

УДК 581.1.577.21:575.113.12

КОЭКСПРЕССИЯ СТРУКТУРНЫХ И РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ФЛАВОНОИДНОГО ПУТИ ВЫЯВЛЯЕТ ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА АНТОЦИАНОВ В ОРГАНАХ БАКЛАЖАНА (*Solanum melongena* L.)

© 2023 г. М. А. Филюшин^а, *, А. В. Щенникова^а, Е. З. Кочиева^а

^аФедеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: michel7753@mail.ru

Поступила в редакцию 09.12.2022 г.

После доработки 14.12.2022 г.

Принята к публикации 14.12.2022 г.

Баклажан (*Solanum melongena* L.) является экономически значимой овощной культурой, фиолетово-окрашенные плоды которого обогащены антоцианидинами. В данной работе в геноме баклажана были идентифицированы гомологи основных известных структурных (*CHS1*, *CHS2*, *CHI*, *F3H*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS* и *UFGT*) и регуляторных (*TT8*, *GL3*, *bHLH137*, *bHLH143*, *MYB1*, *MYB2* и *MYB75*) генов биосинтеза антоцианов, а также гена транспортера антоцианидинов (*GSTF12*). Охарактеризована экспрессия данных генов в сопоставлении с содержанием суммы антоцианов и окраской листа, лепестков цветка и кожицы плода. Показано, что профиль экспрессии генов соответствует окраске и присутствию антоцианов в ткани, а также указывает на существование органоспецифичных особенностей регуляции транскрипции генов, кодирующих транскрипционные факторы комплекса MBW. Результаты корреляционного анализа подтверждают участие генов *SmbHLH137*, *SmTT8*, *SmMYB2* и *SmMYB75* в регуляции экспрессии структурных генов в лепестках цветка, а *SmGL3*, *SmTT8* и *SmMYB1* – в кожице плода.

Ключевые слова: баклажан, *Solanum melongena* L., окраска плода, антоцианы, регуляция биосинтеза антоцианов

DOI: 10.31857/S0015330322600747, **EDN:** IBTJGR

ВВЕДЕНИЕ

Баклажан (*Solanum melongena* L.) является экономически значимой и популярной овощной культурой. В последнее время плоды баклажана рассматриваются как функциональный продукт питания, так как они обогащены широким спектром фенольных соединений: мякоть является источником фенольных кислот, а кожица – антоцианов. Кроме того, листья содержат большое количество кемпферола [1, 2]. Мощные антиоксидантные свойства плодовых экстрактов баклажана делают их применение перспективным для снижения риска различных заболеваний человека [2, 3].

Кожица плода *S. melongena* характеризуется белой, зеленой или фиолетовой окраской [2, 4]. Оттенки окраски кожицы от бледно-лилового до черно-фиолетового обусловлены синтезом и накоплением разного количества антоцианов с преобладанием гликозидов дельфинидина (93–98% от общей суммы) и минорными включениями производных других антоцианидинов [2, 4]. Другие известные виды баклажана (*Solanum aethiopicum* L., *Solanum macrocarpon* L. и др.), широко возде-

лываемые в Африке и Юго-Восточной Азии, формируют плоды желтой, оранжевой или красной окраски за счет накопления каротиноидов. Содержание антоцианов в таких плодах, также как в плодах баклажана с белой и зеленой кожицей, минимально [4].

Путь биосинтеза антоцианов в растениях высоко консервативен и является ветвью пути биосинтеза флавоноидов. В результате последовательных ферментативных реакций, катализируемых халконсинтазой (CHS), халконизомеразой (CHI), флаванон-3-гидроксилазой (F3H), флавоноид-3'-гидроксилазой (F3'H), флавоноид-3'5'-гидроксилазой (F3'5'H), дигидрофлавонол-4-редуктазой (DFR) и антоцианидинсинтазой (ANS), образуются окрашенные антоцианидины – пеларгонидин, цианидин и дельфинидин. Дальнейшая модификация антоцианидинов с участием UDP-глюкозофлавоноид-3-О-глюкозилтрансферазы (UFGT) приводит к образованию стабильных, водорастворимых пигментов. Антоцианидины пеонидин, петунидин и мальвидин образуются в результате метилирования циани-

дина и дельфинидина под действием О-метилтрансферазы (ОМТ) [5–7].

В растительных клетках флавоноиды, в том числе антоцианы, синтезируются в цитозоле, а затем транспортируются и накапливаются в вакуолях [8]. Транспорт флавоноидов в вакуоли осуществляется специфической глутатион-S-трансферазой класса *phi* (кодируется геном *GSTF12*) [9]. Для многих видов растений показана высокая корреляция уровня транскриптов транспортера *GSTF12* с накоплением антоцианов в тканях [9–11].

Экспрессия генов пути биосинтеза антоцианов координируется MBW-комплексом, включающим транскрипционные факторы (ТФ) семейств R2R3-MYB, bHLH и WD-repeat [12, 13]. Различия в составе участников MBW-комплекса определяют пространственно-временную регуляцию синтеза антоцианов в растении [14, 15]. Показано, что ТФ семейства R2R3-MYB также регулируют транскрипцию гена транспортера антоцианов *GSTF12* [11].

В транскриптомах *S. melongena*, по гомологии с известными последовательностями томата и картофеля, идентифицированы основные структурные гены пути биосинтеза антоцианов и определены профили их экспрессии в сопоставлении с содержанием антоцианов [16–18]. К изученным регуляторным генам пути биосинтеза антоцианов у баклажана относятся отдельные представители семейств R2R3-MYB (*SmMYB1/SmMYB113* (KF727476.1), *SmMYB2* (KF727477.1)), bHLH (*Sm-bHLH1/SmGL3* (GLABRA3; KF727475.1), *SmTT8* (TRANSPARENT TESTA8; KP006503.1)) и WD40-repeat (*SmAN11* (KF727473)) [16, 19]. У родственных баклажану видов, томата (*Solanum lycopersicum* L.) и перца (*Capsicum annuum* L.), идентифицированы новые ТФ семейств R2R3-MYB и bHLH, ассоциированные с биосинтезом антоцианов [15, 20]. Так, показано, что накопление антоцианов в плодах томата связано с активностью гена *SIMYB75*; сверхэкспрессия данного гена приводит к существенному росту содержания антоцианов, а также общего содержания фенолов, флавоноидов, растворимых сухих и ароматических летучих веществ [20]. Анализ транскриптомов кожицы плода перца, приобретающей пурпурную окраску в условиях ультрафиолетового излучения, выявил факторы транскрипции CabHLH137 и CabHLH143, которые связываются с промоторами структурных генов пути биосинтеза антоцианов, активируя их транскрипцию [15].

Цель работы — поиск в геноме *S. melongena* последовательностей структурных и регуляторных генов пути биосинтеза антоцианов, включая генов-гомологов *SIMYB75*, *CabHLH137*, *CabHLH143* и *GSTF12*; изучение профилей их экспрессии в различных органах трех сортов баклажана и опреде-

ление взаимосвязи уровней транскрипции с содержанием антоцианов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения работы в 2022 г. образцы баклажана *S. melongena* сортов Снежный, Влас и Агат, различающиеся окраской спелого плода, были выращены до стадии плодоношения в пленочной теплице Федерального научного центра овощеводства (Московская обл.). Все три сорта формируют зеленые листья и цветки с фиолетовыми лепестками. Плоды сорта Снежный имеют белую/светло-желтую окраску в технической/биологической спелости. Плоды сортов Влас и Агат темно-фиолетовые и почти черные в технической спелости и светлеют к стадии биологической спелости (рис. 1).

В августе с растений были собраны листья, цветки, незрелые плоды (стадия технической спелости) и спелые плоды (стадия биологической спелости). У плодов отделяли экзокарп (кожицу), у цветков — лепестки, у листьев — фрагменты ткани без жилок. Собранный растительный материал растирали в жидком азоте и использовали для биохимического анализа и анализа экспрессии генов. Содержание суммы антоцианов (в пересчете на дельфинидин-3-рутинозид) определяли спектрофотометрически в хлороформ-метанольных экстрактах [21] в двух биологических и трех технических повторностях. Суммарную РНК выделяли и очищали от примесей ДНК с помощью наборов RNeasy Plant Mini Kit и RNeasy free DNasey set (“QIAGEN”, Германия); кДНК синтезировали с использованием набора GoScript™ Reverse Transcription System (“Promega”, США).

Поиск структурных и регуляторных генов пути биосинтеза антоцианов проводили в геномных (GCA_00078785.1) [22] и транскриптомных данных баклажана *S. melongena*, доступных в GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Для поиска по гомологии использовали последовательности известных генов баклажана (*SmMYB1* (KF727476.1), *SmMYB2* (KF727477.1), *SmTT8* (KP006503.1), *SmGL3* (KP006502.1)), томата *S. lycopersicum* (*CHS1* (NM_001247104.2), *CHS2* (NM_001247107.2), *CHI* (NM_001320711.1), *F3H* (NM_001329483.1), *F3'5'H* (NM_001247911.2), *DFR* (Z18277.1), *ANS* (NM_001374394.1), *UFGT* (XM_004249399.4), *GSTF12* (XM_004232621.4), *SIMYB75* (NM_001279063.2)) и перца *C. annuum* (*bHLH137* (XM_016712236.2), *bHLH143* (XM_016695337.2)). Выравнивание найденных последовательностей проводили в программе MEGA 7.0 (<https://www.megasoftware.net/>). Молекулярную массу (MW) и изоэлектрическую точку (pI) белков определяли с помощью ExPASy ProtParam (<https://www.web.expasy.org/protparam>).

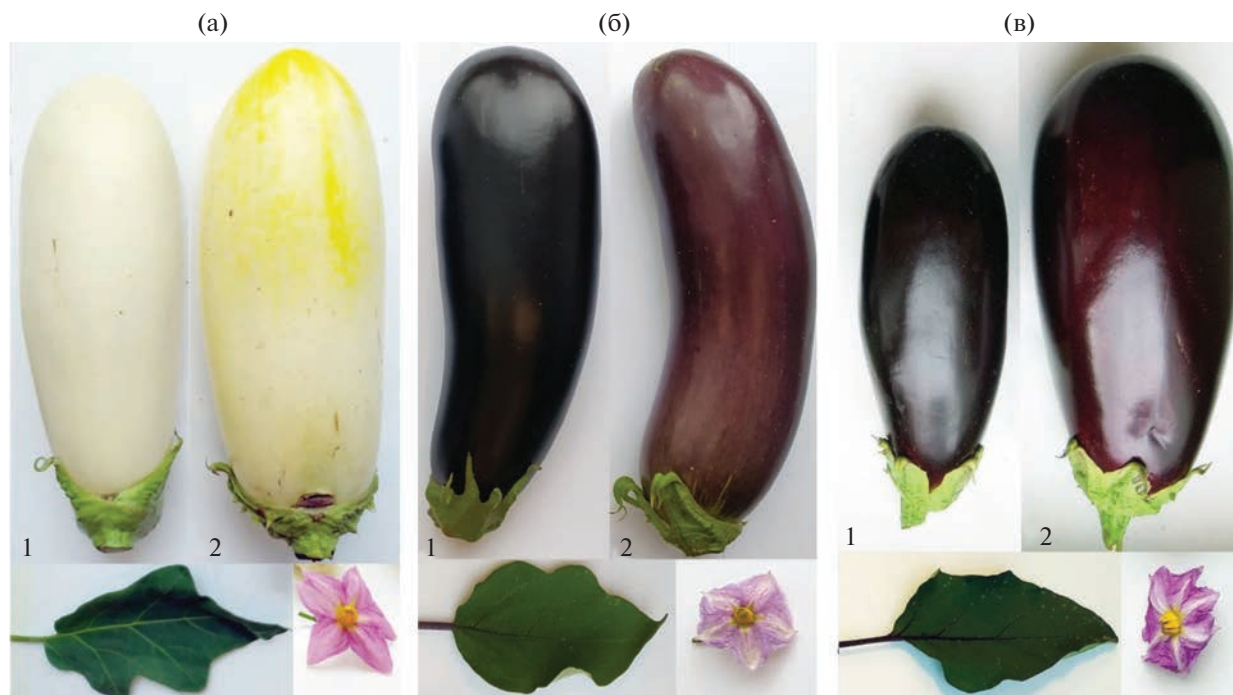


Рис. 1. Листья, цветки и плоды (1 – незрелый плод (техническая спелость), 2 – спелый плод (биологическая спелость)) сортов баклажана Снежный (а), Влас (б) и Агат (в).

Профиль экспрессии структурных (*CHS1*, *CHI*, *F3H*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS*, *UFGT* и *GSTF12*) и регуляторных (*GL3*, *TT8(MYC)*, *bHLH137*, *bHLH143*, *MYB1*, *MYB2* и *MYB75*) генов пути биосинтеза антоцианов определяли методом количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) в трех технических повторностях. Праймеры разрабатывали на основе найденных в базе данных NCBI последовательностей (Дополнительные материалы, табл. 1). Относительный уровень экспрессии генов оценивали, нормализуя по экспрессии референсного гена *GAPDH* [16]. ПЦР-РВ проводили с помощью набора “Реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR GreenI и ROX” (ООО “Синтол”, Россия) и амплификатора CFX96 Real-Time PCR Detection System (“Bio-Rad Laboratories”, США) в следующих условиях: 95°C – 5 мин.; 40 циклов (95°C – 15 с, 62°C – 50 с). Визуализацию данных ПЦР-РВ, а также регрессионный анализ (поиск корреляции между уровнем транскриптов гена и содержанием антоцианов) осуществляли в программе GraphPad Prism v. 7.02 (<https://www.graphpad.com>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Структурные и регуляторные гены пути биосинтеза антоцианов в геноме баклажана. В геноме баклажана *S. melongena* (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/genome/GCA_000787875.1/) был проведен поиск по гомологии структурных и регуля-

торных генов биосинтеза антоцианов, включая *SlMYB75*, *CabHLH137*, *CabHLH143* и *GSTF12*. В результате были найдены и охарактеризованы предположительные ортологи всех известных структурных (*CHS1*, *CHS2*, *CHI*, *F3H*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS* и *UFGT*) и регуляторных (ТФ семейств *bHLH* (*TT8*, *GL3*, *bHLH137* и *bHLH143*) и *R2R3-MYB* (*MYB1*, *MYB2* и *MYB75*)) генов, а также гена транспортера антоцианидинов – глутатион-S-трансферазы *GSTF12*. Основные характеристики генов *S. melongena* и кодируемых ими белков приведены в табл. 1.

Органоспецифичные профили экспрессии структурных генов пути биосинтеза антоцианов. Профили экспрессии структурных генов биосинтеза антоцианов и транспортера антоцианидинов *SmGSTF12* были определены в листьях, лепестках цветка, кожце незрелого и спелого плода сортов баклажана Снежный, Влас и Агат (рис. 2).

У сорта Снежный в листьях экспрессии генов биосинтеза антоцианов не выявлено, за исключением следовых количеств транскриптов *SmCHS2* и *SmF3H*; в лепестках, имеющих фиолетовую окраску, присутствовали транскрипты всех генов (за исключением *SmCHS2*) и *SmGSTF12*. В белой кожце незрелого плода сорта Снежный транскрипты генов не обнаружены, тогда как в светло-желтой кожце спелого плода зафиксированы транскрипты ранних генов флавоноидного пути (*SmCHS1*, *SmCHS2* и *SmF3H*) (рис. 2).

Таблица 1. Характеристика структурных и регуляторных генов пути биосинтеза антоцианов баклажана *S. melongena*

Ген	Контиг/ID*	Ген, пн	Кол-во экзонов	Кодирующая часть, пн	Белок, ао	MW, кДа	pI
Структурные гены пути биосинтеза антоцианов							
<i>CHS1</i>	Sme2.5_13923.1/ Sme2.5_13923.1_g00001.1	1254	2	1170	389	42.5	7.17
<i>CHS2</i>	Sme2.5_02154.1/ Sme2.5_02154.1_g00001.1	1344	2	1170	389	42.7	5.98
<i>CHI</i>	Sme2.5_01193.1/ Sme2.5_01193.1_g00009.1	1811	4	705	234	25.2	5.38
<i>F3H</i>	Sme2.5_00015.1/ Sme2.5_00015.1_g00016.1	2613	3	1101	366	41.1	5.39
<i>F3'5'H</i>	Sme2.5_04313.1/ Sme2.5_04313.1_g00001.1	3064	3	1542	513	57.7	8.88
<i>DFR</i>	Sme2.5_01401.1/ Sme2.5_01401.1_g00004.1	1638	6	1149	382	42.6	5.47
<i>ANS</i>	Sme2.5_01638.1/ Sme2.5_01638.1_g00005.1	1556	2	1242	413	46.7	5.34
<i>UFGT</i>	Sme2.5_00228.1/ Sme2.5_00228.1_g00013.1	1329	1	1329	442	49.2	5.92
Глутатион-S-трансфераза GSTF12							
<i>GSTF12</i>	Sme2.5_00172.1/ Sme2.5_00172.1_g00024.1	1735	3	693	230	26.3	5.88
ТФ семейства bHLH							
<i>TT8</i>	Sme2.5_00592.1/ Sme2.5_00592.1_g00005.1	8531	9	1896	631	70.1	5.17
<i>GL3</i>	Sme2.5_12406.1/ Sme2.5_12406.1_g00003.1	4556	7	1887	628	70.8	5.61
<i>bHLH137</i>	Sme2.5_06479.1/ Sme2.5_06479.1_g00003.1	2443	7	1032	343	38.2	6.27
<i>bHLH143</i>	Sme2.5_06288.1/ Sme2.5_06288.1_g00003.1	1092	1	1092	363	39.9	4.72
ТФ семейства R2R3-MYB							
<i>MYB1</i>	Sme2.5_05099.1/ Sme2.5_05099.1_g00002.1	1230	3	771	256	29.6	6.17
<i>MYB2</i>	Sme2.5_00538.1/ Sme2.5_00538.1_g00005.1	3727	3	837	278	32.1	8.48
<i>MYB75</i>	Sme2.5_13100.1/—	1051	3	822	273	31.8	8.87

* Согласно [22].

У сортов Влас и Агат, имеющих фиолетовую окраску лепестков и кожицы плода, показана активность генов в лепестках (за исключением *SmCHS2* у сорта Агат) и кожице незрелого плода; в кожице спелого плода выявлены транскрипты *SmF3H* (оба сорта) и *SmCHS1* (сорт Агат). В листьях найдены следовые количества транскриптов *SmCHS2* и *SmF3H*. Транскрипты *GSTF12* обнаружены только в лепестках и кожице незрелого плода (рис. 2).

Органоспецифичные профили экспрессии генов ТФ семейств bHLH и R2R3-MYB. В тех же органах, где были определены профили экспрессии структурных генов, проанализированы профили экспрессии генов ТФ семейств bHLH и R2R3-MYB, ассоциированных с биосинтезом антоцианов (рис. 3, 4).

В результате транскрипты гена *SmGL3* выявлены только в фиолетовой кожице плода у сортов

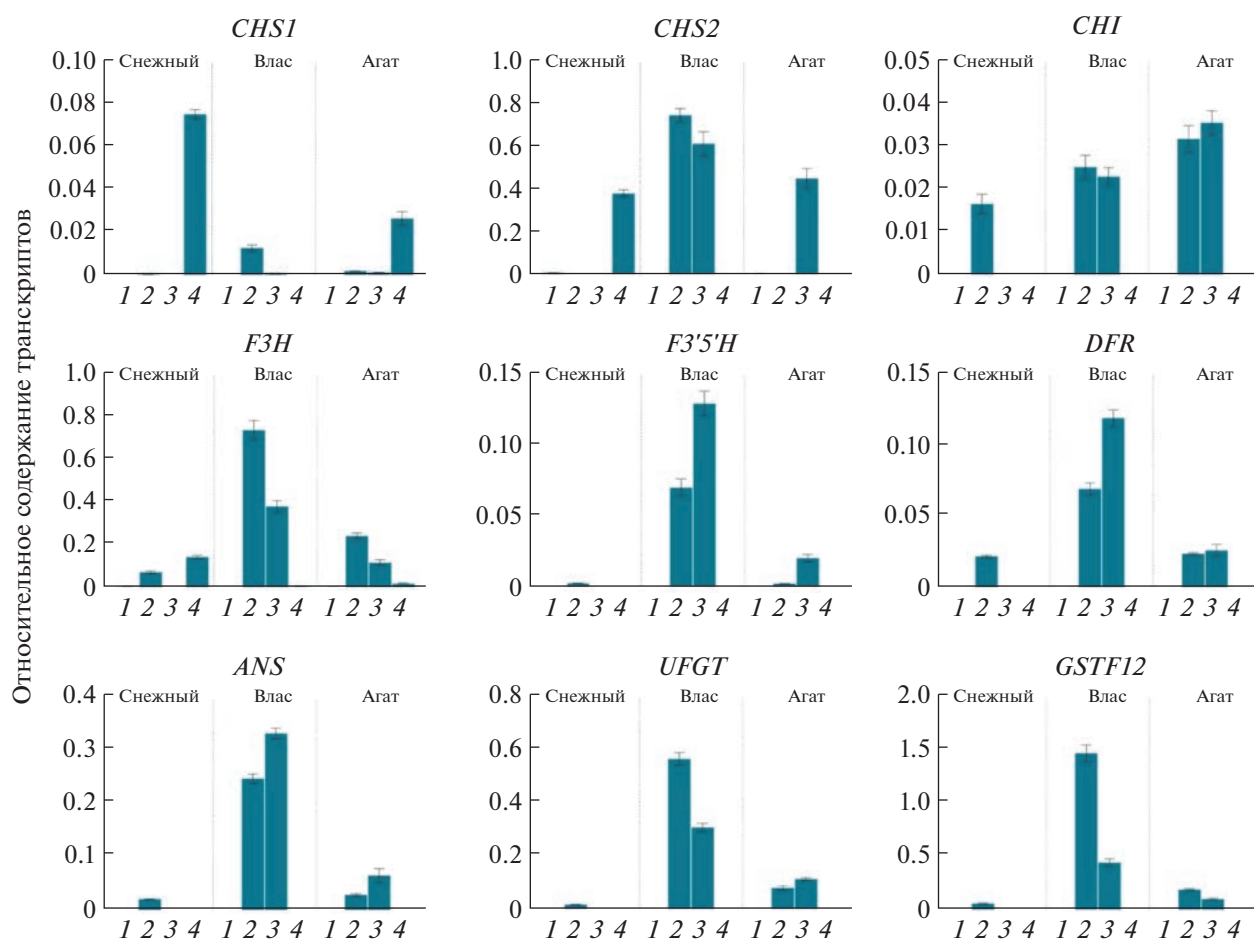


Рис. 2. Профили экспрессии структурных генов флавоноидного пути (*CHS1*, *CHS2*, *CHI*, *F3H*, *F3'5'H*, *DFR*, *ANS*, *UFGT*) и транспортера антоцианидинов (*GSTF12*) в листьях (1), лепестках цветка (2), коже незрелого (3) и спелого (4) плодов сортов баклажана Снежный, Влас и Агат.

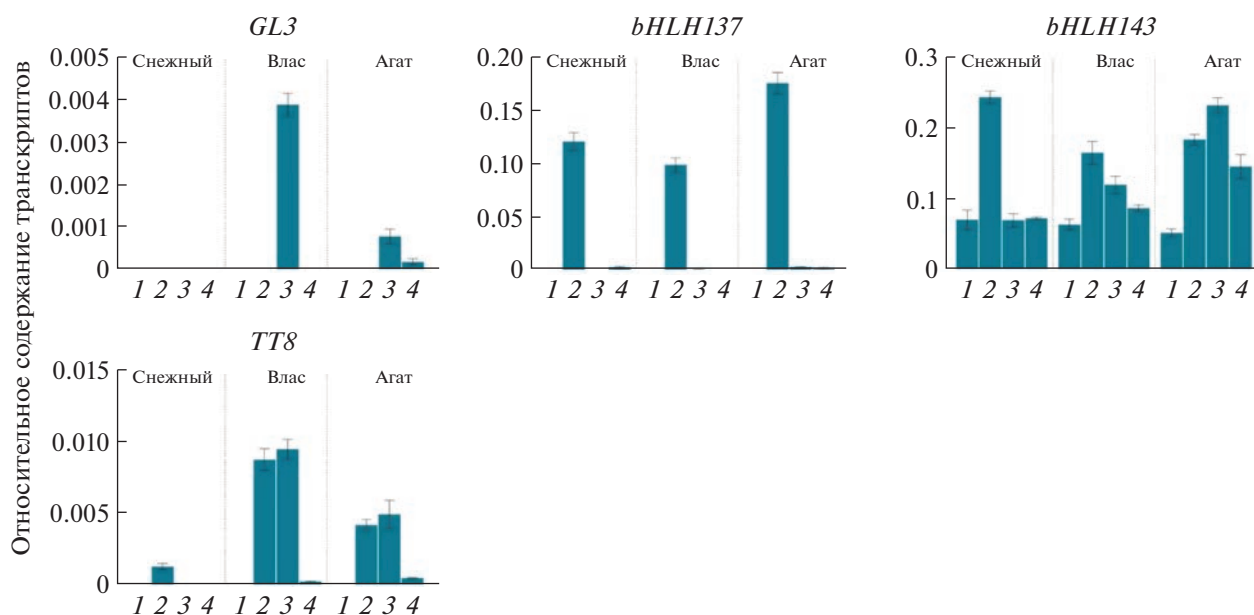


Рис. 3. Профили экспрессии генов ТФ семейства bHLH в листьях (1), лепестках цветка (2), коже незрелого (3) и спелого (4) плодов сортов баклажана Снежный, Влас и Агат.

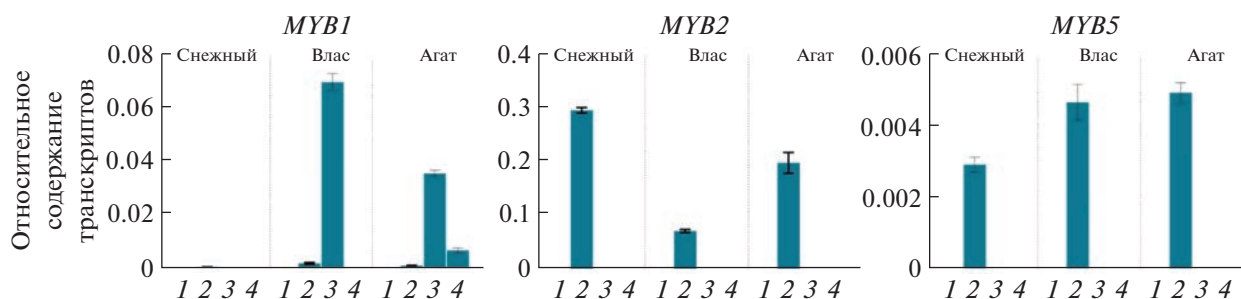


Рис. 4. Профили экспрессии генов ТФ семейства R2R3-MYB в листьях (1), лепестках цветка (2), кожице незрелого (3) и спелого (4) плодов сортов баклажана Снежный, Влас и Агат.

Влас (стадия технической спелости) и Агат (обе стадии спелости). Ген *SmbHLH137* высоко экспрессировался в лепестках всех трех сортов, небольшие количества транскриптов гена выявлены в кожице плодов. Экспрессия гена *SmbHLH143* обнаружена во всех анализируемых органах с максимумом в лепестках цветка (сорта Снежный и Влас) или кожице незрелого плода (сорт Агат). Транскрипты *SmTT8* детектированы в лепестках и кожице плодов (сорта Влас и Агат) или только в лепестках (сорт Снежный) (рис. 3).

Экспрессия гена *SmMYB1* у анализируемых сортов баклажана выявлена в лепестках и в кожице плодов сортов Влас (незрелый плод) и Агат (незрелый и спелый плод). Транскрипты *SmMYB2* и *SmMYB75* обнаружены только в лепестках всех трех сортов (рис. 4).

Органоспецифичное содержание суммы антоцианов и его связь с уровнем транскриптов структурных и регуляторных генов биосинтеза антоцианов. В листьях, лепестках цветка и кожице незрелого и спелого плодов сортов баклажана Снежный, Влас и Агат была определена сумма антоцианов. Показано, что листья всех сортов, имеющих зеленую

окраску, содержали ~25 мкг/г антоцианов. В фиолетовых лепестках цветка у сортов Снежный и Влас содержание антоцианов было сходным (~40 мкг/г), у а сорта Агат — выше в 1.4 раза (~55 мкг/г). В кожице незрелого плода у сортов Влас и Агат сумма антоцианов составила 1054 и 1555 мкг/г, а в кожице спелого плода — 367 и 206 мкг/г, соответственно; это визуально соответствует изменению окраски плода по мере созревания с темно-фиолетовой/черной на более светлую, коричнево-фиолетовую (рис. 1, 5). У сорта Снежный содержание антоцианов в кожице плодов составило менее 20 мкг/г (рис. 5).

Содержание антоцианов было сопоставлено с уровнями экспрессии структурных и регуляторных генов флавоноидного пути. Для анализируемых образцов баклажана была выявлена значимая корреляция содержания антоцианов с уровнями транскриптов генов *SmCHI*, *SmGL3* и *SmMYB1* (рис. 6). Отдельно были определены значения коэффициентов корреляции содержания антоцианов в листьях, лепестках цветка и кожице плодов с уровнями транскриптов генов. В листьях содержание антоцианов коррелировало с уровнями транскриптов *SmCHS2* и *SmF3H*; в лепестках цветка — *SmCHI* и *SmbHLH137*; в кожице плодов — всех анализируемых генов, кроме *SmCHS1*, *SmF3H* и *SmbHLH137* (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Растение баклажана *S. melongena* является богатым источником различных фенольных соединений, благодаря чему в настоящее время плоды баклажана считаются функциональным продуктом питания [2, 3]. За счет высокого содержания антоцианов (преимущественно производных дельфинидина) кожица плода баклажана имеет фиолетовую окраску с палитрой оттенков от бледно-розового до черного [2, 4, 16].

В настоящем исследовании с помощью поиска в геноме *S. melongena* нами были определены гомологи всех основных известных структурных и регуляторных генов пути биосинтеза антоцианов, а

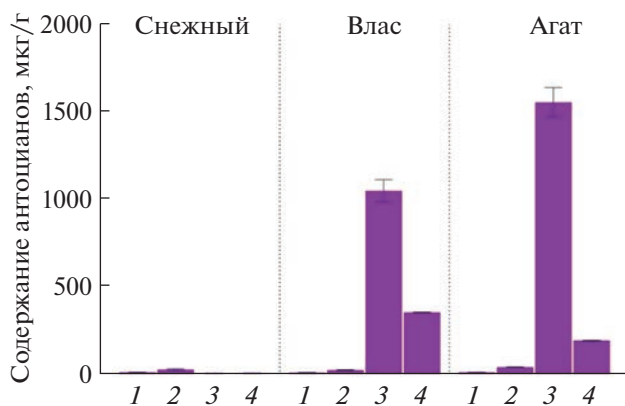


Рис. 5. Содержание антоцианов в листьях (1), лепестках цветка (2), кожице незрелого (3) и спелого (4) плодов сортов баклажана Снежный, Влас и Агат; мкг/г сырого веса.

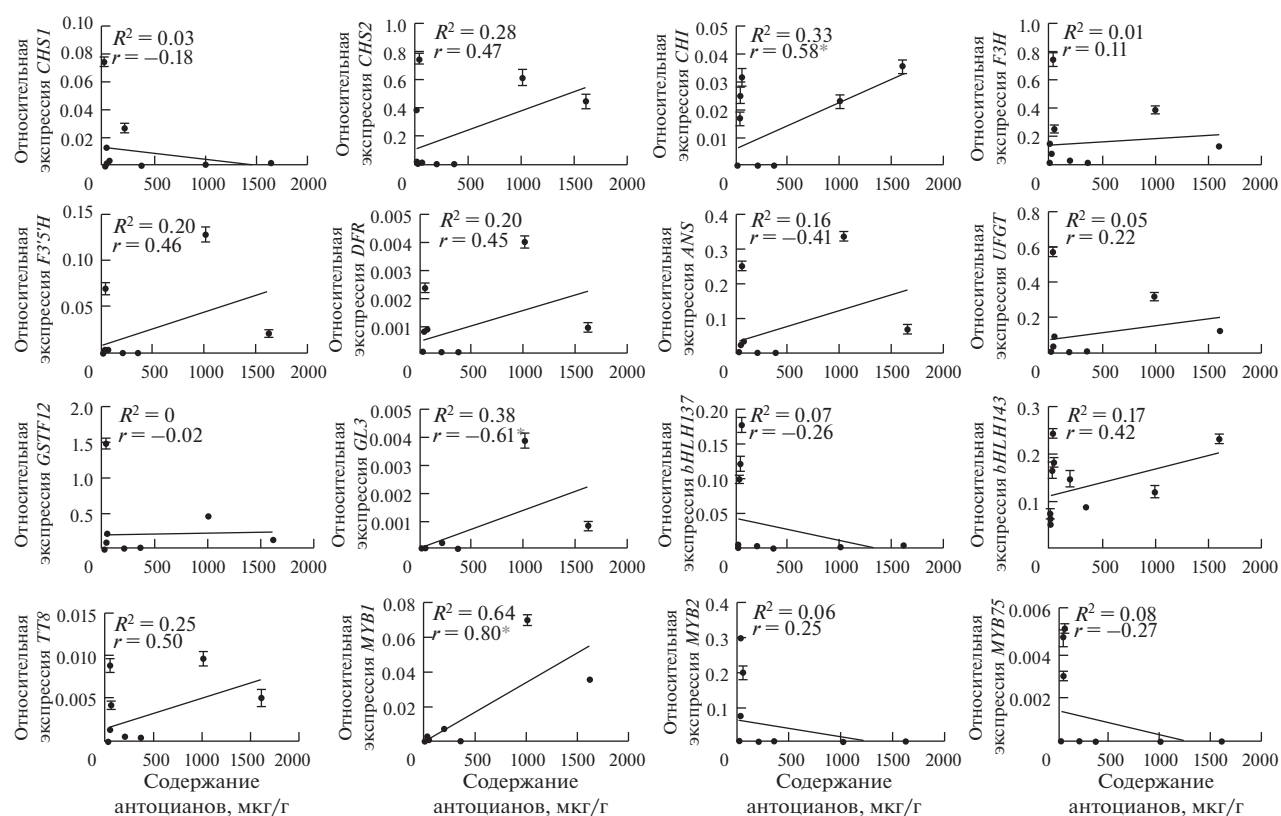


Рис. 6. Линейная регрессия содержания антоцианов совокупно во всех анализируемых органах баклажана с экспрессией структурных и регуляторных генов флавоноидного пути. R^2 — коэффициент множественной корреляции, r — коэффициент корреляции Пирсона. Звездочкой отмечены значения с $P \leq 0.05$.

также гена транспортера антоцианидинов *GSTF12* (табл. 1). С целью охарактеризовать совокупную роль данных генов в определении содержания антоцианов в различных органах баклажана был определен профиль их экспрессии у образцов трех сортов *S. melongena*, формирующих зеленые листья, цветки с фиолетовыми лепестками и плоды, кожа которых имеет окраску, различающуюся между сортами (белую у сорта Снежный и оттенки фиолетового у сортов Влас и Агат) (рис. 1).

В целом, для пигментированных тканей (лепестков цветка всех сортов и кожицы плода сортов Влас и Агат) было характерно присутствие транскриптов всех исследуемых генов (кроме *SmMYB2* и *SmMYB75* в плодах) (рис. 2–4), что подтверждает их участие в биосинтезе антоцианов. В то же время профили экспрессии генов у фиолетовоплодных сортов совпадали, и различие состояло лишь в уровнях транскриптов (и оттенках фиолетовой окраски, соответственно).

Таблица 2. Значения коэффициентов корреляции Пирсона (r) между уровнем транскриптов анализируемых генов и содержанием суммы антоцианов отдельно в листьях, лепестках цветка и кожице плода баклажана ($r \geq 0.50$ свидетельствует о наличии корреляции).

	<i>CHS1</i>	<i>CHS2</i>	<i>CHI</i>	<i>F3H</i>	<i>F3'5'H</i>	<i>DFR</i>	<i>ANS</i>	<i>UFGT</i>	<i>GSTF12</i>	<i>GL3</i>	<i>bHLH137</i>	<i>bHLH143</i>	<i>TT8</i>	<i>MYB1</i>	<i>MYB2</i>	<i>MYB75</i>
Листья	—	0.81	—	0.71	—	—	—	—	—	—	—	–0.27	—	—	—	—
Лепестки цветка	–0.37	–0.45	0.85	–0.22	–0.46	–0.42	–0.35	–0.36	–0.38	—	0.94	–0.33	–0.12	–0.07	0.02	0.63
Кожица плода	–0.47	0.65	0.98	0.48	0.50	0.55	0.54	0.67	0.58	0.53	0.40	0.85	0.76	0.75	—	—

“—” — Коэффициент не рассчитывали в связи с отсутствием транскриптов гена.

Заметим, что в белых и светло-желтых тканях кожицы технически и биологически спелого плода сорта Снежный были обнаружены транскрипты только ранних структурных генов флавоноидного пути (*CHS1*, *CHS2* и *F3H*) (рис. 2). Это может свидетельствовать о синтезе бесцветных фенольных соединений и о предположительном наличии блоков в пути биосинтеза окрашенных антоцианидинов в плодах. Отсутствие в кожице транскриптов большинства регуляторных генов (рис. 3, 4) говорит о том, что в плодах сорта Снежный не происходит образования регуляторного комплекса MBW в связи с дефицитом двух главных его составляющих — ТФ семейств bHLH и R2R3-MYB. Соответственно, не выполняется активация поздних структурных генов пути биосинтеза антоцианов и гена транспортера антоцианидинов (рис. 2), так как для этого необходим функциональный MBW-комплекс [11].

Интересно, что подобных блоков нет в лепестках цветка сорта Снежный, судя по профилю экспрессии анализируемых генов (рис. 2–4), что предполагает органоспецифичные нарушения в регуляции транскрипции генов bHLH и MYB MBW-комплекса в плодах, характерные для данного белоплодного сорта. При этом транскрипты гена *SmMYB1* практически отсутствуют как в кожице плода, так и в лепестках цветка, что, вероятно, связано с обнаруженной ранее у сорта Снежный делецией 26 пн (конец интрона 1 — начало экзона 2), из-за которой в последовательности зрелой мРНК полностью отсутствует второй экзон и сбивается рамка считывания [23]. Праймеры, разработанные нами для анализа экспрессии гена *SmMYB1*, попадают на транскрибируемый участок, поэтому наличие следовых количеств транскриптов гена в лепестках и их отсутствие в кожице плода косвенно подтверждают предположение о нарушении регуляции транскрипции генов MYB MBW-комплекса в плоде сорта. К примеру, это может происходить благодаря повышенной наработке белков SmBIC (blue light inhibitors of cryptochromes), которые взаимодействуют с фотозабужденным SmCRY2, ингибируя его активность и высвобождая убиквитиновую активность COP1, тем самым подавляя экспрессию генов биосинтеза антоцианов (в частности, *SmMYB1*, *SmTT8* и *SmHY5*) [24].

Подчеркнем, что в кожице плода фиолетово-плодных сортов Влас и Агат из трех генов ТФ R2R3-MYB были обнаружены транскрипты только *SmMYB1* (рис. 4). Это свидетельствует об участии именно данного ТФ (но не *SmMYB2* и *SmMYB75*) в образовании MBW-комплекса в кожице плода. В то же время в лепестках цветка этих сортов низкие уровни транскриптов *SmMYB1* и одновременно высокие *SmMYB2* и *SmMYB75* (рис. 4) предполагают преимущественное участие в MBW-комплексе ТФ *SmMYB2* и *SmMYB75*. В этой связи

высокий уровень транскриптов *SmMYB2* и *SmMYB75* в лепестках цветка сорта Снежный (рис. 4) может свидетельствовать о компенсаторном (заменяющем *SmMYB1*) участии данных белков в регуляции активности структурных генов биосинтеза антоцианов.

Таким образом, полученные данные по экспрессии *SmMYB1* (также известного в литературе как *SmMYB113*) и его близких гомологов *SmMYB2* и *SmMYB75* в кожице плода (рис. 4) согласуются с ключевой ролью гена *SmMYB113* в определении разнообразия композиции антоцианов в кожице баклажана и ее окраски [4, 16]. Последние опубликованные данные предлагают в качестве участников индуцированного светом MBW-комплекса баклажана еще три ТФ семейства R2R3-MYB: *SmMYB35*, *SmMYB44* и *SmMYB86* [14, 25, 26]. Тем не менее, наши данные по экспрессии *SmMYB1*, *SmMYB2* и *SmMYB75* (рис. 4) исчерпывающе отвечают на вопрос о различии в окраске кожицы баклажана между белоплодными и фиолетовоплодными сортами. Возможно, *SmMYB35*, *SmMYB44* и *SmMYB86* выполняют дублирующие (по отношению к основным ТФ R2R3-MYB) роли. Более того, имеются сведения о *SmMYB86* как о негативном регуляторе пути биосинтеза антоцианов [26].

Другие, не менее важные участники MBW-комплекса — ТФ семейства bHLH, также способны определять различия в составе антоцианов и окраске лепестков/кожицы плода у баклажанов. Анализ экспрессии четырех генов *bHLH*, гомологи которых ассоциированы с биосинтезом антоцианов, показал, что два из них — *SmGL3* и *SmTT8* — имеют существенные различия в уровне транскриптов в кожице плода между белоплодными и фиолетовоплодными сортами (рис. 3). Это является подтверждением ранее предложенной роли для этих двух генов в регуляции накопления антоцианов в растительной ткани [27].

Профиль экспрессии других двух генов *bHLH* показывает, что *SmbHLH137* активен преимущественно в лепестках цветка *S. melongena*. В то же время повсеместное присутствие транскриптов *SmbHLH143* не коррелирует с разницей в окраске кожицы плода (рис. 3). Хотя связывание с промоторами структурных генов биосинтеза антоцианов выявлено для гомологов обоих ТФ [15], нужно учитывать, что они могут быть задействованы и в других процессах развития или стрессовых ответах растения [28–30].

Характеристикой роли генов в пути биосинтеза антоцианов может служить также корреляционный анализ зависимости между суммой антоцианов и уровнем транскриптов генов. Ожидается, в лепестках цветка присутствовала взаимосвязь наличия транскриптов анализируемых генов с наличием антоцианов (есть транскрипты — есть антоци-

аны) (рис. 2–5), однако корреляция с количеством антоцианов была выявлена только для генов *CHI* и *bHLH137* (рис. 6; табл. 2). Тем не менее, в коже плодов содержание антоцианов коррелировало с экспрессией всех анализируемых генов, за исключением *CHS1*, *F3H* и *bHLH137* (табл. 2).

Таким образом, в данной работе была охарактеризована органоспецифичная функциональная активность структурных и регуляторных генов пути биосинтеза антоцианов в сравнении с содержанием суммы антоцианов и окраской. Было показано, что фиолетовоплодные сорта баклажана отличаются от белоплодного сорта профилем экспрессии анализируемых генов в коже плода, что соответствует ее окраске. Присутствие антоцианов в фиолетовых лепестках цветка и их отсутствие в белых/светло-желтых плодах у сорта Снежный, а также различия в уровне транскриптов анализируемых генов между данными органами свидетельствуют о существовании блоков пути биосинтеза антоцианидинов в коже плода данного сорта и особенностей органоспецифичной регуляции транскрипции генов ТФ комплекса MBW. На основе полученных результатов можно предположить, что в регуляции экспрессии структурных генов биосинтеза антоцианов в лепестках цветка *S. melongena* участвуют транскрипционные факторы *SmbHLH137*, *SmTT8*, *SmMYB2* и *SmMYB75*, а в коже плода – *SmGL3*, *SmTT8* и *SmMYB1*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского Научного Фонда (№ 19-16-00016) и Министерства науки и высшего образования РФ.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта людей и животных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gürbüz N., Uluişik S., Frarya A., Fraryc A., Doğanlara S. Health benefits and bioactive compounds of eggplant // Food Chem. 2018. V. 268. P. 602.
- Condurache N.N., Croitoru C., Enachi E., Bahrin G.E., Stanciuc N., Rapeanu G. Eggplant peels as a valuable source of anthocyanins: extraction, thermal stability and biological activities // Plants. 2021. V. 10: 577. <https://doi.org/10.3390/Plants10030577>
- Akhbari M., Hamedi S., Aghamiri Z.S. Optimization of total phenol and anthocyanin extraction from the peels of eggplant (*Solanum melongena* L.) and biological activity of the extracts // J. Food Measure. Character. 2019. V. 13. P. 3183.
- Yang G., Li L., Wei M., Li J., Yang F. SmMYB113 is a key transcription factor responsible for compositional variation of anthocyanin and color diversity among eggplant peels // Front. Plant Sci. 2022. V. 13: 843996. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.843996>
- Ma Y., Ma X., Gao X., Wu W., Zhou B. Light induced regulation pathway of anthocyanin biosynthesis in plants // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22: 11116. <https://doi.org/10.3390/ijms222011116>
- Chaves-Silva S., dos Santos A.L., Chalfun A., Zhao J., Peres L.E.P., Benedito V.A. Understanding the genetic regulation of anthocyanin biosynthesis in plants – tools for breeding purple varieties of fruits and vegetables // Phytochem. 2018. V. 153. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.013>
- Koes R., Verweij W., Quattrocchio F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways // Trends Plant Sci. 2005. V. 10. P. 236.
- Zhao J. Flavonoid transport mechanisms: how to go, and with whom // Trends Plant Sci. 2015. V. 20. P. 576. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.06.007>
- Pérez-Díaz R., Madrid-Espinoza J., Salinas-Cornejo J., González-Villanueva E., Ruiz-Lara S. Differential roles for *VviGST1*, *VviGST3*, and *VviGST4* in proanthocyanidin and anthocyanin transport in *Vitis vinifera* // Front. Plant Sci. 2016. V. 7: 1166. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01166>
- Niu M., Bao C., Chen J., Zhou W., Zhang Y., Zhang X., Su N., Cui J. RsGSTF12 contributes to anthocyanin sequestration in radish (*Raphanus sativus* L.) // Front. Plant Sci. 2022. V. 13: 870202. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.870202>
- Xue L., Huang X., Zhang Z., Lin Q., Zhong Q., Zhao Y., Gao Z., Xu C. An anthocyanin-related glutathione S-transferase, MrGST1, plays an essential role in fruit coloration in chinese bayberry (*Morella rubra*) // Front. Plant Sci. 2022. V. 13: 903333. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.903333>
- Naing A.H., Kim C.K. Roles of R2R3-MYB transcription factors in transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in horticultural plants // Plant Mol. Biol. 2018. V. 98. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0771-4>
- Ramsay N.A., Glover B.J. MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity // Trends Plant Sci. 2005. V. 10. P. 63.
- Li J., Ren L., Gao Z., Jiang M., Liu Y., Zhou L., He Y., Chen H. Combined transcriptomic and proteomic analysis constructs a new model for light-induced anthocyanin biosynthesis in eggplant (*Solanum melongena* L.) // Plant Cell Environ. 2017. V. 40. P. 3069. <https://doi.org/10.1111/pce.13074>
- Wang Y., Liu S., Wang H., Zhang Y., Li W., Liu J., Cheng Q., Sun L., Shen H. Identification of the regulatory genes of UV-B-induced anthocyanin biosynthesis in pepper Fruit. // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23: 1960. <https://doi.org/10.3390/ijms23041960>
- Zhang Y., Hu Z., Chu G., Huang C., Tian S., Zhao Z., Chen G. Anthocyanin accumulation and molecular analysis of anthocyanin biosynthesis-associated genes in eggplant (*Solanum melongena* L.) // J. Agric. Food Chem. 2014. V. 62. P. 2906. <https://doi.org/10.1021/jf404574c>
- Jiang M., Liu Y., Ren L., Lian H., Chen H. Molecular cloning and characterization of anthocyanin biosynthesis genes in eggplant (*Solanum melongena* L.) // Acta

- Physiol. Plant. 2016. V. 38: 163.
<https://doi.org/10.1007/s11738-016-2172-0>
18. Docimo T., Francese G., Ruggiero A., Batelli G., De Palma M., Bassolino L., Toppino L., Rotino G.L., Mennella G., Tucci M. Phenylpropanoids accumulation in eggplant fruit: characterization of biosynthetic genes and regulation by a MYB transcription factor // Front. Plant Sci. 2016. V. 6: 1233.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01233>
 19. Liu X., Han H.Q., Ge H.Y., Jiang M.M., Chen H.Y. Cloning, expression and interaction of anthocyanin-related transcription factors SmTTG1, SmGL3 and SmTT8 in eggplant // Acta Horticult. Sin. 2014. V. 41. P. 2241.
 20. Jian W., Cao H., Yuan S., Liu Y., Lu J., Lu W., Li N., Wang J., Zou J., Tang N., Xu C., Cheng Y., Gao Y., Xi W., Bouzayen M., Li Z. SmMYB75, an MYB-type transcription factor, promotes anthocyanin accumulation and enhances volatile aroma production in tomato fruits // Hortic. Res. 2019. V. 6: 22.
<https://doi.org/10.1038/s41438-018-0098-y>
 21. Solovchenko A.E., Chivkunova O.B., Merzlyak M.N., Reshetnikova I.V. A spectrophotometric analysis of pigments in apples // Russ. J. Plant Physiol. 2001. V. 48. P. 693.
 22. Hirakawa H., Shirasawa K., Miyatake K., Nunome T., Negoro S., Ohya A., Yamaguchi H., Sato S., Isobe S., Tabata S., Fukuoka H. Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative solanum species indigenous to the old world // DNA Res. 2014. V. 21. P. 649.
<https://doi.org/10.1093/dnares/dsu027>
 23. Бабак О.Г., Некрашевич Н.А., Никитинская Т.В., Яцевич К.К., Кильчевский А.В. Изучение полиморфизма генов МЫВ-факторов на основе сравнительной геномики овощных пасленовых культур (томат, перец, баклажан) для поиска ДНК-маркеров, дифференцирующих образцы по накоплению антоцианов // Доклады НАН Беларуси. 2019. Т. 63. С. 721.
 24. He Y., Li D., Li S., Liu Y., Chen H. SmBICs inhibit anthocyanin biosynthesis in eggplant (*Solanum melongena* L.) // Plant Cell Physiol. 2021. V. 62. P. 1001.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcab070>
 25. Li L., Li S., Ge H., Shi S., Li D., Liu Y., Chen H. A light-responsive transcription factor SmMYB35 enhances anthocyanin biosynthesis in eggplant (*Solanum melongena* L.) // Planta. 2021. V. 255: 12.
<https://doi.org/10.1007/s00425-021-03698-x>
 26. Li L., He Y., Ge H., Liu Y., Chen H. Functional characterization of SmMYB86, a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in eggplant (*Solanum melongena* L.) // Plant Sci. 2021. V. 302: 110696.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110696>
 27. Wen J., Li Y., Qi T., Gao H., Liu B., Zhang M., Huang H., Song S. The C-terminal domains of Arabidopsis GL3/EGL3/TT8 interact with JAZ proteins and mediate dimeric interactions // Plant Signal Behav. 2018. V. 13: e1422460.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2017>
 28. Jensen E., Shafiei R., Ma X.F., Serba D.D., Smith D.P., Slavov G.T., Robson P., Farrar K., Jones S.T., Swaller T., Flavell R., Clifton-Brown J., Saha M.C., Donnison I. Linkage mapping evidence for a syntenic QTL associated with flowering time in perennial C4 rhizomatous grasses *Miscanthus* and switchgrass // Glob Change Biol. Bioenergy. 2021. V. 13. P. 98.
<https://doi.org/10.1111/gcbb.12755>
 29. Skorupa M., Gołębiewski M., Kurnik K., Niedojadło J., Kęsy J., Klamkowski K., Wójcik K., Treder W., Tretyn A., Tyburski J. Salt stress vs. salt shock - the case of sugar beet and its halophytic ancestor // BMC Plant Biol. 2019. V. 19: 57.
<https://doi.org/10.1186/s12870-019-1661-x>
 30. Maalouf F., Abou-Khater L., Babiker Z., Jighly A., Alsamman A.M., Hu J., Ma Y., Risipail N., Balech R., Hamweih A., Baum M., Kumar S. Genetic dissection of heat stress tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.) using GWAS // Plants. 2022. V. 11: 1108.
<https://doi.org/10.3390/plants11091108>