

УДК 575.116/164

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ АНТОЦИАНОВОЙ ОКРАСКИ У РЖИ

© 2014 г. А.В. Войлоков^{1,2}, А.Н. Лыхолай^{1,2}, В.Г. Смирнов¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: av_voylovkov@mail.ru;

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

Поступила в редакцию 5 сентября 2014 г. Принята к публикации 27 октября 2014 г.

В статье приводятся собственные и литературные данные по генетике антоциановой окраски у ржи. Сформулировано представление о норме в отношении признаков антоциановой окраски растений ржи. При анализе изменчивости этих признаков у инбредных линий озимой ржи установлена изменчивость по проявлению антоциановой окраски на различных органах растения, которая в значительной степени подвержена влиянию среды. По этой причине гибридологический анализ проводился только для признаков с надежным качественным проявлением. Установлено, что при гомозиготном состоянии по любому из 6 рецессивных генов (*vi1*–*vi6*) антоциановая окраска у растения отсутствует. Из них только один ген *vi1* локализован и картирован в хромосоме 7R. Доминантный ген фиолетовой окраски перикарпа *Vs* картирован в хромосоме 2R, а один из двух комплементарных генов окраски ушек *R₁* – в хромосоме 5R. Обсуждаются литературные данные по идентификации и локализации генов антоциановой окраски у ржи в связи с перспективами дальнейших исследований в этом направлении.

Ключевые слова: рожь, антоциановая окраска, изменчивость, генетический анализ, картирование генов.

ВВЕДЕНИЕ

Антоцианы являются пигментами, широко распространенными в растительном мире. Они принадлежат к флавоноидам, образующимся в разветвленном фенилпропаноидном пути биосинтеза, эволюционно возникшем в ходе адаптации растений к наземному образу жизни (Ferrer *et al.*, 2008). Биологическая роль флавоноидов заключается в привлечении животных как опылителей и распространителей семян, осуществлении взаимодействия растений между собой и с микроорганизмами, участии в стрессовых реакциях. Биологическая активность флавоноидов проявляется и в составе растительной пищи. В частности, доказана фармакологическая ценность антоцианов при профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, некоторых видов рака, возрастного диабета, болезней глаз. Антоциановые пигменты в качестве природных красителей

активно внедряются в пищевую промышленность и косметику (Kong *et al.*, 2003).

Мутации в генах, контролирующих синтез антоцианов, нелетальны и легко регистрируются путем простого наблюдения. Их роль в развитии генетики общеизвестна (Инге-Вечтомов, 2010). Г. Мендель использовал окраску цветков гороха как один из признаков при установлении основных законов генетики. Кумулятивная полимерия в наследовании была обнаружена Г. Нильссон-Эле при изучении красной окраски зерновок у мягкой пшеницы. Открытие Б. Мак-Клинтон мобильных элементов было основано на учете мутационных событий в генах синтеза антоцианов, экспрессирующихся в зерновках кукурузы. Зависимость экспрессии родительских аллелей у гибридов от направления скрещивания была впервые описана у кукурузы в реципрокных скрещиваниях линий с окрашенным (*R*) и неокрашенным (*r*) эндоспермом (Emerson, 1918; Kempton, 1919) задолго до формулирования по-

нения «геномный импринтинг». Парамутации как другой эпигенетический феномен также были обнаружены при использовании этой модели (Brink, 1959). В опытах по трансформации окрашенных цветков петунии дополнительной копией гена халконсинтазы впервые была установлена косупрессия гомологов, проявляющаяся в отсутствии антоциановой окраски (Napoli *et al.*, 1990). В настоящее время мутации, нарушающие синтез флавоноидов у кукурузы, петунии, львиного зева, арабидопсиса и у многих других объектов, активно используются для изучения пространственно-временной организации и регуляции метаболизма в организме растений (Winkel-Shirley, 2001). Существенно расширяют возможности такого анализа генно-инженерные подходы, во многих случаях направленные на создание сортов у разных видов с измененным составом антоциановых пигментов.

Гены, контролирующие антоциановую окраску отдельных частей растения, традиционно разделяли на две группы – структурные и регуляторные. В настоящее время это разделение, носившее условный характер, получило обоснование, вытекающее из установления молекулярной функции генов биосинтеза антоцианов. Структурные гены кодируют аминокислотные последовательности ферментов, отвечающих за отдельные этапы биосинтеза. Регуляторные гены представляют собой последовательности, кодирующие структуру транскрипционных факторов, включающих или выключающих структурные гены в разных органах растения в ответ на внутренние или внешние сигналы. Самостоятельную группу генов составляют гены, обеспечивающие трансмембранный транспорт антоцианов в вакуоль растительных клеток. Сложность генетического контроля биосинтеза флавоноидов обуславливает и многокопийность ряда структурных генов. Исключением в этом плане считается арабидопсис, у которого 6 основных структурных генов в цепи биосинтеза представлены одной копией (Bowerman *et al.*, 2012).

Молекулярно-генетическое изучение антоциановой окраски у озимой ржи представляет самостоятельный интерес, поскольку этот объект характеризуется наибольшей устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессам

среди родственных злаков. Эту устойчивость в определенной степени может обеспечивать видоспецифичная система генов, контролирующая биосинтез флавоноидов, сложившаяся в ходе эволюции ржи. Однако генетический контроль биосинтеза антоцианов у ржи изучен совершенно недостаточно. Установленные к настоящему времени гены синтеза антоцианов у ржи также можно разделить на две группы. Одну группу составляют гены, рецессивные мутации которых проявляются в отсутствии антоциановой окраски растения. В другую группу входят гены, контролирующие синтез антоцианов в отдельных органах растения.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОЗИМОЙ РЖИ ПО АНТОЦИАНОВОЙ ОКРАСКЕ

Популяционные сорта ржи являются генетически гетерогенными. Строгая система гаметофитной несовместимости, присущая ржи, обеспечивает поддержание высокого уровня гетерозиготности отдельных растений и разнообразие генотипов в пределах популяций за счет свободного комбинирования спонтанных мутаций. Генотип каждого растения в сортовых популяциях ржи уникален. Однако изменчивость озимой ржи по признакам антоциановой окраски нельзя рассматривать без представления о норме (диком типе) в отношении этих признаков. Большинство сортов-популяций у ржи фенотипически однородны и включают преимущественно один тип растений – растения с антоцианом на coleoptile, первых зимующих листьях, узлах и междоузлиях стебля, чешуях колоса, остях, тычинках и зерновках. Интенсивность антоциановой окраски варьирует от растения к растению и в значительной степени зависит от температуры, освещенности и влагообеспеченности в момент ее формирования в отдельных частях растения. Окраска подвержена и онтогенетической изменчивости. Так, активный синтез антоциана в листьях прекращается после перезимовки растений, узлы приобретают окраску в фазе колошения и постепенно теряют ее в дальнейшем, окраска междоузлий, напротив, формируется при созревании. Окраска чешуй и остей появляется при выколашивании и исчезает в ходе созревания, отчего колосья ржи приобретают белесый оттенок. Очевидно, что

преходящее проявление антоциановой окраски затрудняет выделение контрастных форм и проведение генетического анализа признаков окраски у ржи. В популяциях культурной и сорнополевой ржи встречаются растения, которые резко отличаются от растений с нормально варьирующей окраской. Это растения, которые не содержат антоциана во всех обычно окрашенных частях (безантоциановая рожь), или, напротив, растения с антоциановой окраской частей, которые в норме не окрашены или окрашены слабо. Жесткая система самонесовместимости препятствует у ржи самоопылению и получению на этой основе константных форм. Поэтому выделение форм с разной окраской в ранних исследованиях было основано на переопылении предполагаемых мутантов в потомстве отличающихся по окраске растений. Таким путем можно выделить гомозиготы по рецессивным мутациям. В потомстве от переопыления гетерозигот и гомозигот по доминантным мутациям полиморфизм сохраняется. Эффективность обнаружения мутантов, в том числе и по антоциановой окраске, значительно повысилась при использовании автофертильных линий (Смирнов, Соснихина, 1984). Гибриды этих линий с самонесовместимыми растениями также обладают способностью завязывать семена при самоопылении, что позволяет выявлять и фиксировать в гомозиготном состоянии мутации, находящиеся у исходного растения популяции в гетерозиготном состоянии. С помощью обоих подходов была создана Петергофская генетическая коллекция ржи, позволившая изучить генетику антоциановой окраски и сохранить выделенные мутанты для их дальнейшего молекулярно-генетического изучения (Смирнов, Соснихина, 1984). Большинство литературных данных по генетике антоциановой окраски ржи было получено на материале, который к настоящему времени не сохранился.

ГЕНЕТИКА БЕЗАНТОЦИАНОВОЙ РЖИ

Проявление рецессивных мутаций, результатом которых является отсутствие антоциановой окраски у растения (безантоциановость), легко учитывать при анализе окраски колеоптиля в условиях интенсивного освещения. Отсутствие

антоциана в колеоптиле как моногибридный рецессивный признак впервые описал Требо (Treboux, 1925). Затем к аналогичным выводам пришли другие авторы (Агеев, 1929; Dumon, 1938, 1947; Суриков, 1960; Федоров, 1961). В.С. Федоров установленному им гену безантоциановости (Федоров, 1964) присвоил символ *Vi/vi* от латинского названия безантоциановой разновидности ржи – *var. viride*, в свое время введенного Н.И. Вавиловым. Ген (*Vi/vi*) картирован в хромосоме 7R (Войлоков, 2008). В настоящее время помимо гена *vi(vi1)* идентифицировано еще 5 неаллельных генов *vi2–vi6*, гомозиготное состояние по рецессивным аллелям которых проявляется в отсутствии антоциановой окраски у растения (Лыхолай и др., 2014). Тест на аллелизм среди независимо выделенных безантоциановых мутантов показал, что 13 образцов Петергофской генетической коллекции мутантны по гену *vi1*, в то время как мутации *vi2–vi6* обнаружены в одном образце каждая. Число неаллельных генов безантоциановости, установленных в наших исследованиях, совпадает с числом генов, о существовании которых сообщается на основании изучения генетики окраски колеоптиля с помощью трисомного анализа (Melz, 1988). Работа проводилась с помощью неполной серии трисомиков (трисомик по хромосоме 7R отсутствовал), полученной на основе триплоидного растения безантоциановой ржи сорта Эсто. Отсутствие антоциана на растениях этого сорта, согласно нашим данным (Смирнов, Соснихина, 1984; Лыхолай и др., 2014), объясняется их гомозиготностью по рецессивному аллелю одного гена, а именно *vi1*. Поэтому сообщение о 5 дополнительных генах требует обсуждения возможностей трисомного анализа в отношении установления числа генов, отвечающих за различия скрещиваемых форм по анализируемому признаку. Обычно трисомный анализ используют для хромосомной локализации генов, предварительно идентифицированных путем проведения канонического сегрегационного анализа, и установления на этой основе независимых групп сцепления (генов, расположенных в одной и той же хромосоме). Расщепление по анализируемой мутации зависит от того, в какой из хромосом находится локализуемый ген. Если ген находится в хромосоме, представленной у исходного гибрида F₁

двумя гомологами, то расщепление по этому гену в F_2 соответствует каноническому 3 : 1. В случае гетерозиготности по гену, локализованному в хромосоме, представленной у гибрида F_1 тремя гомологами, расщепление отличается от этого соотношения. Как правило, наблюдаемые соотношения редко соответствуют теоретически рассчитанным (Hermesen, 1970) и вывод о хромосомной локализации гена делают на основе отклонения от 3 : 1 в направлении, ожидаемом для трисомного расщепления. Отклонение от соотношения 3 : 1 в потомстве трисомика по определенной хромосоме G. Melz (1988) объяснял присутствием в этой хромосоме доминантного аллеля гена, ответственного за антоциановую окраску колеоптиля. Наблюдаемое в F_2 расщепление в подавляющем большинстве комбинаций скрещивания (безантоциановый трисомик по конкретной хромосоме) $\times$ (форма с антоцианом) соответствовало моногибридному 3 : 1. Только у отдельных гибридов в комбинациях с участием разных форм с антоцианом оно отклонялось в ожидаемом направлении и интерпретировалось как «критическое». Шесть генов, выявленных через обнаружение «критических» скрещиваний у отдельных гибридов с шестью окрашенными формами ржи, были отнесены к разным хромосомам (Melz, Thiele, 1990). Полученные результаты могут объясняться по-другому, а именно: у всех изученных гибридов идет расщепление по одному и тому же гену. Это расщепление у большинства гибридов реализуется как ожидаемое дисомное в соотношении 3 : 1. Отклонение от этого соотношения в потомстве некоторых гибридных трисомиков может объясняться как случайными причинами, так и влиянием селективного фактора, сцепленного с геном безантоциановости *an* у конкретного гибрида и полиморфизм по которому присущ формам с антоцианом. Таким образом, можно заключить, что различия по антоциановой окраске между растениями сорта Эсто и рожью с антоциановой окраской объясняются аллельными различиями по одному гену. Это ген *vi1*, локализованный в хромосоме 7R и обозначенный другими авторами как *an* (Vries, Sybenga, 1984). Еще пять мутаций, *vi2-vi6*, в неаллельных генах определяют отсутствие антоциановой окраски в растениях ржи, гомозиготных по любой из этих мутаций.

ОКРАСКА ОТДЕЛЬНЫХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЙ РЖИ

Несмотря на значительную изменчивость, описанную в отношении окраски отдельных частей у растений ржи (Смирнов, Соснихина, 1984), генетический контроль детально изучен только для окраски зерна и ушек. Плейотропный характер действия генов безантоциановости определяет их взаимодействие с генами окраски отдельных частей растения. Гены окраски отдельных тканей проявляют свое действие только на фоне доминантных аллелей основных генов. Варьирование окраски зрелых зерновок объясняется синтезом антоцианов или родственных флавоноидов в плодовых или семенных оболочках, а также в алейроновом слое. Выделяют белые, желтые, зеленые, коричневые и фиолетовые зерновки, между которыми существуют переходные варианты. Чермак (Tschermak, 1906) и Рюмкер (Rümker, 1911) при анализе проявления антоциана в алейроновом слое зерновки у гибридов между желтозерными (*aa*) и зеленозерными (*AA*) растениями ржи установили ксенийный характер наследования зеленой окраски зерна. Ксенийность наследования заключается в проявлении отцовского аллеля гена антоциановой окраски *A* в алейроновом слое гибридных зерновок. Подобное проявление генов позволяет учитывать расщепление по окраске зерновок (зеленые vs. желтые семена) непосредственно на зерновках, собранных с растений первого гибридного поколения. Помимо безантоциановых в сортах ржи встречаются желтозерные формы с антоциановой окраской колеоптиля и других частей растений. Дюмон (Dumon, 1947) проводил скрещивания растений обоих типов, выделенных из сорта Court des Flandres, с растениями дикого типа. На основе результатов этого анализа он впервые предложил схему наследования антоциановой окраски растения (колеоптиля) и алейрона, исходящую из комплементарного взаимодействия доминантных аллелей двух несцепленных генов *A* и *B*. Доминантный аллель гена *A* необходим для проявления антоциановой окраски на всем растении, включая колеоптиль и алейроновый слой. Доминантный аллель другого гена, *B*, необходим для появления голубого пигмента только в алейроне. Эта схема наследования

подтверждена и в масштабных экспериментах В.С. Федорова (1961, 1964). В отношении окраски зерна В.С. Федоров выделял не только зеленозерные (*A-B-*) и желтозерные (*A-bb*), но и белозерные формы (*aaB-*, *aabb*). Два последних фенотипа другие авторы не разделяли и описывали как желтозерные. В более поздних публикациях символ *B/b* был заменен на *C/c* (Смирнов, Соснихина, 1984). Привлечение в генетический анализ новых форм, различающихся по окраске частей растения, позволило дополнить дигенную схему (*A-B*) третьим геном *R* (Watkins, White, 1964). Согласно данным этих авторов, окраска coleoptily, узлов и в разной степени других частей растения, но не первых листьев, определяется комплементарным взаимодействием доминантных аллелей в локусах *A* и *R*. Таким образом, ген *R*, как и ген *B*, может быть отнесен к регуляторным генам, а ген *A* должен считаться основным структурным геном. Авторы исследования отмечают, что у растений, отнесенных к генотипам *A-rr*, наблюдается варьирование по окраске первых листьев, не связанное с проявлением антоциановой окраски на других частях растения. Однако темно-зеленый фон хлорофилл-содержащей ткани маскировал антоциановую окраску и не позволил провести объективный учет расщепления по окраске первых листьев у расщепляющихся гибридов. Авторами этой работы в отличие от других исследователей было установлено тесное сцепление ($5,6 \pm 1,2$ %) между локусами *A* и *B* и, кроме того, выявлено слабое сцепление между *A* и *R* ($45,0 \pm 2,1$ %) наряду с тенденцией к сцеплению между *B* и *R*. Это дало основание выстроить эти локусы в следующем порядке: *B-A-R*. Очевидно, что несоответствие в сцеплении между локусами, обозначенными разными авторами одинаково, как *A* и *B*, может объясняться различиями в генетической природе изученного материала. К сожалению, прямой тест на аллелизм для генов, установленных разными авторами, в настоящее время провести невозможно ввиду утраты соответствующих образцов ржи. Желтозерные и белозерные сорта самонесовместимой ржи воспроизводятся во многих селекционных учреждениях, включая ВИР им. Н.И. Вавилова, однако их генетическая основа не изучена или о ней не сообщается. Оригинальные формы с

идентифицированными генами сохраняются только в Петергофской генетической коллекции, основанной В.С. Федоровым.

Фиолетовая (пурпурная) окраска перикарпа контролируется у ржи доминантным геном *Vs* (синоним *Ps*), локализованным с помощью транслокаций в хромосоме 2R (Vries, Sybenga, 1984) и картированным сначала относительно ряда морфологических (Смирнов, Соснихина, 1984; Vries, Sybenga, 1984), а затем изозимных маркеров этой хромосомы (Войлоков, 2008). Установленная схема наследования окраски хорошо согласуется с данными по идентификации антоцианов в разных тканях растений ржи. В алейроне зеленозерных форм обнаружен дельфинидин-3-рутинозид, в coleoptile – цианидин-3-рутинозид, а в первых листьях – цианидин-3-глюкозид (Dedio *et al.*, 1972). Перикарп фиолетовозерной ржи содержит цианидин-3-глюкозид, пеонидин-3-глюкозид и ацилированные формы этих гликозидов, при этом состав антоцианов в coleoptile, листьях и алейроне совпадает с таковым у зеленозерной ржи. В таком случае роль генов *B*, *R* и, по-видимому, *Vs*(*Ps*) может заключаться в контроле над синтезом тканеспецифичных соединений в алейроне, coleoptile и перикарпе соответственно, а ген *A* должен контролировать предшественники этих соединений на более ранних этапах биосинтеза. Антоциановая окраска ушек определяется двумя комплементарными несцепленными генами – *R₁* и *R₂* (Федоров, Смирнов, 1967). Один из них (условно *R₁*) сцеплен с двумя другими доминантными маркерами хромосомы 5R – *Hr* (опушение стебля под колосом) и *Ddw* (доминантная короткостебельность). Рecessивное состояние по гену *Vil* блокирует развитие антоциана на ушках, как и на других частях растения.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Картировать гены антоциановой окраски, установленные у ржи, можно, ориентируясь на данные по сравнительной генетике и геномике у хорошо изученных родственных злаков, в первую очередь пшеницы и ячменя. По сравнению с геномами этих видов геном ржи в ходе эволюции претерпел серию перестроек, всего в геномах ржи и ячменя идентифицировано 17

синтенных блоков (Martis *et al.*, 2013). Только хромосома 1R полностью коллинеарна хромосоме 1H. Остальные хромосомы ржи являются мозаиками, включающими от двух до пяти синтенных блоков, входящих в разные хромосомы ячменя. Поскольку эти блоки построены на основании последовательностей экспрессирующихся генов, а структура генов биосинтеза высококонсервативна (Holton, Cornish, 1995), анализ баз данных позволяет предсказать положение генов биосинтеза антоцианов в хромосомах ржи и разработать молекулярные маркеры для их дальнейшего картирования. Примером подобного анализа является работа по локализации структурных генов биосинтеза антоцианов у ржи и их экспрессии у пшенично-ржаных гибридов (Khlestkina *et al.*, 2009). Установлена хромосомная локализация четырех генов, активных в окрашенном coleoptile ржи, и у пшенично-ржаных дополненных линий с хромосомой 4R. Это гены, контролирующие структуру халконфлаванонизомеразы (*Chi*), флаванон-3-гидроксилазы (*F3h*), антоцианидинсинтазы (*Ans*) и антоцианидин-3-глюкозилтрансферазы (*3Rt*). Гены *Ans* и *3Rt* картированы относительно микросателлитных локусов на хромосомах 6RL и 5RL, гены *Chi* и *F3h* локализованы на хромосомах 5RL и 2RL соответственно (Khlestkina *et al.*, 2009). Очевидно, что структурные гены, представленные в геноме ржи одной копией, являются наиболее вероятными кандидатами на роль генов безантоциановости. Именно такой фенотипический эффект описан для многочисленных мутантов по шести основным генам биосинтеза антоцианов у арабидопсиса (Bowerman *et al.*, 2012) и других видов растений. Так, у ячменя идентифицировано 9 генов (*Ant1*, 2, 5, 13, 17, 18, 21, 22, 30), рецессивные мутации которых определяют отсутствие антоциановой окраски у растения в нормальных условиях выращивания (Jende-Strid, 1993). Семь из этих генов локализованы в хромосомах. Предполагается, что большинство из 9 генов кодируют структуру ферментов биосинтеза антоцианов, а ген *Ant 13* является транскрипционным фактором, контролирующим активность по крайней мере трех генов биосинтеза флавоноидов. Значительно сложнее использовать для сравнительного анализа данные по генетическому контролю признаков

окраски вследствие видовой специфики в отношении числа и характера взаимодействия соответствующих генов. Так, ксенийное проявление окраски алейрона у ячменя в отличие от ржи объясняется взаимодействием двух или пяти доминантных комплементарных генов (Jende-Strid, 1993). Напротив, окраску ушек ячменя определяет один доминантный ген *Paui* в хромосоме 1H, тогда как у ржи – два комплементарных доминантных гена, один из которых надежно локализован в хромосоме 5R. Только в отношении гена фиолетовой (пурпурной) окраски перикарпа *Vs(Ps)* можно говорить о его предполагаемой гомеологии генам красной окраски перикарпа и нижней цветковой чешуи у ячменя (*Pre2*) и гену окраски перикарпа (*Pp3*) у пшеницы (Хлесткина, 2012). Этот вывод основан на локализации генов окраски перикарпа в синтенных участках хромосом второй гомеологической группы. Однако для проявления пурпурной окраски зерна у аллополиплоидных пшениц в отличие от ячменя и ржи необходимо присутствие второго доминантного гена из 7B или 7D хромосом (Хлесткина, 2012).

У мягкой пшеницы кластер генов или один ген с плеiotропным эффектом на окраску coleoptile, листьев, стебля и тычинок локализован в участке коротких плеч хромосом седьмой гомеологической группы, соответствующем фрагменту длинного плеча хромосомы 4R (Хлесткина, 2012). Предполагается, что в этом участке хромосомы 4R локализованы ортологи генов (гена) окраски пшеницы, поскольку присутствие хромосомы 4R или ее длинного плеча у пшенично-ржаных дополненных линий ведет к появлению окраски на coleoptile, узлах и междоузлиях (Miller, 1984). С другой стороны, у ржи ген антоциановой окраски с аналогичными множественными эффектами локализован в плече 7RL (Войлоков, 2008). Этот ген сцеплен с изозимным локусом *Got2* и, согласно предварительным данным, с микросателлитным маркером *Xrems1135*, который в другой комбинации скрещивания cosegregирует с *Xrems1188* и локусом *Got2*. Следовательно, *Got2* может служить маркером *vi1* при сравнительно-генетическом анализе. Установлено, что гены, контролирующие изозимы глутамат-оксалоацетаттрансаминазы (GOT) у мягкой пшеницы, локализованы в длинных и коротких

плечах хромосом шестой гомеологической группы и длинных плечах хромосом третьей гомеологической группы (McIntosh *et al.*, 2008). Таким образом, на геном приходится по три структурных гена. У ржи обнаружено не три, а четыре гена, *Got1*, *Got2*, *Got3* и *Got4*, картированных относительно других изомимных локусов соответственно в хромосомах 4RL, 7RL, 6RS и 3RL (Войлоков, 2008). Однако у пшеницы эти локусы не картированы. Этот пример показывает, что установить ортологию генов антоциановой окраски у пшеницы и ржи можно только на основе их молекулярного картирования и анализа коллинеарности генов и маркеров. Подтверждением сделанного вывода служат данные по сравнению максимально плотных генных карт у ржи и ячменя как объекта с минимальными геномными перестройками относительно пшеницы. Так, установлено, что хромосома 4R включает синтенный перицентромерный фрагмент хромосомы 4Н и фрагменты коротких плеч 6Н и 7Н. Хромосома 7R состоит из пяти блоков, гомеологических фрагментам 2HS, 4HL, 5HL, 7HL и 7HS (Martis *et al.*, 2013).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные по генетическому контролю антоциановой окраски у разных видов растений позволяют сделать вывод о наличии видовой специфики в отношении числа копий функционально активных структурных и регуляторных генов, их взаимодействия между собой. Очевидно, что эта специфика может быть связана с биологическими особенностями разных видов и ролью антоцианов в адаптации растений к специфической среде. Полученные данные и дальнейшее молекулярно-генетическое изучение биосинтеза антоцианов у ржи представляют интерес с разных точек зрения: эволюции генов биосинтеза, их роли в адаптации, практической значимости. В последнем случае можно получить «белую» муку грубого помола на основе белозерной ржи с разным составом флавоноидов, благодаря блокированию биосинтеза антоцианов на разных стадиях с помощью мутантных генов. Учитывая пищевую ценность собственно антоцианов, перспективно использование фиолетовозерной ржи для производства хлеба с резаным зерном. Разработка

маркеров для отдельных генов биосинтеза антоцианов позволит эффективно проводить отбор по отдельным генам и получать их разные сочетания.

Экспериментальная часть работы выполнена при поддержке программой Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

ЛИТЕРАТУРА

- Агеев Н.П. Inzucht у ржи // Изв. с.-х. акад. им. К.А. Тимирязева. 1929. Кн. 4. С. 143–175.
- Войлоков А.В. Генетическое картирование у ржи *Secale cereale* L.: Дис. ... д-ра биол. наук. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2008. 269 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. СПб.: ООО «Изд-во Н-Л», 2010. 720 с.
- Смирнов В.Г., Соснихина С.П. Генетика ржи. Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. 264 с.
- Суриков И.М. Расщепление при скрещивании безантоциановой и безвосковой форм яровой ржи // Бюл. ин-та биологии АН БССР. 1960. Вып. 4. С. 179–182.
- Лыхолай А.Н., Владимиров И.А., Андреева Е.А., Смирнов В.Г., Войлоков А.В. Генетика безантоциановости у ржи // Генетика. 2014. Т. 50. № 10. С. 1245–1249.
- Федоров В.С. Генетика ржи (*Secale cereale* L.). Ксении // Исследования по генетике. Изд-во ЛГУ, 1961. Вып. 1. С. 116–121.
- Федоров В.С. Генетика ржи (*Secale cereale* L.). Наследование антоциановой окраски, воскового налета и ветвистостолостости у ржи // Исследования по генетике. Изд-во ЛГУ. 1964. Вып. 2. С. 100–110.
- Федоров В.С., Смирнов В.Г. Генетика ржи (*Secale cereale* L.). Сообщ. IV. К генетике антоциановой окраски // Генетика. 1967. Т. 3. С. 94–102.
- Хлесткина Е.К. Гены, детерминирующие окраску различных органов пшеницы // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. С. 202–216.
- Bowerman P.A., Ramirez M.V., Price M.B., Helm R.F., Winkel B.S.J. Analysis of T-DNA alleles of flavonoid biosynthesis genes in *Arabidopsis* ecotype Columbia // BMC Res. Notes. 2012. V. 5. P. 485–493.
- Brink R.A. Paramutation at the R locus in maize plants trisomic for chromosome 10* // Genetics. 1959. V. 45. P. 819–827.
- Dedio W., Hill R.D., Evans L.E. Anthocyanins in the pericarp and coleoptiles of purple-seeded rye // Can. J. Plant Sci. 1972. V. 52. P. 981–983.
- Dumon A.G. Een geval van dominant en recessief bruin bij *Secale cereale* // Agricultura. 1938. V. 41. P. 190–196.
- Dumon A.G. Contribution à la génétique et à l'amélioration du seigle (*Secale cereale* L.) // Agricultura (Louvain). 1947. V. 45. P. 213–223.
- Emerson R.A. A fifth pair of factors, *Aa*, for aleurone color in maize, and its relation to *Cc* and *Rr* pairs // Cornell Univ. Agric. Esp. Sta. Memoir. 1918. V. 16. P. 231–289.
- Ferrer J.L., Austin M.B., Stewart C., Noel J.P. Structure and

- function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids // *Plant Physiol. Biochem.* 2008. V. 46. P. 356–370.
- Jende-Strid B. Genetic control of flavonoid biosynthesis in barley // *Hereditas.* 1993. V. 119. P. 187–204.
- Hermesen J.G. Basic information for the use of primary trisomics in genetic and breeding research // *Euphytica.* 1970. V. 19. P. 125–140.
- Holton T.A., Cornish E.C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis // *Plant Cell.* 1995. V. 7. P. 1071–1083.
- Kempton J.H. Inheritance of spotted aleurone color in hybrids of chinese maize // *Genetics.* 1919. V. 4. P. 261–274.
- Khlestkina E.K., Tereshchenko O.Y., Salina E.A. Anthocyanin biosynthesis genes location and expression in wheat-rye hybrids // *Mol. Genet. Genom.* 2009. V. 282. P. 475–485.
- Kong J.-M., Chia L.-S., Goh N.-K. *et al.* Analysis and biological activities of anthocyanins // *Phytochemistry.* 2003. V. 64. P. 923–933.
- Martis M.M., Zhou R., Haseneyer G., Stein N. *et al.* Reticulate evolution of the rye genome // *Plant Cell.* 2013. V. 25. P. 3685–3698.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J. *et al.* Catalogue of gene symbols for wheat. 2008. available at <http://www.grs.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/>
- Melz G. Beiträge zur Genetik des Roggens (*Secale cereale* L.): Diss. B. AdL der DDR. Berlin, 1988. 173 p.
- Melz G., Thiele V. Chromosome locations of genes controlling «purple leaf base» in rye and wheat // *Euphytica.* 1990. V. 49. P. 155–159.
- Miller T.E. The homoeologous relationship between the chromosomes of rye and wheat. Current status // *Can. J. Genet. Cytol.* 1984. V. 26. P. 578–89.
- Napoli C., Lemieux C., Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes *in trans* // *Plant Cell.* 1990. V. 2. P. 279–289.
- Rümker K. Etude sur le coloris des grains chez le seigle // *IVE Cong. Génét. Paris*, 1911. P. 332–335.
- Treboux O. Beobachtungen über vererbung von kornfarbe und anthocyan beim roggen // *Z. Pflanzenzücht.* 1925. V. X. P. 288–291.
- Tschermak E. Über Züchtung neuer Getreiderassen mittels künstlicher Kreuzung. II. Kreuzungsstudien am Roggen // *Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich.* 1906. V. 9. P. 699–743.
- Vries de J.N., Sybenga J. Chromosomal location of 17 monogenically inherited morphological markers in rye (*Secale cereale* L.) using the translocation tester set // *Z. Pflanzenzücht.* 1984. V. 92. P. 117–139.
- Watkins R., White W.J. The inheritance of anthocyanins in rye (*Secale cereale* L.) // *Can. J. Genet. Cytol.* 1964. V. 6. P. 403–410.
- Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. Colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // *Plant Physiol.* 2001. V. 126. P. 485–493.

GENETIC CONTROL OF ANTHOCYANIN COLORATION IN RYE

A.V. Voylovkov^{1,2}, A.N. Lykholay^{1,2}, V.G. Smirnov¹

¹ St. Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology,
St. Petersburg, Russia, e-mail: av_voylovkov@mail.ru;

² St. Petersburg Branch of the Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia

Summary

The authors present their own and literature data on the genetic control of anthocyanin coloration in rye. The concept of the norm for traits of anthocyanin coloration of rye plants is formulated. The analysis of the variability of these traits in inbred lines of winter rye revealed variability in the expression of anthocyanin color in different organs of the plant, which is largely influenced by the environment. For this reason, genetic analysis was performed only for traits with stable manifestation. Six recessive genes *vi1–vi6* were identified, whose homozygous state led to the absence of anthocyanin from the whole plant. Of them, only *vi1* was localized and mapped on chromosome 7R. The dominant *Vs* gene for purple pericarp was mapped on chromosome 2R, and one of two complementary genes for red leaf auricle *R_l*, on chromosome 5R. Data from the literature on the identification and localization of anthocyanin coloration genes in rye are discussed in connection with the prospects for further research in this direction.

Key words: rye, anthocyanin coloration, variability, genetic analysis, gene mapping.