

КЛАСТЕРЫ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НА ВОДНЫЙ СТРЕСС В ЯДЕРНОМ ГЕНОМЕ *TRITICUM AESTIVUM* L.

С.В. Осипова^{1,4}, Т.А. Пшеничникова², А.В. Пермяков¹,
М.Д. Пермякова¹, Е.Г. Рудиковская¹, А.А. Дорошков²,
В.В. Верхотуров⁵, И.Н. Леонова², У. Лохвасер³, А. Бернер³

¹ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
Иркутск, e-mail: svetlanaosipova2@mail.ru

²ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирск, e-mail: wheatpsh@bionet.nsc.ru

³Институт генетики растений и изучения культурных растений им. Лейбница,
Гатерслебен, e-mail: boerner@ipk-gatersleben.de

⁴ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет,
Иркутск, e-mail: svetlanaosipova2@mail.ru

⁵ФГБОУ ВО Иркутский национальный исследовательский технический университет,
Иркутск, e-mail: vervv@mail.ru

Поиск путей улучшения засухоустойчивости пшеницы *Triticum aestivum* L. на клеточном и молекулярном уровнях является сложным, но перспективным направлением геномных исследований пшеницы. На хромосоме 2А мягкой пшеницы, насыщенной SNP – маркерами, было проведено картирование локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с физиологическими и биохимическими характеристиками засухоустойчивости. В работе использовали 100 рекомбинантных линий пшеницы, созданных в Институте цитологии и генетики СО РАН на генетической базе засухоустойчивого сорта Саратовская 29 и генотипированных в Гатерслебене. Для картирования использовали результаты фенотипирования пяти различных вегетаций картирующей популяции Саратовская 29 (Янецкис Пробат 2А), одной полевой, трёх тепличных и одной - в климатической камере Plant Master. В полевых и тепличных вегетациях были собраны фенологические характеристики линий и данные по компонентам урожая. В контролируемых условиях климатической камеры – данные по биомассе главного побега, параметрам газообмена и флуоресценции хлорофилла, содержанию фотосинтетических пигментов, активности липоксигеназы и четырех ферментов аскорбат-глутатионового цикла в листьях. Фенотипирование по комплексу физиологических и биохимических признаков было проведено в контрастных условиях водообеспечения.

На длинном плече хромосомы 2А в положениях 102 сМ и 108,5–109,2 сМ были картированы QTL, ассоциированные с устойчивостью вышеперечисленных физиологических признаков, а также компонентов урожая и фенологических характеристик, таких как число дней до цветения, до кущения, до восковой спелости (неопубликованные данные).

По результатам биоинформационного анализа в позиции 108,5–109,2 сМ был выявлен кластер из двадцати девяти генов. Четыре их них, по-видимому, являются транспозонами или ретротранспозонами. Функции трех генов остаются пока невыясненными. Остальные 22 гена кодируют 16 различных белков или важных регуляторных субъединиц, функции которых, по имеющимся для *Arabidopsis thaliana* данным, связаны с развитием растений и реакцией на внешние сигналы, в том числе на водный дефицит. Большая часть из этих белков у пшеницы не изучена.

Как минимум два гена могут быть кандидатами на роль триггеров, регулирующих активность генной сети, индуцируемой при адаптации растений пшеницы в ответ на водный дефицит. Ген, кодирующий субъединицу В7 высококонсервативного транскрипционного фактора ядерной локализации NF-Y, связанного с регуляцией развития.

NF-YB в комплексе с белками NF-YA/NF-YC регулирует цветение, зависящее от фотопериода (Siriwardana et al., 2016). Два гена, локализованные в обнаруженном нами кластере, кодируют субъединицу SWI3A АТФ-зависимого хроматин-ремодулирующего комплекса SWI/SNF ядерной локализации, который усиливает или подавляет ген-специфичные транскрипционные факторы, регулируя взаимодействие сигнализации нескольких гормональных путей (Sarnowska et al., 2016).

Помимо генов, участвующих в регуляции транскрипции, в позиции 108,5–109,2 сМ были выявлены гены белков, содержащих PPR-повторы, суперсемейства (TPR)-подобных белков. Эти белки участвуют в редактировании РНК большого числа пластидных транскриптов, они связаны с регуляцией экспрессии митохондриальных генов и, предположительно, функционируют в регуляции гомеостаза АФК в митохондриях во время абиотических и биотических стрессовых реакций путем участия в ретроградной регуляции (Laluk et al., 2011).

В позиции 108,5–109,2 сМ были локализованы гены белков, участвующих в регуляции различных посттрансляционных модификаций, которые имеют решающее значение при адаптации растений к условиям абиотического стресса (Hashiguchi and Komatsu, 2016). Среди них 3 гена, кодирующих белки семейства протеинкиназ, обогащенных лейциновыми повторами. В том же участке хромосомы 2А были локализованы гены белков, участвующих в регуляции убиквитин-протеасомной системы, которая является центральным регулятором гормональной сигнализации (Moon et al., 2004).

В этом же генном кластере были локализованы гены субъединицы фосфатидилинозитол N-ацетилглюкозаминил трансферазы и фосфолипазы С (PLC). Первый белок участвует в образовании гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-якоря и биосинтезе гликановых структур. Белки, содержащие GPI-якорь, играют ключевые роли в самых разных биологических процессах, включая поддержание водного гомеостаза (Shears, 2015). PLC, расщепляющая фосфоглицериновую связь, приводит к выделению GPI-связанных белков из клеточной мембраны. PLC продуцирует или модулирует три различных сигнальных молекулы: инозитол 1,4,5-трифосфат, диацилглицерин и фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат. Все три молекулы регулируют ионные каналы и участвуют в Ca^{2+} -сигнализации (Putney and Tomita, 2012).

Среди генов, кодирующих белки, участвующие в редокс регуляции, ген регуляторной субъединицы NAD-зависимой изоцитратдегидрогеназы, которая является аллостерическим регулятором скорости-лимитирующей стадии цикла Кребса, а также два гена альдо-кеторедуктазы 4, действующей на широкий диапазон субстратов. Этот фермент участвует в ответных реакциях на холод, солевой и водный стрессы, функционирует как детоксикант, а также вовлечен в процесс биосинтеза L-аскорбиновой кислоты.

В позиции 108,5–109,2 сМ генома пшеницы были обнаружены также гены белков суперсемейства P-loop содержащих нуклеозид трифосфат гидролаз, которые участвуют в сигнальной трансдукции, регуляции транскрипции и деградации белков протеасомой. В этом же участке локализован ген белка DUF231, который у *Arabidopsis thaliana* представляет собой ацетилтрансферазу, катализирующую моноацетилирование ксилана вторичной клеточной стенки, что требуется для структурной целостности поверхности листа и оказывает глобальное воздействие на стрессовые реакции растений (Nafis et al., 2015).

В позиции 102 сМ биоинформационным анализом был выявлен кластер из тринадцати генов, среди которых десять кодируют белки с функциями, важными для адаптации и устойчивости растений. Это серин/треонин протеин киназы, белки семейства цитохромов P450, Ca^{2+} -связывающие белки. Функции многих белков этих близлежащих кластеров взаимосвязаны и реализуются в широком диапазоне биохимических и молекулярных процессов, обеспечивая разнообразные ответы на внешние воздействия.

Таким образом, на хромосоме 2А гексаплоидной пшеницы *Triticum aestivum* L. мы выявили важные регуляторные QTL, содержащие в общей сложности 33 белоккодирующих гена. Функции этих генов, изученные главным образом у *Arabidopsis thaliana*, позволяют предположить, что при адаптации мягкой пшеницы к водodefициту активизируется генная сеть, перестраивающая метаболизм растений. В условиях засухи индуцировались посттрансляционные модификации белков, такие как фосфорилирование, ацетилирование, гликолипирование, сукцинирование, модулировалась транскрипция генов, регулирующих цикл Кребса и активность убиквитин-протеасомной системы. Эти изменения были связаны с активацией и взаимодействием нескольких гормональных сигнальных путей, включая жасмонатную. АБК - и Ca^{2+} - зависимые пути. Вероятно, триггером этой генной сети являются транскрипционный фактор NF-Y и АТФ - зависимый хроматин ремодулирующий комплекс SWI/SNF.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-04-02762 и 18-04-00481. Все эксперименты были проведены на экспериментальной базе Байкальского аналитического центра коллективного пользования "Фитотрон СИФИБР СО РАН" и на экспериментальных базах двух ЦКП ИЦИГ СО РАН «Лаборатория искусственного выращивания растений» и «Селекционно-генетическая лаборатория».

Литература

Hashiguchi A., Komatsu S. Impact of Post-Translational Modifications of Crop Proteins under Abiotic Stress // *Proteomes*. – 2016. – V. 4 (4). – P. 42.

Laluk K., Abuqamar S., Mengiste T. The *Arabidopsis* mitochondria-localized pentatricopeptide repeat protein PGN functions in defense against necrotrophic fungi and abiotic stress tolerance // *Plant Physiol.* – 2011. – 156 (4). – 2053–68.

Moon J., Parry G., Estelle M. The ubiquitin-proteasome pathway and plant development // *Plant Cell.* – 2004. – V. 16. – P. 3181–3195.

Nafis M., Stranne M., Fimognari L., Atwell S., Martens H.J., Pedaş P.R., Hansen S.F., Nawrath C., Scheller H.V., Kliebenstein D.J., Sakuragi Y. Acetylation of cell wall is required for structural integrity of the leaf surface and exerts a global impact on plant stress responses // *Front. Plant Sci.* – 2015, <https://doi.org/10.3389/fpls>. – 2015. – 00550.

Putney J.W., Tomita T. Phospholipase C signaling and calcium flux // *Adv. Biol. Regul.* – 2012. – 52 (1). – P. 152–164.

Sarnowska E., Gratkowska D.M., Sacharowski S.P., Cwiek P., Tohge T., Fernie A.R., Siedlecki J.A., Koncz C., Sarnowski T.J. The role of SWI/SNF chromatin remodeling complexes in hormone crosstalk // *Trends in Plant Science*. – 2016. – V. 21 (7). – P. 594–608.

Shears S. B. Inositol pyrophosphates: why so many phosphates? // *Adv Biol Regul.* – 2015. – V. 57. – P. 203–216.

Siriwardana C.L., Gnesutta N., Kumimoto R.W., Jones D.S., Myers Z.A., Mantovani R, et al. Nuclear factor Y, Subunit A (NF-YA) Proteins Positively Regulate Flowering and Act Through flowering locus T. // *PLoS Genet.* – 2016. – V. 12(12): e1006496. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006496>.