

УДК 575.822

АДАПТИВНОЕ ЗНАЧЕНИЕ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ В ЗЕРНОВКЕ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ

© 2024 г. А. Н. Буланов^{1,2,*}, А. В. Войлоков^{2,**}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034, Россия

²Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991, Россия

*e-mail: an.bulanov20002014@gmail.com

**e-mail: av_voylokov@mail.ru

Поступила в редакцию 06.07.2023 г.

После доработки 11.08.2023 г.

Принята к публикации 23.08.2023 г.

Большинство культурных злаков – кукуруза, рис, пшеница, ячмень, овес и рожь представлены многочисленными сортами без антоциановой окраски или со слабой окраской вегетативных органов и/или зерновок. Интенсивной окраской растений и/или зерна обладают редкие местные расы и дикорастущие родственные виды. Окраска зерновок связана с биосинтезом окрашенных флавоноидов в материнских (перикарп и теста) и гибридных (алейрон) тканях зерновки и контролируется доминантными аллелями регуляторных генов, кодирующих консервативные транскрипционные факторы семейств MYB, bHLH-MYC и WD40, составляющих белковый регуляторный комплекс MBW. Исследованиями последних лет доказано участие неокрашенных и окрашенных флавоноидов в реакции растений на биотические и абиотические стрессовые факторы, установлена их функциональная значимость в составе пищевых продуктов из цельного зерна. Однако многие вопросы по адаптивности и полезности антоцианов остаются без ответа или даже не ставятся. В частности, не ясны причины, по которым в ходе одомашнивания и селекции зерновых злаков не получили широкого распространения доминантные аллели регуляторных генов окраски перикарпа, несмотря на то, что именно этим генам уделяется особое внимание в связи с оздоровительным эффектом зернового питания. Настоящая статья посвящена рассмотрению сходства и специфики генетического контроля биосинтеза флавоноидов в зерновке у трех родственных культурных злаков – пшеницы, ячменя и ржи, их биологической роли в ходе развития зерновки и прорастания семян.

Ключевые слова: злаки, зерновка, флавоноиды, антоцианы, генетический контроль.

DOI: 10.31857/S0016675824020012 EDN: EDEEHR

В норме у злаков варьирующая по интенсивности антоциановая окраска растения проявляется на листовых пластинках и влагалищах, ушках, узлах и междоузлиях, осях и жилках цветковых чешуй. Для пшеницы и ржи, в отличие от ячменя, характерна окраска колеоптиля. Биосинтез антоцианов в вегетативных органах растений значительно активируется под влиянием биотических и абиотических стрессовых факторов. Антоцианы выступают в роли антиоксидантов, гасящих избыточные активные формы кислорода (АФК), образующиеся при нормальном функционировании клеток и в процессе развития стрессовых реакций [1,2]. Считается, что антоцианы в генеративных органах – цветках, плодах и семенах синтезируются конститутивно, привлекая животных – опылителей и распространителей семян. Однако эта функция окрашенных флавоноидов далеко не очевидна в случае злаков. Исследования, проведенные на кукурузе [3], позволили заключить, что прак-

тически любая ткань растения с нормальным генотипом способна к образованию антоцианов. Базовый антиокислительный потенциал растительных клеток обеспечивают фенольные соединения, присутствующие в окрашенных и неокрашенных тканях, антиоксиданты нефенольной природы (аскорбиновая кислота и глутатион), а также антиокислительные ферменты, нейтрализующие свободные радикалы (супероксиддисмутаза, каталаза, аскорбатпероксидаза, глутатионредуктаза) [4].

Адаптивный ответ регистрируют на основании увеличения содержания антоцианов или активации транскрипции генов биосинтеза антоцианов в вегетативных органах растений [5]. Рассматривают разные механизмы адаптивного ответа, основанные на увеличении содержания антоцианов [5]. Первый связан с реакцией на холод, засоление и засуху. В этом случае накопление антоцианов восстанавливает нарушенный

осмотический баланс клеток. В реакции растений на соли тяжелых металлов на первый план выходят хелатирующие свойства антоцианов. Холод, засуха, засоление, а также ионы тяжелых металлов, дефицит азота или фосфора, высокая кислотность почвы, повреждение тканей, инфекция многими патогенами, интенсивное освещение, ультрафиолет ведут к избыточному образованию активных форм кислорода, нарушающих структуру белков, липидов и нуклеиновых кислот. Универсальный механизм адаптивного ответа может быть основан на высокой антиоксидантной способности антоцианов, синтез которых активируется в ходе реакции на стрессовые факторы. Многообразие вариантов регуляции биосинтеза антоцианов, как на уровне одного вида, так и на межвидовом уровне, подтверждает их возникновение в ходе адаптивной эволюции. Антоцианы являются одними из наиболее активных антиоксидантов среди флавоноидов и других соединений первичного и вторичного метаболизма [5]. Их роль в качестве антиоксидантов проявляется и в наружных тканях плода у злаков с окрашенными оболочками – перикарпе, тесте и алейроновом слое. В каждой из этих тканей функционирует эволюционно сложившийся механизм регуляции биосинтеза окрашенных флавоноидов, механизмы их транспорта и накопления в вакуолях. У пшеницы, ячменя и ржи с пурпурной (фиолетовой) окраской перикарпа конечными продуктами биосинтеза являются производные цианидина, с голубой окраской алейрона – производные дельфинидина. В семенной оболочке (тесте) у пшеницы и ржи накапливаются окрашенные, а у ячменя неокрашенные (неокисленные) проантоцианидины. У дикорастущих родственных видов существует генетическая изменчивость по регуляторным генам, контролирующим биосинтез флавоноидов в этих тканях. Как правило, предковые дикорастущие виды характеризуются окрашенным зерном, это относится и к предшественникам кукурузы, риса и сорго [6]. Однако для каждого из культурных злаков существует своя история потери и приобретения генов окраски зерна. Несмотря на функциональный консерватизм структурных и регуляторных генов биосинтеза флавоноидов, у разных видов однодольных и двудольных растений существует специфика в его организации, связанная с видовыми эколого-физиологическими особенностями. Особенности метаболизма характерны для таких хорошо изученных злаков, как кукуруза, рис, пшеница и ячмень. Пшеница и ячмень эволюционно наиболее близки, они относятся

к трибе пшеницевых (Triticeae). К этой трибе относится и рожь, исследования которой находятся в зачаточном состоянии. Секвенирование генома у ржи открывает новые перспективы в исследовании биосинтеза антоцианов у этого объекта в сравнительном плане и в первую очередь в отношении тканеспецифического синтеза флавоноидов в зерне [7, 8]. Оболочки зерна играют важную роль в ходе развития и прорастания семян злаков. Перикарп выполняет защитную, фотосинтетическую и транспортную функции, алейрон обеспечивает накопление и утилизацию запасных веществ, семенная оболочка контролирует прорастание семян. Каждая из этих оболочек обладает собственной системой биосинтеза флавоноидов, которым отводится функция защиты от стрессовых факторов среды. Высококонсервативные элементы этой системы включают структурные гены биосинтеза, кодирующие ферменты фенилпропаноидного пути биосинтеза [9]. Работа структурных генов контролируется регуляторными генами, кодирующими транскрипционные факторы R2R3-MYB и bHLH-MYC, а также корегулятор WD40. Вместе они составляют так называемый MBW-комплекс, распознающий регуляторные элементы в промоторах структурных генов и активирующий их экспрессию [10].

ТРАНСПОРТ И НАКОПЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ВАКУОЛИ

Ферменты, участвующие в биосинтезе флавоноидов, могут формировать на поверхности эндоплазматического ретикула мультиферментный комплекс, состав и конечные продукты которого зависят от активности транскрипционных факторов, действующих в конкретной ткани [9, 10]. Гликозилирование, ацилирование и метилирование в определенных положениях атомов углеродного скелета придают стабильность и специфичность синтезируемым продуктам. Гликозилированные формы антоцианидинов (антоцианы), флавонолов, флавонов и предшественников проантоцианидинов транспортируются в центральную вакуоль, где модификация завершается, а в случае предшественников проантоцианидинов происходит их полимеризация. Центральная вакуоль в растительной клетке выполняет функции запасаения, детоксикации и деградации химических соединений в нормальных и стрессовых условиях. Установлено, что в вакуоли и цитоплазме действуют гликозилтрансферазы и ацилтрансферазы, принадлежащие к разным филогенетическим линиям [11].

Неокрашенные флавоноиды обнаружены также в ядре, хлоропластах и митохондриях, в этих органеллах они могут выполнять преимущественно защитную, а в ядре и регуляторную роль [5]. При цитологических исследованиях обнаружено два типа распределения антоцианов в клетках окрашенных тканей [12]. Антоцианы могут быть равномерно распределены в вакуоли или могут встречаться в виде компактных интенсивно окрашенных образований, получивших название согласно присутствию в цитозоле – пре-вакуолярных компартментов (*pre-vacuole compartments, PVC*) и в вакуоли – антоциановых вакуолярных включений (*anthocyanic vacuolar inclusions, AVI*). Морфология *AVI* зависит от вида растений и типа клеток, в которых происходит накопление (конденсация) антоцианов. Большинство *AVI* имеют строение пузырьков (везикул) с однородным содержимым, часть обладает округлой формой с гранулярным содержимым. У первых присутствует мембрана, формирующая везикулу, у вторых мембрана не обнаружена, что может служить характерным признаком везикул этого типа. Установлено, что “конденсации” и упаковке антоцианов в структуре *AVI* способствует их определенное строение. При этом ключевыми факторами являются гидроксильное В-кольцо, гликозилирование в 3-*O*-положении и ароматическое ацилирование [12]. Распределение антоцианов в клетке может быть связано с разными способами их доставки к месту локализации. Обсуждаются два основных механизма транспорта флавоноидов [11]. Согласно первому, транспортер глутатион-*S*-трансфераза (*GST*), локализованная в цитоплазме и ассоциированная с эндоплазматическим ретикуломом, связывает флавоноиды и доставляет их к тонопласту, где такие комплексы проникают в вакуоль с помощью АТФ-связывающих кассетных транспортеров (*ATP-binding cassette transporters, ABC*). *GST* выполняет транспортную и защитную функции до попадания в вакуоль. Такой опосредованный транспорт в везикулах может существовать параллельно с прямым транспортом, поскольку загрузка везикул может осуществляться путем прямого транспорта [11]. Предполагается, что загрузка флавоноидов в пространство эндоплазматического ретикула при образовании пре-вакуолей осуществляется, как и в случае транспорта через тонопласт, с участием мембранных транспортеров *MATE* (*multidrug and toxic compound extrusion transporter*) и лигандин (*GST*). Наиболее вероятно, что *ABC*-транспортеры играют главную роль в транспорте антоцианов, а *MATE*-транспортеры встречаются реже

[11]. Наличие нескольких изоформ *MATE* свидетельствует о их возможной специфичности по отношению к определенным флавоноидам или же их различной внутриклеточной локализации. Специфику взаимодействия с белками-транспортерами определяет и положение боковых метильных или ацильных групп в молекуле флавоноидов. Адресная доставка везикул и их слияние с мембранами других органелл обусловлены мембранными рецепторами [13].

Цитологические данные о транспортировке и накоплении антоцианов в перикарпе и других оболочках зерновки крайне малочисленны. По аналогии с модельными объектами у двудольных обсуждаются две модели транспорта антоцианов в вакуоль у черного риса [14]. Первая – это перемещение к тонопласту в везикулах с последующим попаданием в вакуоль по механизмам автофагии. Вторая модель предполагает участие белков-транспортеров как цитоплазматической локализации, так и встроенных в тонопласт. В ходе исследований был идентифицирован ген *OsMATE34* (*Os08g0562800*), кодирующий белок семейства *MATE*-транспортеров, локализованный в плазматической мембране и тонопласте и схожий с белками, участвующими в транспорте антоцианов у других растений [14]. При локализации в плазмолемме этот белок обеспечивает выход соединений из клетки в обмен на ион H^+ . При локализации в тонопласте он, напротив, способствует поглощению переносимых соединений благодаря градиенту pH, значения которого высоки (щелочная среда) в цитоплазме и низки (кислая среда) в вакуоли. Ген *OsMATE34* и ген глутатион-*S*-трансферазы *OsGSTU34* (*Os10g0395400*) дифференциально экспрессируются в зерновке черного риса наряду со структурными генами биосинтеза антоцианов *OsPAL*, *OsCHS*, *OsCHI*, *OsF3H*, *OsDFR*, *OsANS* и *OsUFGT/Os3GT*, что свидетельствует о единой регуляции этих генов со стороны MYB-bHLH-WD40 (*MBW*) комплекса [14]. Аналогичный вывод сделан авторами публикации и в отношении одного из генов, контролирующей устойчивость к засухе и окислительному стрессу. Этот ген принадлежит к семейству генов, контролирующей транскрипцию генов глутатионпероксидазы, что представляет несомненный интерес в связи с обсуждаемой антиоксидантной функцией антоцианов. Наиболее вероятно, что антоцианы в зерне черного риса поступают в вакуоль по механизму автофагии везикул, нагруженных антоцианами с участием транспортного белка *MATE* [14]. Антоцианы в перикарпе у риса появляются

на седьмой день от оплодотворения и несколько позже антоцианы обнаруживаются в тесте и алейроне. Гены биосинтеза антоцианов и гены белков-транспортеров *OsMATE34* и *OsGSTU34* в зерновках черного риса имеют одинаковый профиль транскрипции. В то же время в окрашенных листьях черного риса наряду с геном *OsGSTU34* действует ген *OsMRP15*, принадлежащий к семейству генов ABC-транспортеров. Предполагается, что этот ген участвует и в транспорте флавонолов в тканях неокрашенных рылец у тех же форм черного риса [15]. В протопластах, изолированных из пигментированных рылец у тех же форм черного риса, установлена флуоресценция антоцианов при облучении светом 552 нм. Это позволило выявить антоцианы, диффузно растворенные в вакуоли и антоцианы, сконцентрированные в виде интенсивно высвечивающихся телец, расположенных в основном в цитоплазме, примыкающей к тонопласту, и частично локализованных в самой вакуоли. Размеры и форма телец, соответствующих ранее описанным [12] антоциановым вакуолярным включениям (AVI), значительно варьируют от клетки к клетке и в пределах клетки. Этот факт может указывать на динамику в организации и перемещении AVI в ходе накопления антоцианов в вакуоли. Авторы делают вывод о соответствии полученных данных ранее предложенным моделям синтеза и транспорта антоцианов у двудольных и о возможном переносе этой модели на биосинтез антоцианов в тканях риса [14].

Механизмы накопления антоцианов в тканях зерновки и других органов у растений характеризуются как консерватизмом, так и видовой, тканевой и онтогенетической спецификой. На микрофотографиях срезов незрелых зерновок у двух линий кукурузы с антоцианами только в алейроне или только в перикарпе живые клетки алейрона выглядят равномерно заполненными пигментами со множеством интенсивно окрашенных включений. Клетки перикарпа, прошедшие к моменту анализа через процессы клеточной гибели, спрессованы в узкую окрашенную полосу [16]. У злаков клетки алейрона содержат два типа вакуолей – литические вакуоли и вакуоли, запасующие белки [17]. Оба типа вакуолей короткое время сосуществуют друг с другом в одной клетке и каждый доминирует на разных стадиях развития. Топопласты этих вакуолей схожи по наличию транспортных белков. В созревающих семенах литические вакуоли превращаются в вакуоли, накапливающие белки, при прорастании же происходит обратная трансформация.

Типы вакуолей различают при помощи маркерных белков. Оба типа вакуолей при прорастании семян сливаются, образуя центральную вакуоль [17]. При прорастании зерновок риса алейрон секретирует гидролитические ферменты в крахмалистый эндосперм, происходит слияние вакуолей с образованием центральной литической вакуоли с последующей гибелью клеток. Разрыв тонопласта и разрушение центральной вакуоли является морфологическим проявлением программируемой гибели клеток алейрона [18]. Можно предположить, что неокрашенные флавоноиды и антоцианы, освобождающиеся при разрушении тонопласта, выполняют защитные функции по отношению к чувствительным соединениям клеток, используемых проростком для роста и развития.

ФУНКЦИИ ОБОЛОЧЕК ЗЕРНОВКИ И АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ

Трехслойный перикарп (эндо-, мезо- и эпикарп) образуется из материнских тканей стенки завязи. В ходе раннего развития зерновки мезокарп подвергается программируемой клеточной гибели, а эндокарп превращается в фотосинтетически активную ткань, состоящую из слоев поперечных и трубчатых клеток [19]. Перикарп является местом фотосинтетической фиксации углерода и одновременно местом временного накопления продуктов фотосинтеза. Считается, что из-за малого количества устьиц на поверхности перикарпа основным источником углерода является не атмосферный углекислый газ, а углекислый газ, образованный в ходе дыхания [19, 20]. Фотосинтетическая активность эндокарпа зерновок может составлять до 42% от общей активности колоса [21]. Она сохраняется до поздних стадий развития зерновки, снабжая ткани кислородом и продуктами фотосинтеза, а также способствуя поглощению избыточной световой энергии в период налива зерна [22]. Программируемой гибели клеток перикарпа предшествует автофагия – перемещение компонентов клетки в вакуоль или лизосомы с последующей их деградацией [23]. У пшеницы оба процесса развиваются от основания колоса к его верхушке, определяя толщину перикарпа в зерновках разного уровня расположения. Установлено важное значение автофагии в реакции проростков пшеницы на биотические и абиотические стрессорные факторы, обычно обсуждаемые в связи с антиоксидантной ролью флавоноидов [23]. Участие перикарпа в развитии семени включает в себя синтез и накопление собственных продук-

тов фотосинтеза и других соединений первичного и вторичного метаболизма, иммобилизацию продуктов катаболизма в ходе программируемой гибели клеток, транспорт воды и питательных веществ [20]. Предполагается, что перикарп механически ограничивает размеры зерновки и ее способность к наливу зерна. Вклад фотосинтеза в этот процесс в различных частях колоса у пшеницы, в том числе в перикарпе, значительно возрастает на стадии налива зерна в условиях водного дефицита, который негативно отражается на фотосинтетическом потенциале флагового листа [22]. Ряд фактов указывает на специфические особенности фотосинтеза, протекающего в перикарпе [21].

Теста (семенная оболочка), являющаяся материнской по происхождению тканью, развивается из наружного покрова семяпочки. В зрелом зерне перикарп и теста представлены мертвыми клетками, включающими множество накопленных соединений вторичного метаболизма и продуктов катаболизма, а также ряд ферментов, сохраняющих активность в отмерших тканях [24]. Эти соединения включают окрашенные и неокрашенные флавоноиды, которые могут способствовать росту и устойчивости проростков на ранних этапах развития.

Алейрон – наружный слой триплоидного эндосперма, представленный у кукурузы, пшеницы и ржи одним слоем клеток, а у риса и ячменя – тремя-четырьмя. Роль эндосперма заключается в накоплении и транспорте питательных веществ. Модифицированные клетки алейрона входят в состав проводящей ткани, расположенной у пшеницевых в глубине бороздки. Эта проводящая система играет важную роль при наливе зерна. Клетки алейрона сохраняют жизнеспособность до прорастания семян и подвергаются программируемой клеточной гибели после секреции гидролитических ферментов в крахмалистый эндосперм и формирования центральной вакуоли. Разрушение центральной вакуоли совпадает с началом программируемой гибели клеток алейрона [18].

Способность неокрашенных и окрашенных флавоноидов (антоцианов и проантоцианидинов), синтезируемых в оболочках зерна, поглощать ультрафиолет и видимый свет широкого диапазона может предотвращать образование активных форм кислорода (фотопротекция) [1, 2]. Обсуждается участие в стрессовых реакциях на свет трихом – выростов эпидермальных клеток,

формирующих хохолок на поверхности зерновки, обращенной к солнцу [25]. У зерновок ржи, даже с неокрашенным перикарпом, этот участок зерновки приобретает переходящую антоциановую окраску. Имеются данные о том, что выполнившие свою функцию хлоропласты поглощаются вакуолью в клетках перикарпа (хлорофагия) в результате стрессовой реакции на UV-B и интенсивный видимый свет [23]. Трихомы у многих растений содержат антоцианы. У арабидопсиса MBW-комплексы, формируемые bHLH-MYC транскрипционными факторами GL3 или EGL3 (GLABRA 3 или ENHANCER OF GLABRA 3) и WD40 белком TTG1 (TRANSPARENT TESTA GLABRA 1), активируют не только антоциановую пигментацию различных органов, но и формирование трихом [26–29]. Это свидетельствует о схожей адаптивной роли формирования трихом и накопления флавоноидных соединений. Следует отметить и наличие пигмента вдоль бороздки у зерновок ржи дикого типа. Возможно, что индуцированное накопление антоцианов в структурах зерновки имеет приспособительное значение в ходе налива зерна в условиях водного стресса и доступности перикарпа солнечной радиации у открытозерных форм.

Антоцианы и неокрашенные флавоноиды вовлечены в инактивацию избыточных активных форм кислорода. Колокализация источников АФК и флавоноидов имеет важное значение для выполнения их антиоксидантной функции [1, 2]. У ряда объектов для неокрашенных флавоноидов показана их локализация не только в вакуоли, но и в ядре, хлоропластах и митохондриях. Подчеркивается, что ядерная локализация флавоноидов способствует не только “гашению” АФК, но и связыванию ионов переходных металлов, ограничивая появление новой волны АФК, а также может играть роль в регуляции активности генов [1]. Однако подавляющее большинство неокрашенных и окрашенных флавоноидов в тканях зерновки, как и в клетках вегетативных тканей, накапливается в вакуоли. У злаков, принадлежащих к трибе пшеницевых, в окрашенном перикарпе накапливаются преимущественно производные цианидина, в окрашенном алейроне – производные дельфинидина, а в семенной оболочке (тесте) – олигомерные и полимерные проантоцианидины. В литературе в связи с их адаптивной ролью обсуждаются в основном проантоцианидины семенной оболочки [30].

У пшеницы и ячменя семенная оболочка содержит проантоцианидины, образующиеся в ре-

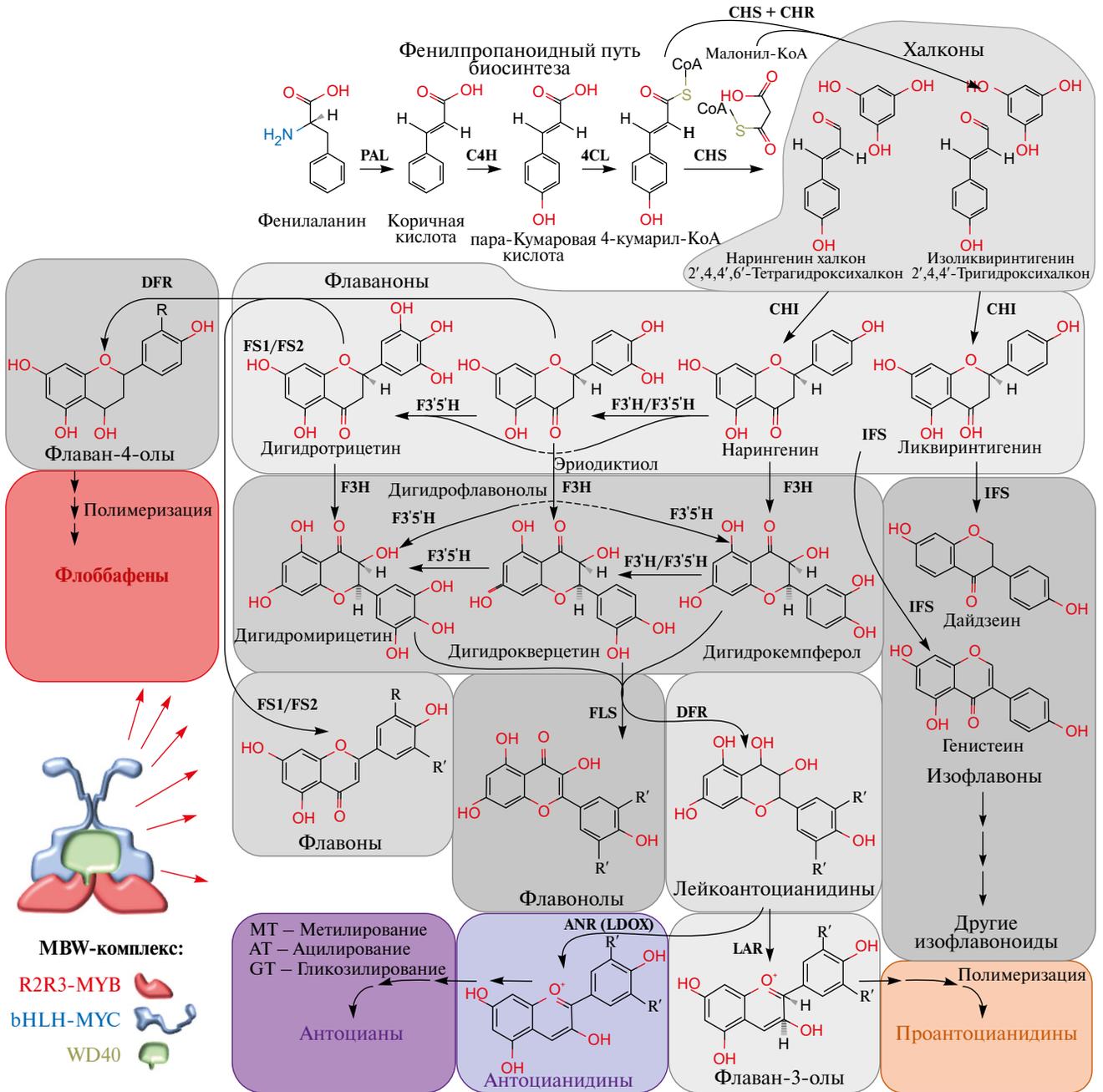


Рис. 1. Схема пути биосинтеза флавоноидов у растений. Классы неокрашенных флавоноидов выделены оттенками серого цвета, окрашенные флавоноиды (флобафены, проантоцианидины, антоцианидины и антоцианы) выделены цветами. Путь биосинтеза флавоноидов у растений начинается, как и у всех фенольных соединений, с последовательных превращений фенилаланина, катализируемых фенилаланинаммияклизой (PAL, phenylalanine ammonia-lyase), 4-гидроксилазой коричной кислоты (C4H, cinnamic acid 4-hydroxylase) и 4-кумарат-КоА-лигазой (4CL, 4-Coumarate-CoA ligase). Халконсинтаза (CHS, chalcone synthase) опосредует синтез нарингенин-халкона – предшественника большинства флавоноидов, а совместное действие халконсинтазы и халконредуктазы (CHR, chalcone reductase) обуславливает синтез халкона-предшественника изофлавоноидов изоликвиринтигенина. Халконы дают начало всем классам флавоноидов, что обуславливается работой следующих ферментов: халконизомеразы (CHI, chalcone isomerase), флавоносинтаз 1 и 2 (flavone synthase 1 and 2), изофлавоносинтазы (IFS, isoflavone synthase), флаванон-3-гидроксилазы (F3H, flavanone-3-hydroxylase), флавоноид-3'- и -3'5'-гидроксилазы (F3'H / F3'5'H, flavonoid-3' / 3'5'-hydroxylase), флавонолсинтазы (FLS, flavonol synthase), дигидрофлавонолредуктазы (DFR, dihydroflavonol reductase), лейкоантоцианидинредуктазы (LAR, leucoanthocyanidin reductase) и антоцианидинредуктазы/ лейкоантоцианидиндиоксигеназы (ANR, anthocyanidin reductase / LDOX, leucoanthocyanidin dioxygenase). Антоцианы синтезируются посредством модификации антоцианидинов посредством метилтранс-

фераз (MT, methyltransferase), ацилтрансфераз (AT, acyltransferase) и гликозилтрансфераз (GT, glycosyltransferase). Флаваноны и дигидрофлавонолы могут иметь разное количество гидроксильных групп, что опосредуется работой флавоноид-3'- и -3'5'-гидроксилаз и впоследствии приводит к синтезу различных флорафенов, флавонов, флавонолов, проантоцианидинов и антоцианидинов. Так, цианидин характеризуется наличием гидроксильной группы в 3'-положении, а дельфинидин – и в 3'-, и в 5'-положении. Экспрессия различных структурных генов биосинтеза флавоноидов напрямую активируется посредством связывания с их промоторами MBW-комплексов, состоящих из двух димеризованных молекул транскрипционного фактора bHLH-MYC, связанных каждая с одной молекулой транскрипционного фактора R2R3-MYB. Такой комплекс стабилизируется белком WD40.

зультате полимеризации флаван-3-олов (рис. 1), преимущественно катехина [31]. Окисленные проантоцианидины приобретают красно-коричневый цвет. Такой цвет характерен для краснозерной пшеницы, в зерне ячменя дикого типа проантоцианидины не окислены и бесцветны. У ячменя они присутствуют в высокой концентрации, придавая срезам семенной оболочки зернистую структуру [32]. Теста значительно толще у ячменя дикого типа чем у мутантов без проантоцианидинов. У краснозерной пшеницы не удалось обнаружить последовательности, ортологичные гену *AtTT10* (*TRANSPARENT TESTA 10*), кодирующему лакказу – фермент, участвующий в окислении проантоцианидинов у арабидопсиса [31]. В зрелой зерновке ржи семенная оболочка представлена тонким пигментным слоем коричневого цвета. Этот слой дает цветную реакцию на реагенты, выявляющие проантоцианидины [33]. В зерне у риса и просо проантоцианидины накапливаются в перикарпе. У просо в перикарпе, кроме проантоцианидинов, из флаван-4-олов могут синтезироваться аналогичные полимеры – флорафены (рис. 1) [34]. У кукурузы в перикарпе, кроме антоцианов, образуются исключительно флорафены. Проантоцианидины и флорафены широко распространены у высших растений, кроме плодов и семян они содержатся в коре, листьях и корнях. Биологическая функция этих полимеров неясна и может носить видоспецифический характер [34].

У пшеницы по мере развития зерновки происходит удлинение молекул проантоцианидинов, и в зрелом зерне остаются только высокомолекулярные неэкстрагируемые полимеры. Их нерастворимость может объясняться также образованием соединений с белками и полисахаридами. В зерне ячменя, кроме нерастворимых, обнаружены и растворимые олигомеры от димеров до гексамеров [34]. В селекции пивоваренного ячменя широко используются индуцированные мутанты с отсутствием или низким содержанием проантоцианидинов, которые, связываясь с белками, дают нежелательную взвесь. Известно десять генов, мутации в которых приводят к отсутствию проантоцианидинов в зерне [32]. Для

злаков давно обсуждается связь проантоцианидинов с преждевременным прорастанием (прорастанием на корню) и покоем семян. Краснозерная пшеница, в отличие от белозерной, менее склонна к прорастанию на корню [31]. Ячмень с его высоким содержанием проантоцианидинов характеризуется длительным периодом послеуборочного созревания. Рожь наиболее склонна к прорастанию на корню.

У ячменя мутации в гене *Ant28* (*Anthocyaninless 28*), кодирующем R2R3-MYB транскрипционный фактор, нарушают биосинтез проантоцианидинов, но не антоцианов. Ген *Ant28* обозначен *HvMyb10* согласно гомологии генам *TaMyb10* у пшеницы [35]. У мутантов по гену *HvAnt28/HvMyb10*, как и ожидалось, снижен период покоя семян. Однако связь между накоплением проантоцианидинов и периодом покоя не подтверждается для линий ячменя с нулевым аллелем гена флаванон-3-гидроксилазы *Ant17*. Мутанты по этому гену не синтезируют проантоцианидины в зерне и антоцианы в растении и не отличаются от нормы по периоду покоя семян [36]. К сожалению, потенциал коллекции мутантов ячменя по 28 генам биосинтеза флавоноидов [32] полностью не использован для выявления молекулярной функции этих генов [37]. Механизм возможного действия проантоцианидинов в контроле периода покоя семян не ясен. Обсуждают такие причины, как физическое препятствие увеличению объема семян, снижение проницаемости семенной оболочки для воды и/или кислорода, непосредственное влияние проантоцианидинов, их предшественников или метаболитов на покой и прорастание семян [31]. Хорошо известно, что повреждение наружных оболочек ускоряет прорастание семян. Из наблюдений за посевами пшеницы, ячменя и ржи следует, что птицы в первую очередь посещают пшеницу и ячмень, зерно ржи при таком выборе остается нетронутым. Горьковатый вкус многих плодов приписывают проантоцианидинам, и рассматривают его как признак, распознаваемый птицами. Зерно всех сортов ржи, в отличие от сортов белозерной пшеницы и пивоваренного

ячменя, имеет окрашенную семенную оболочку, содержащую проантоцианидины.

Считается, что сокращение периода покоя семян культурных растений произошло в ходе одомашнивания и последующей селекции [38]. Отбор на сокращение периода покоя мог привести к резкому снижению генетической изменчивости в отношении этого признака и преждевременному прорастанию семян культурных растений при избыточной влажности в период созревания. В изменчивости периода покоя проантоцианидины могли играть подчиненную роль. Сорнополевая рожь, предтеча культурной ржи, получила широкое распространение в качестве сорняка (*feral rye*) в посевах пшеницы в штате Северная Каролина [39]. Зерно этой ржи сохраняет жизнеспособность в почве от одного года до нескольких лет. Не известно, какую роль в этой изменчивости играет полиморфизм по содержанию проантоцианидинов. У риса показано, что основной вклад в устойчивость к прорастанию на корню вносит взаимодействие генов *SD6* (*Seed dormancy 6*) и *ICE2* (*Inducer of C-repeat binding factors expression 2*), кодирующих противоположно действующие транскрипционные факторы *bHLH-MYC*. Эффект взаимодействия аллелей этих генов зависит от температуры, он определяет содержание абсцизовой кислоты в зародыше и способность зерновок к прорастанию [40].

С использованием 10 мутантов ячменя по биосинтезу проантоцианидинов показано, что дикий тип не обладает большей устойчивостью к фузариозу зерна по сравнению с мутантами. Напротив, высокая устойчивость обнаружена у мутанта *ant18-159*, накапливающего незначительное количество дигидрокверцетина, как результат нонсенс-мутации в гене дигидрофлавонолредуктазы [41].

Особенности протекания фотосинтеза в колосе пшеницы могут быть связаны с развитием семян в условиях стресса, вызванного недостатком влаги и избыточным освещением, сопровождающим налив зерна у злаков [19, 21]. Неблагоприятные условия при формировании зерновок отрицательно влияют на плодовитость и выживаемость всходов. У дикорастущих предков современных злаков появление сложной антиоксидантной защиты в плодовой, семенной оболочках и алейроне могло быть связано с обеспечением выживаемости зародыша и проростков в неблагоприятных условиях развития. Эта

система может участвовать в антистрессовых реакциях при прорастании семян в условиях низких температур у озимых злаков и недостатке влаги у яровых форм. Можно предположить, что у северных злаков формирование специфического метаболизма антоцианов в алейроне шло под влиянием отбора в условиях высокогорного расселения. Для его формирования оказалось недостаточно мутационного изменения только в одном регуляторном гене, как в случае черного риса. Отбор затрагивал аминокислотную последовательность ключевого фермента биосинтеза дельфинидина – флавоноид-3'5'-гидроксилазы (F3'5'H), регуляторные последовательности генов двух транскрипционных факторов – R2R3-MYB и bHLH-MYC, и в итоге привел к кластерной организации трех генов, контролирующих биосинтез дельфинидина в алейроне у некоторых представителей видов подсемейства *Pooideae*, о чем пойдет речь в следующем разделе.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОВ ОКРАСКИ ЗЕРНОВКИ У КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ

Происхождение и эволюцию биосинтеза флавоноидов связывают с выходом растений на сушу [42]. Многообразие контрастных условий новой среды явилось фактором отбора адаптивных мутаций. Такие мутации могли происходить в генах, контролирующих первичный метаболизм и представленных в геноме несколькими копиями, возникшими в результате дубликации отдельных последовательностей или всего генома. Филогенетический анализ показал, что гены двух первых ферментов биосинтеза флавоноидов – халконсинтазы (CHS) и халконизомеразы (CHI) произошли от генов, участвующих в метаболизме жирных кислот. Такие эволюционные связи прослеживаются для всех структурных и регуляторных генов, контролирующих не только биосинтез флавоноидов, но и вторичный метаболизм в целом [42]. Особенности молекулярной структуры флавоноидов обусловили их участие в адаптивной эволюции всех групп наземных растений на основе общих механизмов их действия [42]. Биосинтез флавоноидов регулирует универсальный для растений комплекс транскрипционных факторов, встроенный в общую систему регуляции метаболизма. В ходе эволюции растений на внутривидовом и межвидовом уровнях сложились различные варианты этого комплекса, регулируемые онтогенетически и в ответ на изменяющиеся условия среды.

Материалом эволюционных преобразований у культурных растений служит спонтанная генетическая изменчивость, которая поставляет материал для одомашнивания и селекции. Очевидно, что отбор на полезные для человека признаки не всегда вел к улучшению адаптивных свойств растений. Это несоответствие возникает как за счет плейотропии, так и эффекта сцепления генов с разными функциями. Окраску зерновки не относят к признакам, входящим в синдром одомашнивания [43]. Дикорастущие предки и культурные растения различаются частотой встречаемости активных и неактивных аллелей генов, контролирующих биосинтез флавоноидов в отдельных оболочках зерновки. Адаптивная роль окраски зерновки (сухого плода) строго не доказана, на нее ссылаются по аналогии с окраской генеративных органов у двудольных растений [10] или считают очевидной, исходя из общих представлений о функции антоцианов [1, 9]. При обсуждении адаптивной роли антоциановой окраски зерновки, а точнее роли окрашенных флавоноидов, надо принимать во внимание их эволюционное происхождение и существующие морфофизиологические и экологические различия между видами. Такие различия сложились между зерновыми южного происхождения (кукуруза, рис, просо) и северными злаками. У пшениц, ячменя и ржи есть яровые и озимые формы, северные злаки устойчивы к заморозкам, влаголюбивы, требуют длинного дня для развития и характеризуются еще целым комплексом отличительных признаков, которые могут быть связаны с биосинтезом флавоноидов в тканях зерновки и вегетативных органов.

Адаптивную роль флавоноидов устанавливают как изменение их концентрации или транскрипционной активности генов их биосинтеза в ответ на стрессовый фактор [5]. Этот подход можно назвать эколого-физиологическим. Другой подход основан на филогенетическом анализе генов и моделировании структуры и функции белков, кодируемых этими генами. Установленные различия между паралогами и/или ортологами объясняют действием факторов отбора, имеющих естественный или искусственный характер.

Эволюция структурных генов биосинтеза флавоноидов

Фенольные соединения у растений синтезируются преимущественно из фенилаланина посредством фенилпропаноидного пути био-

синтеза, одной из ветвей которого является биосинтез различных классов флавоноидов (рис. 1) [9]. Общей и ключевой реакцией для всех классов флавоноидов является синтез халконов посредством халконсинтазы (CHS) и их изомеризация под действием халкон-флаванонизомеразы (CHI) с образованием флаванонов. Работа дальнейших разнообразных ферментов обуславливает последовательные превращения с образованием многих классов флавоноидов, в том числе флавонолов, проантоцианидинов и антоцианидинов (рис. 1). Молекулы этих соединений подвергаются дополнительным модификациям сахарами, метильными группами и другими заместителями с участием множества дополнительных ферментов, что придает им различные свойства, имеющие значения как для адаптации растений, так и приносящие пользу человеку [9, 44, 45].

У злаков филогенетический анализ был проведен для структурных генов, кодирующих флавоноид-3'-гидроксилазу (F3'H) [46] и флавоноид-3',5'-гидроксилазу (F3'5'H) [47]. Эти ферменты участвуют в гидроксировании В-кольца флаванонов и дигидрофлавонолов на начальных этапах биосинтеза антоцианидинов цианидина и дельфинидина соответственно. Выявлены две независимые линии эволюции генов флавоноид-3'-гидроксилазы, предположительно возникшие после дубликации исходной последовательности у общего предка однодольных растений и последующего удвоения, а затем и утраты ряда копий у отдельных таксонов [46]. Предполагается, что обнаруженные функциональные различия между ферментами, кодируемыми генами из разных филогенетических линий, вызваны положительным естественным отбором, повлиявшим на связывание субстрата активным центром. По мнению авторов, это может объяснить новую 5'-гидроксилазную активность ферментов одной из эволюционных линий у риса и других злаков по отношению к хризоериолу. В результате этой реакции образуются флавоноиды селгин, а затем и трицин, выполняющий у злаков важные защитные и структурные функции [46]. Между паралогами, кодирующими F3'H, обнаружены транскрипционные различия, носящие видоспецифический характер. У ячменя один ген транскрибируется в алейроне, перикарпе и лемме/палее, а его копия — в вегетативных органах [48]. Один из генов флавоноид-3',5'-гидроксилазы активен в алейроне, а его копия транскрибируется во многих тканях [48].

Флавоноид-3',5'-гидроксилазы у злаков также можно разделить на два класса, названные Mo_F35H1 и Mo_F35H2 (Monocot F3'5'H) [47]. Предполагается, что гены ферментов разных классов возникли путем дупликации в геноме общего предка и дальнейшей дивергенции в ходе видообразования под влиянием отбора [47]. Последовательности, кодирующие Mo_F35H1, обнаружены у всех изученных видов семейства Poaceae, а последовательности Mo_F35H2 только у некоторых видов подсемейства Pooideae, к которым относятся пшеница, ячмень и рожь. Белки Mo_F35H2 обладают большим сходством с флавоноид-3',5'-гидроксилазами двудольных растений, чем с Mo_F35H1. По мнению авторов, это сходство указывает на конвергентную адаптивную эволюцию флавоноид-3',5'-гидроксилаз, специфичных для Pooideae, и флавоноид-3',5'-гидроксилаз двудольных на уровне аминокислотных замен [47].

Специфической эволюции у пшеницевых были подвержены и гены халконизомеразы (CHI) [49]. Однако в этом случае эволюция затрагивала не белок-кодирующую последовательность, а экзон-интронную структуру генов *Chi*. Было показано, что у предполагаемого предка злаков ген халконизомеразы содержал четыре экзона и три интрона. Такая структура сохранилась и по сей день у большинства злаков, включая кукурузу и рис, однако для всех представителей трибы Triticeae характерна утрата третьего интрона. У ржи *Secale cereale* дополнительно утрачен и второй интрон, вследствие чего ее ген халконизомеразы содержит лишь два экзона. Структура белка CHI консервативна и не имеет принципиальных различий у всех злаковых [49]. С чем связана утрата интронов в гене *Chi* у пшеницевых неизвестно, однако, такое явление наблюдается и в других группах растений [50], а также в некоторых других генных семействах [51, 52]. Предполагается, что делеция интронов может способствовать более быстрой транскрипции гена, что в случае халконизомеразы может свидетельствовать об адаптации к неблагоприятным условиям посредством быстрого накопления флавоноидных соединений [49, 53].

Эволюция регуляторных генов биосинтеза флавоноидов

Ключевыми регуляторами временной и пространственной специфичности биосинтеза флавоноидов являются белки семейств bHLH-MYC, R2R3-MYB и WD40, формирующие MBW-комплексы (рис. 1) [10]. С момента пер-

вых данных о совместной регуляции биосинтеза флавоноидов этими белками, полученными при изучении регуляторных генов *R (Red)*, *C1 (Colorless 1)* и *PAC1 (Pale aleurone color 1)* у кукурузы [54–60], и генов *GL1*, *GL3 (GLABRA)*, *TT2*, *TT8 (TRANSPARENT TESTA)* и *TTG1 (TRANSPARENT TESTA GLABRA 1)* у арабидопсиса [61–65], у многих растений обнаружены MBW-комплексы, регулирующие биосинтез флавоноидов и, в частности, антоцианов. Разнообразие MYC- и MYB-генов определяет специфичность и интенсивность биосинтеза флавоноидов и может формировать сложные варианты пигментации растений [59, 63, 65–73].

У ячменя структурный ген *HvF35H (HvF3'5H)* вместе с двумя регуляторными генами *HvMYB4H (HvMyc2)* и *HvMYC4H (HvMyc2)* входит в состав трехгенного кластера MbHF35 (MYB-bHLH-F3'5'H), локализованного в хромосоме 4H [47, 74]. Все три гена специфически экспрессируются в алейроне. Кластерная организация генов биосинтеза дельфинидина в алейроне, кроме ячменя, установлена еще для двух культурных злаков – пшеницы с локализацией кластера в хромосоме 4D и ржи с кластером в гомеологичном фрагменте хромосомы 7R. У *Aegilops tauschii* – донора генома D мягкой пшеницы сохраняется кластерная организация, однако гомолог *HvMYC4H* у *Aegilops tauschii* представлен нефункциональным аллелем или псевдогеном, что соответствует отсутствию окраски алейрона у изученных форм этого вида [47]. Гены, входящие в кластер, составляют отдельные филогенетические линии у видов Triticeae. Локализация в гомеологичных фрагментах хромосом у пшеницы и эгилопса (4D), ячменя (4H) и ржи (7R) указывает на происхождение кластера от общего предка и параллельную эволюцию генов, обеспечивающих биосинтез производных дельфинидина в алейроне. Установлено, что последовательность этих генов складывалась под влиянием естественного отбора. Идентифицировано 13 аминокислотных остатков в структуре белка HvF35H, которые могли появиться в результате естественного отбора на термостабильность белковой молекулы [46, 47]. Зерновка злаков подвержена интенсивному освещению и нагреву в критический период налива зерна. “Голубой” антоциан имеет более широкий спектр поглощения и является лучшим фотопротектором и антиоксидантом чем, “красный” антоциан [47]. Эти различия могли способствовать формированию эффективной системы защиты на основе производных дельфинидина у предковых видов ячменя, пше-

ницы и ржи, занимавших высокогорные участки с резкими колебаниями дневной температуры, интенсивным освещением и дефицитом влаги. Вероятно, что тесное сцепление генов, контролирующих биосинтез дельфинидина, необходимо для совместной регуляции их транскрипции и ускорения ответа на факторы стресса.

Все изученные формы дикорастущего ячменя *H. spontaneum* фиксированы по активным аллелям окраски алейрона в регуляторных генах *HvMYB4H* и *HvMYC4H*. У большинства из них зерно имеет голубую окраску. Местные голубозерные сорта *H. vulgare* также несут активные аллели окраски алейрона в генах *HvMYB4H* и *HvMYC4H*. У белозерных сортов ячменя один или оба гена представлены неактивными аллелями. Наиболее вероятно, что преобладание этих аллелей у культурного ячменя связано с его одомашниванием и последующей селекцией белозерных форм [47].

Голубой алейрон у мягкой пшеницы контролируется локусами, включенными в геном отдельных сортов при отдаленной гибридизации. Локусы голубозерности *Ba1* и *Ba2* (*Blue aleurone*) установлены у диплоидных видов пырея *Thinopyrum ponticum* (syn. *Agropyron elongatum*) и пшеницы однозернянки *Triticum monococcum*, окультуренной формы *T. boeoticum*, соответственно [75]. Ген *ThMYC4E* (локус *Ba1*) в составе целой хромосомы 4E или ее фрагментов обеспечивает синтез антоцианов в алейроне у пшеницы, полученной на основе гибридизации с *Thinopyrum ponticum* [76]. У голубозерной пшеницы найдены ортологи трех генов ячменя *HvMYC4H*, *HvMYB4H* и *Hv35H*. Эти гены в составе локуса *Ba1* обозначены как *TaMYC4D*, *TaMYB4D* и *TaF35H* соответственно [46]. Маркеры активного гена *ThMYC4E* не обнаружены у изученных образцов *T. urartu*, *T. monococcum*, *T. turgidum*, *Aegilops tauschii* и *T. aestivum* с неокрашенным алейроном [76]. Ген диплоидной пшеницы *T. monococcum* *TbMYC4A* (локус *Ba2*) является ортологом генов *ThMYC4E* и *HvMyс2/HvMYC4H*. Аллелеспецифичный маркер этого гена не найден у белозерных *T. urartu*, *Ae. tauschii*, *T. turgidum*, *T. araraticum*, *T. zhukovskiyi* [77]. У ржи локализация генов, составляющих трехгенный кластер, проведена на основании сходства картированных контиг [78] с секвенированными генами ячменя [7, 8]. Очевидно, что вывод о наличии у ржи функционального кластера генов, контролирующих биосинтез дельфинидина в алейроне, требует экспериментального подтверждения.

Подавляющее большинство сортов мягкой пшеницы и ячменя представлены белозерными формами, не содержащими антоцианов в алейроне и, следовательно, несущими неактивные аллели по крайней мере в одном из генов окраски алейрона или генов, отвечающих за биосинтез антоцианов на всем растении. Преобладание неокрашенных генотипов у пшеницы и ячменя исторически связано с технологическими требованиями по переработке зерна на хлеб и пиво. Выход и белизна муки у пшеницы и низкое содержание проантоцианидинов в солоде ячменя стали одними из главных признаков, на которые был направлен отбор у хлебопекарной пшеницы и пивоваренного ячменя соответственно. У ржи благодаря ее аллогамной природе наблюдается внутрисортной полиморфизм по окраске алейрона. Остается невыясненным в каких сочетаниях присутствуют активные и неактивные аллели этих генов у современных пшениц, ячменя, ржи, а также родственных им дикорастущих видов *Triticeae*.

Роль антоциановой окраски зерна (наличия окрашенных флавоноидов) у культурных растений и их дикорастущих предков как адаптивного признака остается неясной. У большинства современных сортов злаков антоциановая окраска зерна отсутствует. Ее отсутствие связывают с фиксацией неактивных аллелей регуляторных генов, которые получили предпочтение в ходе одомашнивания и селекции кукурузы, риса, просо, пшеницы и ячменя [6]. В ходе эволюции и селекции кукурузы произошла реверсия от неокрашенного зерна у предкового вида теосинте через разнообразие окраски алейрона у примитивных южноамериканских форм кукурузы к неокрашенному зерну современных открыто опыляемых сортов и сортов-гибридов. Благодаря высокой активности транспозонов у местных форм возникли и вероятно благодаря эстетическому предпочтению закрепились доминантные мутации регуляторных генов *C1* (*Colorless 1*) R2R3-MYB-транскрипционного фактора и *R1* (*Red 1*) bHLH-MYC-транскрипционного фактора, приводящие к накоплению антоцианов в алейроне и появлению кукурузы с черным, голубым и красным зерном [79]. В ходе дальнейшей адаптации и селекции кукурузы в Европе и Америке число окрашенных форм снизилось, а после внедрения сортов-гибридов желтозерная кукуруза стала доминирующей [80]. При создании инбредных линий и гибридов предпочтение отдавалось более продуктивным формам кукурузы с неокрашен-

ным зерном. Красная окраска зерна присуща дикому рису *Oryza rufipogon*, имеющему общего предка с культурным белозерным рисом. Различия в окраске контролируют два гена: ген *Rc*, который кодирует транскрипционный фактор bHLH, и ген *Rd*, кодирующий дигидрофлавонол-4-редуктазу. Эти гены участвуют в биосинтезе проантоцианидинов, в результате окисления которых в перикарпе образуется красный пигмент. Рецессивные мутации в гене *Rc* ведут к отсутствию пигмента, одна из этих мутаций получила широкое распространение в процессе одомашнивания риса [81]. Большинство сортов мягкой пшеницы не окрашены или обладают красной окраской зерна благодаря присутствию в семенной оболочке проантоцианидинов. Их биосинтез контролируется гомеологичными генами *TaR-1 (Red-1): Tamyb10-A1v3A, Tamyb10-B1v3B* и *Tamyb10-D1v3D* хромосомах пшеницы, кодирующими транскрипционные факторы MYB [82, 83]. Эти гены пшеницы являются ортологами гена *HvANT28/Hvmyb10* ячменя и эволюционно близки гену *AtTT2* арабидопсиса, каждый из которых также позитивно регулирует биосинтез проантоцианидинов [35, 82, 83].

Наиболее редки среди культурных злаков сорта с окрашенным перикарпом. Черная (пурпурная) окраска зерна не описана у дикого риса, она встречается только у местных сортов культурного риса, и появилась в ходе или после одомашнивания риса в Древнем Китае. Происхождение черного риса связывают с перестройками в промоторной области гена окраски растения *OsB2 (Booster 2/Os04g0557500)*, кодирующего транскрипционный фактор bHLH. Эктопическая экспрессия в перикарпе мутантного гена (аллеля гена *OsB2*), названного *Kala4* [84], ведет к биосинтезу антоцианов в присутствии доминантного аллеля гена *Kala3*, кодирующего транскрипционный фактор R2R3-MYB. Этот аллель у риса с антоцианом в перикарпе включает два tandemных повтора в промоторе вместо одного у неокрашенного риса [85]. В ходе одомашнивания зернового амаранта антоциановая окраска зерна была утрачена. Причем это произошло трижды на основе одного дикорастущего предкового вида и во всех случаях культурные виды включали мутации, независимо возникшие в локусе гена транскрипционного фактора MYB – ортолога гена *C1* кукурузы [86].

Пурпурная окраска перикарпа у гексаплоидной пшеницы связана с интрогрессией фрагментов хромосом 2A и 7D от фиолетовозерных

тетраплоидных пшениц из Эфиопии. У гексаплоидной пшеницы с окраской перикарпа идентифицированы доминантные комплементарные гены *Pp3 (Purple pericarp 3, хромосома 2A)* и *Pp1 (Purple pericarp 1, хромосома 7D)* [87–89]. Ген *Pp3/TaPpb1* кодирует транскрипционный фактор bHLH-MYC, а ген *Pp1/TaPpm1* – транскрипционный фактор MYB [90]. Показано, что аллель гена *Pp3/TaPpb1/TaMYC1* у белозерной пшеницы в проксимальном участке промотора содержит одну копию последовательности из 261 нуклеотида, а у пшеницы с окраской перикарпа – шесть копий, организованных в виде tandemных повторов [90, 91]. Кроме того, у белозерной пшеницы в кодирующей последовательности этого гена обнаружены три нефункциональных аллельных варианта [90].

Подавляющее большинство сортов ячменя имеют желтое зерно. Красная и пурпурная окраска зерна обнаружена у некоторых форм дикорастущего ячменя *Hordeum spontaneum* и отдельных форм культурного ячменя. Она контролируется доминантным аллелем *Pre2*, который предположительно является одним из аллелей гена антоциановой окраски вегетативных частей растения *Ant2*, кодирующего транскрипционный фактор bHLH-MYC, в комплексе с MYB-фактором Ant1 запускающий биосинтез антоцианов [92–94].

Многочисленные формы ржи *Secale cereale*, описанные в рамках 42 подвидов, имеют варьирующую по интенсивности антоциановую окраску отдельных органов: колеоптиля, листьев, узлов, междоузлий, элементов колоса. У каждой из них отмечается полиморфизм по окраске зерна [95]. Подавляющее большинство растений *Secale cereale* имеют зерно желтой и зеленой окраски, значительно реже коричневой и очень редко красной или фиолетовой окраски. Среди изученных форм *Secale cereale* subsp. *cereale* красная и фиолетовая окраска зерна описана только у отдельных образцов сорнополевой ржи. Моногибридное расщепление по фиолетовой окраске зерна ржи установлено разными авторами на независимо полученном материале [96]. Есть основания полагать, что все фиолетовозерные формы, обнаруженные у ржи, несут доминантные аллели одного и того же гена фиолетовозерности *Vs (Violet seed)*. Ген *Vs* [96] авторами публикации был переведен на яровой автофертильный фон. С использованием этой формы и транслокационного анализа ген *Vs* был локализован в хромосоме 2R под символом *Ps (Purple seed)* [97]. Нами получены данные, указывающие на ортологию

гена *Vs/Ps* и генов транскрипционных факторов *bHLH-MYC* у риса, пшеницы и ячменя, контролирующих биосинтез антоцианов в перикарпе зерновки. Наиболее вероятно, что у ржи наличие антоцианов в перикарпе находится под контролем *MBW*-комплекса, включающего факторы транскрипции семейств *R2R3-MYB* и *bHLH-MYC* и белок *WD40*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Роль флавоноидов в зерновке злаков может заключаться в фотопротекции и гашении активных форм кислорода, образующихся при фотосинтезе в перикарпе, а также их защитном действии при прорастании семян. При набухании и прорастании семян активация дыхания в алейроне ведет к появлению активных форм кислорода, которые играют регуляторную роль, а при их избытке оказывают токсичное действие. Восстановлению окислительно-восстановительного баланса способствуют как флавоноиды, так и антиокислительные ферменты, сохраняющие свою активность в мертвых тканях зерновки [98]. Установлено, что в оболочках зерна и цветковых чешуях сотни белков могут сохранять активную форму десятилетиями, освобождаясь в окружающую среду при прорастании семян. Эти ферменты наряду с накопленными в оболочках антиоксидантами способствуют выживаемости и активному росту проростков [24]. Тканеспецифичный биосинтез дельфинидина в алейроне и проантоцианидинов в семенной оболочке можно считать более универсальной адаптацией, чем биосинтез производных цианидина в перикарпе. Окраска перикарпа обнаружена у ограниченного числа дикорастущих видов злаковых растений и не получила распространения при одомашнивании и селекции. Окраску перикарпа можно отнести к локальной адаптации [99], свойственной отдельным популяциям и обладающей простым генетическим контролем. В ее основе могут лежать доминантные мутационные изменения (*gain-of-function mutations*) в регуляторных элементах генов транскрипционных факторов *bHLH-MYC* и *R2R3-MYB*, приводящие к эктопической экспрессии этих генов. Однако этот вывод не подкреплен полученными в полевых исследованиях данными, сочетающими анализ частоты проявления окраски перикарпа, геолого-географическую и метеорологическую характеристики мест обитания с анализом функциональных маркеров генов *bHLH-MYC*. В настоящее время биологическая активность

флавоноидов изучена гораздо лучше с диетической и медицинской точек зрения, чем в отношении их значения для самих растений. Основное внимание уделяется созданию сортов злаков – кукурузы, риса, пшеницы и ячменя с высоким содержанием антоцианов [100, 101]. Генетические и биотехнологические исследования направлены также на создание форм растений с высоким содержанием промежуточных соединений биосинтеза антоцианов [102] или получение генотипов, сочетающих высокое содержание антоцианов и других соединений вторичного метаболизма [103]. В этом отношении особый интерес представляет рожь с ее особенностями вторичного метаболизма, во многом связанными с перекрестным опылением и вторичным характером одомашнивания, которое протекало как эволюция сорного растения в посевах ячменя и пшеницы. Самонесовместимость ржи обеспечивает высокий уровень гетерогенности открыто опыляемых популяций ржи, в том числе по генам, контролирующим вторичный метаболизм. Сохранившаяся и получившая распространение сорнополевая рожь позволяет использовать ее популяции в качестве дополнительного материала для решения эволюционно-генетических проблем вторичного метаболизма у культурных злаков. Секвенирование геномов у двух образцов ржи [7, 8] открывает новые возможности в проведении таких исследований.

Исследование проводилось при частичной поддержке НЦМУ “Агротехнологии будущего”, договор № 075-15-2022-322 от 22.04.2022.

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

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Agati G., Brunetti C., Fini A. et al.* Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty years of our investigation // *Antioxidants*. 2020. V. 9. № 11. P. 1098. <https://doi.org/10.3390/antiox9111098>
2. *Sharma P., Jha A. B., Dubey R. S., Pessarakli M.* Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful con-

- ditions // *J. Botany*. 2012. V. 2012. P. 681. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
3. Coe E.H., Neuffer M.G., Hoisington D.A. The genetics of corn // *Corn and Corn Improvement*. Madison: Am. Society of Agronomy, 1988. P. 81–259. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr18.3ed.c3>
 4. Huang H., Ullah F., Zhou D.X. et al. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V. 10. P. 440–478. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
 5. Yan W., Li J., Lin X. et al. Changes in plant anthocyanin levels in response to abiotic stresses: A meta-analysis // *Plant Biotechnol. Reports*. 2022. V. 16. № 5. P. 497–508. <https://doi.org/10.1007/S11816-022-00777-7>
 6. Paauw M., Koes R., Quattrocchio F.M. Alteration of flavonoid pigmentation patterns during domestication of food crops // *J. Experim. Botany*. 2019. V. 70. № 15. P. 3719–3735. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz141>
 7. Li G., Wang L., Yang J. et al. A high-quality genome assembly highlights rye genomic characteristics and agronomically important genes // *Nature Genetics*. 2021. V. 53. № 4. P. 574–580. <https://doi.org/10.1038/S41588-021-00808-Z>
 8. Rabanus-Wallace M.T., Hackauf B., Mascher M. et al. Chromosome-scale genome assembly provides insights into rye biology, evolution and agronomic potential // *Nature Genetics*. 2021. V. 53. № 4. P. 564–573. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00807-0>
 9. Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // *Plant Physiology*. 2001. V. 126. P. 485–493. <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485>
 10. Davies K.M., Albert N.W., Schwinn K.E. From landing lights to mimicry: The molecular regulation of flower colouration and mechanisms for pigmentation patterning // *Funct. Plant Biology*. 2012. V. 39. № 8. P. 619–638. <https://doi.org/10.1071/FP12195>
 11. Pucker B., Selmar D. Biochemistry and molecular basis of intracellular flavonoid transport in plants // *Plants*. 2022. V. 11. № 7. P. 963. <https://doi.org/10.3390/plants11070963/S1>
 12. Buhrman K., Aravena-Calvo J., Ross Zaulich C. et al. Anthocyanic vacuolar inclusions: From biosynthesis to storage and possible applications // *Frontiers in Chemistry*. 2022. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.913324>
 13. Petrusa E., Braidot E., Zancani M. et al. Plant flavonoids-biosynthesis, transport and involvement in stress responses // *Intern. J. Mol. Sciences*. 2013. V. 14. № 7. P. 14950–14973. <https://doi.org/10.3390/ijms140714950>
 14. Mackon E., Jeazet Dongho, Epse Mackon G.C., Ma Y. et al. Recent insights into anthocyanin pigmentation, synthesis, trafficking, and regulatory mechanisms in rice (*Oryza sativa* L.) caryopsis // *Biomolecules*. 2021. V. 11. № 3. <https://doi.org/10.3390/biom11030394>
 15. Zhu Q., Xie X., Xiang G. et al. In silico analysis of a MRP transporter gene reveals its possible role in anthocyanins or flavonoids transport in *Oryza sativa* // *Am. J. Plant Sciences*. 2013. V. 4. P. 555–560. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.43072>
 16. Li T., Zhang W., Yang H. et al. Comparative transcriptome analysis reveals differentially expressed genes related to the tissue-specific accumulation of anthocyanins in pericarp and aleurone layer for maize // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. № 1. P. 6023. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37697-y>
 17. Tan X., Li K., Wang Z. et al. A review of plant vacuoles: formation, located proteins, and functions // *Plants*. 2019. V. 8. № 9. <https://doi.org/10.3390/plants8090327>
 18. Zheng Y., Zhang H., Deng X. et al. The relationship between vacuolation and initiation of PCD in rice (*Oryza sativa*) aleurone cells // *Scientific Reports*. 2017. V. 7. № 1. <https://doi.org/10.1038/srep41245>
 19. Henry R.J., Furtado A., Rangan P. Pathways of photosynthesis in non-leaf tissues // *Biology*. 2020. V. 9. № 12. <https://doi.org/10.3390/biology9120438>
 20. Legland D., Le T.D.Q., Alvarado C. et al. New growth-related features of wheat grain pericarp revealed by synchrotron-based X-ray micro-tomography and 3D reconstruction // *Plants*. 2023. V. 12. № 5. <https://doi.org/10.3390/plants12051038>
 21. Simkin A.J., Faralli M., Ramamoorthy S. et al. Photosynthesis in non-foliar tissues: implications for yield // *The Plant J*. 2020. V. 101. № 4. P. 1001–1015. <https://doi.org/10.1111/tbj.14633>
 22. Kong L.A., Xie Y., Sun M.Z. et al. Comparison of the photosynthetic characteristics in the pericarp and flag leaves during wheat (*Triticum aestivum* L.) caryopsis development // *Photosynthetica*. 2016. V. 54. № 1. P. 40–46. <https://doi.org/10.1007/S11099-015-0153-y>
 23. Li Y.B., Yan M., Cui D.Z. et al. Programmed degradation of pericarp cells in wheat grains depends on autophagy // *Frontiers in Genetics*. 2021. V. 12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.784545>
 24. Graf G., Singiri J.R. Cereal husks: Versatile roles in grain quality and seedling performance // *Agronomy*. 2022. V. 12. № 1. P. 172. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010172>
 25. Karabourniotis G., Liakopoulos G., Nikolopoulos D., Bresta P. Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: structure–function coordination // *J. Forestry Research*. 2020. V. 31. № 1. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-01034-4>
 26. Walker A.R., Davison P.A., Bolognesi-Winfield A.C. et al. The TRANSPARENT TESTA GLABRA1 locus, which regulates trichome differentiation and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*, encodes a WD40 repeat protein // *Plant Cell*. 1999. V. 11. № 7. P. 1337–1349. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.7.1337>
 27. Morohashi K., Grotewold E. A systems approach reveals regulatory circuitry for *Arabidopsis* trichome initiation by the GL3 and GL1 selectors // *PLoS Genetics*. 2009. V. 5. № 2. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000396>
 28. Morohashi K., Zhao M., Yang M. et al. Participation of the *Arabidopsis* bHLH factor GL3 in trichome initiation regulatory events // *Plant Physiol*. 2007. V. 145. № 3. P. 736–746. <https://doi.org/10.1104/pp.107.104521>
 29. Pesch M., Schultheiß I., Klopffleisch K. et al. TRANSPARENT TESTA GLABRA1 and GLABRA1 compete for binding to GLABRA3 in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2015. V. 168. № 2. P. 584–597. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00328>
 30. Khlestkina E. The adaptive role of flavonoids: Emphasis on cereals // *Cereal Res. Communications*. 2013. V. 41. № 2. P. 185–198. <https://doi.org/10.1556/crc.2013.0004>

31. *Vaughan S.P., Baker J.M., Primavesi L.F. et al.* Proanthocyanidin biosynthesis in the developing wheat seed coat investigated by chemical and RNA-Seq analysis // *Plant Direct*. 2022. V. 6. № 10. <https://doi.org/10.1002/pld3.453>
32. *Jende-Strid B.* Genetic control of flavonoid biosynthesis in barley // *Hereditas*. 1993. V. 119. № 2. P. 187–204. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1993.00187.x>
33. *Zykin P.A., Andreeva E.A., Lykholay A.N. et al.* Anthocyanin composition and content in rye plants with different grain color // *Molecules*. 2018. V. 23. № 4. <https://doi.org/10.3390/molecules23040948>
34. *Dixon R.A., Sarnala S.* Proanthocyanidin biosynthesis – a matter of protection // *Plant Physiology*. 2020. V. 184. № 2. P. 579–591. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00973>
35. *Himi E., Yamashita Y., Haruyama N. et al.* *Ant28* gene for proanthocyanidin synthesis encoding the R2R3-MYB domain protein (Hvmyb10) highly affects grain dormancy in barley // *Euphytica*. 2012. V. 188. № 1. P. 141–151. <https://doi.org/10.1007/S10681-011-0552-5>
36. *Himi E., Taketa S.* Barley *Ant17*, encoding flavanone 3-hydroxylase (F3H), is a promising target locus for attaining anthocyanin/proanthocyanidin-free plants without pleiotropic reduction of grain dormancy // *Genome*. 2015. V. 58. № 1. P. 43–53. <https://doi.org/10.1139/gen-2014-0189>
37. *Шоева О.Ю., Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К.* Гены, контролирурующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018. Т. 22. № 3. С. 333–342. <https://doi.org/10.18699/VJ18.369>
38. *Flint-Garcia S.A.* Genetics and consequences of crop domestication // *J. Agricultural and Food Chemistry*. 2013. V. 61. № 35. P. 8267–8276. <https://doi.org/10.1021/jf305511d>
39. *Sun M., Corke H.* Population genetics of colonizing success of weedy rye in Northern California // *Theoretical and Applied Genetics*. 1992. V. 83. № 3. P. 321–329. <https://doi.org/10.1007/BF00224278>
40. *Xu F., Tang J., Wang S. et al.* Antagonistic control of seed dormancy in rice by two bHLH transcription factors // *Nature Genetics*. 2022. V. 54. № 12. P. 1972–1982. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01240-7>
41. *Skadhauge B., Thomsen K.K., Von Wettstein D.* The role of the barley testa layer and its flavonoid content in resistance to *Fusarium* infections // *Hereditas*. 1997. V. 126. № 2. P. 147–160. <https://doi.org/10.1111/J.1601-5223.1997.00147.X>
42. *Yonekura-Sakakibara K., Higashi Y., Nakabayashi R.* The origin and evolution of plant flavonoid metabolism // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V. 10. P. 943. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00943>
43. *Pankin A., von Korff M.* Co-evolution of methods and thoughts in cereal domestication studies: a tale of barley (*Hordeum vulgare*) // *Current Opinion in Plant Biology*. 2017. V. 36. P. 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.12.001>
44. *Alappat B., Alappat J.* Anthocyanin pigments: Beyond aesthetics // *Molecules*. 2020. V. 25. № 23. <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>
45. *Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T., Lim S.M.* Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits // *Food and Nutrition Research*. 2017. V. 61. № 1. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
46. *Jia Y., Li B., Zhang Y. et al.* Evolutionary dynamic analyses on monocot flavonoid 3'-hydroxylase gene family reveal evidence of plant-environment interaction // *BMC Plant Biology*. 2019. V. 19. № 1. P. 347. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1947-z>
47. *Jia Y., Selva C., Zhang Y. et al.* Uncovering the evolutionary origin of blue anthocyanins in cereal grains // *Plant J*. 2020. V. 101. № 5. P. 1057–1074. <https://doi.org/10.1111/tbj.14557>
48. *Vikhorev A.V., Strygina K.V., Khlestkina E.K.* Duplicated flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3',5'-hydroxylase genes in barley genome // *PeerJ*. 2019. V. 2019. № 1. <https://doi.org/10.7717/peerj.6266>
49. *Khlestkina E.K., Shoeva O.Y.* Intron loss in the chalcone-flavanone isomerase gene of rye // *Mol. Breeding*. 2014. V. 33. № 4. P. 953–959. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-0009-8>
50. *van Tunen A.J., Koes R.E., Spelt C.E. et al.* Cloning of the two chalcone flavanone isomerase genes from *Petunia hybrida*: coordinate, light-regulated and differential expression of flavonoid genes // *EMBO J*. 1988. V. 7. № 5. P. 1257–1263. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1988.tb02939.x>
51. *Häger K.P., Müller B., Wind C. et al.* Evolution of legumin genes: Loss of an ancestral intron at the beginning of angiosperm diversification // *FEBS Letters*. 1996. V. 387. № 1. P. 94–98. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00477-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00477-2)
52. *Trapp S.C., Croteau R.B.* Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications // *Genetics*. 2001. V. 158. № 2. P. 811–832. <https://doi.org/10.1093/genetics/158.2.811>
53. *Jeffares D.C., Mourier T., Penny D.* The biology of intron gain and loss // *Trends in Genetics*. 2006. V. 22. № 1. P. 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2005.10.006>
54. *Ludwig S.R., Habera L.F., Dellaporta S.L., Wessler S.R. Lc*, a member of the maize *R* gene family responsible for tissue-specific anthocyanin production, encodes a protein similar to transcriptional activators and contains the myc-homology region // *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A*. 1989. V. 86. № 18. P. 7092–7096. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.18.7092>
55. *Paz-Ares J., Wienand U., Peterson P.A., Saedler H.* Molecular cloning of the *c* locus of *Zea mays*: A locus regulating the anthocyanin pathway // *EMBO J*. 1986. V. 5. № 5. P. 829–833. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1986.tb04291.x>
56. *Goff S.A., Cone K.C., Fromm M.E.* Identification of functional domains in the maize transcriptional activator C1: Comparison of wild-type and dominant inhibitor proteins // *Genes and Development*. 1991. V. 5. № 2. P. 298–309. <https://doi.org/10.1101/gad.5.2.298>
57. *Goff S.A., Cone K.C., Chandler V.L.* Functional analysis of the transcriptional activator encoded by the maize *B* gene: Evidence for a direct functional interaction between two classes of regulatory proteins // *Genes and Development*. 1992. V. 6. № 5. P. 864–875. <https://doi.org/10.1101/gad.6.5.864>
58. *Roth B.A., Goff S.A., Klein T.M., Fromm M.E.* C1- and

- R-dependent expression of the maize *Bz1* gene requires sequences with homology to mammalian myb and myc binding sites // *Plant Cell*. 1991. V. 3. № 3. P. 317–325. <https://doi.org/10.1105/tpc.3.3.317>
59. *Radicella J.P., Turks D., Chandler V.L.* Cloning and nucleotide sequence of a cDNA encoding B-Peru, a regulatory protein of the anthocyanin pathway in maize // *Plant Mol. Biology*. 1991. V. 17. № 1. P. 127–130. <https://doi.org/10.1007/BF00036813>
 60. *Selinger D.A., Chandler V.L.* A mutation in the *pale aleurone color1* gene identifies a novel regulator of the maize anthocyanin pathway // *Plant Cell*. 1999. V. 11. № 1. P. 5–14. <https://doi.org/10.1105/tpc.11.1.5>
 61. *Zhang F., Gonzalez A., Zhao M. et al.* A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of *Arabidopsis* // *Development*. 2003. V. 130. № 20. P. 4859–4869. <https://doi.org/10.1242/dev.00681>
 62. *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 // *Plant J*. 2008. V. 53. № 5. P. 814–827. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03373.x>
 63. *Baudry A., Heim M.A., Dubreucq B. et al.* TT2, TT8, and TTG1 synergistically specify the expression of *BANYULS* and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J*. 2004. V. 39. № 3. P. 366–380. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02138.x>
 64. *Payne C.T., Zhang F., Lloyd A.M.* *GL3* encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with GL1 and TTG1 // *Genetics*. 2000. V. 156. № 3. P. 1349–1362. <https://doi.org/10.1093/genetics/156.3.1349>
 65. *Baudry A., Caboche M., Lepiniec L.* *TT8* controls its own expression in a feedback regulation involving TTG1 and homologous MYB and bHLH factors, allowing a strong and cell-specific accumulation of flavonoids in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J*. 2006. V. 46. № 5. P. 768–779. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02733.x>
 66. *Radicella J.P., Brown D., Tolar L.A., Chandler V.L.* Allelic diversity of the maize *B* regulatory gene: Different leader and promoter sequences of two *B* alleles determine distinct tissue specificities of anthocyanin production // *Genes and Development*. 1992. V. 6. № 11. P. 2152–2164. <https://doi.org/10.1101/gad.6.11.2152>
 67. *Albert N.W., Butelli E., Moss S.M.A. et al.* Discrete bHLH transcription factors play functionally overlapping roles in pigmentation patterning in flowers of *Antirrhinum majus* // *New Phytologist*. 2021. V. 231. № 2. P. 849–863. <https://doi.org/10.1111/nph.17142>
 68. *Walker E.L., Robbins T.P., Bureau T.E. et al.* Transposon-mediated chromosomal rearrangements and gene duplications in the formation of the maize *R-r* complex // *EMBO J*. 1995. V. 14. № 10. P. 2350–2363. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb07230.x>
 69. *Kermicle J.L.* Somatic and meiotic instability of *R-stippled*, an aleurone spotting factor in maize // *Genetics*. 1970. V. 64. № 2. P. 247–258. <https://doi.org/10.1093/genetics/64.2.247>
 70. *Robbins T.P., Walker E.L., Kermicle J.L. et al.* Meiotic instability of the *R-r* complex arising from displaced intragenic exchange and intrachromosomal rearrangement // *Genetics*. 1991. V. 129. № 1. P. 271–283. <https://doi.org/10.1093/genetics/129.1.271>
 71. *Harris L.J., Currie K., Chandler V.L.* Large tandem duplication associated with a *Mu2* insertion in *Zea mays B-Peru* gene // *Plant Molecular Biology*. 1994. V. 25. № 5. P. 817–828. <https://doi.org/10.1007/BF00028876>
 72. *Selinger D.A., Chandler V.L.* *B-Bolivia*, an allele of the maize *b1* gene with variable expression, contains a high copy retrotransposon-related sequence immediately upstream // *Plant Physiology*. 2001. V. 125. № 3. P. 1363–1379. <https://doi.org/10.1104/pp.125.3.1363>
 73. *Zimmermann I.M., Heim M.A., Weisshaar B., Uhrig J.F.* Comprehensive identification of *Arabidopsis thaliana* MYB transcription factors interacting with R/B-like BHLH proteins // *Plant J*. 2004. V. 40. № 1. P. 22–34. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02183.x>
 74. *Strygina K.V., Börner A., Khlestkina E.K.* Identification and characterization of regulatory network components for anthocyanin synthesis in barley aleurone // *BMC Plant Biology*. 2017. V. 17. Suppl 1. P. 184. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1122-3>
 75. *Zeven A.C.* Wheats with purple and blue grains: a review // *Euphytica*. 1991. V. 56. № 3. P. 243–258. <https://doi.org/10.1007/BF00042371>
 76. *Li N., Li S., Zhang K. et al.* *ThMYC4E*, candidate *Blue aleurone 1* gene controlling the associated trait in *Triticum aestivum* // *PLoS One*. 2017. V. 12. № 7. P. 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181116>
 77. *Liu X., Zhang M., Jiang X. et al.* *TbMYC4A* is a candidate gene controlling the blue aleurone trait in a wheat – *Triticum boeoticum* substitution line // *Frontiers in Plant Science*. 2021. V. 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.762265>
 78. *Martis M.M., Zhou R., Haseneyer G. et al.* Reticulate evolution of the rye genome // *Plant Cell*. 2013. V. 25. № 10. P. 3685–3698. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.114553>
 79. *Hanson M.A., Gaut B.S., Stec A.O. et al.* Evolution of anthocyanin biosynthesis in maize kernels: The role of regulatory and enzymatic loci // *Genetics*. 1996. V. 143. № 3. P. 1395–1407. <https://doi.org/10.1093/genetics/143.3.1395>
 80. *Petroni K., Pilu R., Tonelli C.* Anthocyanins in corn: A wealth of genes for human health // *Planta*. 2014. V. 240. № 5. P. 901–911. <https://doi.org/10.1007/S00425-014-2131-1>
 81. *Sweeney M.T., Thomson M.J., Pfeil B.E., McCouch S.* Caught red-handed: *Rc* encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice // *Plant Cell*. 2006. V. 18. № 2. P. 283–294. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.038430>
 82. *Himi E., Nisar A., Noda K.* Colour genes (*R* and *Rc*) for grain and coleoptile upregulate flavonoid biosynthesis genes in wheat // *Genome*. 2005. V. 48. № 4. P. 747–754. <https://doi.org/10.1139/G05-026>
 83. *Himi E., Maekawa M., Miura H., Noda K.* Development of PCR markers for *Tamyb10* related to *R-1*, red grain color gene in wheat // *Theoretical and Applied Genetics*. 2011. V. 122. № 8. P. 1561–1576. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1555-2>
 84. *Oikawa T., Maeda H., Oguchi T. et al.* The birth of a black rice gene and its local spread by introgression // *Plant Cell*.

2015. V. 27. № 9. P. 2401–2414. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00310>
85. Kim D.H., Yang J.H., Ha S.H. et al. An OsKala3, R2R3 MYB TF, is a common key player for black rice pericarp as main partner of an OsKala4, bHLH TF // *Frontiers in Plant Science*. 2021. V. 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.765049>
86. Stetter M.G., Vidal-Villarejo M., Schmid K.J. Parallel seed color adaptation during multiple domestication attempts of an ancient new world grain // *Mol. Biology and Evolution*. 2020. V. 37. № 5. P. 1407–1419. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz304/5682418>
87. Tereshchenko O.Y., Arbutova V.S., Khlestkina E.K. Allelic state of the genes conferring purple pigmentation in different wheat organs predetermines transcriptional activity of the anthocyanin biosynthesis structural genes // *J. Cereal Science*. 2013. V. 57. № 1. P. 10–13. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.09.010>
88. Tereshchenko O.Y., Gordeeva E.I., Arbutova V.S. et al. The D genome carries a gene determining purple grain colour in wheat // *Cereal Res. Communications*. 2012. V. 40. № 3. P. 334–341. <https://doi.org/10.1556/crc.40.2012.3.2>
89. Shoeva O.Y., Gordeeva E.I., Khlestkina E.K. The regulation of anthocyanin synthesis in the wheat pericarp // *Molecules*. 2014. V. 19. № 12. P. 20266–20279. <https://doi.org/10.3390/molecules191220266>
90. Jiang W., Liu T., Nan W. et al. Two transcription factors TaPpm1 and TaPpb1 co-regulate anthocyanin biosynthesis in purple pericarps of wheat // *J. Experimental Botany*. 2018. V. 69. № 10. P. 2555–2567. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery101>
91. Zong Y., Xi X., Li S. et al. Allelic variation and transcriptional isoforms of wheat *TaMYC1* gene regulating anthocyanin synthesis in pericarp // *Frontiers in Plant Science*. 2017. V. 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01645>
92. Shoeva O.Y., Mock H.P., Kukoeva T.V. et al. Regulation of the flavonoid biosynthesis pathway genes in purple and black grains of *Hordeum vulgare* // *PLoS One*. 2016. V. 11. № 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163782>
93. Cockram J., White J., Zuluaga D.L. et al. Genome-wide association mapping to candidate polymorphism resolution in the unsequenced barley genome // *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A*. 2010. V. 107. № 50. P. 21611–21616. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010179107>
94. Gordeeva E.I., Glagoleva A.Y., Kukoeva T.V. et al. Purple-grained barley (*Hordeum vulgare* L.): Marker-assisted development of NILs for investigating peculiarities of the anthocyanin biosynthesis regulatory network // *BMC Plant Biology*. 2019. V. 19. Suppl 1. P. 52. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1638-9>
95. Антропов В.И., Антропов В.Ф. Рожь – *Secale* L. // Культурная флора СССР. Т. 2. Хлебные злаки. Л.: Гос. изд-во совхозной и колхозной лит-ры, 1936. С. 3–95.
96. Смирнов В.Г., Соснихина С.П. Генетика ржи. Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1984. 264 с.
97. de Vries J.N., Sybenga J. Chromosomal location of 17 monogenically inherited morphological markers in rye (*Secale cereale* L.) using the translocation tester set // *Pflanzenzücht*. 1984. V. 192. P. 177–139.
98. Raviv B., Godwin J., Granot G., Grafi G. The dead can nurture: Novel insights into the function of dead organs enclosing embryos // *Internat. J. Mol. Sciences*. 2018. V. 19. № 8. <https://doi.org/10.3390/ijms19082455>
99. Lascoux M., Glémin S., Savolainen O. Local adaptation in plants // *eLS*. 2016. P. 1–7. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0025270>
100. Dwivedi S.L., Mattoo A.K., Garg M. et al. Developing germplasm and promoting consumption of anthocyanin-rich grains for health benefits // *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2022. V. 6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.867897>
101. Gordeeva E., Shoeva O., Mursalimov S. et al. Fine points of marker-assisted pyramiding of anthocyanin biosynthesis regulatory genes for the creation of black-grained bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Lines // *Agronomy*. 2022. V. 12. № 12. <https://doi.org/10.3390/agronomy12122934>
102. Casas M.I., Duarte S., Doseff A.I., Grotewold E. Flavone-rich maize: An opportunity to improve the nutritional value of an important commodity crop // *Frontiers in Plant Science*. 2014. V. 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00440>
103. Glagoleva A., Kukoeva T., Mursalimov S. et al. Effects of combining the genes controlling anthocyanin and melanin synthesis in the barley grain on pigment accumulation and plant development // *Agronomy*. 2022. V. 12. № 1. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010112>

ADAPTIVE SIGNIFICANCE AND ORIGIN OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS GENES IN THE GRAIN OF CULTIVATED CEREALS

A. N. Bulanov^{1, *}, A. V. Voylokov^{2, **}

¹*Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, 199034, Russia*

²*Vavilov Institute of General genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: an.bulanov20002014@gmail.com*

***e-mail: av_voylokov@mail.ru*

The majority of cultivated cereals including maize, rice, wheat, barley, oat and rye are consisted of numerous varieties lacking anthocyanin pigmentation or having weak coloration of vegetative organs and/or caryopses. Only rare local races and wild related species have intense coloration of plants and/or grains. The coloration of caryopses is associated with the biosynthesis of colored flavonoids in maternal (pericarp and testa) and hybrid (aleurone) caryopsis tissues. The trait is controlled by dominant alleles of regulatory genes encoding conserved transcription factors of the MYB, bHLH-MYC, and WD40 families forming the MBW protein complex. Recent studies have proven the participation of uncolored and colored flavonoids in the response of plants to biotic and abiotic stresses, and significance of their presence in the whole grain foods has been determined. However, many questions about the adaptive effects and health benefits of anthocyanins remain unanswered. In particular, the reasons why the dominant alleles of regulatory genes controlling pericarp coloration did not become widespread in the course of domestication and breeding of cereals are not clear, although these genes receive special attention in association with health-improving effects of grain nutrition. This article discusses the similarity and specificity of the genetic control of the biosynthesis of flavonoids in the caryopsis in three related cultivated cereals – wheat, barley and rye, and their biological role in the development of the caryopsis and seed germination.

Keywords: cereals, caryopsis, flavonoids, anthocyanins, genetic control.