

СИНТЕЗ АНТОЦИАНОВ У КАРТОФЕЛЯ (*Solanum tuberosum* L.): ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО ОТБОРА* (обзор)

К.В. СТРЫГИНА¹, Е.К. ХЛЕСТКИНА^{1, 2}

Антоциановые пигменты могут синтезироваться в коже и мякоти клубней картофеля. Кроме того, окрашенными могут быть цветки, листья, стебли и глазки. Эти соединения фенольной природы защищают фотосинтетический аппарат растительной клетки, нейтрализуют свободные радикалы, повышают эффективность усвоения фосфора и азота, обладают осморегулирующей функцией, антимикробной активностью и многими другими свойствами, позволяющими растениям адаптироваться к неблагоприятным условиям окружающей среды. Обсуждается роль антоцианов, поступающих с растительной пищей, в профилактике сахарного диабета II типа, сердечно-сосудистых и инфекционных заболеваний. У картофеля *Solanum tuberosum* L. как важной продовольственной культуры содержание антоцианов целесообразно повышать в съедобной части растения — мякоти клубней. В окрашенных клубнях этот показатель сопоставим с таковым у черники, ежевики, клюквы и красного винограда, он не меняется (либо незначительно снижается) после кулинарной обработки, а также при длительном хранении картофеля. Повышение эффективности программ селекции по признакам окраски мякоти клубня (красная и фиолетовая) в настоящее время связывают с разработкой ДНК-маркеров целевых генов биосинтеза антоцианов на основе применения ПЦР-анализа. Цель настоящего обзора — проанализировать сведения о генах, регулирующих биосинтез антоцианов у картофеля, и оценить возможность разработки ДНК-маркеров, позволяющих предсказывать характер окраски мякоти до начала клубнеобразования (на ранних этапах онтогенеза растений). Известно, что в генетическом контроле биосинтеза антоцианов участвуют структурные гены ферментов халконсинтазы (CHS), халконфлаванонизомеразы (CHI), дигидрофлавонол-4-редуктазы (DFR), флаванон-3-гидроксилазы (F3H), флавоноид-3'-гидроксилазы (F3'H), флавоноид-3',5'-гидроксилазы (F3'5'H) и антоцианидинсинтазы (ANS). Синтезируясь в цитозоле, они далее транспортируются к вакуолям клетки. Активация биосинтеза контролируется комплексом транскрипционных факторов MYB (MYB, bHLH и WD40), который связывается с промоторами генов перечисленных выше ферментов. У картофеля идентифицированы несколько генов, кодирующих транскрипционный фактор MYB, из них с антоциановой пигментацией ассоциирован *StANI*. Этот ген связывают с локусом *D*, ранее обнаруженным с помощью классического генетического анализа и картированным в 10-й хромосоме. Гены, кодирующие факторы bHLH (*StJAF13* и *StbHLH1*) и WD40 (*StWD40*), были выявлены только по гомологии с аналогичными генами других растений, но не с помощью генетического анализа (вероятно, в силу отсутствия аллельного разнообразия). Считается, что *StANI* — основной ген, определяющий изменчивость картофеля по признакам окраски. Описаны варианты его аллелей, и показана связь разных вариантов с эффективностью биосинтеза антоцианов. Аллели *StANI* можно дифференцировать по длине фрагментов при ПЦР-амплификации, что позволяет конструировать удобные диагностические маркеры для селекции. В редких случаях отсутствие антоцианов может быть обусловлено мутацией структурного гена, в литературе это описано для локуса *R*, кодирующего фермент DFR. Мутация по другому структурному гену — *StF3'5H* (локус *P*) нарушает биосинтез антоцианов лишь частично, затрагивая только синие и фиолетовые, но не красные пигменты. Это делает *StF3'5H* привлекательной мишенью при использовании молекулярных маркеров для идентификации генотипов с разной окраской мякоти клубня (фиолетовая или красная). Таким образом, основными мишенями для селекции на получение форм картофеля, синтезирующих антоцианы, в настоящее время считаются два гена — *StANI* и *StF3'5H*.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, картофель, маркер-ориентированная селекция, антоцианы, стрессоустойчивость, питательная ценность, гены, диагностические маркеры.

Антоцианы относятся к флавоноидам — многочисленной группе растительных пигментов фенольной природы. У картофеля (*Solanum tuberosum* L.) антоцианы могут обуславливать окраску кожуры клубня (розовая, красная, красно-, сине- и темно-фиолетовая), мякоти клубня (красная и фиолетовая, сплошная или очаговая, разной насыщенности), глазков и цветков (красная и синяя, неодинаковой интенсивности), листьев и стеблей (от слабой до очень интенсивной) (1).

Окраска стебля и листьев заслуживает внимания, поскольку это

* Работа подготовлена при поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-04073).

адаптивные признаки. Так, антоцианы участвуют в защите фотосинтетического аппарата и цитоплазматической мембраны клетки, нейтрализуют свободные радикалы, предохраняя от их неблагоприятного воздействия, повышают эффективность усвоения фосфора и азота, способствуют усилению осморегулирующей функции, снижают температуру замерзания содержимого клетки, обеспечивают хелатирование и секвестирование ионов тяжелых металлов. Эти свойства в том или ином сочетании позволяют растениям приспособиться к неблагоприятным условиям — избыточному УФ-излучению, засухе, экстремальным температурам, засолению почвы, дефициту фосфора и азота, токсическому действию гербицидов и ионов тяжелых металлов (2-5). Также антоцианы обладают антимикробной активностью (6, 7). Например, показан их существенный вклад в устойчивость картофеля к мокрой гнили: на срезах клубней с фиолетовой мякотью площадь поражения была в среднем на 28,6 % меньше, чем у картофеля с желтой мякотью (8). В растительных тканях в зоне инфицирования происходит быстрое окисление фенольных соединений, в том числе антоцианов, с последующей лигнификацией, суберинизацией и программируемой гибелью клеток (9).

Из потребительских качеств картофеля как продовольственной культуры наибольшее значение имеет содержание антоцианов в клубнях и особенно в их мякоти. Известно, что антоцианы, поступающие с растительной пищей, могут предупреждать сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет II типа, артрит, ожирение, патологии зрения, различные виды рака и нейродегенеративные заболевания, обладают противовоспалительным действием (10-15). Молекулярные механизмы, лежащие в основе этих свойств, до конца не ясны. Для некоторых полифенольных соединений показано возможное участие в регуляции генной активности, сигнальной трансдукции, воздействии на клеточные рецепторы и белки плазмы крови, участвующие в реакции воспалительного ответа (белки острой фазы) (16-18). Обсуждаются антиоксидантные свойства антоцианов. В частности, не ясно, способны ли они нейтрализовать свободные радикалы *in vivo* так же, как *in vitro* (*in vitro* эффективность взаимодействия антоцианов с различными формами активного кислорода почти в 4 раза выше, чем у аскорбиновой кислоты и α -токоферола) (3). Описан терапевтический (гипогликемический) эффект антоцианов, что связывают с супрессией генов, вовлеченных в синтез жирных кислот и триацилглицерола, а также с ингибированием панкреатической амилазы и кишечной α -глюкозидазы (19-21).

Клубни с фиолетовой мякотью — богатый источник антоцианов, в частности их ацилированных производных (22, 23). У сортов картофеля обнаруживаются производные антоцианидинов — петунидина, пеларгонидина, пеонидина и мальвидина (24) (рис. 1). В окрашенных клубнях содержание антоцианов сопоставимо с таковым у черники, ежевики, клюквы и красного винограда — культур, у которых эти соединения синтезируются в наибольшем количестве (25, 26). При этом флавоноиды в основном накапливаются в картофельной кожуре, богатой веществами, которые представляют фармакологический интерес (27, 28). Важно, что после кулинарной обработки количество антоцианов либо снижается незначительно, либо не изменяется (29, 30). То же происходит при хранении картофеля (31).

Перечисленные свойства антоцианов стимулируют вовлечение картофеля в программы селекции на высокое содержание этих пигментов в красной и фиолетовой мякоти клубня (32, 33). Повышение эффективности таких программ в настоящее время связывают с разработкой ДНК-маркеров для целевых генов биосинтеза антоцианов на основе применения ПЦР-анализа. Использование ДНК-маркеров на ранних этапах селек-

ционного процесса (вместо оценки биохимических показателей после проявления признака) позволяет отбирать только формы с нужными генами, что сокращает время создания сорта и снижает затраты (34).

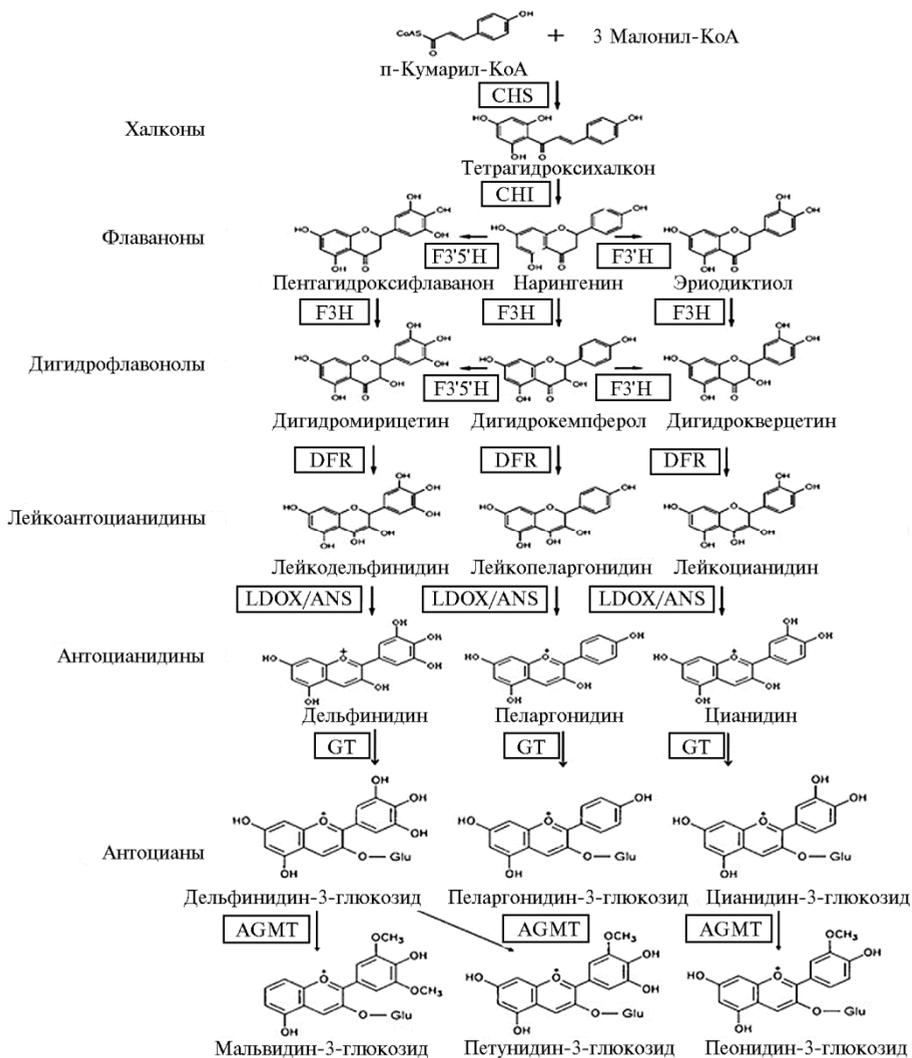


Рис. 1. Схема биосинтеза наиболее распространенных антоциановых пигментов (цит. по 51): CHS — халконсинтаза, CHI — халконфлаванонизомераза, F3H — флаванон-3-гидроксилаза, F3'H — флавоноид-3'-гидроксилаза, F3'5'H — флавоноид-3',5'-гидроксилаза, DFR — дигидрофлавонол-4-редуктаза, LDOX/ANS — лейкоантоцианидиндиоксигеназа/антоцианидинсинтаза, GT — гликозилтрансфераза, AGMT — антоцианидинглюкозид-3'-O-метилтрансфераза.

Цель настоящего обзора — проанализировать сведения о генах, регулирующих биосинтез антоцианов у картофеля, и оценить возможность разработки ДНК-маркеров, позволяющих предсказывать характер окраски мякоти до начала клубнеобразования (на ранних этапах онтогенеза).

Генетическая регуляция биосинтеза антоцианов. Биосинтез антоцианов и их предшественников в клетках высших растений осуществляют ферменты CHS (халконсинтаза), CHI (халконфлаванонизомераза), DFR (дигидрофлавонол-4-редуктаза), F3H (флаванон-3-гидроксилаза), F3'H (флавоноид-3'-гидроксилаза), F3'5'H (флавоноид-3',5'-гидроксилаза), LDOX/ANS (лейкоантоцианидиндиоксигеназа/антоцианидинсинтаза) (рис. 1). Синтез протекает в цитозоле, после чего фенольные соединения транспортируются к вакуолям клетки (35). У всех проанализированных на сего-

дняшний день видов растений тканеспецифическое накопление антоцианов связано с регуляцией экспрессии структурных генов перечисленных выше ферментов с участием факторов транскрипции (ТФ) трех типов: с доменом MYB, с основным доменом «спираль-петля-спираль» (helix-loop-helix, bHLH) и с WD-повторами (повторы двух аминокислотных остатков — триптофана и аспарагиновой кислоты, WD) (36–39).

Ранее было показано, что синтез антоцианов в перидерме клубней тетраплоидного картофеля *S. tuberosum* контролируется локусами *P* (*purple*) и *R* (*red*). Эти локусы находятся соответственно в 11-й и 2-й хромосомах (40–44). При этом локус *P* эпистатичен по отношению к *R* (40). Позже обнаружили, что *P* и *R* — это гены, кодирующие ферменты биосинтеза флавоноидов (F3'5'H и DFR) (45–48) (см. рис. 1). Теперь ясны молекулярные механизмы, лежащие в основе характера наследования локусов *P* и *R*: в клетках растений с функциональными ферментами CHS, CHI, F3H, DFR и ANS могут синтезироваться красные пигменты — производные пеларгонидина (см. рис. 1). У растений с дефектным DFR (мутант по гену *R*) красный пигмент не образуется. Для синтеза фиолетовых пигментов — производных петунидина и его предшественника дельфинидина требуется фермент F3'5'H, кодируемый локусом *P* (см. рис. 1). Когда он функционален, молекулы-предшественники красного пигмента используются для синтеза дельфинидина и петунидина, происходит переключение путей биосинтеза, что приводит к эпистазу, выявляемому при генетическом анализе. Позже (уже с помощью анализа ДНК) определили локализацию генов, кодирующих другие ферменты: *CHS* и *CHI* — в 5-й хромосоме, *ANS* — в 8-й хромосоме (47, 49, 50).

Помимо структурных генов, у *S. tuberosum* обнаружены локусы, соответствующие регуляторным генам. Локус *D* (*developer*, у диплоидного картофеля *S. rybinii* Juz. & Bukasov обозначен как *I* — *inhibitor*), расположенный в 10-й хромосоме, кодирует транскрипционный фактор R2R3 MYB, обладающий высоким сходством с продуктом ранее выделенного регуляторного гена петунии (*Petunia hybrida*) — *PhAN2* (27, 40, 52, 53). Кроме MYB-подобного ТФ, в геноме *S. tuberosum* имеются ортологи кодирующих bHLH генов петунии *PhJAF13* и *PhANI*. Эти гены локализованы соответственно в 8-й и 9-й хромосомах (47, 49, 50).

Регуляторные факторы MYB. Семейство MYB представляет собой одну из наиболее распространенных групп ТФ, описанных у растений. Белки из этого семейства имеют два характерных участка: консервативный N-концевой ДНК-связывающий домен MYB длиной около 50 аминокислотных остатков и неконсервативный C-концевой район, отвечающий за регуляцию экспрессии гена-мишени (54). Общее для всех факторов MYB — наличие от одного до четырех неполных MYB повторов, которые могут функционировать вместе или по отдельности соответственно при связывании ДНК и белок-белковых взаимодействиях. По числу повторов в домене MYB это семейство можно разделить на четыре класса: 1R, R2R3, 3R и 4R (55). Представители R2R3 MYB — самая большая группа генов, кодирующих ТФ у растений. Они играют важную роль в регуляции экспрессии каталитических ферментов, в том числе при биосинтезе антоцианов (54, 56).

Из-за тетраплоидного генома и гетерозиготного состояния генов у возделываемого картофеля *S. tuberosum* комбинации белков MYB более сложные, чем у диплоидного картофеля. В последние годы много внимания уделялось молекулярным механизмам и генам, контролирующим биосинтез антоцианов или их накопление в клубнях картофеля (57–62). Во всех работах подчеркивается роль гена *StANI-ANTHOCYANINI* (GenBank accession number JQ418343) (рис. 2, А) в контроле экспрессии структурных генов, участвующих биосинтезе антоцианов и других фенолпропаноидов, особенно в перидерме и мякоти пигментированных клубней (57, 58, 63).

Кроме того, *StAN1* — один из ключевых генов, ответственных за различия в биосинтезе антоцианов не только в клубнях, но и в листьях картофеля (59). Последовательность *StAN1* имеет сходство с геном петунии *PhAN2*, поэтому изначально этот локус получил аналогичное название, но в дальнейшем был переименован (57). *StAN1* — не только важный регулятор биосинтеза антоцианов, но и ключевой фактор синтеза других фенолпропаноидов в клубнях. Отмечается, что экспрессия гена *StAN1* коррелирует с накоплением флавоноидов у картофеля при ответе на засуху (63).

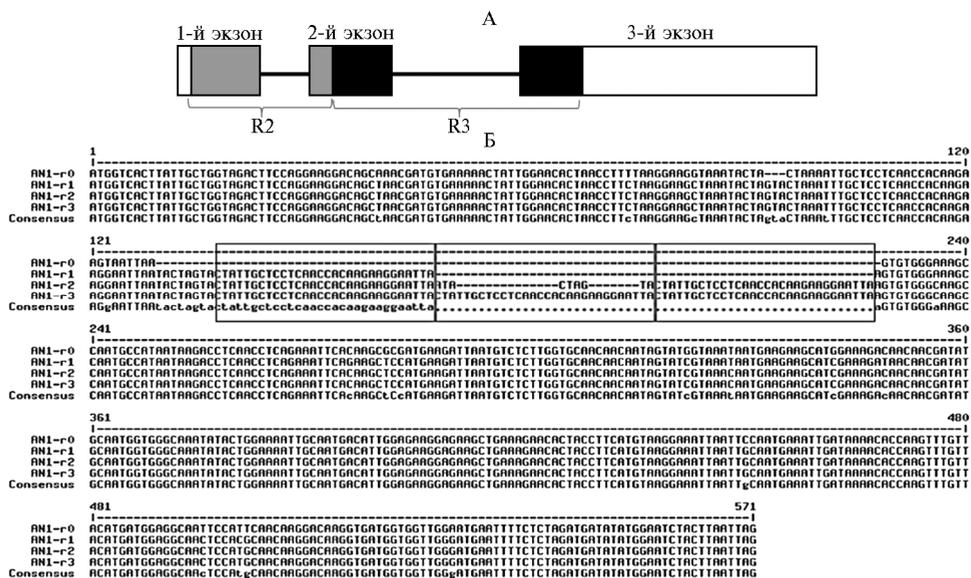


Рис. 2. Особенности организации гена регуляторного фактора *StAN1*: А — экзон-интронная структура *StAN1* (цит. по 57), отмечено положение ДНК-связывающих доменов R2 и R3 MYB; Б — нуклеотидные последовательности 3-го экзона у различных аллелей (*StAN1-r0*, *-r1*, *-r2*, *-r3*) гена *StAN1* (прямоугольниками выделены мотивы г, число которых влияет на эффективность синтеза антоцианов).

В регуляции активности самого гена *StAN1* участвует сахароза (см. ниже) (58). Роль этого соединения в модуляции транскрипционной и пост-трансляционной регуляции многих генов, связанных с пигментацией, хорошо известна (64). Сахароза может усилить синтез антоцианов, однако не способна вызывать изменения у безантоциановых мутантов (65, 66).

Отмечается высокая внутривидовая изменчивость гена *StAN1* (59, 61), причем мутации обнаруживаются как в кодирующих, так и в некодирующих областях — во 2-м интроне и 3-м экзоне гена. Некоторые мутации приводят к потере важных аминокислотных остатков, необходимых для взаимодействия с ДНК. Большинство мутаций *StAN1* или молчание, или находятся в интронах. Сначала у *StAN1* были выявлены два функциональных аллеля — *StAN1*⁸¹⁶ (AY841128) и *StAN1*⁷⁷⁷ (AY841130) (57), причем отмечалось, что они встречаются только в сортах картофеля, имеющих пигментацию перидермы клубней. Аллель *StAN1*⁸¹⁶ на 39 п.н. длиннее, чем *StAN1*⁷⁷⁷ в области 3-го экзона, но у *StAN1*⁸¹⁶ 2-й интрон короче на 82 п.н., таким образом, при ПЦП-анализе *StAN1*⁸¹⁶ легко отличить от *StAN1*⁷⁷⁷ по более коротким (на 43 п.н.) фрагментам амплификации. Позднее были обнаружены другие аллели — *StAN1-r0* (KM822778), *StAN1-r1* (KM822779), *StAN1-r3* (KM822780) (61), причем оказалось, что г-мотив (см. рис. 2) представляет собой дубликацию участка длиной 30 п.н. (CTATTGCTCCTCAAC-SACAAGAAGGAATTA, 10 аминокислотных остатков — TAPQPQEGI) в 3-м экзоне. Таким образом, аллели получили названия в зависимости от того, имеются ли в них эти повторы и в каком количестве. Аллель *StAN1*-

r1 определен нами как *StANI*⁷⁷⁷, а *StANI*⁸¹⁶ предлагается обозначить как *StANI-r2*, поскольку в его последовательности обнаруживается два совершенных (невырожденных) повтора *г* (см. рис. 2, Б). Предполагается, что присутствие одного *г*-мотива в 3-м экзоне оптимально для активации синтеза антоцианов, а отсутствие *г*-мотива или его избыток (три повтора) снижают функциональность белка (61). Оценку проявления аллеля с двумя повторами *г*-мотива пока не проводили.

StANI экспрессируется как в обычных, так и в пигментированных клубнях, причем уровень экспрессии гена не пропорционален количеству флавоноидов в растении. Интересно, что большинство транскриптов *StANI*, выявленных у сортов картофеля с непигментированной кожурой и мякотью, имели укороченный 3'-конец. Продукт таких усеченных мРНК, вероятно, не способен активировать биосинтез антоцианов, что может свидетельствовать о важности *г*-мотива как функционального элемента *StANI* (61). Следовательно, можно разработать условия ПЦР-анализа для точной идентификации и маркирования аллельных вариантов гена по длине ДНК-фрагментов амплификации. Эти маркеры могут использоваться в селекционном процессе для отбора наиболее эффективного варианта регуляторного гена *StANI*.

Аллельные различия *StANI* затрагивают не только экзоны и интроны: в промоторах генов, отвечающих за пигментацию, обнаружена вариативность по числу элементов, связывающихся с сахарозой (SURE, sucrose-responsive element) и с метилжасмонатом (MeJa, methyljasmonate-responsive elements). По данным R.S. Paauwava с соавт. (58), аллели гена *StANI*, вызывающие накопление антоцианов в клубнях, содержат в промоторах до шести последовательностей SURE и до пяти мотивов MeJa. В другой работе показано, что присутствие в промоторе ретротранспозона SINE ассоциировано с антоциановой пигментацией листьев. У генотипов с зелеными листьями (без антоциановой пигментации) этот элемент в промоторе *StANI* не выявляется (59). Присутствие мобильных элементов изменяет экспрессию генов, кодирующих MYB (67-71), следовательно, необходимо дальнейшее изучение влияния SINE на модификацию функций промотора *StANI*.

Поскольку некоторые части (или ткани) растения картофеля (феллодерма, перидерма клубней, глазки, листья, стебли и пр.) могут окрашиваться независимо, было выдвинуто предположение, что локус *D* содержит два (или более) тандемно повторяющихся гена *MYB*, причем модификации фенотипа связаны с изменениями в последовательностях разных генов *MYB* (57, 59). Действительно, на основе гомологии с *StANI* был обнаружен еще один ген, сперва обозначенный как *StAN3*, затем переименованный в *StAN2*, а также имеющий синоним *StMYBA1* (57-61). Предсказанная аминокислотная последовательность *StMYBA1* с высокой степенью сходства (66 % идентичности с *StAN1*) соответствует белку, принадлежащему к классу R2R3 MYB (58). Предполагалось, что *StMYBA1* — копия *StANI*, утратившая функциональность и превратившаяся в псевдоген, поскольку полные транскрипты *StMYBA1* обнаружить не удалось (57). Позже выяснилось, что экспрессия этого гена может быть связана с синтезом антоцианов в клубнях картофеля: были выявлены два аллельных варианта — *StMYBA1-1*, который может экспрессироваться во всех тканях вне зависимости от их пигментации, и *StMYBA1-2*, активный только в фиолетовых клубнях (61). Экспрессия у *StMYBA1* значительно ниже, чем у *StANI*, и ее строгая корреляция с накоплением полифенолов в клубнях не проявляется. Вероятно, *StMYBA1* регулирует транскрипцию не только генов биосинтеза антоцианов (57, 63).

В базе данных Potato Genome Sequencing Consortium (PGSC) (http://solanaceae.plantbiology.msu.edu/pgsc_download.shtml) выявлены другие

нуклеотидные последовательности для факторов MYB, консервативные в доменах R2 и R3 (58). Одна из них (*MYB12B*) слабо экспрессируется в мякоти клубней при четкой обратной связи между транскрипционной активностью и количеством фенолпропаноидов. Экспрессию *MYB12B* в остальных органах и тканях картофеля не изучали. Возможно, это усеченный транскрипт одного из генов *MYB*, обнаруженных у картофеля.

По гомологии с *AtMYB113*, положительно регулирующим фенолпропаноидный метаболизм у *Arabidopsis thaliana* (72), обнаружен *StMYB113* (61) и выделены три функционально различных варианта гена (*StMYBA113-1*, *StMYBA113-2* и *StMYBA113-3*). *StMYBA113-1* экспрессируется как в пигментированных, так и в неокрашенных тканях картофеля, *StMYBA113-3* — только в фиолетовой коже, но имеет укороченный белковый продукт из-за делеции длиной 130 п.н., выявленной в кДНК и вызывающей появление стоп-кодона на месте 9-й аминокислоты. По сравнению с другими аллелями у *StMYBA113-2*, который экспрессируется только в красной коже, обнаружены несколько делеций, приводящих к аминокислотным заменам.

Таким образом, в семействе MYB-подобных транскрипционных факторов ключевую роль в регуляции синтеза антоцианов играет ТФ, кодируемый геном *StAN1*, для которого выявлена четкая корреляция между функциональностью аллелей и изменчивостью по С-концевой области белка. Кроме того, *StMYBA1* и *StMYB113*, ассоциированные с продукцией антоцианов, тоже, возможно, обладают потенциалом для селекции.

Регуляторные факторы bHLH. Как уже отмечалось, различные R2R3 MYB регулируют биосинтез фенолпропаноидов, при этом некоторые из белков взаимодействуют с факторами bHLH (basic helix-loop-helix) (36). Белки семейства bHLH образуют второй по величине класс ТФ у растений. Домен bHLH высококонсервативен. При длине около 60 аминокислот он состоит из двух функционально различных областей. N-концевая основная часть содержит 13-17 аминокислот и связывается с E-box (enhancer box, присутствующая в некоторых промоторных областях у эукариот ДНК-последовательность CANNTG, где N может быть любым нуклеотидом). Область HLH представлена двумя амфипатическими α -спиралями, в основном состоящими из гидрофобных аминокислот, которые соединены с помощью петли, варибельной по длине. Белки, содержащие HLH мотив, часто образуют гомо- или гетеродимеры с другими белками bHLH, что служит необходимым условием для распознавания ДНК. Весьма важным представляется взаимодействие фактора bHLH с R2R3 MYB, при котором образуются транскрипционные комплексы с промоторами генов биосинтеза антоцианов. Так, транскрипционный фактор MYB (ген *Pp-1*) в отсутствие bHLH, кодируемого геном *Pp3* (*TaMyc1*), не способен активировать биосинтез антоцианов в перикарпе зерновки пшеницы (73).

К настоящему времени в геноме *S. tuberosum* выявлены два фактора bHLH, имеющих отношение к регуляции синтеза антоцианов в клубнях и листьях картофеля, — *StbHLH1* (JX848660) и *StJAF13/StbHLH2* (KP317176) (58, 59). Названные гены крайне консервативны в областях, определяющих структуру домена bHLH, но в остальных сильно различаются, из-за чего аминокислотные последовательности факторов схожи всего на 43 %. Сочетание функциональных вариантов генов *StJAF13* и *StAN1* предопределяет высокую активность структурных генов биосинтеза антоцианов и наличие пигмента в листьях и коже клубней (59). Полученные данные указывают на комплементарное взаимодействие регуляторных факторов *StAN1* и *StJAF13*, в результате которого синтезируются антоцианы (59). Интенсивность синтеза определяет ген *StAN1*, тогда как транскрипция *StJAF13* (как и другого гена,

кодирующего bHLH, — *StbHLH1*) в окрашенных тканях не коррелирует с накоплением фенолпропаноидов, в том числе антоцианов (58, 61).

Мутантные варианты гена *StJAF13*, на основе которых могли бы быть созданы диагностические маркеры, пока у картофеля не известны. Для гена *StbHLH1* описаны пять аллельных вариантов и предполагается их функциональная роль в тех или иных тканях (61), но эти сведения подлежат дополнительной экспериментальной проверке.

Регуляторный фактор WD40. Как уже отмечалось, биосинтез антоцианов, как правило, регулируется комплексом MBW, который образуют факторы транскрипции — MYB, bHLH и WD40. Для взаимодействия с MYB необходимы первые 200 аминокислот bHLH, с WD40 — последующие 200 остатков (74). Белки WD имеют от четырех до восьми несовершенных (вырожденных) tandemных повторов и взаимодействуют с другими белками через повторяющуюся область WD (75).

Насколько известно, *StWD40* — единственный обнаруженный ген тетраплоидного картофеля, экспрессия которого коррелирует с содержанием фенольных соединений и антоцианов (58). Показано, что его экспрессия в 3-5 раз выше в красных и фиолетовых клубнях. Однако самостоятельно этот фактор не способен индуцировать синтез фенольных соединений. То есть WD40 необходим, но не достаточен для активации антоцианового пути. Мутантные варианты гена *StWD40* у картофеля пока не описаны.

Структурный ген *F3'5'H*. Окраска тканей и органов растений в первую очередь зависит от ферментов, которые непосредственно осуществляют синтез полифенольных молекул. Для *S. tuberosum* ключевым геном, переключаящим синтез с красных пигментов на синие и фиолетовые, служит *StF3'5'H* (см. рис. 1). Последовательность кДНК гена *StF3'5'H* известна (HQ860267). Экспериментально подтверждено, что введение кДНК этого гена в качестве трансгена изменяет окраску кожуры картофельных клубней с красной на фиолетовую (45). Следовательно, при отборе мутантного гена *StF3'5'H* можно изменить окраску кожуры или мякоти клубней с фиолетовой на красную, что делает такие локусы потенциальными мишенями в программах создания картофеля с желаемым составом антоцианов. На основе секвенирования функционального и мутантного аллелей гена *StF3'5'H* могут быть сконструированы диагностические маркеры для контролируемого отбора на основе длины фрагментов в ПЦР. *StF3'5'H* представляется привлекательной мишенью не только для маркер-ориентированной селекции, но и для получения измененных форм с помощью современных методов безопасного редактирования. Так, с помощью системы CRISPR/Cas9 (76) будет несложно производить нокаут гена *StF3'5'H* для изменения окраски кожуры или мякоти клубня с фиолетовой на красную.

Роль сахарозы в регуляции биосинтеза антоцианов. Биосинтез антоцианов, как правило, светозависим и происходит в подземных частях растения как исключение, требующее дополнительных механизмов для активации регуляторного комплекса MBW. Такой механизм у растений связан с сахарозой. Сахароза модулирует регуляцию экспрессии многих генов, вовлеченных в синтез пигментов, на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях (64). Сахароза — не только источник углерода для фенолпропаноидного обмена веществ (через продукты ее гидролиза), но и регулятор биосинтеза антоцианов (65). В красных и фиолетовых клубнях содержание сахарозы и глюкозы выше, чем в картофеле с белыми или желтыми клубнями. Сахароза значительно стимулирует экспрессию *StAN1*, *StbHLH1* и *StWD40*, усиливая фенолпропаноидный метаболизм картофеля (58).

Присутствие SURE элементов в промоторе *StAN1* согласуется с предположением о регулировании его экспрессии сахарозой: у картофеля

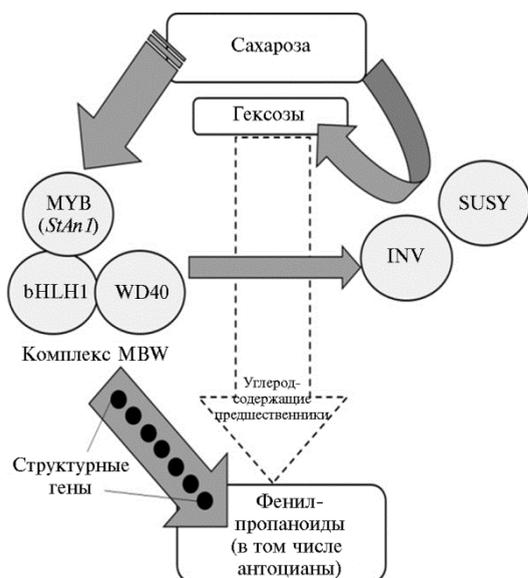


Рис. 3. Предлагаемая модель взаимодействия комплекса транскрипционных факторов MBW, сахарозы и факторов ее метаболизма при регуляции синтеза фенолпропаноидов в клубнях картофеля (цит. по 58). Сахароза стимулирует экспрессию гена *StAN1*, кодирующего транскрипционный фактор MYB; MYB вместе с bHLH1 и WD40 (транскрипционные факторы комплекса MBW) запускает синтез фенолпропаноидов (через активацию транскрипции структурных генов ферментов биосинтеза) и регулирует экспрессию генов сахаролитических ферментов (SuSy — sucrose synthase, и Inv — invertase). Действие факторов SUSY и INV приводит к снижению содержания сахарозы и накоплению гексоз, производные которых служат субстратом для синтеза фенолпропаноидов.

с фиолетовыми и красными клубнями имеется шесть SURE элементов, тогда как для белых и желтых характерно наличие единственного SURE элемента (58). Обработка сахарозой проростков картофеля значительно повышает экспрессию *StAN1* и *StbHLH1* (в меньшей степени — *StWD40*). Существует гипотеза о возможной регуляторной петле: сахароза активирует экспрессию факторов, входящих в комплекс MBW, а тот снижает содержание сахарозы посредством индукции ферментов ее гидролиза с высвобождением гексоз, продукты распада которых служат предшественниками при синтезе фенолпропаноидов (рис. 3) (58).

Итак, синтез антоцианов в клубнях картофеля активируется комплексом MBW, которые формируют транскрипционные факторы MYB, bHLH и WD40. Обнаружены кодирующие их гены — соответственно *StAN1*, *StJAF13* (и *StbHLH1*), а также *StWD40*. В отличие от консервативных генов транскрипционных факторов bHLH и WD40 ген *StAN1*, кодирующий MYB, характеризуется значительной изменчивостью. Описаны варианты его аллелей и показана их связь с эффективностью биосинтеза антоцианов. При этом аллели *StAN1* можно дифференцировать по длине специфических продуктов ПЦР-амплификации. Образование красных или фиолетовых пигментов зависит от статуса флавоноид-3',5'-гидроксилазы (F3'5'H). Растения с нормальной функцией регуляторного комплекса MBW и всех структурных генов биосинтеза антоцианов (в том числе гена *StF3'5'H*) будут продуцировать фиолетовый пигмент, тогда как присутствие мутантного гена *StF3'5'H* приводит к образованию красного пигмента. Таким образом, *StAN1* и *StF3'5'H* в настоящее время рассматриваются как основные гены-мишени при селекции форм картофеля, синтезирующих антоцианы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания по поддержанию и изучению мировой коллекции картофеля /Под ред. С.Д. Киру. СПб, 2010.
2. Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. Photochem. Photobiol., 1999, 70(1): 1-9 (doi: 10.1111/j.1751-1097.1999.tb01944.x).
3. Gould K.S. Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves. BioMed Research International, 2004, 2004(5): 314-320 (doi: 10.1155/S1110724304406147).
4. Hale K.L., Tufan H.A., Pickering I.J., George G.N., Terry N., Pilon M., Pilon-Smits E.A. Anthocyanins facilitate tungsten accumulation in *Brassica*. Physiologia Plantarum, 2002, 116(3): 351-358 (doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1160310.x).
5. Khlestkina E. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. Cereal Res. Commun.,

- 2013, 41(2): 185-198 (doi: 10.1556/CRC.2013.0004).
6. Cisowska A., Wojnicz D., Hendrich A.B. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Nat. Prod. Commun.*, 2011, 6(1): 149-156.
 7. Wen H., Kang J., Li D., Wen W., Yang F., Hu H., Liu C. Antifungal activities of anthocyanins from purple sweet potato in the presence of food preservatives. *Food Sci. Biotechnol.*, 2016, 25(1): 165-171 (doi: 10.1007/s10068-016-0025-7).
 8. Wegener C.B., Jansen G. Soft-rot resistance of coloured potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.): the role of anthocyanins. *Potato Res.*, 2007, 50(1): 31-44 (doi: 10.1007/s11540-007-9027-4).
 9. Beckman C.H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2000, 57(3): 101-110 (doi: 10.1006/pmpp.2000.0287).
 10. Cassidy A., O'Reilly É.J., Kay C., Sampson L., Franz M., Forman J.P., Curhan G., Rimm E.B. Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2011, 93(2): 338-347 (doi: 10.3945/ajcn.110.006783).
 11. Howard B.V., Kritchevsky D., Nutrition Committee. Phytochemicals and cardiovascular disease a statement for healthcare professionals from the American heart association. *Circulation*, 1997, 95(11): 2591-2593 (doi: 10.1161/01.CIR.95.11.2591).
 12. Hui C., Bi Y., Xiaopin Y., Lon Y., Chunye C., Mantian M., Wenhua L. Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells in vitro and in vivo. *Nutrition and Cancer*, 2010, 62(8): 1128-1136 (doi: 10.1080/01635581.2010.494821).
 13. Sancho R.A.S., Pastore G.M. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. *Food Res. Int.*, 2012, 46(1): 378-386.
 14. Lila M.A. Anthocyanins and human health: an *in vitro* investigative approach. *BioMed Research International*, 2004, 2004(5): 306-313 (doi: 10.1155/S111072430440401X).
 15. Wang H., Nair M.G., Strasburg G.M., Chang Y.C., Booren A.M., Gray J.I., DeWitt D.L. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *J. Nat. Prod.*, 1999, 62(2): 294-296 (doi: 10.1021/np980501m).
 16. Williams R.J., Spencer J.P., Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Bio. Med.*, 2004, 36(7): 838-849 (doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001).
 17. Aggarwal B.B., Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem. Pharmacol.*, 2006, 71(10): 1397-1421 (doi: 10.1016/j.bcp.2006.02.009).
 18. Virgili F., Marino M. Regulation of cellular signals from nutritional molecules: a specific role for phytochemicals, beyond antioxidant activity. *Free Radical Bio. Med.*, 2008, 45(9): 1205-1216 (doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.001).
 19. Tsuda T., Horio F., Uchida K., Aoki H., Osawa T. Dietary cyanidin 3-O- β -D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J. Nutr.*, 2003, 133(7): 2125-2130.
 20. Shobana S., Sreerama Y.N., Malleshi N.G. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chem.*, 2009, 115(4): 1268-1273 (doi: 10.1016/j.foodchem.2009.01.042).
 21. Tadera K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka T. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 2006, 52(2): 149-153 (doi: 10.3177/jnsv.52.149).
 22. Rodriguez-Saona L.E., Wrolstad R.E., Pereira C. Glycoalkaloid content and anthocyanin stability to alkaline treatment of red-fleshed potato extracts. *J. Food Sci.*, 1999, 64(3): 445-450 (doi: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb15060.x).
 23. Fossen T., Andersen Ø.M. Anthocyanins from tubers and shoots of the purple potato, *Solanum tuberosum*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2000, 75(3): 360-363 (doi: 10.1080/14620316.2000.11511251).
 24. Eichhorn S., Winterhalter P. Anthocyanins from pigmented potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *Food Res. Int.*, 2005, 38(8): 943-948 (doi: 10.1016/j.foodres.2005.03.011).
 25. Andre C.M., Oufir M., Guignard C., Hoffmann L., Hausman J.F., Evers D., Larondelle Y. Antioxidant profiling of native Andean potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) reveals cultivars with high levels of β -carotene, α -tocopherol, chlorogenic acid, and petanin. *J. Agr. Food Chem.*, 2007, 55(26): 10839-10849 (doi: 10.1021/jf0726583).
 26. Kalita D., Jayanty S.S. Comparison of polyphenol content and antioxidant capacity of colored potato tubers, pomegranate and blueberries. *Journal of Food Processing and Technology*, 2014, 5: 358 (doi: 10.4172/2157-7110.1000358).
 27. Lewis C.E., Walker J.R., Lancaster J.E., Sutton K.H. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. *J. Sci. Food Agr.*, 1998, 77(1): 45-57 (doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199805)77:1<45::AID-JSFA1>3.0.CO;2-S).
 28. Schieber A., Saldana M.A. Potato peels: a source of nutritionally and pharmacologically interesting compounds — a review. *Food*, 2009, 3(2): 23-29.
 29. Mulinacci N., Ieri F., Giaccherini C., Innocenti M., Andrenelli L., Canova G., Saracchi M., Casiraghi M.C. Effect of cooking on the anthocyanins, phenolic acids, glycoalkaloids, and resistant starch content in two pigmented cultivars of *Solanum tuberosum* L. *J. Agr. Food Chem.*, 2008, 56(24): 11830-11837 (doi: 10.1021/jf801521e).

30. Lemos M.A., Aliyu M.M., Hungerford G. Influence of cooking on the levels of bioactive compounds in Purple Majesty potato observed via chemical and spectroscopic means. *Food Chem.*, 2015, 173: 462-467 (doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.064).
31. Jansen G., Flamme W. Coloured potatoes (*Solanum tuberosum* L.) — anthocyanin content and tuber quality. *Genet. Resour. Crop Ev.*, 2006, 53(7): 1321-1331 (doi: 10.1007/s10722-005-3880-2).
32. Brown C.R., Wrolstad R., Durst R., Yang C.P., Clevidence B. Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins. *Am. J. Potato Res.*, 2003, 80(4): 241-249 (doi: 10.1007/BF02855360).
33. Brown C.R., Culley D., Yang C.P., Durst R., Wrolstad R. Variation of anthocyanin and carotenoid contents and associated antioxidant values in potato breeding lines. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 2005, 130(2): 174-180.
34. Хлесткина Е.К., Шумный В.К., Колчанов Н.А. Маркер-ориентированная селекция и примеры ее использования в мировом картофелеводстве. *Достижения науки и техники АПК*, 2016, 30(10): 5-8.
35. Koes R., Verweij W., Quattrocchio F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends Plant Sci.*, 2005, 10(5): 236-242 (doi: 10.1016/j.tplants.2005.03.002).
36. Grotewold E. Plant metabolic diversity: a regulatory perspective. *Trends Plant Sci.*, 2005, 10(2): 57-62 (doi: 10.1016/j.tplants.2004.12.009).
37. Cone K.C., Burr F.A., Burr B. Molecular analysis of the maize anthocyanin regulatory locus *C1*. *PNAS*, 1986, 83(24): 9631-9635.
38. 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. *PNAS*, 1989, 86(18): 7092-7096.
39. Quattrocchio F., Wing J.F., Va K., Mol J.N., Koes R. Analysis of bHLH and MYB domain proteins: species-specific regulatory differences are caused by divergent evolution of target anthocyanin genes. *Plant J.*, 1998, 13(4): 475-488 (doi: 10.1046/j.1365-3113.1998.00046.x).
40. Dodds K., Long D.H. The inheritance of colour in diploid potatoes. *J. Genet.*, 1955, 53(1): 136-149 (doi: 10.1007/BF02981517).
41. van Eck H.J., Jacobs J.M., van Dijk J., Stiekema W.J., Jacobsen E. Identification and mapping of three flower colour loci of potato (*S. tuberosum* L.) by RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.*, 1993, 86(2-3): 295-300 (doi: 10.1007/BF00222091).
42. van Eck H.J., Jacobs J.M., van den Berg P.M., Stiekema W.J., Jacobsen E. The inheritance of anthocyanin pigmentation in potato (*Solanum tuberosum* L.) and mapping of tuber skin colour loci using RFLPs. *Heredity*, 1994, 73: 410-421 (doi: 10.1038/hdy.1994.189).
43. Gebhardt C., Ritter E., Debener T., Schachtschabel U., Walkemeier B., Uhrig H., Salamini F. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.*, 1989, 78(1): 65-75 (doi: 10.1007/BF00299755).
44. Jacobs J.M.E., van Eck H.J., Arens P., Verkerk-Bakker B., te Lintel Hekkert B., Bastiaansen H.J.M., El-Kharbotly A., Pereira A., Jacobsen E., Stiekema W.J. A genetic map of potato (*Solanum tuberosum*) integrating molecular markers, including transposons, and classical markers. *Theor. Appl. Genet.*, 1995, 91(2): 289-300 (doi: 10.1007/BF00220891).
45. Jung C.S., Griffiths H.M., De Jong D.M., Cheng S., Bodis M., De Jong W.S. The potato *P* locus codes for flavonoid 3',5'-hydroxylase. *Theor. Appl. Genet.*, 2005, 110(2): 269-275 (doi: 10.1007/s00122-004-1829-z).
46. Zhang Y., Cheng S., De Jong D., Griffiths H., Halitschke R., De Jong W. The potato *R* locus codes for dihydroflavonol 4-reductase. *Theor. Appl. Genet.*, 2009, 119(5): 931-937 (doi: 10.1007/s00122-009-1100-8).
47. De Jong W.S., Eannetta N.T., De Jong D.M., Bodis M. Candidate gene analysis of anthocyanin pigmentation loci in the *Solanaceae*. *Theor. Appl. Genet.*, 2004, 108(3): 423-432 (doi: 10.1007/s00122-003-1455-1).
48. De Jong W.S., De Jong D.M., De Jong H., Kalazich J., Bodis M. An allele of dihydroflavonol 4-reductase associated with the ability to produce red anthocyanin pigments in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 2003, 107(8): 1375-1383 (doi: 10.1007/s00122-003-1395-9).
49. Zhang Y., Jung C.S., De Jong W.S. Genetic analysis of pigmented tuber flesh in potato. *Theor. Appl. Genet.*, 2009, 119(1): 143-150 (doi: 10.1007/s00122-009-1024-3).
50. Spelt C., Quattrocchio F., Mol J.N., Koes R. *anthocyanin1* of petunia encodes a basic helix-loop-helix protein that directly activates transcription of structural anthocyanin genes. *Plant Cell*, 2000, 12(9): 1619-1631 (doi: 10.1105/tpc.12.9.1619).
51. Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2006, 57: 761-780 (doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105248).
52. De Jong H. Inheritance of anthocyanin pigmentation in the cultivated potato: a critical review. *Am. Potato J.*, 1991, 68(9): 585-593 (doi: 10.1007/BF02853712).
53. Stushnoff C., Ducreux L.J., Hancock R.D., Hedley P.E., Holm D.G., McDougall G.J., McNicol J.W., Morris J., Morris W.L., Sungurtas J.A.,

- Verrall S.R., Zuber T., Taylor M.A. Flavonoid profiling and transcriptome analysis reveals new gene—metabolite correlations in tubers of *Solanum tuberosum* L. *J. Exp. Bot.*, 2010, 61(4): 1225-1238 (doi: 10.1093/jxb/erp394).
54. Feller A., Machemer K., Braun E.L., Grotewold E. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors. *Plant J.*, 2011, 66(1): 94-116 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04459.x).
 55. Dubos C., Stracke R., Grotewold E., Weisshaar B., Martin C., Lepiniec L. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.*, 2010, 15(10): 573-581 (doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.005).
 56. Allan A.C., Hellens R.P., Laing W.A. MYB transcription factors that colour our fruit. *Trends Plant Sci.*, 2008, 13(3): 99-102 (doi: 10.1016/j.tplants.2007.11.012).
 57. Jung C.S., Griffiths H.M., De Jong D.M., Cheng S., Bodis M., Kim T.S., De Jong W.S. The potato developer (*D*) locus encodes an R2R3 MYB transcription factor that regulates expression of multiple anthocyanin structural genes in tuber skin. *Theor. Appl. Genet.*, 2009, 120(1): 45-57 (doi: 10.1007/s00122-009-1158-3).
 58. Payyavula R.S., Singh R.K., Navarre D.A. Transcription factors, sucrose, and sucrose metabolic genes interact to regulate potato phenylpropanoid metabolism. *J. Exp. Bot.*, 2013, 64(16): 5115-5131 (doi: 10.1093/jxb/ert303).
 59. D'Amelia V., Aversano R., Batelli G., Caruso I., Castellano Moreno M., Castro-Sanz A.B., Chiaiese P., Fasano C., Palomba F., Carputo D. High *AN1* variability and interaction with basic helix-loop-helix co-factors related to anthocyanin biosynthesis in potato leaves. *Plant J.*, 2014, 80(3): 527-540 (doi: 10.1111/tpj.12653).
 60. Tai H.H., Goyer C., Murphy A.M. Potato MYB and bHLH transcription factors associated with anthocyanin intensity and common scab resistance. *Botany*, 2013, 91(10): 722-730 (doi: 10.1139/cjb-2012-0025).
 61. Liu Y., Lin-Wang K., Espley R.V., Wang L., Yang H., Yu B., Dare A., Varkonyi-Gasic E., Wang J., Zhang J., Wang D., Allan A.C. Functional diversification of the potato R2R3 MYB anthocyanin activators AN1, MYBA1, and MYB113 and their interaction with basic helix-loop-helix cofactors. *J. Exp. Bot.*, 2016, 67(8): 2159-2176 (doi: 10.1093/jxb/erw014).
 62. Liu Y., Lin-Wang K., Deng C., Warran B., Wang L., Yu B., Yang H., Wang D., Espley R.V., Zhang J., Wang D., Allan A.C. Comparative transcriptome analysis of white and purple potato to identify genes involved in anthocyanin biosynthesis. *PLoS ONE*, 2015, 10(6): e0129148 (doi: 10.1371/journal.pone.0129148).
 63. André C.M., Schafleitner R., Legay S., Lefèvre I., Aliaga C.A.A., Nomberto G., Hoffmann L., Hausman J., Larondelle Y., Evers D. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry*, 2009, 70(9): 1107-1116 (doi: 10.1016/j.phytochem.2009.07.008).
 64. Koch K.E. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 1996, 47(1): 509-540 (doi: 10.1146/annurev.arplant.47.1.509).
 65. Teng S., Keurentjes J., Bentsink L., Koornneef M., Smeekens S. Sucrose-specific induction of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* requires the MYB75/PAP1 gene. *Plant Physiol.*, 2005, 139(4): 1840-1852 (doi: 10.1104/pp.105.066688).
 66. Solfanelli C., Poggi A., Loreti E., Alpi A., Perata P. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 2006, 140(2): 637-646 (doi: 10.1104/pp.104.900185).
 67. Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Hirochika H. Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science*, 2004, 304(5673): 982-982 (doi: 10.1126/science.1095011).
 68. Walker A.R., Lee E., Bogs J., McDavid D.A., Thomas M.R., Robinson S.P. White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes. *Plant J.*, 2007, 49(5): 772-785 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02997.x).
 69. Telias A., Lin-Wang K., Stevenson D.E., Cooney J.M., Hellens R.P., Allan A.C., Hoover E.E., Bradeen J.M. Apple skin patterning is associated with differential expression of MYB10. *BMC Plant Biol.*, 2011, 11: 93 (doi: 10.1186/1471-2229-11-93).
 70. Butelli E., Licciardello C., Zhang Y., Liu J., Mackay S., Bailey P., Re-forgiato-Recupero G., Martin C. Retrotransposons control fruit-specific, cold-dependent accumulation of anthocyanins in blood oranges. *Plant Cell*, 2012, 24(3): 1242-1255 (doi: 10.1105/tpc.111.095232).
 71. Lisch D. How important are transposons for plant evolution? *Nat. Rev. Genet.*, 2013, 14(1): 49-61 (doi: 10.1038/nrg3374).
 72. Borevitz J.O., Xia Y., Blount J., Dixon R.A., Lamb C. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Cell*, 2000, 12(12): 2383-2393 (doi: 10.1105/tpc.12.12.2383).
 73. Gordeeva E.I., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. Marker-assisted development of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of purple pericarp (*Pp*) alleles. *Euphytica*, 2015, 203(2): 469-476 (doi: 10.1007/s10681-014-1317-8).
 74. Pattanaik S., Kong Q., Zaitlin D., Werkman J.R., Xie C.H., Patra B., Yuan L. Isolation and functional characterization of a floral tissue-specific R2R3 MYB regulator from

- tobacco. *Planta*, 2010, 231(5): 1061-1076 (doi: 10.1007/s00425-010-1108-y).
75. Neer E.J., Schmidt C.J., Nambudripad R., Smith T.F. The ancient regulatory-protein family of WD-repeat proteins. *Nature*, 1994, 371(6495): 297-300 (doi: 10.1038/371297a0).
76. Хлесткина Е.К., Шумный В.К. Перспективы использования прорывных технологий в селекции: система CRISPR/Cas9 для редактирования генома растений. *Генетика*, 2016, 52(7): 774-787 (doi: 10.7868/S0016675816070055).

¹ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Поступила в редакцию
630090 Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10, 5 ноября 2016 года
e-mail: khlest@bionet.nsc.ru;

²ФГАОУ ВО Новосибирский национальный
исследовательский государственный университет,
630090 Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2017, V. 52, № 1, pp. 37-49

ANTHOCYANINS SYNTHESIS IN POTATO (*Solanum tuberosum* L.): GENETIC MARKERS FOR SMART BREEDING (review)

K.V. Strygina¹, E.K. Khlestkina^{1, 2}

¹Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 10, prosp. Akademika Lavrent'eva, Novosibirsk, 630090 Russia, e-mail khlest@bionet.nsc.ru;

²Novosibirsk State University, 2, ul. Pirogova, Novosibirsk, 630090 Russia

ORCID: Khlestkina E.K. orcid.org/0000-0002-8470-8254

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported by Russian Science Foundation (grant № 16-16-04073)

Received November 5, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2017.1.37eng

Abstract

Potato may have anthocyanin-colored tuber skin, tuber flesh, flowers, leaves, stems and eyes. Anthocyanins protect photosynthetic apparatus of plant cell, scavenge free radicals under stress conditions, increase efficiency of phosphorus and nitrogen uptake, possess osmoregulatory function, antimicrobial activity and have a number of other useful properties. Anthocyanins are also known for their health benefit: diabetes type II and cardiovascular diseases protection, anti-inflammatory effect, etc. Thus, anthocyanins are important for adaptation of plants to unfavorable environment conditions as well as for nutritional value when they are taken with food. Since potato *Solanum tuberosum* L. is one of the main crop species, possibility to increase anthocyanin content in tuber flesh is important. Anthocyanin concentration in pigmented tuber flesh is similar to that in blueberries, blackberries, cranberries and red grapes. It is important that cooking as well as long storage of potato tubers doesn't affect anthocyanin content. Coloration traits (red or purple tuber flesh) are included in ongoing breeding programs. Therefore, development of tools (convenient diagnostic PCR-markers for anthocyanin biosynthesis genes) for accelerated and efficient selection is of importance. The goal of the current review is to summarize information on the genes regulating anthocyanin biosynthesis in potato and assess possibility of development of diagnostic marker for prediction of tuber flesh color before tuber formation. Anthocyanin biosynthesis takes place in cytosol with the help of enzymes CHS, CHI, DFR, F3H, F3'H, F3'5'H and ANS, after that anthocyanins are transported to vacuoles. Activation of biosynthesis is controlled by MBW complex consisting of transcription factors MYB, bHLH and WD40. This complex activates transcription of structural genes encoding the enzymes mentioned above. A number of MYB-encoding genes are identified in potato, among them *StAN1* related with anthocyanin biosynthesis. This gene corresponds to the *D* locus previously revealed with genetic dissection approach and mapped to chromosome 10. The genes encoding bHLH (*StJAF13* and *StbHLH1*) and WD40 (*StWD40*) have been revealed only by their homology with similar genes of other plant species, but not by genetic dissection, probably because they have no allelic diversity. Thus, the main gene determining high variability of potato by the coloration traits is *StAN1*. Its allelic variants are described and shown to be related with anthocyanin synthesis efficiency. The *StAN1* alleles can be easily distinguished by PCR fragments lengths, what allows constructing convenient diagnostic markers for selection. In some cases, the lack of anthocyanins is due to mutation of a structural gene. This was described in the literature for the *R* locus encoding DFR enzyme. Mutation of other structural gene, *StF3'5'H* (locus *P*), just partially disrupts anthocyanin synthesis, not effecting red pigments, but blue and purple only. This makes the *StF3'5'H* an attractive target for marker-assisted identification of genotypes with different tuber flesh color — purple or red. Thus, there are two main targets for breeding anthocyanin-colored potato — *StAN1* and *StF3'5'H*.

Keywords: *Solanum tuberosum*, potato, marker-assisted selection, anthocyanins, stress tolerance, nutrition value, genes, diagnostic markers.