневая и серая) цветковых чешуй зерновок овса связана с меланиновым красителем (Varga et al., 2016), также являющегося природным антиоксидантом (Vargach et al., 2017).

Все антоцианы имеют одну и ту же основную структуру, ион флавилия, состоящий из двух ароматиче-

ских кольцевых структур, связанных трехуглеродным гетероциклическим кольцом, содержащим кислород (Francavilla, Joye, 2020). Антоцианидин (форма агликона) является основной структурной единицей антоциана. Добавление боковой цепи сахара приводит к образованию гликозидной формы молекулы антоцианидина, называемой антоцианом (Castañeda-Ovando et al., 2009). Более 23 антоцианидинов и 500 различных антоцианов были идентифицированы и выделены из растений (Riaz et al., 2016).

Профиль антоцианов и их количество варьирует в ячмене в зависимости от генотипа и условий окружающей среды. Антоцианы могут синтезироваться в перикарпе и алейроновом слое зерна, придавая зерну, соответственно, фиолетовую и голубую окраску (Harlan, 1914; Adzhieva et al., 2016). При этом химический состав антоцианов перикарпа и алейронового слоя, разный. В перикарпе преобладает цианидин-3-глюкозид, тогда как в алейроновом слое – дельфинидин-3-глюкозид (Kim et al., 2007; Siebenhandl et al., 2007). Сорта ячменя с фиолетовой и синей окраской зерновки имеют более высокое среднее содержание антоцианов, чем черные и желтые (Siebenhandl et al., 2007). Изучение состава антоцианов сорта ячменя ‘Russia 68’ с пурпурным околоплодником, показало превалирование пеонидин-3-глюкозида (P3G) и цианидин-3-глюкозида (C3G) (Zhang et al., 2017).

В настоящее время наиболее изучена система генов, участвующих в синтезе флавоноидных пигментов. С 1970-х годов в геноме ячменя идентифицированы и локализованы как структурные гены, кодирующие ферменты метаболизма флавоноидов, так и регуляторные гены, определяющие тканеспецифическое накопление данных пигментов в зерновке и вегетативных органах. К настоящему времени выделены нуклеотидные последовательности регуляторных генов *Ant1* и *Ant2*, определяющих накопление антоцианов в перикарпе зерновки, а также генов *HvMpc2*, *HvMyc2*, *HvWD40*, определяющих накопление антоцианов в алейроновом слое зерновки ячменя (Shoeva et al., 2018). Установлено, что ключевые гены синтеза антоцианов в перикарпе ячменя *H. vulgare* *Ant2* и *Ant1* – это гены *bHLH* и *Myb*, которые располагаются на хромосомах 2Н (ген *Myc1*) и 7Н (ген *Mpc1-H1*) в коллинеарных локусах хромосом риса *O. sativa* L. (Strygina, 2020).

Распространение форм ячменя с антоциановой окраской зерновки преимущественно характерно для земледельческих районов Эфиопии и Эритреи, Малой Азии, Сирии, Палестины, Месопотамии и Закавказья (Vavilov, 1967), особенно в высокогорных и предгорных районах, где интенсивность солнечной радиации резко возрастает (Tikhvinsky, 1991).

Антоцианы выполняют большое количество функций в растениях (Nam et al., 2006; Khlestkina, 2013). Подтверждено, что антоцианы обладают антиоксидантными, противовоспалительными (Tsuda et al., 2002), антидиабетическими (Prior, Wu, 2006), противораковыми (Kang

et al., 2003), гипогликемическими (Jurgoński et al., 2008; Grace et al., 2009), нейропротекторными и другими полезными для здоровья человека свойствами (Yudina et al., 2021).

Растительное сырье с высоким содержанием антоцианов перспективно для производства безопасных и эффективных функциональных продуктов (Karaaslan et al., 2011). Антоцианы ячменя привлекают все большее внимание, как доступные для широкого потребителя источники натуральных антиоксидантов, длительно сохраняющие свои свойства (Bellido, Beta, 2009; Yudina et al., 2021).

Мировая коллекция ФИЦ Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) насчитывает более 18 тысяч образцов культурного ячменя и более 12 тысяч образцов культурного овса. Генетическое разнообразие коллекции ВИР служит основой для работы многих селекционных учреждений России. Поиск потенциальных источников для расширения ассортимента продуктов здорового питания является

актуальной задачей, а коллекция ВИР может обеспечить ее выполнение.

Целью данной работы было оценить содержание антоцианов в образцах ячменя и овса с различной степенью пигментации зерновки и цветковых чешуй.

Материал и методы

В качестве объекта исследования для определения содержания антоцианов были использованы зерновки образцов ячменя и овса из коллекции ВИР. Образцы характеризовались различной окраской зерновки и цветковых чешуй (табл. 1 и 2). Наибольший интерес представляют зерновки голозерного ячменя разной окраски (Рисунок), так как цветковые чешуи овса и ячменя преимущественно удаляют при переработке и не используют в пищевых целях. Всего было изучено 32 образца ячменя и 11 образцов овса.

Таблица 1. Разновидности ячменя *Hordeum vulgare* L., использованные для изучения

Table 1. Botanical varieties of barley *H. vulgare* L. used in the study

Разновидность/ Botanical varieties	Двурядный/ Многорядный/ 2-row/6-row	Пленчатый/ Голозерный/ covered/naked	Описание/ Description
var. <i>nutans</i> Schubl.	Двурядный	Пленчатый	Колосья и зерновки желтые
var. <i>persicum</i> Koern.	Двурядный	Пленчатый	Колосья черные, ости гладкие, черные или желтовато-серые
var. <i>nudum</i> L.	Двурядный	Голозерный	Колосья желтые, зерновки желтого цвета. Наиболее распространенная разновидность из группы двурядного голозерного ячменя
var. <i>dupialbum</i> Koern.	Двурядный	Голозерный	Колосья желтые, безостые, зерновки желтые,
var. <i>viride</i> Vav. et Orl.	Двурядный	Голозерный	Колосья желтые, зерновки зеленые
var. <i>nudidubium</i> Koern.	Двурядный	Голозерный	Колосья грязно-желто-фиолетовые, зерновки фиолетово-бурые
var. <i>nigrinudum</i> Vav.	Двурядный	Голозерный	Колосья черные и рыхлые, зерновки черные
var. <i>pallidum</i> Ser.	Многорядный	Пленчатый	Колосья и зерновки желтые, встречается повсеместно
var. <i>nigrum</i> (Willd.) Link.	Многорядный	Пленчатый	Колосья и ости черные или серые
var. <i>nigripallidum</i> Regel.	Многорядный	Пленчатый	Колосья черные или серые, ости желтые
var. <i>trifurcatum</i> (Schlecht.) Wender.	Многорядный	Голозерный	Колосья и зерновки желтые, вместо остей все колоски имеют трехлопастные придатки – фурки
var. <i>aethiops</i> Koern.	Многорядный	Голозерный	Колосья черные, вместо остей все колоски имеют трехлопастные придатки – фурки, зерновки буро-черные
var. <i>violaceum</i> Koern.	Многорядный	Голозерный	Колосья желтые, зерновки фиолетовые
var. <i>himalayense</i> (Ritt.) Koern.	Многорядный	Голозерный	Колосья желтые, зерновки зеленые
var. <i>densoviolaceum</i>	Многорядный	Голозерный	Колосья желтые, плотные, зерновки фиолетовые

Разновидность/ Botanical varieties	Двурядный/ Многорядный/ 2-row/6-row	Пленчатый/ Голозерный/ covered/naked	Описание/ Description
var. <i>griseinigrum</i> Vav. et Orl.	Многорядный	Голозерный	Колосья желтые, зерновки черные с буровато-серым оттенком
var. <i>aethiopicum</i> Vav. et Orl.	Многорядный	Голозерный	Колосья и ости черные, зерновки черные
var. <i>nudimelanocrithum</i> Giess. et al.	Многорядный	Голозерный	Колосья черные и черно-коричневые, плотные, зерновки черные
var. <i>tibetanum</i> Vav. et Orl.	Многорядный	Голозерный	Колосья серовато-черные, зерновки темно-коричневые
var. <i>duplinigrum</i> Koern.	Многорядный	Голозерный	Колосья, ости и зерновки черные



Рисунок. Зерновки разновидностей голозерного ячменя из коллекции ВИР

Figure. Kernels of botanical varieties of naked barley from the VIR collection

A – var. *aethiops* Koern.; B – var. *nudum* L.; C – var. *nudidubium* Koern.

Таблица 2. Разновидности овса, использованные для изучения

Table 2. Oat botanical varieties used in the study

Название вида и разновидности/ Species and botanical varieties	Описание/ Description
<i>Avena strigosa</i> Schreb. subsp. <i>brevis</i> var. <i>tephera</i> Mordv. ex Rod. et Sold.	Диплоид. Метелка раскидистая. Цветковые чешуи серые. Колоски остистые.
<i>A. strigosa</i> Schreb. subsp. <i>nudibrevis</i> (Vav.) Kobyl. et Rod. comb. nov.	Диплоид. Зерновка голая, укороченная, слабоволосистая.
<i>A. abyssinica</i> Hochst. var. <i>braunii</i> Koern.	Тетраплоид. Цветковые чешуи коричневые. Колоски остистые.
<i>A. abyssinica</i> Hochst. var. <i>hildebrandtii</i> Koern.	Тетраплоид. Цветковые чешуи серые. Колоски остистые.
<i>A. byzantina</i> K. Koch. var. <i>culta</i> Thell.	Гексаплоид. Цветковые чешуи красновато-бурые. Колоски остистые.
<i>A. byzantina</i> K. Koch. var. <i>nigra</i> Mordv. ex Rod. et Sold.	Гексаплоид. Цветковые чешуи черные. Колоски остистые. Характеризуется грубыми цветковыми пленками
<i>A. byzantina</i> K. Koch. var. <i>ursina</i> Mordv. ex Rod. et Sold.	Гексаплоид. Цветковые чешуи коричневые. Колоски остистые.
<i>A. sativa</i> L. var. <i>affinis</i> Koern.	Гексаплоид. Зерновка голая. Цветковые чешуи коричневые. Колоски остистые.
<i>A. sativa</i> L. var. <i>aurea</i> Koern.	Гексаплоид. Цветковые чешуи желтые.
<i>A. sativa</i> L. var. <i>grisea</i> Koern.	Гексаплоид. Цветковые чешуи серые.
<i>A. sativa</i> L. var. <i>montana</i> Alef.	Гексаплоид. Цветковые чешуи коричневые. Колоски остистые.

Содержание антоцианов определяли спектрофотометрическим методом (Abdel-Aal, Hucl, 1999). Материал измельчали до однородной массы. Экстрагирование антоцианов из зерновок ячменя и овса производили раствором 1% HCl в метаноле (соотношение образца и растворителя 1:5 w/v), с инкубацией при 4°C в течение ночи, с последующим центрифугированием и отбором пробы для измерения. Оптическая плотность антоцианов определяли при длине волны $\lambda=530$ нм, с поправкой на содержание зеленых пигментов – при $\lambda=700$ нм. Измерения проводили на спектрофотометре SmartSpec TM Plus spectrophotometer (Bio-Rad Laboratories, USA). Сумму антоцианов рассчитывали с использованием коэффици-

ента экстинкции¹ равного 25,965 моль⁻¹ см⁻¹ (в пересчете на цианидин-3-глюкозид, мг/кг). Данный коэффициент выбран исходя из ранее опубликованных результатов (Abdel-Aal, Hucl, 1999).

Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы IBM SPSS Statistics (версия 21).

Результаты и обсуждение

Средняя концентрация свободных антоцианов в зерновках и цветковых чешуях ячменя и овса в 1% растворе HCl в метиловом спирте (в пересчете на цианидин-3-глюкозид мг/кг) показана в таблицах 3 и 4.

Таблица 3. Общее содержание антоцианов в зерновках ячменя, мг/кг (в пересчете на цианидин-3-глюкозид)

Table 3. Total content of anthocyanins in barley kernels, mg/kg (in terms of cyanidin-3-glucoside)

№ каталога ВИР/ VIR catalogue number	Разновидность/ Botanical variety	Название/ Designation	Происхождение/ Origin	Средняя концентрация свободных антоцианов, мг/кг/ Average concentration of free anthocyanins, mg/kg
25816	<i>viride</i>	Select Bifar C.I.14145	США	5,62±1,29
28650	<i>himalayense</i>	S-281	Мексика	6,89±1,55
31430	<i>nudum</i>	AF Lucius	Чехия	7,58±0,58
24612	<i>trifurcatum</i>	Faust 1	США	8,27±1,96
31430	<i>nudum</i>	AF Lucius	Чехия	8,47±2,02
26860	<i>nigrinudum</i>	C.I.2222-Un3-Un6	США	9,54±2,13
23378	<i>duplinigrum</i>	C.I.10405	Боливия	9,97±0,99
31380	<i>nutans</i>	KWS Harris	Германия	10,40±1,48
22752	<i>Nudimelanocritum</i>	Местный	Эфиопия	10,49±3,13
31390	<i>aethiops</i>	Гранал 32	Челябинская обл.	10,89±1,88
26274	<i>aethiopicum</i>	Местный	Боливия	11,12±4,67
31436	<i>pallidum</i>	Wolmari	Финляндия	11,47±0,49
30299	<i>duplialbum</i>	Grannenlose Zeizeilige	Польша	11,90±1,19
30314	<i>nutans</i>	Суздалец	Московская обл.	12,22±0,35
24817	<i>tibetanum</i>	H-3869 Gidole 2	Ботсвана	12,31±0,55
6039	<i>himalayense</i>	Местный калъджу	Афганистан	12,91±5,74

¹ **От Редактора:** В Международной системе единиц (СИ) единицей коэффициента молярной экстинкции является квадратный метр, деленный на моль (м²·моль⁻¹). Здесь оставлен авторский вариант размерности моль⁻¹·см⁻¹ (M⁻¹·cm⁻¹), поскольку он широко используется в научном сообществе.

¹ **Editor's note:** In the International System of Units (SI), the unit of the molar extinction coefficient is a square meter per mol (m² mol⁻¹). The author's version of the dimension representation mole⁻¹·cm⁻¹ (M⁻¹·cm⁻¹) is retained here because it is widely used in the scientific community.

№ каталога ВИР/ VIR catalogue number	Разновидность/ Botanical variety	Название/ Designation	Происхождение/ Origin	Средняя концентрация свободных антоцианов, мг/кг/ Average concentration of free anthocyanins, mg/kg
10143	<i>himalayense</i>		Таджикистан	12,97±2,21
28650	<i>himalayense</i>	S-281	Мексика	13,95±2,47
8279	<i>persicum</i>	Персикум 64	Саратовская обл.	16,60±0,69
31390	<i>aethiops</i>	Гранал 32	Челябинская обл.	18,21±4,14
14294	<i>himalayense</i>	Местный	Таджикистан	19,43±4,97
26606	<i>nigripallidum</i>	Местный	Эфиопия	21,47±1,17
30658	<i>nigrum</i>	C.I. 11065	Перу	21,93±3,17
29568	<i>densoviolaceum</i>	H.3890 Mochi Mugi	Япония	37,27±10,85
28205	<i>nudidubium</i>	АНОР 3024	Германия	37,38±5,17
18723	<i>violaceum</i>	Purple hullless C.I.1415	Канада, Онтарио	45,83±6,96
18709	<i>violaceum</i>	Murasaki mochi C.I.5899	Япония	48,71±9,59
18729	<i>violaceum</i>	Subaethiops C.I.2216	Канада, Онтарио	49,26±13,32
17725	<i>violaceum</i>		Турция	58,65±1,47
15904	<i>violaceum</i>		Китай	79,23±9,05
8690	<i>griseinigrum</i>		Эфиопия	84,42±20,27
19906	<i>violaceum</i>	Местный	Монголия	145,37±27,57
			НСР _{0,5}	12,48

Более высокое содержание антоцианов отмечено в случае зерновок голозерного ячменя фиолетового цвета. Показатели для антоцианов у зерновок желтой, зеленой и черной окраски не имели существенных отличий. Среди образцов ячменя наибольшими значениями для содержания антоцианов характеризовались к-15904 (Китай), к-19906 (Монголия), к-18709 (Япония), к-18723, к-18729 (Канада), к-17725 (Турция), относящиеся к разновидности var. *violaceum*; к-29568 (Япония) – var. *densoviolaceum*; к-8690 (Эфиопия) – var. *griseinigrum*; к-28205 (Германия) – var. *nudidubium*. Средние значения

свободных антоцианов у данных образцов варьировали от 37 до 145 мг/кг. Для других образцов значения не превышали 21 мг/кг.

Среди выделенных образцов ячменя с повышенным содержанием антоцианов (84,42 мг/кг) образец к-8690 (var. *griseinigrum*, Эфиопия) представляет особый интерес. Для него характерны черные зерновки с буровато-серым оттенком. Вероятно, черная окраска зерновки указывает на присутствие меланинов, что делает данный образец перспективным для изучения комплексного эффекта антоцианов и меланинов.

**Таблица 4. Содержание антоцианов в зерновках овса, мг/кг
(в пересчете на цианидин-3-глюкозид).**

**Table 4. Total content of anthocyanins in oat kernels, mg/kg
(in terms of cyanidin-3-glucoside).**

№ каталога ВИР/ VIR catalogue number	Разновидность/ Botanical variety	Название/ Designation	Происхождение/ Origin	Средняя концентрация свободных антоцианов, мг/кг/ Average concentration of free anthocyanins, mg/kg
12133	<i>A. sativa</i> L. var. <i>affinis</i> Koern.	Rhea	Франция	7,26±0,96
4585	<i>A. abyssinica</i> Hochst. var. <i>braunii</i> Koern.	Местный	Эфиопия	7,29±0,85
15130	<i>A. strigosa</i> Schreb. ssp. <i>nudibrevis</i> (Vav.) Kobyl. et Rod. Comb. Nov.	23 Avena Strigosa nuda	Великобритания	8,56±0,83
9093	<i>A. byzantina</i> K. Koch. var. <i>nigra</i> Mordv. ex Rod. et Sold.	Avoine Noire 912	Алжир	9,48±1,21
1790	<i>A. byzantina</i> K. Koch. var. <i>ursina</i> Mordv. ex Rod. et Sold.	Местный	США	9,71±0,74
15174	<i>A. byzantina</i> K. Koch. var. <i>culta</i>	Furlong	Канада	10,12±2,18
14787	<i>A. sativa</i> L. var. <i>aurea</i> Koern.	Привет	Московская обл.	11,30±0,56
11515	<i>A. sativa</i> L. var. <i>grisea</i> Koern.	Pin-Lan-Che-U-Sao	Китай	11,76±3,01
15698	<i>A. sativa</i> L. var. <i>montana</i> Alef.	Harve Fran Mero	Швеция	11,93±2,08
15527	<i>A. abyssinica</i> Hochst. var. <i>braunii</i> Koern.	Местный	Эфиопия	14,64±1,52
15245	<i>A. strigosa</i> Schreb. ssp. <i>brevis</i> var. <i>tepherea</i> Mordv. ex Rod. et Sold.	Местный	Польша	20,49±3,04
			НСР _{0,5}	1,42

Аналогичные данные были получены в работах зарубежных авторов (Siebenhandl et al., 2007; Zhang et al., 2017; Lin et al., 2018). Например, у голозерных сортов ячменя Тибетского происхождения с различной окраской зерновок, объединенных в группу под названием Qingke, наибольшее содержание антоцианов наблюдали в сортах ‘Ganyucang’, ‘ВТНВ’ (95,5 мг цианидин-3-глюкозида/кг) с черной окраской зерновок. Более низкие значения были у сортов с зеленой окраской зерновки ‘Dingqing’, ‘BLТНВ’, самые низкие у сортов с неокрашенной зерновкой ‘Zangqing 320’, ‘WTНВ’ (Lin et al., 2018). Однако, такая связь содержания антоциана с окраской зерновки, выявленная авторами других публикаций, в отличие от нашего исследования, была продемонстрирована на ограниченном числе образцов голозерного ячменя местного происхождения.

Концентрация свободных антоцианов почти во всех зерновках была практически одинаковой и не превышала 11 мг/кг (см. табл. 4). Эти данные соотносятся с показателями, полученными нами для зерновок ячменя без антоциановой окраски. Однако у образцов к-15527 (*A. abyssinica* Hochst. var. *braunii* Koern., Эфиопия) и к-15245 (*A. strigosa* Schreb. ssp. *brevis* var. *tepherea*

Mordv. ex Rod. et Sold., Польша) наблюдалась повышенная концентрация антоцианов. Поэтому, данные образцы являются перспективными для дальнейшего изучения пигментов овса. До настоящего времени исследований по содержанию антоцианов в различных сортах овса не проводилось.

Заключение

В ходе исследования установлено: голозерные образцы ячменя с фиолетовой окраской зерновки имеют повышенное содержание антоцианов. Наибольшими значениями для содержания антоцианов характеризовались образцы ячменя: к-15904 (Китай), к-19906 (Монголия), к-18709 (Япония), к-18723, к-18729 (Канада), к-17725 (Турция), относящиеся к разновидности var. *violaceum*; к-29568 (Япония) – var. *densoviolaceum*; к-8690 (Эфиопия) – var. *griseinigrum*; к-28205 (Германия) – var. *nudidubium*. Данные образцы могут быть использованы для селекционной работы, направленной на получение сортов с повышенным содержанием целевых соединений в зерновках, и последующего расширения ассортимента функционального питания. Напри-

мер, изготовление отрубей и цельнозерновых продуктов с повышенным содержанием антиоксидантов.

Выделено два образца овса: к-15527 (*A. ayssinica* Hochst. var. *braunii* Koern., Эфиопия) и к-15245 (*A. strigosa* Schreb. Subsp. *brevis* var. *tephera* Mordv. ex Rod. et Sold., Польша) с небольшим содержанием антоцианов. Для выделения источников более высокого содержания антоцианов в зерновках овса требуется продолжить изучение образцов коллекции относительно данного признака.

Таким образом, установлено, что содержание антоцианов в зерновках ячменя и овса варьирует в зависимости от генотипа растений. В дальнейшем следует направить усилия на изучение качественного состава антоцианов у образцов овса и ячменя из коллекции ВИР, взятых в настоящее исследование.

Литература/References

- Abdel-Aal E., Hucl P. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*. 1999;76:350-354.
- Abdel-Aal E.S.M., Young J.C., Rabalski I. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54:4696-4704. DOI: 10.1021/jf0606609
- Adzhieva V.F., Babak O.G., Shoeva O.Y., Kilchevsky A.V., Khlestkina E.K. Molecular genetic mechanisms of the development of fruit and seed coloration in plants. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2016;6(5):537-552. DOI: 10.1134/S2079059716050026.
- Bellido G.G., Beta T. Anthocyanin composition and oxygen radical scavenging capacity (ORAC) of milled and pearled purple, black, and common barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;57(3):1022-1028. DOI: 10.1021/jf802846x
- Castañeda-Ovando A., de Lourdes Pacheco-Hernández M., Páez-Hernández M.E., Rodríguez J.A., Galán-Vidal C.A. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 2009;113(4):859-871. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- Francavilla A., Joye I.J. Anthocyanins in whole grain cereals and their potential effect on health. *Nutrients*. 2020;12(10):2922. DOI: 10.3390/nul2102922
- Grace M.H., Ribnicky D.M., Kuhn P., Poulev A., Logendra S., Yousef G.G., Raskin I., Lila M.A. Hypoglycemic activity of a novel anthocyanin-rich formulation from lowbush blueberry, *Vaccinium angustifolium* Aiton. *Phytomedicine*. 2009;16:406-415. DOI: 10.1016/j.phymed.2009.02.018
- Harlan H.V. Some distinctions in our cultivated barleys with reference to their use in plant breeding. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture; 1914. 38 p. (Bulletin of the U.S. Department of Agriculture; No. 137). DOI: 10.5962/bhl.title.109258
- Kang S.Y., Seeram N.P., Nair M.G., Bourquin L.D. Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in ApcMin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*. 2003;194(1):13-19.
- Karaaslan M., Ozden M., Vardin H., Turkoglu H. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 2011;44(4):1065-1072.
- Khlestkina E.K. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Research Communications*. 2013;41:185-198. DOI: 10.1556/CRC.2013.0004
- Jurgoński A., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z. Ingestion of black chokeberry fruit extract leads to intestinal and systemic changes in a rat model of prediabetes and hyperlipidemia. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2008;63:176-182. DOI: 10.1007/s11130-008-0087-7
- Kim M.J., Hyun J.N., Kim J.A., Park J.C., Kim M.Y., Kim J.G., Lee S.J., Chun S.C., Chung I.M. Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(12):4802-4809. DOI: 10.1021/jf0701943.
- Lin S., Guo H., Gong J.D.B., Lu M., Lu M.-Y., Wang L., Zhang Q., Qin W., Wu D.-T. Phenolic profiles, β -glucan contents, and antioxidant capacities of colored Qingke (Tibetan hulless barley) cultivars. *Journal of Cereal Science*. 2018;81:69-75. doi: 10.1016/j.jcs.2018.04.001.
- Loskutov I.G., Khlestkina E.K. Wheat, barley, and oat breeding for health benefit components in grain. *Plants*. 2021;10(1):86. DOI: 10.3390/plants10010086
- Lundqvist U., Franckowiak J.D. Diversity of barley mutants. In: Von Bothmer R., van Hintum T., Knüpffer H., Sato K. (eds.) *Diversity in barley (Hordeum vulgare)*. Amsterdam: Elsevier; 2003 p.77-96.
- Nam S.H., Choi S.P., Kang M.Y., Koh H.J., Kozukue N., Friedman M. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars. *Food Chemistry*. 2006;94:613-620.
- Prior R.L., Wu X. Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*. 2006;40(10):1014-1028. DOI: 10.1080/10715760600758522
- Riaz M., Zia-ul-haq M., Saad B. Anthocyanins as natural colours. In: *Anthocyanins and human health: Biomolecular and therapeutic aspects*. New York: Springer International; 2016 p.47-55.
- Shoeva O.Y., Strygina K.V., Khlestkina E.K. Genes determining the synthesis of flavonoid and melanin pigments in barley. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(3):333-342. DOI: 10.18699/VJ18.369. [in Russian] (Шоева О.Ю., Сtryгина К.В., Хлесткина Е.К. Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(3):333-342). DOI: 10.18699/VJ18.369.
- Shvachko N.A., Loskutov I.G., Semilet T.V., Popov V.S., Kovaleva O.N., Konarev A.V. Bioactive components in oat and barley grain as a promising breeding trend for functional food production. *Molecules*. 2021;26(8):2260. DOI: 10.3390/molecules26082260
- Siebenhandl S., Grausgruber H., Pellegrini N., Del Rio D., Fogliano V., Pernice R., Berghofer E. Phytochemical profile of main antioxidants in different fractions of purple and blue wheat, and black barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(21):8541-8547. DOI: 10.1021/jf072021j
- Strygina K.V. Synthesis of flavonoid pigments in grain of representatives of Poaceae: general patterns and exceptions in N.I. Vavilov's Homologous Series. *Russian Journal of Genetics*. 2020;56(11):1345-1358. [in Russian] (Сtryгина К.В. Синтез флавоноидных пигментов в зерновке у представителей Poaceae: общие закономерности и исключения в гомологических рядах Н.И. Вавилова. *Генетика*. 2020;56(11):1304-1319). DOI: 10.1134/S1022795420110095
- Tikhvinsky S.F. Anthocyanin forms of cultivated plants and their use in breeding (Antotsianovye formy kulturnykh rasteniy i ikh ispolzovaniye v selektsii). *Sbornik trudov Kirovskogo SKNI = Proceedings of the Kirov Agricultural Institute*. 1991;3-6 [in Russian] (Тихвинский С.Ф. Антоциановые формы культурных растений и их использование в селекции. *Сборник трудов Кировского СХИ*; 1991:3-6).
- Tikhvinsky S.F., Dronin S.V. Anthocyan pigments of plants and their role in adaptive selection of agricultures. *Theoretical and applied ecology*. 2007;3:15-19. [in Russian] (Тихвинский С.Ф., Дронин С.В. Антоциановые пигменты растений и их роль в адаптивной селекции сельскохозяйственных культур. *Теоретическая и прикладная экология*. 2007;3:15-19).
- Tsuda T., Horio F., Osawa T. Cyanidin 3-O- β -D-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*. 2002;48(4):305-310. DOI: 10.3177/jnsv.48.305
- Varga M., Berkesi O., Darula Z., Palágyi A. Structural characterization of allomelanin from black oat. *Phytochemistry*. 2016;130:313-320. DOI: 10.1016/j.phytochem.2016.07.002.
- Vargach J.I., Loskutov I.G., Mertvishcheva M.E. Antioxidant activity of oat kernel (*Avena L.*) In: N.I. Vavilov's ideas in the modern world. IV. Vavilov international conference "N.I. Vavilov's ideas in the contemporary world", St. Petersburg, November 20-24, 2017. St. Petersburg:VIR, 2017. p.234-235. [in Rus-

- sian] (Варгач Ю.И., Лоскутов И.Г., Мертвищева М.Е. Антиоксидантная активность зерновок овса (*Avena L.*). В кн.: Идеи Н.И. Вавилова в современном мире: тезисы докладов IV Вавиловской международной научной конференции, Санкт-Петербург, 20–24 ноября 2017 г. Санкт-Петербург: ВИР; 2017. С.234-235).
- Vavilov N.I. Centres of origin of cultivated plants (Tsentry proiskhozhdeniya kulturnykh rasteniy). In.: *N.I. Vavilov. Selected works: In 2 volumes. Vol. 1 (N.I. Vavilov Izbranny'e proizvedeniya: V 2 t. T. 1)*. Leningrad: Nauka; 1967. p.88-202. [in Russian] (Вавилов Н.И. Центры происхождения культурных растений. В кн.: *Н.И. Вавилов. Избранные произведения: В 2 т. Т. 1*. Ленинград: Наука; 1967. С.88-202).
- Yudina R.S., Gordeeva E.I., Shoeva O.Yu., Tikhonova M.A., Khlestkina E.K. Anthocyanins as functional food components. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(2):178-189. [in Russian] (Юдина Р.С., Гордеева Е.И., Шоева О.Ю., Тихонова М.А., Хлесткина Е.К. Антоцианы как компоненты функционального питания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(2):178-189). DOI: 10.18699/VJ21.022
- Zhang X-W, Jiang Q-T, Wei Y-M, Liu C. Inheritance analysis and mapping of quantitative trait loci (QTL) controlling individual anthocyanin compounds in purple barley (*Hordeum vulgare L.*) grains. *PLoS ONE*. 2017;12(8):e0183704. DOI: 10.1371/journal.pone.0183704

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРИБЫ ФАСОЛИЕВЫЕ Phaseoleae DC

Крылова Е. А.^{1*}, Михайлова А. С.^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;

* ✉ e.krylova@vir.nw.ru

²Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

Флавоноиды играют важную роль в метаболизме растений. Многие из них проявляют антиоксидантную активность и являются пигментами, окрашивающими ткани растений в разнообразные цвета. Продукты питания, богатые флавоноидными соединениями, рассматривают в качестве функциональных компонентов здорового рациона. В настоящее время отмечается повышенный интерес к изучению генетических механизмов, лежащих в основе появления признаков окраски у растений. Пути биосинтеза флавоноидов находятся под контролем двух групп генов. Структурные гены кодируют ферменты биосинтеза, а регуляторные гены – транскрипционные факторы, контролирующие экспрессию структурных генов. Транскрипционные факторы, относящиеся к семействам R2R3-Myb, bHLH-Myb и WDR, образуют комплекс MBW, который вовлечен в регуляцию экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов. Механизмы регуляции биосинтеза антоцианов и проантоцианидинов комплексом MBW подробно описаны у модельного растительного объекта *Arabidopsis thaliana* L. В настоящем обзоре обобщены данные о регуляции биосинтеза фенольных пигментов и об особенностях их накопления в растительных тканях у основных представителей трибы Phaseoleae DC: сои *Glycine max* (L.) Merr., фасоли обыкновенной *Phaseolus vulgaris* L., адзуки *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi и коровьего гороха *V. unguiculata* (L.) Walp. Обсуждаемые в данном обзоре виды являются наиболее важными бобовыми культурами во многих странах мира, играя ключевую роль в рационе питания миллионов людей. Идентификация и характеристика генов, контролирующих пути биосинтеза флавоноидов, являются необходимым условием для успешной селекции современных сортов с повышенной диетической ценностью. Выявление закономерностей накопления флавоноидов необходимо для решения проблемы расширения разнообразия растительной продукции.

Ключевые слова: флавоноиды, антоцианы, регуляторные гены, структурные гены, комплекс MBW, Phaseoleae

Для цитирования:

Крылова Е.А., Михайлова А.С. Регуляция биосинтеза флавоноидов у представителей трибы фасолиевые Phaseoleae DC. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(3):15-25. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-01

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-01> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Статья подготовлена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме № 0481-2019-0001 «Геномные и постгеномные технологии для выявления новых генетических маркеров селекционно-значимых свойств и новых аллельных вариантов хозяйственно ценных генов в генофонде культурных растений и их диких родичей».

REGULATION OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS IN REPRESENTATIVES OF THE TRIBE Phaseoleae DC

Krylova E. A.^{1*}, Mikhailova A. S.^{1,2}

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;

* ✉ e.krylova@vir.nw.ru

² St. Petersburg State University,
7/9, University Emb., St. Petersburg 199034, Russia

Flavonoids play a crucial role in plant metabolism. Many of them have antioxidant activity, and they are also pigments that render a variety of colors to plant tissues. Foods rich in flavonoid compounds are considered as functional components of a healthy diet. Currently, there is an increased interest in studying genetic mechanisms underlying the coloration of plants. Flavonoid biosynthesis pathways are controlled by two groups of genes. Structural genes encode enzymes, while regulatory genes are responsible for transcription factors that activate the expression of structural genes. Transcription factors that belong to R2R3-Myb, bHLH-Myc and WDR families form the ternary MBW complex, which is involved in regulating the expression of structural genes of flavonoid biosynthesis. The mechanisms of regulation of the anthocyanins and proanthocyanidin biosynthesis by the MBW complex are described in detail for the model plant *Arabidopsis thaliana* L. This review summarizes data on the regulation of phenolic pigment biosynthesis and the features of phenolic pigment accumulation in plant tissues in the main representatives of the Phaseoleae tribe: soybean *Glycine max* (L.) Merr., common bean *Phaseolus vulgaris* L., adzuki bean *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi, and cowpea *V. unguiculata* (L.) Walp. The species discussed in this review are the most important food legumes in many countries of the world and they comprise the staple food in diets of millions of people. Identification and characterization of the genes controlling the flavonoid biosynthesis pathways are necessary for successful breeding of modern varieties with an increased dietary value. Identification of the flavonoid accumulation patterns is essential for solving the problem of broadening the diversity of plant products.

Key words: flavonoids, anthocyanins, regulatory genes, structural genes, MBW regulatory complex, Phaseoleae

For citation:

Krylova E.A., Mikhailova A.S. Regulation of flavonoid biosynthesis in representatives of the tribe Phaseoleae DC. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(3):15-25. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-01

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-01> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Krylova E.A. <https://orcid.org/0000-0002-4917-6862>

Mikhailova A.S. <https://orcid.org/0000-0003-4565-1539>

УДК 581.19:581.175.11:577.127.4:577.151.05:577.214.622:582.736

Поступила в редакцию: 8.11.2021

Принята к публикации: 12.12.2021

Acknowledgments: The article was prepared as part of the VIR Government Assignment in accordance with the R&D Thematic Plan Topic No. 0481-2019-0001 “Genomic and post-genomic technologies for identifying new genetic markers of properties of importance for breeding and new allele variants of economically important genes in the gene pool of crops and their wild relatives”.

Введение

Флавоноиды представляют собой наиболее многочисленную группу фенольных соединений растений и грибов (Lepiniec et al., 2006; Kumar et al., 2018). Их основной углеродный скелет содержит 15 атомов углерода. При этом два ароматических кольца связаны тремя углеродными атомами (C₆-C₃-C₆). В зависимости от степени окисления трехуглеродного участка, флавоноиды разделяют на антоцианы (дигидрофлавонолы), флавононы, флавоны, флавонолы и изофлавонолы (Medvedev, 2012; Jiang et al., 2016). Они играют важную роль в защите растений от абиотических и биотических стрессоров, а также составляют большую группу растительных пигментов (Delph, Lively, 1989; Shirley, 1998; Havsteen, 2002; Takahashi, Ohnishi, 2004; Makoi et al., 2010; Pollastri, Tattini, 2011; Panche et al., 2016). Антоцианы (синие, красные, фиолетовые пигменты) являются основными красящими веществами растений и придают им яркую окраску, что позволяет и быть аттрактантами при опылении цветков и распространении плодов (Medvedev, 2012; Jaakola, 2013). Флавоны и флавонолы поглощают свет в более коротковолновой части спектра ($\lambda = 280 - 320$ нм) чем антоцианы (Jiang et al., 2016). Поэтому одной из главных функций флавонов и флавонолов является защита растительных тканей (в первую очередь эпидермальных) от ультрафиолетовой радиации (Agati et al., 2013). Кроме этого флавоноиды защищают растительный организм от таких абиотических факторов, как засуха, повышение концентрации тяжелых металлов в почве и других, а также играют активную роль при защите от вирусных или бактериальных инфекций (Ohnishi et al., 1992; Ryan et al., 2002; Moy et al., 2004; Williams et al., 2004; Berli et al., 2009; Takahashi et al., 2010; Agati et al., 2011; Agati et al., 2013). Эти вещества обладают сильными антиоксидантными свойствами, а при употреблении продуктов, богатых антиоксидантами, значительно уменьшаются риски развития сердечно-сосудистых, онкологических, а также возрастных нейродегенеративных заболеваний, улучшается синтез зрительных пигментов, активируются процессы обмена веществ (Korkina, Afanasev, 1996; Burak et al., 1999; Beninger, Hosfield, 2003; Fritz et al., 2003; Nassourou et al., 2016). В связи с этим антоцианы представляют особый интерес как один из компонентов функционального питания.

Биологически активные вещества, в том числе и фенольные соединения, обнаружены у представителей семейства *Fabaceae* Lindl. (Stanton, Francis, 1966; Ndakidemi, Dakora, 2003; Makoi et al., 2010; Perchuk et al., 2020; Saigo et al., 2020). В состав трибы Phaseoleae DC. входят виды, имеющие экономическое значение, многие из них являются наиболее важными продовольственными бобовыми культурами во многих странах (Boukar et al., 2015). Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – одна из экономически важных зернобобовых культур, которая обеспечивает большую часть растительного белка. Фасоль обыкновен-

ная (*Phaseolus vulgaris* L.) – очень популярная культура в мире, является единственным видом фасоли, имеющим производственные площади в нашей стране (Vishnyakova et al., 2019). Виды рода *Vigna* Savi входят в рацион питания многих людей. Семена одного из видов рода *Vigna* – адзуки (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi) применяются в качестве лекарственного средства. Их используют для лечения различных заболеваний, в том числе при борьбе с ожирением и диабетом (Liu et al., 2017). Коровий горох (*V. unguiculata* (L.) Walp.) – культура многоцелевого использования, играет важную роль в рационе питания для миллионов людей. Интерес к этой культуре в последние годы сильно возрос среди селекционеров (Boukar et al., 2015; Burlyayeva et al., 2019; Vishnyakova et al., 2019).

Окрашенные семена фасоли обыкновенной богаты фенольными соединениями, обладающими антиоксидантным действием за счет способности улавливать свободные радикалы и проявляющими антимуtagenную, антиканцерогенную активности (De Mejía et al., 1999; Beninger, Hosfield 2003; Madhujith et al., 2004; Agati et al., 2012; Agati et al., 2013). Кроме этого, в проростках образцов фасоли *P. vulgaris* были обнаружены антоцианидины (дельфинидин, петунидин и мальвидин) и флавонолы (мирицетин, кверцетин и кемпферол) (Hungria et al., 1991). В гипокотилиях, оболочках семян и в зрелых листьях образцов адзуки *V. angularis* и маша *V. radiata* содержится двенадцать видов флавоноидов, включая производные антоцианов (дельфинидин и цианидин), лейкоантоцианы, гликофлавоны и флавоноловые гликозиды (рутин, кемпферол, изокверцетин) (Ishikura et al., 1981). Из экстракта листьев вида *V. unguiculata* были выделены кверцетин (наибольшая концентрация), кемпферол и изорамнетин (Lattanzio et al., 1996).

Основной задачей современной селекции является создание высокопродуктивных сортов с повышенной диетической ценностью. Сорты с окрашенными семенами, бобами и проростками имеют большой потенциал как продукты, оказывающие положительный эффект на здоровье человека (Cardador-Martínez et al., 2002; Beninger, Hosfield, 2003; Madhujith et al., 2004; Espinosa-Alonso et al., 2006; Chávez-Santoscoy et al., 2013). В последнее время отмечается повышенный интерес к изучению генетических механизмов, лежащих в основе контроля признаков окраски у растений. В настоящем обзоре представлены данные о генетическом контроле биосинтеза фенольных соединений у основных представителей фасолиевых, при этом особое внимание уделено исследованиям антоцианов в качестве функциональных компонентов продуктов питания.

Особенности регуляции биосинтеза флавоноидных пигментов у модельного объекта *Arabidopsis thaliana* L.

Разнообразие флавоноидов образуется в результате

фенилпропаноидного и флавоноидного путей биосинтеза, которые контролируют две группы генов (Cheunier et al., 2013). Структурные гены кодируют ферменты биосин-

теза, а регуляторные гены – транскрипционные факторы (Рисунок), контролирующие экспрессию структурных генов (Adzhieva et al., 2015; Zhang et al., 2017) (Рисунок).

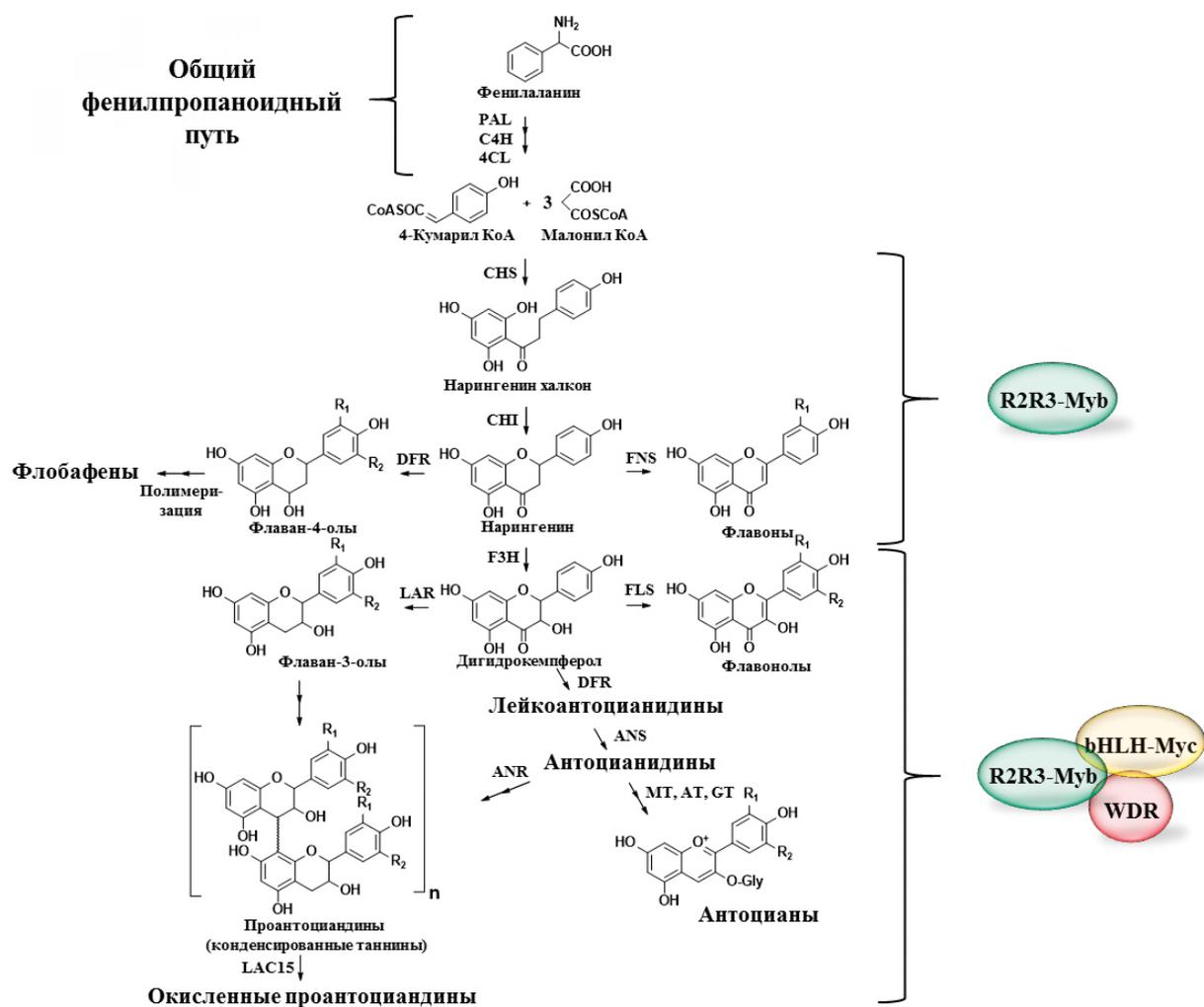


Рисунок. Схема биосинтеза флавоноидов у растений.

Ферменты, кодируемые структурными генами: 4CL – 4-кумарат КоА лигаза; ANR – антоцианидинредуктаза; ANS – антоцианидинсинтаза; AT – ацетилтрансфераза; CHI – халконфлаванонизомераза; C4H – циннамат-4-гидроксилаза; CHS – халконсинтаза; DFR – дигидрофлавонол-4-редуктаза; F3H – флаванон-3-гидроксилаза; FLS – флавонолсинтаза; FNS – флавоносинтаза; GT – гликозилтрансфераза; LAC15 – лакказа 15; LAR – лейкоантоцианидинредуктаза; MT – метилтрансфераза; PAL – фенилаланинаммонийлиаза; Ogly – гликозидная связь; R2R3-Myb, bHLH-Myc, WDR – транскрипционные факторы, кодируемые регуляторными генами. Схема построена с использованием данных Li (2014)

Figure. Flavonoid biosynthesis pathway in plants.

Enzymes coded by structural genes: 4CL – 4-coumarate CoA ligase; ANR – anthocyanidin reductase; ANS – anthocyanidin synthase; AT – acetyltransferase; CHI – chalcone isomerase; C4H – cinnamate 4-hydroxylase; CHS – chalcone synthase; DFR – dihydroflavonol 4-reductase; F3H – flavanone 3-hydroxylase; FLS – flavonol synthase; FNS – flavone synthase; GT – glycosyltransferase; LAC15 – laccase 15; LAR – leucoanthocyanidin reductase; MT – methyltransferase; PAL – phenylalanine ammonia-lyase; Ogly – glycosidic bond; R2R3-Myb, bHLH-Myc, WDR – transcription factors coded by regulatory genes. The scheme is based on the data from Li (2014)

Ключевую роль в биосинтезе вторичных метаболитов растений играют дезаминазы ароматических аминокислот. В частности, реакция дезаминирования фенилаланина до транс-коричной кислоты под действием фенилаланинаммонийлиазы (PAL) предшествует образованию основных фенольных соединений в ходе фенилпропаноидного пути (Saito et al., 2013; Barros, Dixon, 2020; Jun et al., 2018). При этом тканеспецифический паттерн экспрессии генов определяет распределение пигментов (Kleindt et al., 2010). В настоящее время известно, что регуляция экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов осуществляется комплексом MBW, который образуют транскрипционные факторы, относящиеся к семействам R2R3-Myb, bHLH-Мус и WDR (Buer et al., 2010; Cheynier et al., 2013). Различные факторы окружающей среды, такие как УФ-излучение, засуха, экстремальные температуры, недостаток азота, а также фитогормоны (жасмонаты, цитокинины, абсцизовая кислота) вызывают накопление в тканях пигментов флавоноидной природы посредством активации транскрипционного трёхкомпонентного комплекса MBW (Christie et al., 1994; Lea et al., 2007). Транскрипционные факторы связываются с цис-активными элементами в промоторной области гена-мишени (Katiyar et al., 2012). У семейства Myb выделяют 3 группы транскрипционных факторов: R1R2R3-Myb, R2R3-Myb и R1-Myb, в зависимости от количества мотивов в ДНК-связывающем домене (Dubos et al., 2010). Наиболее многочисленным семейством является R2R3-Myb. Оно, совместно с bHLH и WDR, вовлечено в регуляцию биосинтеза большинства вторичных метаболитов, в частности и флавоноидных пигментов (Nesi et al., 2000; Nesi et al., 2001; Dubos et al., 2010; Xu et al., 2015). Согласно литературным данным, у покрытосеменных растений гены, кодирующие транскрипционные факторы R2R3-Myb, bHLH-Мус и WDR, представлены множественными копиями (Lloyd et al., 2017).

Важно отметить, что структурные гены флавоноидного пути биосинтеза делятся на ранние и поздние, в зависимости от этапа биосинтеза, на котором они задействованы. У представителей класса двудольных экспрессию ранних генов активируют гены, кодирующие белки семейства Myb, в то время как активация поздних осуществляется совместным действием всех компонентов комплекса MBW (Koes et al., 2005; Petroni, Tonelli, 2011; Li, 2014).

Механизмы регуляции биосинтеза антоцианов и проантоцианидинов подробно описаны у модельного растительного объекта *Arabidopsis thaliana* L. (Walker et al., 1999; Kleindt et al., 2010; Jaakola, 2013). У арабидопсиса накопление антоцианов транскрипционно активируется непосредственно комбинаторным действием белков семейства R2R3-Myb (PAP1 / MYB75, PAP2 / MYB90, MYB113 и MYB114), bHLH (GL3 / bHLH001, EGL3 / bHLH002 и TT8 / bHLH042), а также белками семейства WD40 (TTG1) (Walker et al., 1999; Gonzalez et al., 2008; Kleindt et al., 2010; Qi et al., 2011). Транскрип-

ционные факторы GL3 и EGL3, помимо контроля биосинтеза флавоноидов, участвуют в регуляции развития трихом и корневых волосков, взаимодействуя с Myb, тогда как TTG1 в основном выполняет роль стабилизатора общего комплекса MBW как результата взаимодействия транскрипционных факторов Myb и bHLH (Stracke et al., 2007; Qi et al., 2011; Xu et al., 2015).

В регуляцию биосинтеза проантоцианидинов вовлечен комплекс MBW, включающий гены *TTG1* (семейство WD40), *TT2* (семейство R2R3-Myb) и *TT8* (семейство bHLH) (Baudry et al., 2004; Kleindt et al., 2010).

Кроме того, в ходе изучения генов транскрипционных факторов группы R2R3-Myb у арабидопсиса были выявлены гены-репрессоры биосинтеза антоцианов: *AtMYB3*, *AtMYB4*, *AtMYB7*, *AtMYB32* и *AtMYB60* (Jin, 2000; Stracke et al., 2007; Park et al., 2008; Dubos et al., 2010). *CPC*-подобный ген (*CAPRICE*), кодирующий белки, относящиеся к группе R3-Myb, вовлечен в процессы дифференциации корневых волосков и развития трихом у арабидопсиса, а также влияет на накопление антоцианов, уменьшая их концентрацию в растительных тканях (Zhu et al., 2009).

Особенности регуляции биосинтеза флавоноидных пигментов у основных представителей трибы Phaseoleae

Фасоль обыкновенная, коровий горох, адзуки. Геномы многих представителей трибы фасольевых секвенированы (соя *G. max*, виды рода *Vigna* (адзуки *V. angularis*, маш *V. radiata*, коровий горох *V. unguiculata*), голубиный горох (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), фасоль обыкновенная *P. vulgaris*) (Schmutz et al., 2010; 2014; Varshney et al., 2012; Kang et al., 2014; Lonardi et al., 2019). Коровий горох, маш, адзуки, фасоль обыкновенная, каянус являются диплоидами (2n=22), соя – палеополиплоид (2n=40), хромосомы которого претерпели множество перестроек (Schmutz et al., 2010). Результаты сравнительного картирования свидетельствуют о высокой степени коллинеарности геномов перечисленных видов (Lonardi et al., 2019). Важно отметить, что высокий уровень макросинтезии был обнаружен между геномами описанных видов рода *Vigna*, а также с геномом фасоли обыкновенной (Vasconcelos et al., 2015; Muñoz-Amatriain et al., 2017). Расширение программ селекции этих видов связано с результатами полногеномного секвенирования, которые позволили выделить системы генов биосинтеза флавоноидов.

Семена фасоли обыкновенной *P. vulgaris* отличаются разнообразием по окраске и форме. В окрашенных семенах фасоли обнаружены различные антоцианы, а также флавоны и флавонолы, такие как кверцетин, кемпферол, катехин и другие соединения, проявляющие антиоксидантную активность (Hungria et al., 1991; De Mejía et al., 1999; Beninger, Hosfield, 2003; Aparicio-Fernandez et al., 2005; Aisyah et al., 2016). Цвет семян фасоли определяется природой и концентрацией антоцианов и конден-

сированных танинов (проантоцианидинов) (Beninger, Hosfield, 2003). Проантоцианидины – наиболее распространенная группа флавоноидов в семенах фасоли, в то время как антоцианы были обнаружены только в семенах, имеющих черную и сине-фиолетовую окраску (Beninger, Hosfield, 2003; Guzmán-Maldonado et al., 1996; Romani et al., 2004). Так, из экстракта кожуры черных семян фасоли обыкновенной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, были впервые выделены олигомеры проантоцианидина, содержащие мономерные звенья эпигаллокатехина и гликозид мирицетина (Aparicio-Fernandez et al., 2005). При изучении антоциановой пигментации проростков представителей родов *Phaseolus* (6 видов) и *Vigna* (12 видов) было показано, что мальвидин является основным составляющим у большинства изученных видов фасоли, в то время как дельфинидин и цианидин у трех видов *Vigna*. Для большинства изученных образцов было отмечено накопление антоцианов в субэпидермальном слое стебля и гипокотыля.

В первых работах по изучению наследования окраски семян фасоли обыкновенной стало известно еще в начале прошлого века. С использованием классического генетического анализа было выделено шесть генов, определяющих окраску семян, а также характер рисунка семенной кожуры (Smith, 1939). Ген *P* является основным, необходимым для развития любой окраски семян (Smith, 1939; Prakken, 1970) и кодирует транскрипционный фактор семейства bHLH (McClellan et al., 2018). Ген *P* является гомологом гена *AtTT8* арабидопсиса, и у многих бобовых обнаружены ортологи этого гена, которые контролируют наличие или отсутствие окраски семян. В настоящее время с использованием транскриптомного анализа у фасоли обыкновенной идентифицировано 169 генов белков семейства Myb и 75 генов, кодирующих белки семейства bHLH (Kalavacharla et al., 2011).

Первые работы по изучению наследования окраски семян коровьего гороха были начаты еще в начале XX века с использованием классических методов генетики (Spillman, 1911; Harland, 1919; 1920). Спиллман пытался проанализировать характер наследования окраски семян коровьего гороха. Он выделял два фактора, W и H, определяющих окраску семян (Spillman, 1911). В дальнейшем изучение характера наследования антоциановой окраски цветков, семян, а также бобов коровьего гороха были продолжены Харландом (Harland, 1919; 1920). Он считал, что сочетание четырех факторов (B, N, M и R) определяет окраску семян, а фактор P обуславливает фиолетовый цвет бобов, при этом Харланд отмечал, что, возможно, окраску бобов определяет и большее число факторов.

С использованием комплекса молекулярно-генетических методов у *V. unguiculata* описаны несколько генов-кандидатов, относящихся к регуляторным генам, кодирующим факторы семейства R2R3-Myb. Группа генов, кодирующих белки семейства Myb, расположена на 5 хромосоме, при этом гены имеют раз-

личный паттерн экспрессии. Для гена *Vigun05g039800* самый высокий уровень накопления транскриптов был отмечен в листьях, экспрессия гена *Vigun05g039700* не была детектирована. Для гена *Vigun05g039300* высокий уровень экспрессии зафиксирован в развивающихся бобах, цветках и листьях, а для генов *Vigun05g039400* и *Vigun05g039500* – в семенах. В качестве гена-кандидата, контролирующего черную окраску семян коровьего гороха, предложен ген *Vigun05g039500* (Herniter et al., 2018). При анализе образцов экспериментальной выборки авторами исследования была обнаружена протяженная делеция, захватывающая полностью три гена *Vigun05g039400*, *Vigun05g039500*, *Vigun05g039600*, а также часть генов *Vigun05g039300* и *Vigun05g039700*. В другой работе при изучении регуляции антоциановой окраски бобов коровьего гороха (Li et al., 2020) также были выделены гены-кандидаты *Vigun05g030700*, *Vigun05g039300*, *Vigun05g039400*, *Vigun05g039700* и *Vigun05g039800*. Ген *Vigun05g030700* относится к структурным генам и кодирует антоцианин 5-ароматическую ацилтрансферазу, а другие гены, кодирующие белки семейства Myb, контролируют развитие антоциановой окраски у бобов. Три гена, кодирующих белки семейства R2R3-Myb, а именно *VuMYB90-1*, *VuMYB90-2*, *VuMYB90-3* (*Vigun05g039700*, *Vigun05g039300*, *Vigun05g039800*) имеют высокую степень сходства с регуляторными генами антоцианов *AtPAP2 / AtMYB90* у арабидопсиса (Li Y. et al., 2020). Кроме этого, в настоящее время выделены два гена, ортологичные генам *AtCPC* и *AtMYB4* арабидопсиса, *VuCPC* и *VuMYB4*, которые являются антагонистами биосинтеза антоцианов (*Vigun11g115400*, *Vigun01g142900*) (Jin, 2000; Zhu et al., 2009; Li et al., 2020).

У коровьего гороха идентифицированы и другие регуляторные гены (Herniter et al., 2019). Ген, расположенный на 7 хромосоме (*Vigun07g110700*), кодирует белок семейства bHLH, в то время как ген *Vigun09g139900* кодирует белок из семейства WD40. Авторами исследования была предложена модель взаимодействия белков, в результате чего развивается окраска и контролируется ее распределение по растению. *Vigun09g139900* (WD40) и *Vigun10g163900* (белок U3 убиквитин-лигаза) отвечают за паттерн окраски, в то время как *Vigun07g110700* (bHLH) рассматривается как основной белок, контролирующей интенсивность окраски. Ранее *Vigun07g110700* был предложен как ген-кандидат, отвечающий также за окраску цветков у коровьего гороха (Lo et al., 2018). Гомолог этого гена идентифицирован и у *P. vulgaris* (McClellan et al., 2018).

Помимо молекулярно-генетического анализа группой исследователей проведен подробный анализ транскриптома и метаболома, уточняющий особенности накопления антоцианов и других флавоноидов у образцов вида *V. unguiculata*. В качестве материала исследования были использованы два сорта с зеленой (Chinese light green) и фиолетовой (Chinese red noodle) окраской бобов (Li Y. et al., 2020). По результатам биохимическо-

го анализа бобы коровьего гороха фиолетового цвета содержат производные антоцианов (дельфинидин-3-гликозид и цианидин-3-гликозид) и кверцетин, в то время как в зеленых бобах зафиксировано минимальное содержание вышеперечисленных соединений. В ходе метаболического анализа были обнаружены: антоцианы, халконы, дигидрофлавоны, дигидрофлавонолы, флаванолы, флавоны, флавонолы, изофлавоны и проантоцианидины. Кроме этого в работе выделены структурные гены, вовлеченные в пути биосинтеза антоцианов и ряда флавоноидов (Li Y. et al., 2020). Таким образом, из набора дифференциально экспрессирующихся генов, идентифицированных по результатам транскриптомного анализа *V. unguiculata*, были аннотированы некоторые гены-кандидаты, вовлеченные в регуляцию биосинтеза флавоноидов, но при этом не установлены тканеспецифичные закономерности их экспрессии.

В настоящее время активно ведутся работы по изучению системы генов биосинтеза флавоноидных пигментов у адуки *V. angularis* (Chu et al., 2021a; 2021b). На хромосоме 3 был выделен ген *VaSDCI*, кодирующий белок семейства R2R3-Myb, предположительно определяющий красную или черную окраску семян адуки. *VaSDCI* имеет высокую степень сходства с *AtMYB75/90* арабидопсиса.

Соя. У сои *G. max*, входящей в общую с родом *Vigna* трибу Phaseoleae, был проведен полногеномный анализ генов, кодирующих белки семейства Myb, в ходе которого идентифицировано 244 гена, отвечающих за синтез белков семейства R2R3-Myb, а также 390 генов для белков семейства bHLH (Kalavacharla et al., 2011; Du et al., 2012). Помимо этого, у сои описан ген *GmMYB176*, белковый продукт которого регулирует экспрессию гена халконсинтазы *GmCHS8* и влияет на синтез изофлавоноидов в семенах (Yi et al., 2010a; 2010b). Посредством полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) было выявлено 28 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), которые в большей степени связаны с повышенными концентрациями изофлавонов в растительных тканях сои. Из всех генов, содержащих SNP, лишь у одного *GmMYB29*, кодирующего фактор транскрипции Myb типа R2R3, был выявлен полиморфизм в 5'-нетранслируемой области (5'-UTR). Этот ген и был выбран для дальнейшего анализа. Ряд молекулярно-генетических подходов продемонстрировал принадлежность этого гена к кодирующим белки семейства R2R3-Myb и активное участие его белкового продукта в контроле накопления изофлавоноидов в семенах сои (Chu et al., 2017). Позднее было показано, что *GmMYB176*, относящийся к группе R1-Myb, взаимодействуя с транскрипционным фактором семейства лейциновая молния *GmbZIP5* (Basic leucine zipper, bZIP), повышает уровень изофлавоноидов в корнях сои, в то время как подавление экспрессии гена *GmbZIP5* с помощью РНК-интерференции приводило к противоположному эффекту (Dubos et al., 2010; Anguraj Vadivel et al., 2021).

Как известно, флавоноиды синтезируются в цитоплазме, а затем транспортируются в вакуоли, где происходит их накопление и хранение (Kitamura, 2006; Petrusa et al., 2013). Процессы синтеза и транспорта этих вторичных метаболитов регулируют транскрипционные факторы, некоторые из которых были идентифицированы у сои (Yang et al., 2021). Так, описан транскрипционный фактор, кодируемый геном *GL3* и входящий в состав семейства bHLH. Компоненты последнего участвуют в формировании комплекса MBW (Myb-bHLH-WD40), контролирующего биосинтез флавоноидов, включая антоцианы (Xu et al., 2015). Более того, у сои идентифицировано два *GST* гена, *GSTT1* и *GSTL3*, кодирующих белок глутатион S-трансферазу, которая, в свою очередь, катализирует связывание флавоноидов с глутатионом. Образовавшийся комплекс транспортируется ABC-переносчиком в вакуоли клетки (Braidot et al., 2008; Petrusa et al., 2013).

Таким образом, в настоящее время активно ведутся работы по исследованию генетического контроля биосинтеза флавоноидных пигментов у зернобобовых, а также и у ряда других важнейших культур сельскохозяйственного назначения. Ранее результаты фундаментальных исследований системы генов биосинтеза флавоноидных пигментов у пшеницы позволили разработать научно обоснованную ускоренную и экономически эффективную схему маркер-ориентированной селекции сортов с повышенным содержанием флавоноидов, а также успешно применить ее на практике (Gordeeva et al., 2015; 2020).

Заключение

Здоровый образ жизни – один из главных трендов развития современного общества. Системный анализ и маркирование генов, влияющих на диетическую ценность и уровень биологически активных соединений, имеют не только важное фундаментальное значение, но и высокую практическую ценность.

В обзоре представлены особенности регуляции биосинтеза фенольных соединений у основных представителей трибы Phaseoleae, которые являются наиболее важными продовольственными бобовыми культурами во многих странах мира и составляют 27% от мирового производства сельскохозяйственных культур, при этом обеспечивая 33% белка, потребляемого человеком. Корреляция окраски растительных тканей и содержания флавоноидов достаточно подробно исследованы у сои, однако у других представителей фасолиевых информации об этом недостаточно. В настоящее время интенсифицируются работы по изучению генетической регуляции биосинтеза фенольных соединений у этих видов.

Понимание механизмов, лежащих в основе биосинтеза флавоноидов, необходимо для повышения эффективности селекции сортов с повышенной диетической ценностью. Выявление закономерностей накопления флавоноидов необходимо и для решения проблемы расшире-

ния разнообразия продукции растениеводства. Разработка новых молекулярных маркеров позволит перейти к более эффективному и быстрому созданию новых сортов посредством маркер-ориентированной селекции.

Литература/References

- Adzhieva V.F., Babak O.G., Shoeva O.Y., Kilchevsky A.V., Khlestkina E.K. Molecular-genetic mechanisms underlying fruit and seed coloration in plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(5):561-573. [In Russian] (Аджиева В.Ф., Бабак О.Г., Шоева О.Ю., Кильчевский А.В., Хлесткина Е.К. Молекулярно-генетические механизмы формирования окраски плодов и семян растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(5):561-573). DOI: 10.18699/VJ15.073
- Agati G., Biricolti S., Guidi L., Ferrini F., Fini A., Tattini M. The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in *L. vulgare* leaves. *Journal of Plant Physiology*. 2011;168(3):204-212. DOI: 10.1016/j.jplph.2010.07.016
- Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*. 2012;196:67-76. DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014
- Agati G., Brunetti C., Di Ferdinando M., Ferrini F., Pollastri S., Tattini M. Functional roles of flavonoids in photoprotection: new evidence, lessons from the past. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:35-45. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.03.014
- Aisyah S., Gruppen H., Andini S., Bettonvil M., Severing E., Vincken J.-P. Variation in accumulation of isoflavonoids in Phaseoleae seedlings elicited by Rhizopus. *Food Chemistry*. 2016;196:694-701. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.110
- Anguraj Vadivel A.K., McDowell T., Renaud J.B., Dhaubhadel S. A combinatorial action of GmMYB176 and GmbZIP5 controls isoflavonoid biosynthesis in soybean (*Glycine max*). *Communications Biology*. 2021;4(1):356. DOI: 10.1038/s42003-021-01889-6
- Aparicio-Fernandez X., Yousef G.G., Loarca-Pina G., De Mejia E., Lila M.A.. Characterization of polyphenolics in the seed coat of black Jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(11):4615-4622. DOI: 10.1021/jf047802o
- Barros J., Dixon R.A. Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. *Trends in Plant Science*. 2020;25(1):66-79. DOI: 10.1016/j.tplants.2019.09.011
- Baudry A., Heim M.A., Dubreucq B., Caboche M., Weisshaar B., Lepiniec L. TT2, TT8, and TTG1 synergistically specify the expression of *BANYULS* and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*. 2004;39(3):366-380. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2004.02138.x
- Beninger C.W., Hosfield G.L. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(27):7879-7883. DOI: 10.1021/jf0304324
- Berli F.J., Moreno D., Piccoli P., Hespagnol-Viana L., Silva M.F., Bressan-Smith R., Cavagnaro J.B., Bottini R. Abscisic acid is involved in the response of grape (*Vitis vinifera* L.) Cv. Malbec leaf tissues to ultraviolet-B radiation by enhancing ultraviolet-absorbing compounds, antioxidant enzymes and membrane sterols. *Plant, Cell & Environment*. 2009;33(1):1-10. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2009.02044.x
- Boukar O., Fatokun C.A., Roberts P.A., Abberton M., Huynh B.L., Close T.J., Kyei-Boahen S., Higgins T.J.V., Ehlers J.D. Cowpea. In: *Grain Legumes*. Antonio M. De Ron (ed.). New York: Springer; 2015. p.219-250. (HBPB; vol. 10). DOI: 10.1007/978-1-4939-2797-5
- Braidot E., Zancani M., Petrusa E., Peresson C., Bertolini A., Patui S., Francesco M., Vianello A. Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Signaling & Behavior*. 2008;3(9):626-632. DOI: 10.4161/psb.3.9.6686
- Buer C.S., Imin N., Djordjevic M.A. Flavonoids: new roles for old molecules. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2010;52(1):98-111. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2010.00905.x
- Burak M., Imen Y. Flavonoids and their antioxidant properties. *Turkiye Klin Tip Bil Derg*. 1999;19:296-304.
- Burlyayeva M.O., Gurkina M.V., Chebukin P.A., Perchuk I.N., Miroshnichenko E.V. New varieties of vegetable cowpea (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc.) and prospects of their cultivation in southern Russia. *Vegetable crops of Russia*. 2019;5(5):33-37. [In Russian] (Бурляева М.О., Гуркина М.В., Чебукин П.А., Перчук И.Н., Мирошниченко Е.В. Новые сорта вигны (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* (L.) Verdc.) овощного использования, перспективные для возделывания в южных регионах России. *Овощи России*. 2019;5(5):33-37). DOI: 10.18619/2072-9146-2019-5-33-37
- Cardador-Martínez A., Loarca-Piña G., Oomah B.D. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(24):6975-6980. DOI: 10.1021/jf020296n
- Chávez-Santoscoy R.A., Gutiérrez-Urbe J.A., Serna-Saldívar S.O. Effect of flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats as cholesterol micelle disruptors. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2013;68(4):416-423. DOI: 10.1007/s11130-013-0384-7
- Cheyrier V., Comte G., Davies K.M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:1-20. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.05.009
- Christie P.J., Alfenito M.R., Walbot V. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*. 1994;194(4):541-549. DOI: 10.1007/BF00714468
- Chu S., Wang J., Zhu Y., Liu S., Zhou X., Zhang H., Wang C.E., Yang W., Tian Z., Cheng H., Yu D. An R2R3-Type MYB transcription factor, GmMYB29, regulates isoflavone biosynthesis in soybean. *PLOS Genetics*. 2017;13(5):e1006770. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006770
- Chu L., Zhao P., Huang X., Zhao B., Li Y., Yang K., Wan P. Genetic analysis of seed coat colour in adzuki bean (*Vigna angularis* L.). *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2021a;19(1):67-73. DOI: 10.1017/S1479262121000101
- Chu L., Zhao P., Wang K., Zhao B., Li Y., Yang K., Wan P. *VaSDCI* is involved in modulation of flavonoid metabolic pathways in black and red seed coats in adzuki bean (*Vigna angularis* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2021b;12(July). DOI: 10.3389/fpls.2021.679892
- De Mejia E.G., Castaño-Tostado E., Loarca-Piña G. Antimutagenic effects of natural phenolic compounds in beans. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 1999;441(1):1-9. DOI: 10.1016/S1383-5718(99)00040-6
- Delph L.F., Lively C.M. The evolution of floral color change: pollinator attraction versus physiological constraints in fuchsia excorticata. *Evolution*. 1989;43(6):1252. DOI: 10.2307/2409360
- Du H., Yang S.S., Liang Z., Feng B.R., Liu L., Huang Y.B., Tang Y.X. Genome-wide analysis of the MYB transcription factor superfamily in soybean. *BMC Plant Biology*. 2012;12(1):106. DOI: 10.1186/1471-2229-12-106
- Dubos C., Stracke R., Grotewold E., Weisshaar B., Martin C., Lepiniec L. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. 2010;15(10):573-581. DOI: 10.1016/j.tplants.2010.06.005
- Espinosa-Alonso L.G., Lygin A., Widholm J.M., Valverde M.E., Paredes-Lopez O. Polyphenols in wild and weedy Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(12):4436-4444. DOI: 10.1021/jf060185e
- Fritz K.L., Seppanen C.M., Kurzer M.S., Csallany A.S. The *in vivo* antioxidant activity of soybean isoflavones in human subjects. *Nutrition Research*. 2003;23(4):479-487. DOI: 10.1016/S0271-5317(03)00005-8
- Gonzalez A., Zhao M., Leavitt J.M., Lloyd A.M. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/BHLH/Myb transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings. *The Plant Journal*. 2008;53(5):814-827. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03373.x
- Gordeeva E., Shamanin V., Shoeva O., Kukoeva T., Morgounov A., Khlestkina E. The strategy for marker-assisted breeding of anthocyanin-rich spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in Western Siberia *Agronomy* 2020; 10(10):1603. DOI: 10.3390/agronomy10101603
- Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. Marker-assisted devel-

- opment of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of purple pericarp (*Pp*) alleles. *Euphytica*. 2015;203(2):469-476. DOI: 10.1007/s10681-014-1317-8
- Guzmán-Maldonado H., Castellanos J., De Mejía E.G. Relationship between theoretical and experimentally detected tannin content of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*. 1996;55(4):333-335. DOI: 10.1016/0308-8146(95)00106-9
- Harland S.C. Inheritance of certain characters in the cowpea (*Vigna sinensis*). *Journal of Genetics*. 1919;8(2):101-132. DOI: 10.1007/BF02983490
- Harland S.C. Inheritance of certain characters in the cowpea (*Vigna sinensis*). II. *Journal of Genetics*. 1920;10(3):193-205. DOI: 10.1007/BF03007981
- Havsteen B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*. 2002;96(2-3):67-202. DOI: 10.1016/S0163-7258(02)00298-X
- Herniter I.A., Muñoz-Amatriain M., Lo S., Guo Y-N., Close T.J. Identification of candidate genes controlling black seed coat and pod tip color in cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2018;8(10):3347-3355. DOI: 10.1534/g3.118.200521
- Herniter I.A., Lo R., Muñoz-Amatriain M., Lo S., Guo Y-N., Huynh B-L., Lucas M., Roberts P.A., Lonardi S., Close T.J. Seed coat pattern QTL and development in cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:1-12. DOI: 10.3389/fpls.2019.01346
- Hungria M., Joseph C.M., Phillips D.A. Anthocyanidins and flavonols, major Nod gene inducers from seeds of a black-seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Physiology*. 1991;97(2):751-758. DOI: 10.1104/pp.97.2.751
- Ishikura N., Iwata M., Miyazaki S. Flavonoids of some *Vigna*-plants in leguminosae. *The Botanical Magazine Tokyo*. 1981;94(3):197-205. DOI: 10.1007/BF02488610
- Jin H. Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis*. *The EMBO Journal*. 2000;19(22):6150-6161. DOI: 10.1093/emboj/19.22.6150
- Jaakola L. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in Plant Science*. 2013;18(9):477-483. DOI: 10.1016/j.tplants.2013.06.003
- Jiang N., Doseff A., Grotewold E. Flavones: from biosynthesis to health benefits. *Plants*. 2016;5(2):27. DOI: 10.3390/plants5020027
- Jun S.-Y., Sattler S.A., Cortez G.S., Vermerris W., Sattler S.E., Kang C. Biochemical and structural analysis of substrate specificity of a phenylalanine ammonia-lyase. *Plant Physiology*. 2018;176(2):1452-1468. DOI: 10.1104/pp.17.01608
- Kalavacharla V., Liu Z., Meyers B.C., Thimmapuram J., Melmaiee K. Identification and analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) transcriptomes by massively parallel pyrosequencing. *BMC Plant Biology*. 2011;11(1):135. DOI: 10.1186/1471-2229-11-135
- Kang Y.J., Kim S.K., Kim M.Y., Lestari P., Kim K.H., Ha B.K., Jun T.H., Hwang W.J., Lee T., Lee J., Shim S., Yoon M.Y., Jang Y.E., Han K.S., Taeprayoon P., Yoon N., Somta P., Tanya P., Kim K.S., Gwag J.G., Moon J.K., Lee Y.H., Park B.S., Bombarely A., Doyle J.J., Jackson S.A., Schaffleitner R., Srinives P., Varshney R.K., Lee S.H. Genome sequence of mungbean and insights into evolution within *Vigna* species. *Nature Communications*. 2014;11(5):5443. DOI: 10.1038/ncomms6443
- Katiyar A., Smita S., Lenka S., Rajwanshi R., Chinnusamy V., Bansal K. Genome-wide classification and expression analysis of MYB transcription factor families in rice and *Arabidopsis*. *BMC Genomics*. 2012;13(1):544. DOI: 10.1186/1471-2164-13-544
- Kitamura S. Transport of flavonoids: from cytosolic synthesis to vacuolar accumulation. In: *The Science of Flavonoids*. New York: Springer; 2006. p.123-146. DOI: 10.1007/978-0-387-28822-2_5
- Kleindt C.K., Stracke R., Mehrtens F., Weisshaar B. Expression analysis of flavonoid biosynthesis genes during *Arabidopsis thaliana* silique and seed development with a primary focus on the proanthocyanidin biosynthetic pathway. *BMC Research Notes*. 2010;3(1):255. DOI: 10.1186/1756-0500-3-255
- Koes R., Verweij W., Quattrocchio F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science*. 2005;10(5):236-242. DOI: 10.1016/j.tplants.2005.03.002
- Korkina L.G., Afanas'Ev I.B. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. 1996;38:151-163. DOI: 10.1016/S1054-3589(08)60983-7
- Kumar V., Suman U., Rubal, Kumar S.Y. Flavonoid secondary metabolite: biosynthesis and role in growth and development in plants. In: *Recent Trends and Techniques in Plant Metabolic Engineering*. Singapore: Springer Singapore; 2018 p.19-45. DOI: 10.1007/978-981-13-2251-8_2
- Lattanzio V., Cardinali A., Linsalata V., Perrino P., Ng N.Q. A chemosystematic study of the flavonoids of *Vigna*. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 1996;43(6):493-504. DOI: 10.1007/BF00138826
- Lea U.S., Slimestad R., Smedvig P., Lillo C. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and BHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway. *Planta*. 2007;225(5):1245-1253. DOI: 10.1007/s00425-006-0414-x
- Lepiniec L., Debeaujon I., Routaboul J-M., Baudry A., Pourcel L., Nesi N., Caboche M. Genetics and biochemistry of seed flavonoids. *Annual Review of Plant Biology*. 2006;57(1):405-430. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105252
- Li S. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis. *Plant Signaling & Behavior*. 2014;9(1):e27522. DOI: 10.4161/psb.27522
- Li S., Bashline L., Lei L., Gu Y. Cellulose synthesis and its regulation. *The Arabidopsis Book*. 2014;12:e0169. DOI: 10.1199/tab.0169
- Li Y., Chen Q., Xie X., Cai Y., Li J., Feng Y., Zhang Y. Integrated metabolomics and transcriptomics analyses reveal the molecular mechanisms underlying the accumulation of anthocyanins and other flavonoids in cowpea pod (*Vigna unguiculata* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(34):9260-9275. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c01851
- Li Z., Su Q., Xu M., You J., Khan A.Q., Li J., Zhang X., Tu L., You C. Phenylpropanoid metabolism and pigmentation show divergent patterns between brown color and green color cottons as revealed by metabolic and gene expression analyses. *Journal of Cotton Research*. 2020;3(1):27. DOI: 10.1186/s42397-020-00069-x
- Liu R., Zheng Y., Cai Z., Xu B. Saponins and flavonoids from adzuki bean (*Vigna angularis* L.) ameliorate high-fat diet-induced obesity in ICR mice. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8:1-8. DOI: 10.3389/fphar.2017.00687
- Lloyd A., Brockman A., Aguirre L., Campbell A., Bean A., Cantero A., Gonzalez A. Advances in the MYB-bHLH-WD repeat (MBW) pigment regulatory model: addition of a WRKY factor and co-option of an anthocyanin MYB for betalain regulation. *Plant and Cell Physiology*. 2017;58(9):1431-1441. DOI: 10.1093/pcp/pcx075
- Lo S., Muñoz-Amatriain M., Boukar O., Herniter I., Cisse N., Guo Y-N., Roberts P.A., Xu S., Fatokun C., Close T.J. Identification of QTL controlling domestication-related traits in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Scientific Reports*. 2018;8(1):6261. DOI: 10.1038/s41598-018-24349-4
- Lonardi S., Muñoz-Amatriain M., Liang Q., Shu S., Wanamaker S.I., Lo S., Tanskanen J., Schulman A.H., Zhu T., Luo M.C., Alhakami H., Ounit R., Hasan A.M., Verdier J., Roberts P.A., Santos J.R.P., Ndeve A., Dolezel J., Vrana J., Hokin S.A., Farmer A.D., Cannon S.B., Close T.J. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *The Plant Journal*. 2019;98(5):767-782. DOI: 10.1111/tj.14349
- Madhujith T., Naczki M., Shahidi F. Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Lipids*. 2004;11(3):220-233. DOI: 10.1111/j.1745-4522.2004.01134.x
- Makoi J.H.J.R., Belane A.K., Chimphango S.B.M., Dakora F.D. Seed flavonoids and anthocyanins as markers of enhanced plant defence in nodulated cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Field Crops Research*. 2010;118(1):21-27. DOI: 10.1016/j.fcr.2010.03.012
- McClellan P.E., Bett K.E., Stonehouse R., Lee R., Pflieger S., Moghaddam S.M., Geffroy V., Miklas P., Mamidi S. White seed color in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) results from convergent evolution in the *P (Pigment)* gene. *New Phytologist*. 2018;219(3):1112-1123. DOI: 10.1111/nph.15259
- Medvedev S.S. Physiology of plants. St. Petersburg: BHV-Peterburg; 2012. [in Russian] (Медведев С.С. Физиология растений. Санкт-Петербург: БХВ-Петербург; 2012).
- Moy P., Qutob D., Chapman B.P., Atkinson I., Gijzen M. Patterns of gene expression upon infection of soybean plants by *Phytophthora sojae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2004;17(10):1051-1062. DOI: 10.1094/MPMI.2004.17.10.1051
- Muñoz-Amatriain M., Mirebrahim H., Xu P., Wanamaker S.I.,

- Cheng L.M., Alhakami H., Alpert M., Atokple I., Batiemo B.J., Boukar O., Bozdag S., Cisse N., Drabo I., Ehlers J.D., Farmer A., Fatokun C., Gu Y.Q., Guo Y.N., Huynh B.L., Jackson S.A., Kusi F., Lawley C.T., Lucas M.R., Ma Y., Timko M.P., Wu J., You F., Barkley N.A., Roberts P.A., Lonardi S., Close T.J. Genome resources for climate-resilient cowpea, an essential crop for food security. *The Plant Journal*. 2017;89(5):1042-1054. DOI: 10.1111/tpj.13404
- Nassourou M.A., Njintang Y.N., Noubissié T.J.-B., Nguimbou R.M., Bell J.M. Genetics of seed flavonoid content and antioxidant activity in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *The Crop Journal*. 2016;4(5):391-397. DOI: 10.1016/j.cj.2016.05.011
- Nesi N., Debeaujon I., Jond C., Pelletier G., Caboche M., Lepiniec L. The *TT8* gene encodes a basic helix-loop-helix domain protein required for expression of *DFR* and *BAN* genes in *Arabidopsis* siliques. *The Plant Cell*. 2000;12(10):1863-1878. DOI: 10.1105/tpc.12.10.1863
- Nesi N., Jond C., Debeaujon I., Caboche M., Lepiniec L. The *Arabidopsis* *TT2* gene encodes and R2R3 MYB domain protein that acts as a key determinant for proanthocyanidin accumulation in developing seed. *The Plant Cell*. 2001;13(9):2099. DOI: 10.2307/3871430
- Ndakidem P.A., Dakora F.D. Legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signals and protectants in early seedling development. *Functional Plant Biology*. 2003;30(7):729. DOI: 10.1071/FP03042
- Ohnishi T., Takahashi A., Takeda K. Light-induced anthocyanin reduces the extent of damage to DNA in UV-irradiated *Centaurea cyanus* cells in culture. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*. 1992;272(3):277. DOI: 10.1016/0165-1161(92)91606-R
- Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016;(5):e47. DOI: 10.1017/jns.2016.41
- Perchuk I., Shelenga T., Gurkina M., Miroshnichenko E., Burlyayeva M. Composition of primary and secondary metabolite compounds in seeds and pods of asparagus bean (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) from China. *Molecules* 2020;25(17):3778. DOI: 10.3390/molecules25173778
- Park J.-S., Kim J.-B., Cho K.-J., Cheon C.-I., Sung M.-K., Choung M.-G., Roh K.-H. *Arabidopsis* R2R3-MYB transcription factor AtMYB60 functions as a transcriptional repressor of anthocyanin biosynthesis in lettuce (*Lactuca sativa*). *Plant Cell Reports*. 2008;27(6):985-994. DOI: 10.1007/s00299-008-0521-1
- Petroni K., Tonelli C. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science*. 2011;181(3):219-229. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.05.009
- Petrussa E., Braidot E., Zancani M., Peresson C., Bertolini A., Patui S., Vianello A. Plant flavonoids – biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(7):14950-14973. DOI: 10.3390/ijms140714950
- Pollastri S., Tattini M. Flavonols: old compounds for old roles. *Annals of Botany*. 2011;108(7):1225-1233. DOI: 10.1093/aob/mcr234
- Prakken R. Inheritance of colour in *Phaseolus vulgaris* L. II. A critical review. *Wageningen Mededelingen van de Landbouwhogeschool te Wageningen*. 1970;70:1-38.
- Qi T., Song S., Ren Q., Wu D., Huang H., Chen Y., Fan M., Peng W., Ren C., Xie D. The jasmonate-ZIM-domain proteins interact with the WD-Repeat/bHLH/MYB complexes to regulate jasmonate-mediated anthocyanin accumulation and trichome initiation in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*. 2011;23(5):1795-1814. DOI: 10.1105/tpc.111.083261
- Romani A., Vignolini P., Galardi C., Mulinacci N., Benedettelli S., Heimler D. Germplasm characterization of Zolfino landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by flavonoid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(12):3838-3842. DOI: 10.1021/jf0307402
- Ryan K.G., Swinny E.E., Markham K.R., Winefield C. Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry*. 2002;59(1):23-32. DOI: 10.1016/S0031-9422(01)00404-6
- Saigo T., Wang T., Watanabe M., Tohge T. Diversity of anthocyanin and proanthocyanin biosynthesis in land plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2020;55:93-99. DOI: 10.1016/j.pbi.2020.04.001
- Saito K., Yonekura-Sakakibara K., Nakabayashi R., Higashi Y., Yamazaki M., Tohge T., Fernie A.R. The flavonoid biosynthetic pathway in *Arabidopsis*: structural and genetic diversity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:21-34. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.02.001
- Schmutz J., Cannon S.B., Schlueter J., Ma J., Mitros T., Nelson W., Hyten D.L., Song Q., Thelen J.J., Cheng J., Xu D., Hellsten U., May G.D., Yu Y., Sakurai T., Umezawa T., Bhattacharyya M. K., Sandhu D., Valliyodan B., Lindquist E., Peto M., Grant D., Shu S., Goodstein D., Barry K., Futrell-Griggs M., Abernathy B., Du J., Tian Z., Zhu L., Gill N., Joshi T., Libault M., Sethuraman A., Zhang X.-C., Shinozaki K., Nguyen H.T., Wing R.A., Cregan P., Specht J., Grimwood J., Rokhsar D., Stacey G., Shoemaker R.C., Jackson S.A. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*. 2010;463(7278):178-183. DOI: 10.1038/nature08670
- Schmutz J., McClean P.E., Mamidi S., Wu G.A., Cannon S.B., Grimwood J., Jenkins J., Shu S., Song Q., Chavarro C., Torres-Torres M., Geffroy V., Moghaddam S.M., Gao D., Abernathy B., Barry K., Blair M., Brick M.A., Chovatia M., Gepts P., Goodstein D. M., Gonzales M., Hellsten U., Hyten D.L., Jia G., Kelly J.D., Kudrna D., Lee R., Richard M. M.S., Miklas P.N., Osorno J.N., Rodrigues J., Thareau V., Urrea C.A., Wang M., Yu Y., Zhang M., Wing R.A., Cregan P.B., Rokhsar D.S., Jackson S.A. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*. 2014;46(7):707-713. DOI: 10.1038/ng.3008
- Shirley B.W. Flavonoids in seeds and grains: physiological function, agronomic importance and the genetics of biosynthesis. *Seed Science Research*. 1998;8(4):415-422. DOI: 10.1017/S0960258500004372
- Smith F.L. A genetic analysis of red seed-coat color in *Phaseolus vulgaris*. *Hilgardia*. 1939;12(9):551-621. DOI: 10.3733/hilg.v12n09p551
- Spillman W.J. Inheritance of the 'Eye' in *Vigna*. *American naturalist*. 1911;45(537):513-523
- Stanton W.R., Francis B.J. Ecological significance of anthocyanins in the seed coats of the Phaseoleae. *Nature*. 1966;211(5052):970-971. DOI: 10.1038/211970a0
- Stracke R., Ishihara H., Hupf G., Barsch A., Mehrtens F., Niehaus K., Weisshaar B. Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling. *The Plant Journal*. 2007;50(4):660-677. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2007.03078.x
- Takahashi A., Ohnishi T. The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the international space station. *Biological Sciences in Space*. 2004;18(4):255-260. DOI: 10.2187/bss.18.255
- Takahashi A., Ichihara Y., Isagi Y., Shimada T. Effects of acorn tannin content on infection by the fungus *Ciboria batschiana*. *Forest Pathology*. 2010;40(2):96-99. DOI: 10.1111/j.1439-0329.2009.00612.x
- Varshney R.K., Chen W., Li Y., Bharti A.K., Saxena R.K., Schlueter J.A., Donoghue M.T., Azam S., Fan G., Whaley A.M., Farmer A.D., Sheridan J., Iwata A., Tuteja R., Penmetts R.V., Wu W., Upadhyaya H.D., Yang S.-P., Shah T., Saxena K.B., Michael T., McCombie W.R., Yang B., Zhang G., Yang H., Wang J., Spillane C., Cook D.R., May G.D., Xu X., Jackson S.A. Draft genome sequence of pigeonpea (*Cajanus cajan*), an orphan legume crop of resource-poor farmers. *Nature Biotechnology*. 2012;30(1):83-89. DOI: 10.1038/nbt.2022
- Vasconcelos E.V., de Andrade Fonsêca A.F., Pedrosa-Harand A., de Andrade Bortoleti K.C., Benko-Iseppon A.M., da Costa A.F., Brasileiro-Vidal A.C. Intra- and interchromosomal rearrangements between cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by BAC-FISH. *Chromosome Research*. 2015;23(2):253-266. DOI: 10.1007/s10577-014-9464-2
- Vishnyakova M.A., Aleksandrova T.G., Buravtseva T.V., Burlyayeva M.O., Egorova G.P., Semenova E.V., Seferova I.V., Suvorova G.N. Species diversity of the VIR collection of grain legume genetic resources and its use in domestic breeding. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(2):109-123. [In Russian] (Вишнякова М.А., Александрова Т.Г., Буравцева Т.В., Бурляева М.О., Егорова Г.П., Семенова Е.В.,

- Сеферова И.В., Суворова Г.Н. Видовое разнообразие коллекции генетических ресурсов зернобобовых ВИР и его использование в отечественной селекции. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(2):109-123. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-2-109-123
- Walker A.R., Davison P.A., Bolognesi-Winfield A.C., James C.M., Srinivasan N., Blundell T.L., Esch J.J., Marks M.D., Gray J.C. The *TRANSPARENT TESTA GLABRA1* locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein. *The Plant Cell*. 1999;11(7):1337-1349. DOI: 10.1105/tpc.11.7.1337
- Williams R.J., Spencer J.P.E., Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;36(7):838-849. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001
- Xu W., Dubos C., Lepiniec L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB–bHLH–WDR complexes. *Trends in Plant Science*. 2015;20(3):176-185. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.12.001
- Yang C., Yan J., Jiang S., Li X., Min H., Wang X., Hao D. Resequencing 250 soybean accessions: new insights into genes associated with agronomic traits and genetic networks. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2021; 24:S1672-0229(21)00160-1. DOI: 10.1016/j.gpb.2021.02.009
- Yi J., Derynck M.R., Chen L., Dhaubhadel S. Differential expression of *CHS7* and *CHS8* genes in soybean. *Planta*. 2010a;231(3):741-753. DOI: 10.1007/s00425-009-1079-z
- Yi J., Derynck M.R., Li X., Telmer P., Marsolais F., Dhaubhadel S. A single-repeat MYB transcription factor, GmMYB176, regulates *CHS8* gene expression and affects isoflavonoid biosynthesis in soybean. *The Plant Journal*. 2010b;62(6):1019-1034. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2010.04214.x
- Zhang L., Xu B., Wu T., Yang Y., Fan L., Wen M., Sui J. Transcriptomic profiling of two Pak Choi varieties with contrasting anthocyanin contents provides an insight into structural and regulatory genes in anthocyanin biosynthetic pathway. *BMC Genomics*. 2017;18(1):288. DOI: 10.1186/s12864-017-3677-7
- Zhu H-F., Fitzsimmons K., Khandelwal A., Kranz R.G. CPC, a single-repeat R3 MYB, is a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*. 2009;2(4):790-802. DOI: 10.1093/mp/ssp030

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ *Vrn*, *Ppd* И РЕАКЦИЯ НА ЯРОВИЗАЦИЮ УЛЬТРАСКОРОСПЕЛЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ *Triticum aestivum* L.

Ригин Б. В., Зуев Е. В.*, Матвиенко И. И., Андреева А. С.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;

* ✉ e.zuev@vir.nw.ru

Актуальность. Знание о генетическом контроле реакции на яровизацию ультраскороспелых образцов будет способствовать селекции на высокую адаптивную способность мягкой пшеницы. **Материалы и методы.** Исследовали ультраскороспелые линии Рико (к-65588) и Римакс (к-67257), как самые скороспелые среди образцов коллекции мягкой пшеницы ВИР, а также 10 линий Рифор (к-67120, к-67121, к-67250-67256) с высокой скоростью развития до колошения, которые являются потомками от скрещивания Рико × Forlani Roberto' (к-42641). Изучен позднеспелый образец 'Forlani Roberto' к-42641) и сорт 'Ленинградская 6' (к-64900), районированный в Северо-Западном регионе России. Аллели генов *Vrn* и *Ppd* идентифицировали с помощью ПЦР-анализа с использованием опубликованных в литературе аллель-специфичных праймеров. Реакция на яровизацию (30 суток при 3°C) и короткий 12-часовой день определена по методике ВИР. **Результаты.** Ультраскороспелые линии очень слабо реагируют на короткий 12-часовой день и 30-дневную яровизацию. Генотип ультраскороспелых линий пшеницы в основном представлен тремя доминантными генами *Vrn-A1*, *Vrn-B1a* и *Vrn-D1*, обеспечивающие нечувствительность к яровизации на фоне экспрессии *Ppd-D1a*, контролирующей реакцию на фотопериод. Ультраскороспелые линии Рифор 4 и Рифор 5 имеют рецессивный аллель *vrn-A1a*, как и исходный образец 'Forlani Roberto'. Линии Рифор 4 и Рифор 5 нечувствительны к яровизации в условиях длинного дня и имеют очень слабую реакцию при коротком дне (3,5 ± 0,42 сут и 4,0 ± 0,61 суток соответственно). Однако, 'Forlani Roberto' с геном *vrn-A1a* одинаково реагирует на яровизацию при любом фотопериоде (12,3 ± 1,58 суток и 12,2 ± 0,74 суток). **Заключение.** Ультраскороспелые линии яровой мягкой пшеницы имеют доминантные гены *Vrn-A1*, *Vrn-B1a* и *Vrn-D1* и не чувствительны к яровизации. Некоторые ультраскороспелые линии могут не реагировать на яровизацию или иметь ее низкий уровень (Рифор 4, Рифор 5), но в их генотипах имеется рецессивный ген *vrn-A1a*. Этот эффект может быть причиной образования комплекса генов-модификаторов наряду с доминантным геном *Vrn-D1*, который сформировался в процессе гибридизации F₇₋₈ Рико × 'Forlani Roberto'. Ультраскороспелые линии мягкой пшеницы Рико, Римакс и Рифор (к-67120, к-67121, к-67250-67256) могут быть эффективными источниками генов скороспелости в селекции мягкой пшеницы.

Ключевые слова: Яровая мягкая пшеница, ультраскороспелость, линии Рифор, реакция на яровизацию, фотопериод, аллели генов *Vrn* и *Ppd*, ПЦР -анализ, селекция.

Для цитирования:

Ригин Б.В., Зуев Е.В., Матвиенко И.И., Андреева А.С. Молекулярное маркирование генов *Vrn*, *Ppd* и реакция на яровизацию ультраскороспелых линий яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(3):26-36. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-02

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.** **Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-02> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0006 «Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития, оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве».

MOLECULAR LABELING OF *Vrn*, *Ppd* GENES AND VERNALIZATION RESPONSE OF THE ULTRA-EARLY LINES OF SPRING BREAD WHEAT *Triticum aestivum* L.

Rigin B. V., Zuev E. V.*, Matvienko I. I., Andreeva A. S.

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;

*  e.zuev@vir.nw.ru

Background. The knowledge of genetic control of vernalization response in the ultra-early accessions can facilitate bread wheat breeding for a high adaptive capacity. **Materials and methods.** The study involved the ultra-early lines Rico (k-65588) and Rimax (k-67257) as the earliest maturing lines in the VIR bread wheat collection, as well as 10 Rifor lines (k-67120, k-67121, k-67250-67256) with a high rate of development before heading. A late ripening accession 'Forlani Roberto' (k-42641) and 'Leningradskaya 6' variety (k-64900), regionally adapted to Northwestern Russia, were also studied. The alleles of the *Vrn* and *Ppd* genes were identified by the PCR analysis using the allele-specific primers published in literature sources. The response to vernalization (30 days at 3°C) and a short 12-hour day were determined using a methodology accepted at VIR. **Results.** The ultra-early lines respond to a short 12-hour day and 30-day vernalization very poorly. The genotype of ultra-early wheat lines is mainly represented by three genes, *Vrn-A1*, *Vrn-B1a*, and *Vrn-D1*, which ensure insensitivity to vernalization alongside with the expression of *Ppd-D1a*, which controls the response to photoperiod. The ultra-early lines Rifor 4 and Rifor 5 have a recessive allele *vrn-A1a*, like the original 'Forlani Roberto' accession. The lines Rifor 4 and Rifor 5 are vernalization-insensitive under the long day and have a very weak response under the short day (3.5±0.42 days and 4.0±0.61 days, respectively). However, 'Forlani Roberto' with the *vrn-A1a* gene responds to vernalization in the same way under any photoperiod (12.3±1.58 days and 12.2±0.74 days). **Conclusion** The ultra-early lines of bread wheat Rifor 4 and Rifor 5 with the *vrn-A1a* gene can have no response to vernalization or have a low level response. This effect can be a reason for the formation of a complex of modifier genes along with the dominant gene *Vrn-D1*, which forms during the hybridization of F₇₋₈ Rico × Forlani Roberto. The ultra-early lines of bread wheat Rico, Rimax and Rifor (k-67120, k-67121, k-67250-67256) can serve as effective sources of genes for earliness in common wheat breeding.

Key words: Spring bread wheat, ultra-earliness, Rifor lines, vernalization response, photoperiod, *Vrn* and *Ppd* gene alleles, PCR analysis, breeding

For citation:

Rigin B.V., Zuev E.V., Matvienko I.I., Andreeva A.S. Molecular labeling of *Vrn*, *Ppd* genes and vernalization response of the ultra-early lines of spring bread wheat *Triticum aestivum* L. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(3):26-36. (In Russ.).

DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-o2

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-o2> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Rigin B.V. <https://orcid.org/0000-0001-9848-5795>

Zuev E.V. <https://orcid.org/0000-0001-9259-4384>

Matvienko I.I. <https://orcid.org/0000-0001-8233-5047>

Andreeva A.S. <https://orcid.org/0000-0002-6754-2897>

УДК 633.11:581.132.2

Поступила в редакцию: 22.11.2021

Принята к публикации: 13.12.2021

Acknowledgments: The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Thematic Plan of VIR, Project No. 0662-2019-0006 "Search for, Viability Maintenance and Disclosure of the Potential of Hereditary Variation in the VIR Global Collection of Cereal and Groat Crops for the Development of an Optimized Genebank and its Sustainable Utilization in Plant Breeding and Crop Production".

Введение

Пшеницу возделывают в различных районах благодаря ее способности адаптироваться к разнообразным почвенным и климатическим условиям (Flaksberger, 1935; Razumov, 1961; Kamran et al., 2014). Наследственный потенциал мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. не однороден по реакции на яровизацию и разный фотопериод. Эти реакции относятся к основным механизмам процесса онтогенеза пшеницы (Skrupchinsky, 1975).

Заслуживает внимания группа ультраскороспелых яровых образцов мягкой пшеницы, у которых период посев–колошение проходит достаточно быстро и в условиях Северо-Запада России равен или меньше 51 суток. Районированный в этом регионе сорт ‘Ленинградская 6’ относится к среднеспелым формам. Согласно ранее проведенным исследованиям (Koshkin, 2012), ультраскороспелые образцы яровой пшеницы обнаружены преимущественно среди сортимента субтропических и тропических стран Средиземноморского региона, районов Азии, Центральной и Южной Америки. Образцы яровой мягкой пшеницы с высокой скоростью развития встречаются среди сортимента Канады, США, а также на северо-западе Европейской части России и восточных районов Сибири. Схожие формы, являющиеся результатом рекомбинационных процессов и целенаправленного отбора в процессе селекции, обнаружены среди пшениц и в других районах.

В целом, образцы с высокой скоростью развития могут быть источником желательных генов в селекции на скороспелость. Поэтому их всестороннее изучение важно, как для познания биологии развития растений злаков, так и для интенсификации селекционного процесса.

В отделе генетики ВИР создан ряд ультраскороспелых линий мягкой пшеницы. Так, среди межсортных гибридов яровой мягкой пшеницы выделена линия Рико (к-65588), в родословной которой имеется образец ‘СКФ’ (к-67258) и изогенная линия АНК-17В (к-60314) сорта ‘Новосибирская 67’. Ультраскороспелые линии СКФ и АНК-17В созданы соответственно Р.М. Карамышевым (Karamyshev, 1984) и С.Ф. Ковалем (Koval, 1997). Существенная особенность линии Рико состоит в том, что она, согласно исследованиям Е.В. Зуева, по скорости развития от посева до колошения превосходит другие образцы яровой мягкой пшеницы коллекции генетических ресурсов растений ВИР. На основании данных за 16 лет, период от посева до колошения Рико в условиях Северо-Запада России был равен $39,9 \pm 1,49$ дней, или короче на $14,8 \pm 1,22$ (в отдельные годы на 13 – 19) дней, чем у районированного сорта пшеницы ‘Ленинградская 6’ (Rigin et al., 2019).

Путем отбора среди гибридов Рико \times Мах (к-57181, Германия) выделена константная линия Римакс (к-67257), которая по темпам развития, как и линия Рико, относится к ультраскороспелым формам. Линии незначительно различаются по периоду посев – колошение, по реакции

на яровизирующие температуры и разный фотопериод (Rigin et al., 2021).

Среди гибридов Рико \times Forlani Roberto (к-42641, Сан-Марино) проведен отбор фенотипов по признаку «высокая скорость развития до колошения» с одновременным учетом элементов продуктивности. Выделены ультраскороспелые линии Рифор, практически не уступающие Рико по этому признаку. Быстрое развитие таких ультраскороспелых растений отмечено при испытании в различных экологических условиях, и не обнаружено смены рангов по этому признаку в отношении других образцов и гибридов яровой мягкой пшеницы. Возможно, такие темпы развития Рико и подобных этой линии форм характеризуют предел скорости развития растений мягкой пшеницы в период до колошения.

Ультраскороспелые линии не принадлежат к продуктивным представителям мягкой пшеницы, но могут быть интересны для селекции как источники эффективных генов скороспелости.

Скорость развития ультраскороспелых представителей *T. aestivum* находится под контролем генов *Vrn*, определяющих реакцию растений на яровизацию и тип развития, генов *Ppd*, контролирующих отзывчивость на фотопериод, а также факторов собственно скороспелости *Eps* (Gotoh, 1979; Laurie et al., 1995; Rigin, 2012; Fernandez-Calleja et al., 2021). Мы предполагаем, что наличие высоких темпов развития ультраскороспелых образцов Рико и Рифор обусловлено во многом экспрессией генов *Eps*, которые влияют на фенологию и, соответственно, на адаптацию растений.

Нечувствительность к длине дня у мягкой пшеницы находится под контролем трёх основных доминантных генов: гены *Ppd -D1* (прежний символ *Ppd 1*) *Ppd -B1* (*Ppd 2*) и *Ppd -A1* (*Ppd 3*) (Pirasteh, Welsh, 1975; Goncharov, 1987). Ген *Ppd -D1* мягкой пшеницы, локализованный в хромосоме 2D, является самым сильным по проявлению и обеспечивает способность растения не реагировать на длину дня при переходе к цветению. Гены *Ppd* оказывают влияние на проявление морфологических признаков и признаков продуктивности растений (Koshkin et al., 1998). Однако, не известны факты сцепления этих генов с генами, контролирующими качественные признаки у пшеницы (Goncharov, 2012).

Реакция мягкой пшеницы на яровизацию (тип развития) обусловлена экспрессией генов *Vrn -A1* (*Vrn 1*), *Vrn -B1* (*Vrn 2*), *Vrn -D1* (*Vrn 3*), *Vrn -D4* (*Vrn 4*) и другие. Основные гены *Vrn -A1*, *Vrn -B1* и *Vrn -D1* локализованы в хромосомах 5A, 5B и 5D, соответственно. Согласно литературным источникам (Pugsley, 1971; Klaimi, Qualset., 1974; Rigin, Pyzhenkova; 2011; Goncharov, 2012), отсутствие реакции на яровизацию может быть обеспечено любым доминантным геном *Vrn* или их сочетанием. При наличии рецессивных аллелей всех генов *Vrn* растение в различной степени реагирует на яровизацию ускорением перехода из вегетативного состояния в генеративное. Согласно Пагсли (Pugsley, 1971), доминантный ген *Vrn 1*

(синоним *Vrn -A1*) является эпистатичным по отношению к другим генам *Vrn*.

Аллели гена *Vrn -D1* могут влиять на проявление агрономических признаков (Tan, Yan, 2016). Процессы яровизации возможны в семенах в незрелом состоянии на материнском растении (Kostyuchenko, Zarubailo, 1935). По силе проявления доминантные гены можно распределить в таком порядке: *Vrn 1* > *Vrn 3* > *Vrn 4* > *Vrn 2* (Goncharov, Rigin, 1989).

Гены *Vrn* и *Ppd* имеют серии аллелей, что способствует возможности изменения продолжительности периода вегетации соответственно экологическим условиям репродукции растений (Bespalova et al., 2010). Отмечен параллелизм между аллельными вариантами генов, обеспечивающими изменчивость времени цветения у наиболее значимых культивируемых видов ячменя и пшеницы (Fernandez-Calleja et al., 2021).

Скорость развития является многофакторным признаком: помимо продуктов перечисленных выше генов, на него оказывают влияние фитогормоны, циркадные ритмы и другие факторы (Kiseleva, Salina, 2018). В ряде экспериментов на пшенице (Potokina et al., 2012; Zaitseva, Lemesh, 2015) и ячмене (Abdullaev et al., 2017) отмечено, что разная скорость развития злаков и некоторые признаки продуктивности могут быть связаны с определенным сочетанием аллелей генов *Vrn* и *Ppd*, но это интересное явление пока не подкреплено генетическими экспериментами.

Выявлены факты разнообразия аллелей генов *Vrn* и *Ppd* у групп сортов пшеницы из разных районов возде-

львания (Kamran et al., 2014; Kiss et al., 2014). В литературе имеется недостаточно информации о генетическом контроле признака «высокая скорость развития» мягкой пшеницы. Выше мы отмечали особое значение такой информации для познания биологии развития злаков и эффективной селекции на скороспелость. Цель нашего исследования – выявить аллельный состав генов *Vrn* и *Ppd* у линий яровой мягкой пшеницы с высокой скоростью развития (ультраскороспелых линий) и определить их реакцию на яровизацию.

Материал и методы

Опыты были проведены в 2016–2020 годах в условиях Северо-Запада России (г. Санкт-Петербург) на научно-производственной базе «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). Исходным материалом явились ультраскороспелые линии яровой мягкой пшеницы Рико, Римакс и 10 линий Рифор (к-67120, к-67121, к-67250-67256). Кроме того, исследовали два сорта: позднеспелый образец ‘Forlani Roberto’ (к-42641, Сан-Марино) и ‘Ленинградская 6’ (к-64900). Последний районирован в Северо-Западном регионе России.

Для идентификации аллелей генов *Vrn -A1a*, *Vrn -B1* и *Vrn -D1*, контролирующих яровой тип развития, и гена *Ppd -D1a*, детерминирующего реакцию на фотопериод, использовали аллель-специфичные праймеры (табл. 1).

Таблица 1. Список использованных праймеров

Table 1. Primers used in the study

Тестируемый аллель гена/ The tested allele of a gene	Аллель-специфичные праймеры, использованные в ПЦР/ Allele specific primers used in PCR	Температура отжига/ Annealing temperature (°C)	Ожидаемый размер ДНК-фрагмента, пн/ Expected size of the DNA fragment, bp	Литературный источник/ Literature source
<i>Ppd-D1a</i>	Ppd1_F ACGCCTCCCACTACACTG Ppd1_R1 GTTGGTTCAAACAGAGAGC Ppd1_R2 CACTGGTGGTAGCTGAGATT	54	288	Beales et al., 2007
<i>ppd-D1b</i>	Ppd1_F ACGCCTCCCACTACACTG Ppd1_R1 GTTGGTTCAAACAGAGAGC Ppd1_R2 CACTGGTGGTAGCTGAGATT	54	414	Beales et al., 2007
<i>Vrn-A1a</i>	VRN1AF GAAAGGAAAAATTCTGCTCG VRN1-1R TGCACCTTCCCCCGCCCCAT	55	715 + 624	Yan et al., 2004

Тестируемый аллель гена/ The tested allele of a gene	Аллель-специфичные праймеры, использованные в ПЦР/ Allele specific primers used in PCR	Температура отжига/ Annealing temperature (°C)	Ожидаемый размер ДНК-фрагмента, пн/ Expected size of the DNA fragment, bp	Литературный источник/ Literature source
<i>vrn-A1</i>	VRN1AF GAAAGGAAAAATTCTGCTCG VRN1-1R TGCACCTTCCCCGCCCCAT	55	484	Yan et al., 2004
<i>Vrn-B1a</i>	Intr1/B/F CAAGTGG AACGGTTAGGACA Intr1/B/R3 CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA	58	709	Fu et al., 2005
<i>Vrn -B1c</i>	Intr1 ATCATCTTCTCCACCAAGGG Intr1/B/R3 CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA	58	700	Shcherban et al., 2012
<i>vrn-B1</i>	Intr1/B/F CAAGTGG AACGGTTAGGACA Intr1/B/R4 CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA	58	1149	Fu et al., 2005
<i>Vrn-D1</i>	Intr1/D/F GTTGCTGCCTCATCAAATCC Intr1/D/R3 GGTCACTGGTGGTCTGTGC	65	1671	Fu et al., 2005
<i>vrn-D1</i>	Intr1/D/F GTTGCTGCCTCATCAAATCC Intr1/D/R4 AAATGAAAAGGAACGAGAGCG	63	997	Fu et al., 2005

В молекулярно-генетический анализ включали по 5 растений каждой исследуемой линии. Геномную ДНК выделяли из 3-х дневных проростков СТАВ-методом (Graner et al., 1991). ПЦР осуществляли в объеме реакционной смеси 20 мкл. В состав смеси входили следующие компоненты: 60 нг ДНК; 1 ×буфер для Taq-полимеразы (Евроген, Россия), содержащий 2,5 mM MgCl₂; 150-500 мкмоль dNTPs; 0,1-0,5 мкмоль каждого из праймеров и 1 е.а. Taq полимеразы (Евроген, Россия). Концентрация dNTPs и праймеров зависела от анализируемого аллеля генов *Vrn -A1a*, *Vrn -B1*, *Vrn -D1* и *Ppd -D1a* (Zlotina et al., 2012). Разделение фрагментов проводили с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем УФ свете с использованием системы гель-документации Gel Doc XR (BioRad, США). Для определения размеров фрагментов использовали маркер молекулярного веса GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder (Thermo Scientific, Россия¹).

Реакция растений на короткий день определена в условиях 18-часового естественного и 12-часового короткого дней по методике ВИР (Koshkin, 2012). Яровизацию проводили путем выращивания растений в течение 30 дней при температуре 3°C. Скорость развития каждого растения оценивали на площадке с регулируемым фото-периодом – от появления первого листа до колошения. Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью Microsoft Excel 2010 по стандартной методике (Zaytsev, 1984). Вычисление средней арифметической для значений по каждому признаку сопровождалось определением их доверительных интервалов, рассчитанных при уровне значимости P, равном 0,05.

Результаты и обсуждение

Среди образцов исследованной нами коллекции ультраскороспелых линий яровой мягкой пшеницы линия Рико, как и ее производная Римакс, имели самый корот-

¹ **От Редактора:** АО «Термо Фишер Сайентифик» поставляет продукцию под брендом Thermo Scientific и является официальным представительством Thermo Fisher Scientific, США в России.

¹ **Editor's note:** Thermo Fisher Scientific JSC delivers products under the Thermo Scientific brand and is the official representative of Thermo Fisher Scientific, USA, in Russia.

кий период от посева до колошения. По сравнению с районированным сортом 'Ленинградская 6', линии Рифо и Римакс в условиях регулируемого фотопериода оказались в среднем скороспелее на 6,3 суток (сут), что принципиально важно для селекции.

Изученные нами представители коллекции ультраскороспелых линий Рифор по скорости развития до колошения не существенно отличаются от Рифо как в услови-

ях длинного, так и короткого дней (табл. 2). Не отмечено существенной разницы в реакции на разный фотопериод между линиями Рифор, образцами сортов 'Ленинградская 6' и 'Forlani Roberto'. Так, период посев – колошение у линии Рифор 1 в условиях короткого дня по сравнению с длинным увеличился на $2,2 \pm 0,31$ сут, у линии Рифор 5 – на $5,8 \pm 1,33$ сут.

Таблица 2. Генотипы линий Рифор и их реакция на яровизацию при разном фотопериоде
Table 2. Genotypes of Rifor lines and their vernalization response at different photoperiods

Номер каталога ВИР/ VIR catalogue number	Линия, сорт/ Line, variety	Фото-период, час/ Photo-period, hour	Период от посева до колошения, сутки/ The period from sowing to earing, days		Реакция на яровизацию, сутки/ Vernalization response, days	Реакция на фотопериод, сутки/ Photoperiod response, days	Генотип/ Genotype
			без яровизации/ without vernalization	с яровизацией/ with vernalization			
67120	Рифор 1/ Rifor 1	18	31,9±0,10	32,8±0,36	0,9±0,37	2,2±0,31	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	34,1±0,30	34,6±0,28	0,5±0,41		
67249	Рифор 2/ Rifor 2	18	35,1±0,39	33,1±0,18	2,0±0,42	1,2±0,53	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	36,3±0,37	35,0±0,29	1,3±0,47		
67250	Рифор 3/ Rifor 3	18	33,0±0,44	31,6±0,27	1,4±0,51	2,8±1,60	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	35,8±0,61	35,2±0,13	0,6±0,62		
67251	Рифор 4/ Rifor 4	18	33,0±0,21	33,5±0,27	0,5±0,72	5,6±0,37	<i>vrn -A1a,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	38,6±0,32	35,1±0,28	3,5±0,42		
67252	Рифор 5/ Rifor 5	18	35,2±0,42	33,9±0,10	1,3±0,43	5,8±1,33	<i>vrn -A1a,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	41,0±1,27	37,0±0,60	4,0±0,61		
67121	Рифор 6/ Rifor 6	18	34,5±0,48	32,5±0,62	2,0±0,78	1,7±1,01	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	36,2±0,89	35,0±0,39	1,2±0,91		
67253	Рифор 7/ Rifor 7	18	31,7±0,21	31,0±0,27	0,7±0,34	2,8±0,33	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	34,5±0,27	33,6±0,16	0,4±0,31		
67254	Рифор 8/ Rifor 8	18	37,7±0,37	35,2±0,44	2,5±0,57	6,2±0,50	<i>Vrn -A1,</i> <i>vrn -B1,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	43,9±0,35	40,4±0,31	3,5±0,46		

Номер каталога ВИР/ VIR catalogue number	Линия, сорт/ Line, variety	Фото-период, час/ Photo-period, hour	Период от посева до колошения, сутки/ The period from sowing to earing, days		Реакция на яровизацию, сутки/ Vernalization response, days	Реакция на фотопериод, сутки/ Photoperiod response, days	Генотип/ Genotype
			без яровизации/ without vernalization	с яровизацией/ with vernalization			
67255	Рифор 9/ Rifor 9	18	31,6±0,31	31,3±0,15	0,3±0,34	3,5±0,35	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	35,1±0,18	34,1±0,23	1,0±0,29		
67256	Рифор 10/ Rifor 10	18	31,6±0,56	30,5±0,17	1,1±0,58	3,9±0,97	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	35,5±0,80	34,1±0,41	1,4±0,89		
65588	Рико/ Riko	18	29,4±0,31	30,7±0,37	1,3±0,48	2,9±0,43	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	32,3±0,30	31,5±0,27	0,8±0,40		
67257	Rimax	18	29,8±0,31	31,7±0,35	1,9±0,48	2,5±0,43	<i>Vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1,</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	32,3±0,30	33,5±0,27	1,2±0,40		
42641	‘Forlani Roberto’	18	56,5±1,56	44,2±0,29	12,3±1,58	2,5±1,66	<i>vrn -A1,</i> <i>Vrn -B1a,</i> <i>Vrn -D1</i> <i>Ppd -D1a</i>
		12	59,0±0,58	46,8±0,48	12,2±0,74		
64900	‘Ленинградская 6’ ‘Leningradskaya 6’	18	36,5 ±0,31	36,3±0,76	0,2±0,81	4,7±0,36	<i>Vrn -A1a,</i> <i>Vrn -B1c,</i> <i>vrn -D1,</i> <i>ppd -D1c</i>

У мягкой пшеницы реакция на предпосевную яровизацию является количественным признаком: отмечается проявление модификационной изменчивости в зависимости от неконтролируемых условий эксперимента и года репродукции (Rigin, 2012). Отмечена очень слабая реакция на яровизацию ультраскороспелых линий Рифор с колебанием в условиях длинного дня от 0,3±0,34 сут. (Рифор 9) до 2,5±0,57 сут. (Рифор 8); при коротком дне – от 0,5±0,41 сут. (Рифор 1) до 4,0±0,61 сут. (Рифор 5). В этих же пределах наблюдалась реакция на яровизацию у образцов Рико, Rimax и у сорта ‘Ленинградская 6’. У образца ‘Forlani Roberto’ реакция на яровизацию была средней, как в условиях длинного (12,3±1,58), так и корот-

кого (12,2±0,74) дней.

У исследованных ультраскороспелых линий Рифор, а также у Рико, Rimax, сортов ‘Forlani Roberto’ и ‘Ленинградская 6’ с помощью молекулярных маркеров нами идентифицированы аллели генов *Vrn -A1*, *Vrn -B1a*, *Vrn -D1*, *Ppd -D1a* (см. табл. 2, рис. 1, 2). Так, линии Рифор 1 – 10 имеют гены *Vrn -A1*, *Vrn -B1a*, *Vrn -D1*, *Ppd -D1a*; линии Рифор 4 и Рифор 5 – *vrn -A1a*, *Vrn -B1a*, *Vrn -D1*, *Ppd -D1a*; линия Рифор 8 – *Vrn -A1*, *vrn -B1*, *Vrn -D1*, *Ppd -D1a4*; образец ‘Forlani Roberto’ – *vrn -A1*, *Vrn -B1a*, *Vrn -D1*, *Ppd -D1a*; сорт ‘Ленинградская 6’ – *Vrn -A1a*, *Vrn -B1c*, *vrn -D1*, *ppd -D1c*.

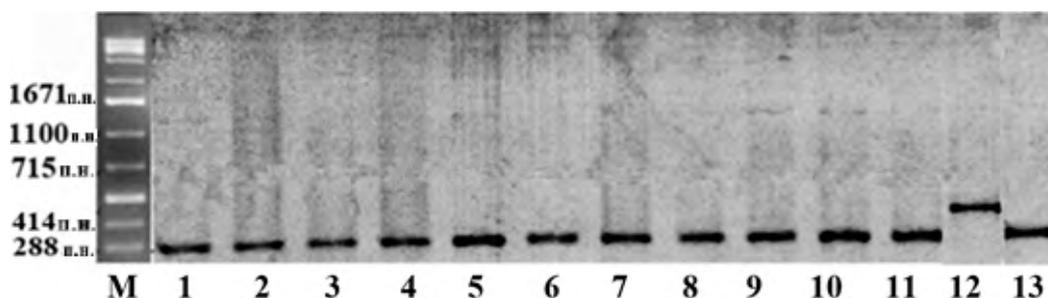


Рис. 1. Продукты амплификации ДНК ультраскороспелых линий Рифор яровой мягкой пшеницы с аллель-специфичными праймерами. Фрагмент 288 пн характерен для доминантного аллеля *Ppd -D1a*, фрагмент 414 пн – для рецессивного аллеля *ppd -D1b*.

1 – Рифор 1; 2 – Рифор 2; 3 – Рифор 3; 4 – Рифор 4; 5 – Рифор 5; 6 – Рифор 6;
7 – Рифор 7; 8 – Рифор 8; 9 – Рифор 9; 10 – Рифор 10; 11 – Рико 11; 12 – сорт
'Ленинградская 6'; 13 – 'Forlani Roberto'; М – Маркер молекулярного веса ДНК

Fig. 1. Amplification of DNA products of the spring bread wheat Rifor ultra early line with allele-specific primers. The 288 bp fragment is characteristic of dominant *Ppd -D1a* allele, the 414 bp fragment is characteristic of recessive *ppd -D1b* allele.

1 – Rifor 1; 2 – Rifor 2; 3 – Rifor 3; 4 – Rifor 4; 5 – Rifor 5; 6 – Rifor 6;
7 – Rifor 7; 8 – Rifor 8; 9 – Rifor 9; 10 – Rifor 10; 11 – Rico 11; 12 – 'Leningradskaya 6';
13 – 'Forlani Roberto'; М – DNA molecular weight marker

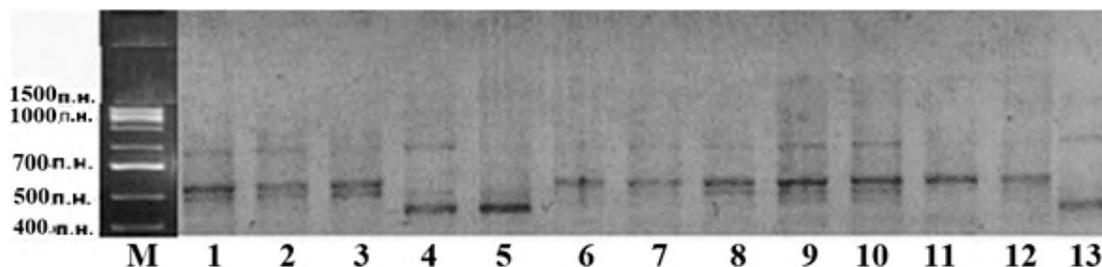


Рис. 2. Продукты амплификации ДНК ультраскороспелых линий Рифор яровой мягкой пшеницы с аллель-специфичными праймерами. Фрагмент 715 пн характерен для доминантного аллеля *Vrn -A1a*, фрагмент 624 пн характерен для рецессивного аллеля *vrn -A1a*

1 – Рифор 1; 2 – Рифор 2; 3 – Рифор 3; 4 – Рифор 4; 5 – Рифор 5; 6 – Рифор 6; 7 – Рифор 7; 8 – Рифор 8;
9 – Рифор 9; 10 – Рифор 10; 11 – Рико 11; 12 – сорт 'Ленинградская 6'; 13 – 'Forlani Roberto';
М – маркер молекулярного веса ДНК

Fig. 2. Electrophoresis of DNA amplification products of the spring bread wheat ultra early line Rifor with allele-specific primers. The 715 bp fragment is characteristic of dominant *Vrn -A1a* allele, the 624 bp fragment is characteristic of the recessive *vrn -A1a* allele

1 – Rifor 1; 2 – Rifor 2; 3 – Rifor 3; 4 – Rifor 4; 5 – Rifor 5; 6 – Rifor 6; 7 – Rifor 7; 8 – Rifor 8; 9 – Rifor 9;
10 – Rifor 10; 11 – Rico 11; 12 – 'Leningradskaya 6'; 13 – 'Forlani Roberto';
М – DNA molecular weight marker

В нашем эксперименте ультраскороспелые линии Рифор 1 – 3, Рифор 6 – 10, Римах и Рико имеют доминантный аллель *Vrn -Ala*, наряду с доминантными аллелями других генов *Vrn*, что способствует почти полному ингибированию реакции этих ультраскороспелых образцов на 30-дневную яровизацию, которая в условиях длинного и короткого дней равна в среднем 1,09 и 3,0 сут, соответственно.

Интересным является следующий факт. Линии Рифор 4 и Рифор 5, так же как вышеперечисленные ультраскороспелые образцы, не реагируют или очень слабо реагируют на яровизацию несмотря на то, что они обладают рецессивным аллелем *vrn -Ala*. Такой же аллель *vrn -Ala* имеет и образец 'Forlani Roberto', который наряду с Рико участвовал в происхождении всех линий Рифор. В отличие от линий Рифор 4 и Рифор 5, растения 'Forlani Roberto' с геном *vrn -Ala* имеют явно выраженную реакцию на предпосевную яровизацию в условиях длинного и короткого дней (соответственно 12,3±1,58 сут. и 12,2±0,74 сут). Подобные результаты получены в трёх независимых экспериментах.

Одним из возможных объяснений может быть активное ингибирование яровизации доминантным аллелем гена *Vrn -DI* в случае отсутствия в генотипе доминантного аллеля *Vrn -Ala*.

Другим объяснением этого явления может быть следующее. Как было отмечено выше, линии Рифор 4 и Рифор 5 отобраны в 6–7-м поколении гибридов ультраскороспелого образца Рико с позднеспелым 'Forlani Roberto'. По ряду морфологических признаков и скорости развития, эти линии практически не различаются. Поэтому возможно, что линии Рифор 4 и Рифор 5 получили от 'Forlani Roberto' один и тот же рецессивный аллель *vrn -Ala*. В процессе рекомбинации у гибридов F_{7-8} Рико × 'Forlani Roberto' сформировался комплекс генов-модификаторов, который наряду с доминантным геном *Vrn -DI*, способен ингибировать отзывчивость на яровизацию линий Рифор 4 и Рифор 5. Этот эффект особенно заметен на фоне длинного дня, когда не наблюдается реакции на этот фактор (0,5±0,72 и 1,3±0,43 сут, соответственно у Рифор 4 и Рифор 5). В условиях короткого дня у Рифор 4 и Рифор 5 отмечена незначительная, но достоверная, реакция на этот температурный фактор: 3,5±0,42 сут и 4,0±0,61 сут, соответственно.

Заключение

Ультраскороспелые линии яровой мягкой пшеницы *T. aestivum* Рифор (к-67120, к-67121, к-67250 -67256) и Римах (к-67257) по скорости развития до колошения несущественно отличаются от самого скороспелого образца Рико (к-65588) в коллекции ВИР как в условиях длинного, так и короткого дней. Эти линии очень слабо реагируют на короткий 12-часовой день и 30-дневную яровизацию. Генотип ультраскороспелых линий яровой мягкой пшеницы в основном представлен тремя генами

Vrn -Al, *Vrn -Bl* и *Vrn -DI*, обеспечивающими нечувствительность к яровизации на фоне экспрессии гена *Ppd -D1a*, контролирующего реакцию на фотопериод.

Генотипы ультраскороспелых линий Рифор 4 и Рифор 5, в отличие от других линий Рифор, имеют рецессивный аллель гена *vrn -Ala*, как и исходный образец 'Forlani Roberto', но линии Рико 4 и Рико 5 нечувствительны к яровизации в условиях длинного дня и имеют очень слабую, но достоверную, реакцию на этот фактор при коротком 12-часовом дне (3,5±0,42 сут и 4,0±0,61 сут, соответственно).

'Forlani Roberto' одинаково реагирует на яровизацию при любом фотопериоде (12,3±1,58 сут и 12,2±0,74 сут). Вполне возможно, отсутствие реакции на яровизацию линий Рифор 4 и Рифор 5 обеспечивает комплекс генов-модификаторов наряду с доминантным геном *Vrn -DI*, который сформировался в процессе рекомбинации у гибридов F_{7-8} Рико × 'Forlani Roberto'. Ультраскороспелые линии мягкой пшеницы Рифор (к-67120, к-67121, к-67250-67256) и Римах (к-67257) могут быть эффективными источниками генов скороспелости в селекции мягкой пшеницы.

Литература/References

- Abdullaev R.A., Alpatieva N.V., Zveinek I.A., Batasheva B.A., Anisimova I.N., Radchenko E.E. Allelic diversity of the *Ppd* and *Vrn* genes involved in control of the duration of shooting-ear stage in Dagestanian Barley accessions. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2017;178(4):56-65. [in Russian] (Абдуллаев Р.А., Алпатьева Н.В., Звейнек И.А., Баташева Б.А., Анисимова И.Н., Радченко Е.Е. Аллельное разнообразие генов *Ppd* и *Vrn*, участвующих в контроле продолжительности стадии стрелбы-колошения у образцов дагестанского ячменя. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2017;178(4):56-65). DOI: 10.30901/2227-8834-2017-4-56-65
- Beales J., Turner A., Griffiths S., Snape J., Laurie D. A pseudo response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115(5):721-733. DOI: 10.1007/s00122-007-0603-4
- Bespalova L.A., Koshkin V.A., Potokina E.K., Matvienko I.I., Mitrofanova O.P., Gusenkova E.A., Filobok V.A. Photoperiodic sensitivity and molecular labeling of *Ppd* and *Vrn* genes in connection with the selection of alternative lifestyle wheat varieties. *Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 2010;6:3-6. [in Russian] (Беспалова Л.А., Кошкин В.А., Потокина Е.К., Матвиенко И.И., Митрофанова О.П., Гусenkova Е.А., Филобок В.А. Фотопериодическая чувствительность и молекулярное маркирование генов *Ppd* и *Vrn* в связи с селекцией сортов пшеницы альтернативного образа жизни. *Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук*. 2010;6:3-6).
- Fernandez-Calleja M., Casas Ana M., Igartua E. Major flowering time genes of barley: allelic diversity, effects, and comparison with wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2021;134:1867-897. DOI: 10.1007/s00122-021-03824-z
- Flaksberger K.A. Wheat – genus *Triticum* L. In: *Flora of cultivated plants. Vol. 1. Cereals – wheat*. Moscow; Leningrad: State Agricultural Publishing Company; 1935. p.19-434. [in Russian] (Фляксбергер К.А. Пшеницы – род *Triticum* L. В кн.: *Культурная флора СССР. Т. 1. Хлебные злаки – пшеница*. Москва; Ленинград: Сельхозгиз; 1935. С.19-434).
- Fu D., Szucs P., Yan L., Helguera M., Skinner J.S., von Zitzewitz J. et al. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Molecular Genetics*

- and Genomics. 2005;273(1):54-65. DOI: 10.1007/s00438-004-1095-4
- Goncharov N.P. Genetic control of photoperiodic sensitivity in soft wheat. *Research Bulletin of the N.I. Vavilov Institute of Plant Industry*. 1987;174:7-11. [in Russian] (Гончаров Н.П. Генетический контроль фотопериодической чувствительности у мягкой пшеницы. *Научно-технический бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института растениеводства им. Н.И. Вавилова*. 1987;174:7-11).
- Goncharov N.P. Comparative genetics of wheats and their related species. 2nd ed. Novosibirsk: Academic Publishing House "GEO"; 2012. [in Russian] (Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. 2-е изд. Новосибирск: Академическое издание «Гео»; 2012).
- Goncharov N.P., Rigin B.V. On the number of dominant *Vrn* genes that determine the spring type of development. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1989;128:71-74. [in Russian] (Гончаров Н.П., Ригин Б.В. К вопросу о числе доминантных генов *Vrn*, определяющих яровой тип развития. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1989;128:71-74).
- Gotoh T. Genetic Studies on Growth Habit of some Important Spring Wheat Cultivars in Japan, with Special Reference to the Identification of the Spring Genes Involved. *Japanese Journal of Breeding*. 1979;29(2):133-145. DOI: 10.1270/jsbbs1951.29.133
- Graner A., Jahoor A., Schondelmaier J., Siedler H., Pillen K., Fischbeck G. et al. Construction of an RFLP map of barley. *Theoretical and Applied Genetics*. 1991;83(2):250-256. DOI: 10.1007/BF00226259
- Kamran A, Iqbal M, Spaner D. Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability. *Euphytica*. 2014;197:1-26. DOI: 10.12983/ijrsras-2014-p0016-0022
- Karamyshev R.M. Inheritance in F₁ and F₂ of emergence-earling period when crossing ultra early spring soft wheat varieties differing in geographical provenance: (short messages). *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1984;85:97-98. [in Russian] (Карамышев Р.М. Наследование периода от всходов до колошения в F₁ и F₂ при скрещивании ультраскороспелых сортов яровой мягкой пшеницы разного географического происхождения (краткие сообщения). *Сборник научных трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1984;85:97-98).
- Kiseleva A.A., Salina E.A. Genetic regulation of common wheat heading time. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(4):375-388. DOI: 10.1134/S1022795418030067
- Kiss T., Balla K., Veisz O., Lang L., Bedo Z., Griffiths S., Isaac P., Karsai I. Allele frequencies in the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *VRN-D1* vernalization response and *PPD-B1* and *PPD-D1* photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*. 2014;34:297-310. DOI: 10.1007/s11032-014-0034-2
- Klaimi Y.Y., Qalset C.O. Genetics of heading time in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. The inheritance of vernalization response. *Genetics*. 1974;76(1):119-133.
- Koshkin V.A. Methodological approaches of diagnosis of photoperiodic sensitivity and earliness of plants. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;170:118-129. [in Russian] (Кошкин В.А. Методические подходы в диагностике фотопериодической чувствительности и скороспелости растений. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;170:118-129).
- Koshkin V.A., Merezhko A.F., Matvienko I.I. Influence of photoperiod and *Ppd* genes on morphophysiological traits of homozygous wheat lines with different photoperiodic sensitivity. *Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 1998;4:8-10. [in Russian] (Кошкин В.А., Мережко А.Ф., Матвиенко И.И. Влияние фотопериода и генов *Ppd* на морфофизиологические признаки гомозиготных линий пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью. *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук*. 1998;4:8-10).
- Kostyuchenko I.A., Zarubailo T.Ya. Natural vernalization of grain on a plant during ripening (Estesennaya yarovizatsiya zerna na rastenii v period sozrevaniya). *Seleksiya i Semenovodstvo = Selection and Seed Production*. 1935;3(11):39-42. [in Russian] (Костюченко И.А., Зарубайло Т.Я. Естественная яровизация зерна на растении в период созревания. *Селекция и семеноводство*. 1935;3(11):39-42.)
- Koval S.F. The catalog of near-isogenic lines of Novosibirskaya-67 common wheat and principles of their use in experiment. *Russian Journal of Genetics*. 1997;33(8):995-1000. [in Russian] (Коваль С.Ф. Каталог изогенных линий сорта мягкой пшеницы Новосибирская 67 и принципы их использования в эксперименте. *Генетика*. 1997;33(8):1168-1173).
- Laurie D.A., Pratchett N., Snape J.W., Bezant J.H. RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter × spring barley (*Hordeum vulgare* L.) cross. *Genome*. 1995;38:575-585. DOI: 10.1139/g95-074
- Pirasteh B., Welsh J.R. Monosomic analysis of photoperiod response in wheat. *Crop Science*. 1975;15(4):503-505.
- Potokina E.K., Koshkin V.A., Alekseeva E.A., Matvienko I.I., Filobok V.A., Bespalova L.A. The combination of the *Ppd* and *Vrn* gene alleles determines the heading date in common wheat varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;2(4):311-318. DOI: 10.1134/S2079059712040089
- Pugsley A.T. A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1971;22:21-23.
- Razumov V.I. Environment and development of plants (Sreda i razvitiye rastenii). 2nd ed. Moscow; Leningrad: Selkhozizdat; 1961. [in Russian] (Разумов В.И. Среда и развитие растений. 2-е изд. Москва; Ленинград: Сельхозиздат; 1961).
- Rigin B.V. Spring type of common wheat (*Triticum aestivum* L.) development: phenological and genetical aspects. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;170:17-33. [in Russian] (Ригин Б.В. Яровой тип развития мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): фенологический и генетический аспекты. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;170:17-33).
- Rigin B.V., Pyzhenkova Z.S. The genes controlling vernalization response and earliness *per se* in ultra-early forms of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2011;168:39-49. [in Russian] (Ригин Б.В., Пыженкова З.С. Гены, контролирующие реакцию на яровизацию и скороспелость *per se* ультраскороспелых форм яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2011;168:39-49).
- Rigin B.V., Zuev E.V., Andreeva A.S., Matvienko I.I., Pyzhenkova Z.S. Comparative analysis of the inheritance of a high development rate in the Rimax and Rico lines of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021;182(2):1-8. [in Russian] (Ригин Б.В., Зуев Е.В., Андреева А.С., Матвиенко И.И., Пыженкова З.С. Сравнительный анализ наследования высокой скорости развития линий Римакс и Рико яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2021;182(2):1-8). DOI: 10.30901/2227-8834-2021-2-81-88.
- Rigin B.V., Zuev E.V., Andreeva A.S., Pyzhenkova Z.S., Matvienko I.I. The line Rico is the earliest maturing accession in the VIR collection of spring bread wheat. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(4):94-98. [in Russian] (Ригин Б.В., Зуев Е.В., Андреева А.С., Пыженкова З.С., Матвиенко И.И. Линия Рико – самая скороспелая среди представителей коллекции яровой мягкой пшеницы ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):94-98). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-94-98.
- Shcherban A.B., Efremova T.T., Salina E.A. Identification of a new *Vrn-B1* allele using two near-isogenic wheat lines with difference in heading time. *Molecular Breeding*. 2012;29(3):675-685. DOI: 10.1007/s11032-011-9581-y
- Skripchinsky V.V. Photoperiodism - its origin and evolution (Fotoperiodizm - ego proiskhozhdenie i evolyutsiya). Leningrad: Nauka; 1975. [in Russian] (Скрипчинский В.В. Фотопериодизм - его происхождение и эволюция. Ленинград: Наука; 1975).
- Tan C., Yan L. Duplicated, deleted and translocated *VRN2* genes in hexaploid wheat. *Euphytica*. 2016; 208:277-284. DOI: 10.1007/s10681-015-1589-7
- Yan L.D., Helguera M., Kato K., Fukuyama S., Sherman J., Dubcovsky J. Allelic variation at the *VRN1* promoter region in polyploid

wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109(8):1677-1686. DOI: 10.1007/s00122-004-1796-4
Zaitsev G.N. Mathematical statistics in experimental botany (Matemat-

icheskaya statistika v eksperimentalnoy botanike). Moscow: Nauka; 1984. [in Russian] (Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. Москва: Наука; 1984).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ АЛЛЕЛЯ *mlo11(cnv2)* УСТОЙЧИВОСТИ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ СРЕДИ ЯЧМЕНЕЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Абдуллаев Р. А., Алпатьева Н. В.*, Лебедева Т. В., Ковалева О. Н., Радченко Е. Е., Анисимова И. Н.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;

* ✉ alpatievanatalia@mail.ru

Актуальность. Поиск генотипов ячменя *Hordeum vulgare* L., носителей эффективных генов устойчивости к возбудителю мучнистой росы *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, актуален для российской селекции. Аллель *mlo11*, обеспечивающий длительную защиту ячменя от патогена, редко встречается среди допущенных к выращиванию на территории России сортов. Информация о встречаемости среди российских сортов другого эффективного аллеля – *mlo11(cnv2)* – нет, поэтому поиск его источников актуален. **Материал и методы.** В полевых и лабораторных условиях, изучили устойчивость 7 образцов ячменя из Эфиопии и 7 – из Японии к северо-западной популяции возбудителя мучнистой росы. Для идентификации аллелей гена *Mlo* были определены нуклеотидные последовательности фрагментов *MITE* (миниатюрного инвертированного мобильного элемента *Stowaway*-типа) и прилегающего промоторного участка. **Результаты.** С помощью фитопатологических тестов в поле и условиях теплицы, а также молекулярных маркеров, были исследованы 14 образцов ячменя из Эфиопии и Японии, по предварительной оценке, устойчивых к мучнистой росе. У четырех образцов из Эфиопии к-20087, к-20523, к-20524 и к-28126 впервые идентифицировали высокоэффективный аллель устойчивости ячменя к мучнистой росе *mlo11(cnv2)*. В полевых условиях взрослые растения оказались устойчивыми, а в теплице поражались мучнистой росой умеренно (1-2 балла). Симптомы болезни оказались схожими с описанными для образца Eth295 – носителя вариантного аллеля *mlo11(cnv2)*: единичные пустулы и отсутствие некротических пятен на листьях. С помощью ПЦР у всех 14 образцов были амплифицированы фрагменты *MITE* и участка прилегающего к *Mlo* 5' промоторной последовательности. Фрагменты были клонированы и секвенированы и только у образцов к-20087, к-20523, к-20524 и к-28126 в нуклеотидных последовательностях были обнаружены маркерные SNP для аллеля *mlo11(cnv2)*: замены цитозина на тимин в позициях 262 транспозона и 452 в промоторной области. Образцы относятся к различным разновидностям и отличаются друг от друга по ряду других морфологических признаков, то есть не являются дублетами. **Заключение.** Генотипы, отобранные в ходе исследования, могут служить источниками аллеля *mlo11(cnv2)* при создании устойчивых к мучнистой росе сортов ячменя.

Ключевые слова: ячмень, *Blumeria graminis*, устойчивость, молекулярные маркеры, мутантный аллель

Для цитирования:

Абдуллаев Р.А., Алпатьева Н.В., Лебедева Т.В., Ковалева О.Н., Радченко Е.Е., Анисимова И.Н. Идентификация носителей аллеля *mlo11(cnv2)* устойчивости к мучнистой росе среди ячменей коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(3):37-44. DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-03

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Дополнительная информация.** Полные данные этой статьи доступны <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-03> **Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы. Все авторы одобрили рукопись. Конфликт интересов отсутствует.**

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект № 21-76-00018, <https://rscf.ru/project/21-76-00018/>).

IDENTIFICATION OF BARLEY ACCESSIONS FROM THE VIR COLLECTION CARRYING THE *mlo11(cnv2)* POWDERY MILDEW RESISTANCE ALLELE

Abdullaev R. A., Alpatieva N. V.*, Lebedeva T. V., Kovaleva O. N., Radchenko E. E., Anisimova I. N.

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;

* ✉ alpatievanatalia@mail.ru

Background. The search for barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes that carry effective genes for resistance to powdery mildew agent *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* is a present-day issue for Russian plant breeding. The *mlo11* allele that confers long-term protection of barley against the pathogen is rarely found among the varieties, approved for cultivation in the territory of Russia. There is no information on the occurrence among Russian varieties of another effective allele, *mlo11 (cnv2)*, therefore, the search for its source is a current necessity.

Materials and methods. Seven barley accessions from Ethiopia and 7 accessions from Japan have been tested for resistance to the northwestern population of the powdery mildew agent in the field and in laboratory conditions. To identify of the *Mlo* gene alleles, nucleotide sequences of the *Stowaway-MITE* (Miniature Inverted-repeat Transposable Elements) and the adjacent promoter fragments were determined.

Results. Phytopathological tests in the field and greenhouse conditions, as well as molecular markers were used to study 14 barley accessions from Ethiopia and Japan. According to the preliminary tests, plants were resistant to powdery mildew. The highly effective allele of powdery mildew resistance *mlo11 (cnv2)* was for the first time identified in four barley accessions from Ethiopia, k-20087, k-20523, k-20524 and k-28126. Under field conditions, adult plants were resistant, and in the greenhouse they were moderately damaged by powdery mildew (1-2 points). The disease symptoms were similar to those described for the sample Eth295, a carrier of the *mlo11(cnv2)* allele variant: single pustules and the absence of necrotic spots on the leaves. The fragments of *Stowaway-MITE* and adjacent *Mlo* 5' promoter sequences were amplified in all 14 accessions. The amplicons were cloned and sequenced. The unique marker SNPs within the *MITE* and *Mlo* 5' promoter sequences, i.e. the substitutions of cytosine by thymine in positions 262 and 452, were found only in k-20087, k-20523, k-20524 and k-28126. These accessions belong to different botanical varieties and differ from each other in a number of morphological features, i.e. they are not duplicates. **Conclusions.** The genotypes selected as a result of the study can serve as a source of the *mlo11(cnv2)* allele in breeding powdery mildew-resistant barley varieties.

Key words: barley, *Blumeria graminis*, resistance, molecular markers, mutant allele

For citation:

Abdullaev R.A., Alpatieva N.V., Lebedeva T.V., Kovaleva O.N., Radchenko E. E., Anisimova I.N. Identification of barley accessions from the VIR collection carrying the *mlo11(cnv2)* powdery mildew resistance allele. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(3):37-44. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-3-o3

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. Additional information.

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2021-3-o3> **The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer. All authors approved the manuscript. No conflict of interest.**

ORCID ID:

Abdullaev R.A. <https://orcid.org/0000-0003-1021-7951>

Alpatieva N.V. <https://orcid.org/0000-0002-5531-2728>

Lebedeva T.V. <https://orcid.org/0000-0003-2344-9233>

Kovaleva O.N. <https://orcid.org/0000-0002-3990-6526>

Radchenko E.E. <https://orcid.org/0000-0002-3019-0306>

Anisimova I.N. <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

УДК 633.16:632.4:575.167

Поступила в редакцию: 29.11.2021

Принята к публикации: 14.12.2021

Acknowledgments: The study was carried out with financial support from the Russian Science Foundation (Project #21-76-00018, <https://rscf.ru/project/21-76-00018/>).

Введение

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) – ценная зерновая культура, занимающая четвертое место в мире по посевным площадям. Благодаря хорошей приспособленности к неблагоприятным почвенным и климатическим условиям, ячмень является единственной зерновой культурой, которая может давать удовлетворительные урожаи при низких затратах в стрессовых условиях, таких как засуха, жара и холод. В то же время, распространение на посевах грибных болезней может приводить к значительным потерям урожая. В этой связи устойчивость к вредным биотическим факторам среды имеет решающее значение для успешного культивирования и получения стабильно высоких урожаев ячменя в условиях России.

Большим разнообразием по многим ценным биологическим и агрономическим признакам характеризуются образцы ячменя из центров происхождения и доместикации сельскохозяйственных культур. По Н.И. Вавилову, основными генцентрами разнообразия культурных ячменей являются Восточноазиатский и Эфиопский (Абиссинский). В Восточной Азии сосредоточилось большое количество голозерных, фуркатных, безостых и короткоостых форм, тогда как образцы из Эфиопии характеризуются преимущественно пленчатым зерном и остистым колосом (Vavilov, 1987). Генетический потенциал изменчивости местных форм ячменя из центров формообразования культуры по адаптивно ценным аллелям, необходимым для селекции урожайных и экологически пластичных сортов, изучен недостаточно (Takahashi, 1955; Radchenko et al., 2004; Dawson et al., 2015; Surin et al., 2016). В наших исследованиях было показано, что 925 образцов ячменя из Эфиопии, сохраняемые в коллекции генетических ресурсов ВИР, различались по уровню устойчивости к *B. graminis*. (Abdullaev et al., 2019), а 200 образцов из Японии в полевых условиях также оказались неоднородными по устойчивости к патогену (неопубликованные данные).

Ежегодно на посевах ячменя по всему миру наблюдается массовое распространение многих грибных болезней. Одно из наиболее распространенных заболеваний – мучнистая роса, возбудителем которого является *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal. Гриб поражает практически все надземные части растения, преимущественно стебель и листья. Снижение урожайности ячменя, вызванное этим облигатным паразитом, может достигать 30-50% (Gong et al., 2013; Tratwal, Vocianowski, 2014). Известно более 100 генов, обуславливающих устойчивость ячменя к мучнистой росе, многие из которых являются аллельными вариантами генов *Mla* и *Mlo*. В литературе описаны 39 аллелей гена *Mla*, локализованных на хромосоме 1Н, и 44 – *Mlo* (хромосома 4Н) (Jørgensen, 1994; Seeholzer, 2009; Reinstädler et al., 2010; Kusch, Panstruga, 2017). Боль-

шая часть идентифицированных генов уже утратила эффективность против популяций *B. graminis*. Длительную устойчивость ячменя к патогену определяет единственный эффективный ген – *mlol1*, получивший широкое распространение среди европейских сортов (Dreiseitl, 2017).

Спонтанная мутация *mlol1* была обнаружена у одного из местных образцов, собранных в Эфиопии в 1930 году. Эффект аллеля *mlol1* проявляется в быстром утолщении клеточных стенок путем аппозиции и в некрозе, которые коррелируют с устойчивостью клеток эпидермиса. Гаплотип *mlol1* устойчивых форм характеризуется наличием сложного tandemного повтора из 11–12 повторяющихся единиц, расположенных перед последовательностью аллеля *Mlo* дикого типа, контролирующего кальмодулин-связывающий белок (Piffanelli et al., 2004). Повторяющийся мотив представляет собой «усеченный» ген *Mlo* и включает участок 5'-регуляторной последовательности длиной 3,5 тысяч пн, а также фрагмент в 1,1 тысячи пн кодирующего района, содержащий последовательности первых пяти экзонов. Аберрантные транскрипты этой последовательности нарушают накопление транскриптов *Mlo* и белка дикого типа, что, по-видимому, и обуславливает устойчивость (Piffanelli et al., 2004).

Недавно, у образца Eth295 местного ячменя *H. vulgare deficiens* var. *nudideficians* (Korn.) H.V. Harlan из Эфиопии, сохраняющегося в Институте генетики и исследований сельскохозяйственных культур (Гатерслебен, Германия), выявлен еще один вариант аллеля *mlol1*, характеризующийся изменением числа повторов – *mlol1(cnv2)* (Ge et al., 2016; 2020). Мутация *mlol1(cnv2)* обуславливает частичную устойчивость проростков и высокую – взрослых растений. Мутация не имеет негативных плейотропных эффектов, связанных с аппозицией клеточной стенки или некрозом, а также утратой фотосинтетической активности. Аллельный вариант *mlol1(cnv2)*, по-видимому, возник путем естественного отбора из предкового варианта *mlol1* в результате рекомбинации между повторяющимися элементами и 3'-концом смежного района, содержащего *Stowaway*-подобный транспозон (Ge et al., 2016).

Маркерными признаками аллеля *mlol1(cnv2)* являются транзиции цитозина на тимин в позициях 262 в последовательности *MITE* (Miniature Inverted-repeat Transposable Element) и 452 в расположенной рядом промоторной последовательности (Ge et al., 2016).

Ранее в наших исследованиях были изучены 248 сортов ячменя (168 – отечественные, 80 – зарубежные сорта), включенных в Государственный реестр селекционных достижений и допущенных к использованию на территории России. Среди 168 изученных нами сортов отечественной селекции лишь четыре образца характеризовались умеренной устойчивостью к патогену, а носители аллеля *mlol1* среди этих сортов не были выявлены. Аллель *mlol1* был обнаружен у 14 различавшихся по уровню устойчивости европейских сортов ячменя, допущенных к выращиванию на территории России

(Abdullaev et al., 2020).

Поиск генотипов ячменя, характеризующихся устойчивостью к мучнистой росе, является актуальной задачей. Цель настоящей работы – выявление носителей аллеля *mlol1(cnv2)* среди ранее не изученного по данному признаку материала из коллекции ВИР, который может быть перспективен для расширения потенциала изменчивости ячменя по устойчивости к *B. graminis*.

Материал и методы

Материалом для исследования служили 14 образцов ячменя из Восточноазиатского (Япония) и Эфиопского центров происхождения и доместикации сельскохозяйственных культур, охарактеризованные нами в полевых экспериментах 2018-2020 годов как устойчивые к мучнистой росе (табл. 1). В качестве отрицательного и положительного контролей устойчивости использовали сорт ярового ячменя ‘Белогорский’ (носитель аллеля дикого типа *Mlo*) и почти изогенную линию к-30225 (носитель *mlol1*) соответственно.

Устойчивость к *B. graminis* оценивали (рис. 2) на искусственном (теплица) и естественном (поле) инфекционных фонах (см. рис. 2а, б). В теплице эксперимент проводили при 12-часовом фотопериоде и температуре 18°C. По 20 зерен изучаемых образцов высевали в металлические кюветы с почвой. На стадии второго листа растения заражали путем стряхивания на них конидий гриба с сильно пораженных мучнистой росой растений. Инокулятом служила популяция гриба, собранная с восприимчивых растений ячменя на опытном поле научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (ППЛ ВИР, Санкт-Петербург). При оценке устойчивости растений в теплице использовали шкалу от 0 (высокоустойчивый) до 4 (Mains, Dietz, 1930). Устойчивость к болезни в полевых условиях оценивали в период колошения и в фазу молочной спелости зерна с помощью шкалы от 1 (очень низкая устойчивость) до 9 (Loskutov et al., 2012). Для идентификации альтернативного аллеля *mlol1(cnv2)* мы отобрали линии из выделенных по устойчивости образцов ячменя.

ДНК выделяли индивидуально из 5-ти дневных проростков каждого образца в трех повторностях, с помощью SDS-буфера по методике Дорохова и Клоке (Dorokhov, Kloke, 1997) с нашими модификациями (Anisimova et al., 2018).

С помощью праймеров CAPSMite 5'-TCAAACTCGGAATGCCACG-3'(F) и 5'-CTTGAATGATCTAGCCAAAAACG-3'(R) (Ge et al., 2020, Supplement table 3) амплифицировали фрагмент 316-320 пн, содержащий участки *MITE* и прилегающей *Mlo* 5' промоторной последовательности (Ge et al., 2020). Для идентификации аллелей гена *Mlo* определяли нуклеотидные последовательности полученных ампликонов. Амплифицированные фрагменты клонировали. Подробно методика описана в методических указаниях ВИР (Alpatieva et al., 2019). Секвенирование двух клонов каждого образца проводили на базе ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ на приборе ABI 3500xl (Applied Biosystems, USA).

Результаты и обсуждение

В результате полевой оценки 925 образцов ячменя из Эфиопии и 200 – из Японии были отобраны 14 устойчивых образцов с симптомами поражения мучнистой росой, близкими к описываемым для носителей аллеля *mlol1(cnv2)*: единичные пустулы и отсутствие некротических пятен на листьях. Выделившийся материал тестировали в условиях теплицы и в поле в 2021 г. Степень поражения этих образцов в контролируемых условиях варьировала от 0 до 2 баллов (см. табл. 1). Проявление болезни на растениях изученных форм различалось: образцы к-19975, к-20087, к-20523, к-20524, к-28126, к-20864 и к-26590 из Эфиопии, а также к-10931, к-10934, к-19501, к-20272, и к-21397 из Японии поражались мучнистой росой умеренно (1-2 балла), симптомы болезни оказались схожими с описанными для образца Eth295 – носителя альтернативного аллеля *mlol1(cnv2)* (Ge et al., 2016). Образцы к-11608 и к-17545 из Японии не поражались северо-западной популяцией *B. graminis*.

Таблица 1. Устойчивость образцов ячменя к *B. graminis* в теплице и в полевых условиях и данные молекулярного анализа

Table 1. Resistance of barley accessions to *B. graminis* in the greenhouse and under field conditions, and the molecular analysis data

Номер по каталогу ВИР/VIR catalogue number (к-)	Образец/ accession	Разновидность/ variety	Происхождение/ origin	Устойчивость, балл/ resistance score, points		Наличие аллеля/ Presence of allele <i>mlo11(cnv2)</i>
				теплица/ greenhouse	поле/ field	
19975	Линия ANOR 1635/66	<i>deficiens, pallidum</i>	Ethiopia	2	7	-
20087	Линия ANOR 1501/65	<i>nigripallidum</i>	Ethiopia	2	9	+
20523	Dzor-258	<i>pallidum</i>	Ethiopia	2	7	+
20524	Dzor-265	<i>steudelii</i>	Ethiopia	2	7	+
28126	Addis Ababa 14 E536 3076	<i>contractum</i>	Ethiopia	2	7	+
20864	Местный	<i>nutans</i>	Ethiopia	1	7	-
26590	Местный	<i>duplinigrum</i>	Ethiopia	1	7	-
10931	Wase golden	<i>nutans</i>	Japan	1	7	-
10934	Hokudai N1(Niigata-ken)	<i>erectum, nutans</i>	Japan	2	7	-
11608	Местный	<i>nutans, nigricans</i>	Japan	0	7	-
17545	Яп.456	<i>erectum</i>	Japan	0	7	-
19501	Япан 424	<i>pallidum</i>	Japan	1	7	-
20272	Коа	<i>erectum</i>	Japan	1	7	-
21397	Heiwahadaka	<i>brevisetum</i>	Japan	2	7	-
30225 (устойчивый контроль, носитель аллеля <i>mlo11</i>)				0	9	-
сорт 'Белогорский' (восприимчивый контроль)				4	1	-

*Устойчивость образцов ячменя к *B. graminis* выражена в баллах по шкалам E.V Mains, S.M. Dietz (1930) для проростков (теплица) и И.Г. Лоскутова с соавторами (Loskutov et al., 2012) для взрослых растений (поле).

Для идентификации аллелей гена *Mlo* в исследуемом пуле образцов амплифицировали и секвенировали ампликон, включающий частично фрагменты миниатюрного инвертированного мобильного элемента (*MITE*) и рядом расположенного промотора, предшествующих гену *Mlo*. Полиморфизм этого фрагмента был использован для разработки маркеров аллелей *Mlo*: *Mlo* дикого типа, *mlo11* и *mlo11(cnv2)* (Piffanelli et al. 2004; Ge et al., 2020). Вариант *Mlo* дикого типа был найден у образцов к-19975 и к-20864 из Эфиопии и к-17545 из Японии (рис. 1), амплифицированные последовательности которых оказались полностью идентичны последовательностям сорта 'Baudin' (GenBank: KT873801.1).

Устойчивость этих генотипов к мучнистой росе определяется, вероятно, другими генами, отличными от *Mlo*. Новый аллельный вариант был найден у образцов к-26590 из Эфиопии и к-21397 из Японии. У этих образцов изученные фрагменты отличались от аллеля дикого типа 14-ю маркерами SNP (Single Nucleotide Polymorphism) и вставкой длиной четыре нуклеотида AAAA. Еще один вариант *MITE* обнаружен у пяти изученных форм из Японии: к-10931, к-10934, к-11608, к-19501 и к-20272. Он существенно отличался от аллеля дикого типа по 12-ти SNP. Новые аллельные варианты *MITE* ранее в литературе не обсуждались и гены, определяющие устойчивость этих генотипов к патогену, неизвестны.

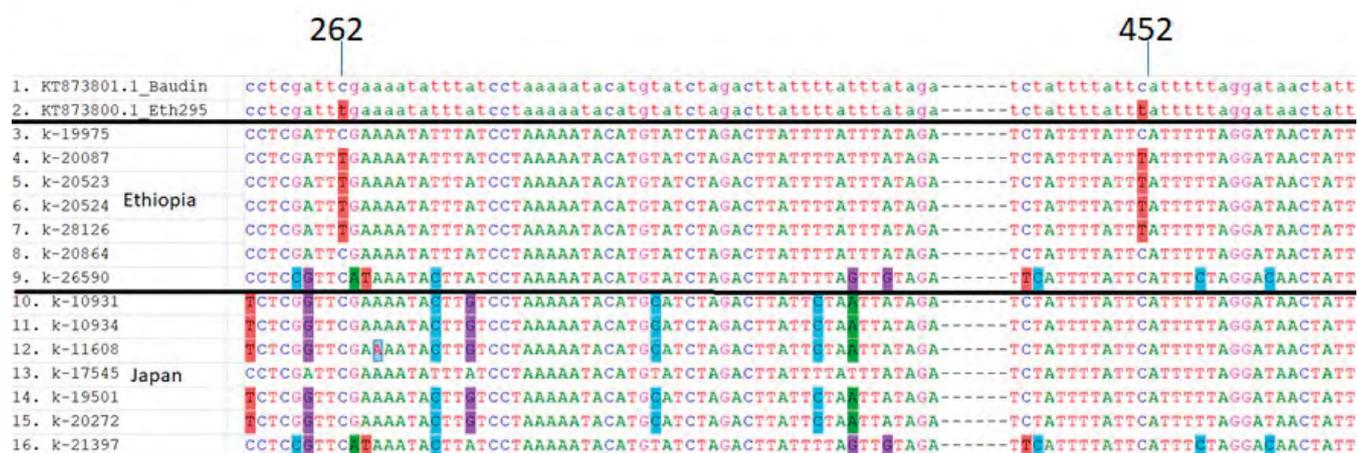


Рис. 1. Выравнивание фрагмента MITE и участка прилегающей Mlo 5' промоторной последовательности у исследованных образцов. Уникальными для mlo-11(cnv2) аллеля SNP являются T в позициях 262 транспозона и 452 в промоторной области. Нумерация нуклеотидов приведена по Ge et al, 2016. В качестве референсных использовали последовательности образцов GenBank: KT873800 and KT873801

Fig. 1. Alignment of barley MITE and adjacent Mlo 5' promoter sequences from the studied accessions. The unique mlo-11(cnv2) SNPs are T in positions 262 in the transposon and 452 in the Mlo 5' promoter sequence. Nucleotide numbering is based on Ge et al, 2016. The sequences of GenBank KT873800 and KT873801 accessions were used as a reference

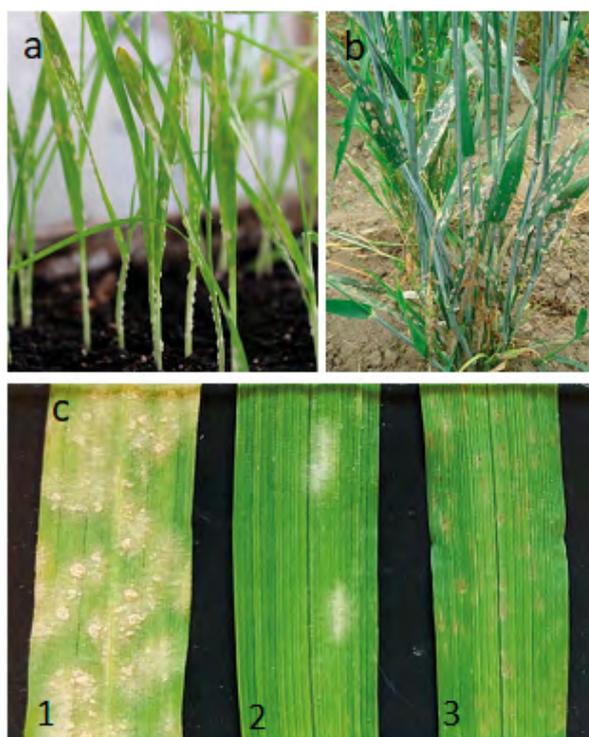


Рис. 2. Поражение растений ячменя возбудителем мучнистой росы.

a – в теплице; **b** – в поле; **c** – степень поражения листьев ячменя северо-западной (Санкт-Петербург) популяцией *B. graminis*: **c1** – сорт ‘Белогорский’ (*Mlo* аллель дикого типа, отрицательный контроль), **c2** – к-20087 (*mlo11(cnv2)*), **c3** – к-30225 (*mlo11*)

Fig. 2. Disease symptoms on barley leaves inoculated with the northwestern (St. Petersburg) population of *B. graminis*.

a – in the greenhouse; **b** – in the field; **c** – degree of damage to barley leaves: **c1** – cv. ‘Belogorskiy’ (*Mlo* wild tipe allele, negative control), **c2** – landrace k-20087 (*mlo11(cnv2)*), **c3** – k-30225 (*mlo11*)

Аллель *mloll(cnv2)*, для которого характерны замены цитозина на тимин в позициях 262 и 462 (нумерация приводится по Ge et al, 2016), найден у образцов из Эфиопии к-20087, к-20523, к-20524, к-28126 (рис. 1). Образцы относятся к различным разновидностям и отличаются друг от друга по ряду морфологических признаков, то есть не являются дублетами (см. табл. 1). Экспрессия устойчивости этих образцов на стадии проростков в теплице соответствовала баллу 2 по шкале Е.Б. Майнса и С.М. Дитца (Mains, Dietz, 1930). Диапазон изменчивости признака у взрослых растений варьировал от 7 до 9 баллов по шкале И.Г. Лоскутова с соавторами (Loskutov et al., 2012).

Ассоциированную с данной мутацией устойчивость, которую оценивали по числу колоний патогена на см² листовой пластинки и скорости их роста, ранее определили как количественную (Ge et al., 2016). В нашем исследовании на растениях образцов к-20087, к-20523, к-20524, к-28126, как и у описанного в литературе (Ge et al., 2016) образца Eth295, носителя *mloll(cnv2)*, наблюдали единичные пустулы, а некротические пятна отсутствовали. Контрольные, восприимчивые к мучнистой росе растения сорта 'Белогорский' поражались очень сильно (см. рис. 2 -c1).

Проявление устойчивости к проникновению гриба у носителей стандартного и вариантного аллелей *mloll* (см. рис. 2 -c3 и 2 -c2, соответственно) отличалось и на гистологическом уровне: у генотипа с аллелем *mloll(cnv2)* в эпидермальных клетках, контактирующих с участками успешного проникновения гриба, мы наблюдали утолщение клеточных стенок путем аппозиции, однако, некроза и коллапса клеток мезофилла отмечено не было.

Заключение

Важным результатом настоящего исследования является обнаружение среди ячменей Эфиопии четырех носителей эффективного аллеля устойчивости к мучнистой росе *mloll(cnv2)*. Отобранные в ходе работы генотипы могут служить источниками аллеля *mloll(cnv2)* при создании новых устойчивых к мучнистой росе сортов ячменя.

Литература/References

- Abdullaev R.A., Lebedeva T.V., Alpatyeva N.V., Yakovleva O.V., Kovaleva O.V., Radchenko E.E., Anisimova I.N., Batasheva B.A., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Genetic diversity of barley accessions from Ethiopia for powdery mildew resistance. *Russian Agricultural Sciences*. 2019;45(3):232-235. DOI: 10.3103/S1068367419030029
- Abdullaev R.A., Batasheva B.A., Alpatyeva N.V., Chumakov M.A., Radchenko E.E., Kovaleva O.N., Yakovleva O.V. Resistance of barley cultivars approved for use in Russia to harmful organisms and toxic aluminum ions. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(3):120-127. [in Russian] (Абдуллаев Р.А., Баташева Б.А., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Радченко Е.Е., Ковалева О.Н., Яковлева О.В. Устойчивость допущенных к использованию в России сортов ячменя к вредным организмам и токсичным ионам алюминия. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(3):120-127). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-120-127
- Alpatyeva N.V., Antonova O.Yu., Radchenko E.E., Abdullaev R.A., Karabitsina Yu.I., Anisimova I.N. PCR diagnostics for harmful organisms of guar: (guidelines). E.K. Potokina (ed.). St. Petersburg: VIR; 2019. [in Russian] (Алпатьева Н.В., Антонова О.Ю., Радченко Е.Е., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Анисимова И.Н. ПЦР-диагностика вредных организмов гуара: (методические указания) / под ред. Е.К. Потокиной. Санкт-Петербург: ВИР; 2019). DOI: 10.30901/978-5-907145-44-3
- Anisimova I.N., Alpatyeva N.V., Abdullaev R.A., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B. Screening of plant genetic resources with the use of DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR setup, agarose gel electrophoresis: (guidelines). E. E. Radchenko (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Анисимова И.Н., Алпатьева Н.В., Абдуллаев Р.А., Карабицина Ю.И., Кузнецова Е.Б. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофорез в агарозном геле: (методические указания) / под ред. Е.Е. Радченко. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-81-8
- Dawson I.K., Russell J., Powell W., Steffenson B., Thomas W.T.B., Waugh R. Barley: a translational model for adaptation to climate change. *New Phytologist*. 2015;206:913-931. DOI: 10.1111/nph.13266
- Dreiseitl A. Genes for resistance to powdery mildew in European barley cultivars registered in the Czech Republic from 2011 to 2015. *Plant Breeding*. 2017;136(3):351-356. DOI: 10.1111/pbr.12471
- Ge X., Deng W., Lee Z.Z., Lopez-Ruiz F.J., Schweizer P., Ellwood S.R. Tempered *mlo* broad-spectrum resistance to barley powdery mildew in an Ethiopian landrace. *Scientific Reports*. 2016;6(1):29558. DOI: 10.1038/srep29558
- Ge C., Moolhuijzen P., Hickey L., Wentzel E., Deng W., Dinglasan E.G., Ellwood S.R. Physiological changes in barley *mlo-11* powdery mildew resistance conditioned by tandem repeat copy number. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(22):8769. DOI: 10.3390/ijms21228769
- Gong X., Li C., Zhang G., Yan G., Lance R., Sun D. Novel Genes from Wild Barley *Hordeum spontaneum* for Barley Improvement. In: G. Zhang, C. Li, X. Liu (eds). *Advance in Barley Sciences*. Springer: Dordrecht; 2013. p.69-89. DOI: 10.1007/978-94-007-4682-4_6
- Jørgensen J.H., Wolfe M. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 1994;13(1):97-119. DOI: 10.1080/07352689409701910
- Kusch S., Panstruga R. *mlo*-based resistance: An apparently universal "weapon" to defeat powdery mildew disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2017;30:179-189. DOI: 10.1094/MPMI-12-16-0255-CR
- Loskutov I.G., Kovaleva O.N., Blinova E.V. Methodological guidelines for studying and maintaining the global collection of barley and oat (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i sokhraneniyyu mirovoy kolleksii yachmenya i ovsa). St. Petersburg: VIR; 2012. [in Russian] (Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).
- Mains E.B., Dietz S.M. Physiologic forms of barley mildew *Erysiphe graminis* DC. *Phytopathology*. 1930;20(3):229-239.
- Piffanelli P., Ramsay L., Waugh R., Benabdelmouina A., D'Hont A., Holiricher K., Jørgensen J.H., Schulze-Lefert P., Panstruga R. A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew. *Nature*. 2004;430(7002):887-891. DOI: 10.1038/nature02781
- Radchenko E.E., Zvejnek I.A., Tyryshkin L.G., Konovalova G.S., Semenova A.G., Hohlova A.P. Catalogue of the VIR global collection. Issue 751. Pest and disease resistance of accessions from South-East Asia (Katalog mirovoy kolleksii VIR. Vypusk 751. Uстойчивost obraztsov iz Yugo-Vostochnoy Azii k vreditelyam i boleznyam). St. Petersburg: VIR; 2004. [in Russian] (Радченко Е.Е., Звейнек И.А., Тырышкин Л.Г., Коновалова Г.С., Семенова А.Г., Хохлова А.П. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 751. Устойчивость образцов из Юго-Восточ-

- ной Азии к вредителям и болезням. Санкт-Петербург: ВИР; 2004).
- Reinstädler A., Müller J., Jerzy H., Czembor J.H., Piffanelli P., Panstruga R. Novel induced *mlo* mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley Mlo protein. *BMC Plant Biology*. 2010;10(1):31. DOI: 10.1186/1471-2229-10-31
- Seeholzer S. Isolation and characterization of new R-protein variants encoded at the barley *Mla* locus that specify resistance against the fungus powdery mildew. University of Zurich, Faculty of Science; 2009. DOI: 10.5167/uzh-31283
- Surin N.A., Zobova N.V., Lyakhova N.E., Neshumaeva N.A., Plechanova L.W., Onuphrienok T.V., Chuslin A.A., Gerasimov S.A., Lipshin A.G. Sources of valuable features in breeding of barley for adaptability. *Research and Technical Advances of Agribusiness Sector*. 2016;30(6):36-40. [in Russian] (Сурин Н.А., Зобова Н.В., Ляхова Н.Е., Нешумаева Н.В., Плеханова Л.В., Чуслин А.А., Онуфриенко Т.В., Герасимов С.А., Липшин А.Г. Источники ценных признаков в селекции ячменя на адаптивность. *Достижения науки и техники АПК*. 2016;30(6):36-40).
- Takahashi R. The origin and evolution of cultivated barley. *Advances in Genetics*. 1955;7(3):227-266. DOI: 10.1016/S0065-2660(08)60097-8
- Tratwal A., Bocianowski J. *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* virulence frequency and the powdery mildew incidence on spring barley in the Wielkopolska province. *Journal of Plant Protection Research*. 2014;54(1):28-35. DOI: 10.2478/jppr-2014-0005
- Vavilov N.I. Origin and geography of cultivated plants (Proiskhozhdenie i geografiya kulturnyh rastenij). V.F. Dorofeev (ed.). Leningrad: Nauka; 1987. [in Russian] (Вавилов Н.И. Происхождение и география культурных растений / под ред. В.Ф. Дорофеева. Ленинград: Наука; 1987).

Научный рецензируемый журнал

БИОТЕХНОЛОГИЯ И СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

Научный редактор: д.б.н. Михайлова Е. И.

Переводчик: Шувалов С. В.

Корректор: Шувалов С. В.

Компьютерная верстка: Чухин Г. К.

Подписано в печать 20.12.2021 Формат бумаги 70×100^{1/8}
Бумага офсетная. Печать офсетная
Печ. л. 5,5 Тираж 30 экз. Заказ 2012

Сектор редакционно-издательской деятельности ВИР
190000, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 42, 44

ООО «Р – Принт»
Санкт-Петербург, пер. Гривцова, 6Б

БИОТЕХНОЛОГИЯ
И СЕЛЕКЦИЯ
РАСТЕНИЙ

4(3), 2021