

DOI 10.18699/vjgb-24-69

Содержание метаболитов и профиль экспрессии генов соответствующих метаболических путей в контрастных по окраске плодах баклажана (*Solanum melongena* L.)

М.А. Филюшин , Е.А. Джос^{1, 2}, А.В. Щенникова , Е.З. Кочиева ¹ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия² Федеральный научный центр овощеводства, пос. ВНИИССОК, Московская область, Россия michel7753@mail.ru

Аннотация. Баклажан (*Solanum melongena* L.) занимает пятое место по значимости среди овощных культур семейства Пасленовых, в том числе благодаря антиоксидантным свойствам плода за счет высокого содержания различных фенольных соединений. Наряду с популярными фиолетовоплодными сортами *S. melongena* имеются сорта, плоды которых синтезируют фенольные соединения, однако характеризуются белой окраской из-за отсутствия биосинтеза антоцианов. Определение количества антоцианов и других фенольных соединений, а также каротиноидов и сахаров входит в оценку качества плодов баклажана коммерческой (технической) спелости. Кроме антиоксидантных и вкусовых качеств, эти метаболиты связаны с устойчивостью плода к различным стрессовым факторам. В данном исследовании проведен сравнительный анализ содержания антоцианов, каротиноидов и растворимых сахаров (сахарозы, глюкозы, фруктозы) в кожице и мякоти плода как технической, так и биологической спелости у фиолетовоплодного (сорт Влас) и белоплодного (сорт Снежный) образцов баклажана отечественной селекции. Кожица и мякоть плода биологической спелости сортов Влас и Снежный были использованы для сравнительного транскриптомного анализа. Показано, что ключевые гены флавоноидного пути, метаболизма каротиноидов, гидролиза сахарозы, а также транспорта растворимых сахаров дифференциально экспрессируются между тканями плода как внутри каждого сорта, так и между сортами. Подтверждена связь фиолетовой окраски кожицы плода сорта Влас с присутствием значительных количеств антоцианов. Определено, что в сравнении с сортом Снежный спелый плод сорта Влас характеризуется существенно более низким уровнем экспрессии генов биосинтеза флавоноидов. Однако у обоих сортов в спелом плоде не выявлены транскрипты генов биосинтеза антоцианов (*DFR*, *ANS*, *UFGT*). Также показано, что в сравнении с белым плодом сорта Снежный фиолетовый плод сорта Влас накапливает больше каротиноидов и сахарозы и меньше глюкозы и фруктозы. Биохимические данные соответствуют профилю дифференциальной экспрессии ключевых генов, кодирующих структурные белки метаболизма и транспорта анализируемых соединений.

Ключевые слова: сорта баклажана; *Solanum melongena* L.; каротиноиды; антоцианы; растворимые сахара; экспрессия генов метаболических путей.

Для цитирования: Филюшин М.А., Джос Е.А., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Содержание метаболитов и профиль экспрессии генов соответствующих метаболических путей в контрастных по окраске плодах баклажана (*Solanum melongena* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(6):619-627. DOI 10.18699/vjgb-24-69

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-318 от 20.04.2022 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Metabolite concentrations and the expression profiles of the corresponding metabolic pathway genes in eggplant (*Solanum melongena* L.) fruits of contrasting colors

М.А. Filyushin , Е.А. Dzhos^{1, 2}, А.В. Shchennikova , Е.З. Kochieva ¹ Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia² Federal Scientific Vegetable Center, VNISSOK village, Moscow region, Russia michel7753@mail.ru

Abstract. Eggplant (*Solanum melongena* L.) ranks fifth in importance among vegetable crops of the Solanaceae family, in part due to the high antioxidant properties and polyphenol content of the fruit. Along with the popular purple-fruited varieties of *S. melongena*, there are cultivars, the fruits of which are rich in phenolic compounds, but are white-colored due to the lack of anthocyanin biosynthesis. Determination of the amount of anthocyanins and other phenolic compounds, as well as carotenoids and sugars, is included in the assessment of the quality of eggplant fruits of com-

mercial (technical) ripeness. In addition to antioxidant and taste properties, these metabolites are associated with fruit resistance to various stress factors. In this study, a comparative analysis of the content of anthocyanins, carotenoids and soluble sugars (sucrose, glucose, fructose) in the peel and pulp of the fruit of both technical and biological ripeness was carried out in purple-fruited (cv. Vlas) and white-fruited (cv. Snezhny) eggplant accessions of domestic selection. The peel and pulp of biologically ripe fruits of the cvs Vlas and Snezhny were used for comparative transcriptomic analysis. The key genes of the flavonoid and carotenoid metabolism, sucrose hydrolysis, and soluble sugar transport were shown to be differentially expressed between fruit tissues, both within each cultivar and between them. It has been confirmed that the purple color of the peel of the cv. Vlas fruit is due to substantial amounts of anthocyanins. Flavonoid biosynthesis genes showed a significantly lower expression level in the ripe fruit of the cv. Vlas in comparison with the cv. Snezhny. However, in both cultivars, transcripts of anthocyanin biosynthesis genes (*DFR*, *ANS*, *UFGT*) were not detected. Additionally, the purple fruit of the cv. Vlas accumulated more carotenoids and sucrose and less glucose and fructose than the white fruit of the cv. Snezhny. Biochemical data corresponded to the differential expression pattern of the key genes encoding the structural proteins of metabolism and transport of the compounds analyzed.

Key words: eggplant cultivars; *Solanum melongena* L.; carotenoids; anthocyanins; soluble sugars; expression of metabolic pathway genes.

For citation: Filyushin M.A., Dzhos E.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Metabolite concentrations and the expression profiles of the corresponding metabolic pathway genes in eggplant (*Solanum melongena* L.) fruits of contrasting colors. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii*=*Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(6):619-627. DOI 10.18699/vjgb-24-69

Введение

Баклажан (*Solanum melongena* L.) – овощная культура, занимающая пятое место по экономической значимости в семействе Пасленовых (*Solanaceae*). Несмотря на теплолюбивость, эта культура выращивается не только в тропических и субтропических климатических зонах, но и как тепличная культура в регионах с холодным климатом, включая Российскую Федерацию. Наибольшую известность имеют плоды баклажана с кожицей, окрашенной в разные оттенки фиолетового цвета, что определяется содержанием антоцианов. Данный факт в совокупности с тем, что мякоть плодов обогащена фенольными кислотами, придает баклажанам мощные антиоксидантные свойства и ставит их в один ряд с продуктами с высокой пищевой/диетической ценностью (Gürbüz et al., 2018; Akhbari et al., 2019; Condurache et al., 2021; Saha et al., 2023).

Кроме сортов с фиолетовоокрашенными плодами, имеются также сорта *S. melongena*, образующие плоды с кожицей белой или зеленой окраски из-за ингибирования биосинтеза антоцианов (Condurache et al., 2021; Yang et al., 2022; You et al., 2022). Окраска белая, зеленая или промежуточных оттенков определяется соотношением двух типов пластид в клетках плода – хлоропластов и лейкопластов (Tao et al., 2023). С точки зрения потребителя важно, что белоплодные сорта могут быть предпочтительней, так как лишены горечи, свойственной плодам с темной окраской, благодаря изменению содержания гликоалкалоидов (Lelario et al., 2019; Saha et al., 2023).

Коммерческим сортам баклажана присуща морфологическая вариативность, и скрининг существующих коллекций по набору характеристик включает группировку по окраске кожицы плода как наиболее важного признака (Martínez-Ispizua et al., 2021). Оценка качества плодов фокусируется на их антиоксидантных свойствах, включая определение содержания фенольных соединений/флавоноидов, каротиноидов и сахаров, и в данном аспекте наблюдается широкое разнообразие (Martínez-Ispizua et al., 2021). Фиолетовоплодные сорта в сравнении с белоплодными характеризуются большей антиоксидантной активностью и повышенным содержанием фенолов и каротиноидов как в кожице, так и в мякоти и слабо отличаются

или сходны по общему количеству сахаров (Martínez-Ispizua et al., 2021; Colak et al., 2022).

Корреляций между содержанием флавоноидов, каротиноидов и сахаров в плодах баклажана не наблюдается (Martínez-Ispizua et al., 2021). С другой стороны, имеются косвенные свидетельства существования такой зависимости, опосредованной фитогормонами, в ягодах вишни (Teribia et al., 2016), а именно: обратная корреляция между содержанием растворимых сахаров и транс-зеатина, а также гиббереллина GA4 и антоцианов. Абсцизовая кислота (АБК), напротив, связана положительно с количеством антоцианов и растворимых сахаров (Teribia et al., 2016). При этом накопление антоцианов коррелирует с количеством сахаров у китайского финика *Ziziphus jujube* (Jiang et al., 2020).

Все упомянутые антиоксидантные соединения, а также растворимые сахара тесно связаны с устойчивостью к различным стрессовым факторам как вегетативной части растения (Keunen et al., 2013; Pérez-Torres et al., 2021; Waadt et al., 2022), так и сочного плода (Shi et al., 2019; Jiang et al., 2020). К примеру, показано, что повышенная наработка фенольных соединений определяет устойчивость плода баклажана к низким температурам (Shi et al., 2019). Повышенная температура положительно влияет на содержание сахаров, антоцианов, флавоноидов и каротиноидов в плодах китайского финика *Z. jujube*, однако в сочетании с засухой вызывает обратный эффект (Jiang et al., 2020).

Цель настоящей работы – характеристика плодов двух сортов баклажана, которая включала определение содержания антоцианов, каротиноидов и растворимых сахаров, а также профиля экспрессии ключевых генов соответствующих метаболических путей. Для этого были выбраны два сорта отечественной селекции, имеющих разную окраску плода – белую и фиолетовую соответственно. Существенным отличием от проводимых ранее подобных исследований было то, что для анализа были использованы плоды не только технической (товарной), но и биологической спелости.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи: получение растительного материала (плоды двух

сортов на стадиях технической и биологической спелости), определение содержания целевых метаболитов в кожице и мякоти плодов технической и биологической спелости, анализ транскриптомов кожицы и мякоти плодов на стадии биологической спелости с фокусировкой на транскриптах генов целевых метаболических путей, валидация транскриптомных данных.

Материалы и методы

Для сравнительного исследования использовали образцы двух раннеспелых сортов баклажана вида *S. melongena* селекции Федерального научного центра овощеводства (ФНЦО, Московская область), различающихся окраской спелого плода. Плоды сорта Снежный (код сорта 9905014, <https://gossortrf.ru/registry/>) на стадии технической спелости имеют белую окраску кожицы и мякоти. Плоды сорта Влас (код сорта 8057522) в технической спелости имеют темно-фиолетовую кожицу и белую мякоть. На стадии биологической спелости мякоть плодов остается белой у обоих сортов, а кожица приобретает желтоватый (сорт Снежный) или коричневый (сорт Влас) оттенки (рис. 1).

Растения исследуемых сортов выращивали (2023 г.) до стадии плодоношения в пленочной теплице ФНЦО. В августе собирали плоды в технической (commercially mature, CM) и биологической (physiologically ripe, PR) спелости, разделяли их на кожицу (экзокарп) и мякоть (мезокарп), измельчали растиранием в фарфоровой ступке в жидком азоте и использовали для биохимического, метаболомного и транскриптомного анализов.

Содержание антоцианов и каротиноидов определяли спектрофотометрически в хлороформ-метанольных экс-

трактах согласно (Филюшин и др., 2020). Поскольку среди антоцианов, накапливающихся в кожице плода баклажана, доминируют гликозиды дельфинидина (93–98 % от общей суммы) (Condurache et al., 2021; Yang et al., 2022), содержание антоцианов рассчитывали в пересчете на дельфинидин-3-рутинозид.

Содержание сахаров: глюкозы, фруктозы и сахарозы – определяли по данным метаболомов (не опубликовано), которые получали согласно (Filyushin et al., 2023). Вкратце: около 0.2 г тщательно измельченной ткани листьев дважды экстрагировали 200 мкл 80 % метанола. Суммарный экстракт упаривали, растворяли в 30 % метаноле (из расчета 50 мг сырой массы на 100 мкл экстракта) и подвергали масс-спектральному анализу с использованием сверхэффективного метода жидкостной хроматографии с квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрией (UPLC-qTOF-MS/MS) согласно протоколу [https://lcms.cz/labrulez-bucket-strap-i-h3hsga3/1866243_lcms_148_how_potato_fights_its_enemies_02_2019_ebook_rev_01_9d3990d6c4/1866243-lcms-148-how-potato-fights-its-enemies-02-2019-ebook-rev-01.pdf]. В качестве относительных показателей по содержанию сахаров использовали уровень сигнала/100 мг аннотированных соединений.

Дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ), кодирующие белки, участвующие в гидролизе и транспорте растворимых сахаров (инвертазы и унипортеры сахаров), определяли по данным транскриптомов кожицы и мякоти плода PR (не опубликовано). Для транскриптомного анализа выделяли препараты суммарной РНК (RNeasy Plant Mini Kit, Qiagen, США), послужившие основой для библиотек мРНК (NEBNext® mRNA Library Prep Reagent



Рис. 1. Плоды сортов баклажана Снежный (а) и Влас (б) в технической (СМ; слева) и биологической (PR; справа) спелости.

Сорта различаются по окраске кожицы плода – белой (Снежный) и фиолетовой (Влас). Масштабная линия 5 см.

Set for Illumina; New England BioLabs, США), которые затем секвенировали (Illumina HiSeq2500; Illumina Inc., США). Для сборки и определения кодирующих последовательностей использовали Trinity v3.5.13 (<https://github.com/trinityrnaseq/trinityrnaseq/wiki>) и TransDecoder v5.1.0 (<https://github.com/TransDecoder/TransDecoder>); аннотировали с помощью NCBI-Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Относительные уровни транскриптов (FPKM; количество фрагментов на 1 кб транскриптов на 1 млн картированных фрагментов) оценивали с помощью RSEM (<https://github.com/deweylab/RSEM>). Для определения ДЭГ как внутри сорта (кожица vs мякоть), так и между сортами (кожица vs кожица; мякоть vs мякоть) данные транскриптомов нормализовали на уровень транскриптов референсного гена *GAPDH*.

Структурный анализ последовательностей ДЭГ выполняли с помощью NCBI-BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и MEGA 7.0 (<https://www.megasoftware.net/>) с применением геномных (GCA_000787875.1) (Hirakawa et al., 2014) и транскриптомных данных *S. melongena* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Валидацию транскриптомных данных проводили методом количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) на амплификаторе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США); программа [95 °C – 5 мин; 40 циклов (95 °C – 15 с, 62 °C – 50 с)]. Для этого на основе имеющихся препаратов суммарной РНК синтезировали кДНК (GoScript™ Reverse Transcription System, Promega, США) и 3 нг использовали в реакцию. Реакционная смесь включала набор «Реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR GreenI и ROX» (ООО «Синтол», Россия) и ген-специфичные праймеры. Реакции проводили в трех технических и двух биологических повторах и нормализовали на уровень транскриптов референсного гена *GAPDH* (Zhang et al., 2014).

Для статистической обработки полученных биохимических и экспрессионных данных использовали GraphPad Prism v. 8 (GraphPad Software Inc., США; <https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>). Для оценки достоверности различий применяли *t*-test ($p < 0.05$ указывает на статистическую значимость различий).

Результаты

Исследование было сфокусировано на сравнительной характеристике плода технической и биологической спелости двух сортов баклажана, принадлежащих одному виду, *S. melongena*, и различающихся по окраске кожицы плода, а именно сортов Снежный и Влас соответственно с белой/желтоватой и фиолетовой/коричнево-фиолетовой окраской кожицы плода в технической/биологической спелости (см. рис. 1).

Проведенный биохимический анализ кожицы и мякоти в динамике созревания плода показал, что содержание антоцианов соответствует окраске анализируемых тканей плода биологической спелости. В желтоватой кожице и белой мякоти плода сорта Снежный, а также белой мякоти плода сорта Влас количество антоцианов имело следовые значения, тогда как в коричнево-фиолетовой кожице плода сорта Влас их количество оказалось выше в ~300 раз (рис. 2, а).

Плоды обоих сортов как в технической, так и биологической спелости содержали следы каротиноидов в мякоти. В кожице каротиноиды накапливались активнее, в случае сорта Влас количество каротиноидов было выше в ~25 раз, чем у сорта Снежный (см. рис. 2, б).

Если различие в содержании антоцианов у анализируемых сортов было предсказуемым, то несколько неожиданными оказались значительные расхождения по содержанию растворимых сахаров. По данным проведенного метаболомного профилирования кожицы и мякоти было обнаружено, что в плоде сорта Снежный присутствует в ~2 (кожица) и ~5 (мякоть) раз больше гексоз (глюкоза, фруктоза), а также в ~2 (кожица и мякоть) раза меньше сахарозы, чем у сорта Влас (см. рис. 2, в).

Проведенный сравнительный анализ транскриптомов кожицы и мякоти плода сортов Снежный и Влас позволил выявить ряд ДЭГ, куда ожидаемо по результатам биохимического и метаболомного анализа попали гены, связанные с метаболизмом антоцианов, каротиноидов и сахаров (см. таблицу).

Было обнаружено, что основные гены флавоноидного пути (Zhang et al., 2014; Alappat B., Alappat J., 2020) до синтеза антоцианов (*CHS1*, *CHS2*, *F3H*), высоко транскри-

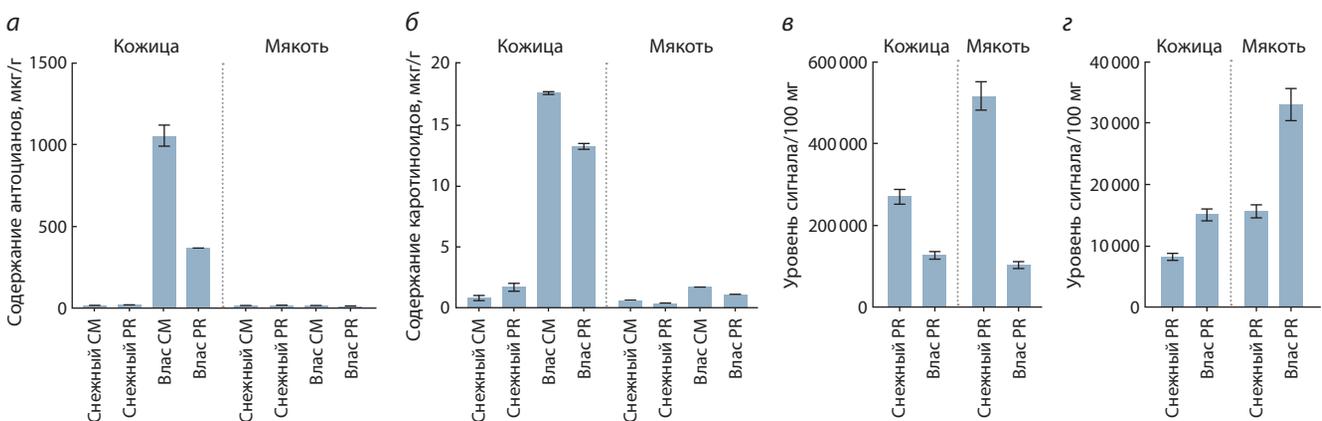


Рис. 2. Содержание суммы антоцианов (а), суммы каротиноидов (б), гексоз (суммарно глюкозы и фруктозы) (в) и сахарозы (з) в кожице и мякоти плода технической (СМ) и биологической (РР) спелости сортов баклажана Снежный и Влас (*S. melongena*).

В качестве относительных показателей по содержанию сахаров, полученных при нетаргетированном метаболомном профилировании, использовали уровень сигнала/100 мг аннотированных соединений.

Список ДЭГ, связанных с метаболизмом сахаров, каротиноидов и антоцианов

Ген	ID, транскриптом <i>S. melongena</i>	Гомолог у <i>S. lycopersicum</i> , NCBI ID
Семейство GH32 (кислые инвертазы; гидролиз сахарозы)		
<i>VINV1</i>	TRINITY_DN2044_c0_g1_i1.p1	acid vacuolar invertase ASK06213.1
<i>CWINV1</i>	TRINITY_DN7423_c0_g1_i23.p1	beta-fructofuranosidase, insoluble isoenzyme CWINV3-like XP_004241885.1
<i>CWINV2</i>	TRINITY_DN29292_c0_g1_i1.p1	beta-fructofuranosidase, insoluble isoenzyme CWINV1 XP_019068732.1
<i>CWINV3</i>	TRINITY_DN3426_c0_g1_i16.p1	cell-wall invertase AAM22409.1
Семейство GH100 (нейтрально-щелочные инвертазы; гидролиз сахарозы)		
<i>N/AINV1</i>	TRINITY_DN5049_c0_g1_i2.p1	neutral/alkaline invertase 3, chloroplastic, XP_004249987.1
<i>N/AINV2</i>	TRINITY_DN5579_c0_g1_i2.p1	probable alkaline/neutral invertase D, XP_004241837.1
<i>N/AINV3</i>	TRINITY_DN5658_c1_g1_i7.p1	alkaline/neutral invertase A, mitochondrial, XP_004230329.1
<i>N/AINV4</i>	TRINITY_DN6542_c0_g1_i11.p1	alkaline/neutral invertase A, mitochondrial, XP_004230329.1
<i>N/AINV5</i>	TRINITY_DN6803_c0_g1_i6.p1	neutral/alkaline invertase 3, chloroplastic, XP_004249987.1
<i>N/AINV6</i>	TRINITY_DN9045_c1_g1_i1.p1	probable alkaline/neutral invertase D, XP_004238357.1
Семейство SWEET (унипортеры растворимых сахаров)		
<i>SWEET1</i>	TRINITY_DN316_c1_g1_i1.p1	bidirectional sugar transporter SWEET1-like XP_004237723.1
<i>SWEET2</i>	TRINITY_DN2271_c0_g1_i1.p1	bidirectional sugar transporter SWEET1, XP_004242009.1
<i>SWEET3</i>	TRINITY_DN1022_c0_g1_i7.p1	bidirectional sugar transporter N3, XP_019068532.1
<i>SWEET4</i>	TRINITY_DN13252_c0_g1_i6.p1	bidirectional sugar transporter SWEET1-like, XP_004237724.1
<i>SWEET5</i>	TRINITY_DN1022_c0_g1_i4.p1	bidirectional sugar transporter N3, XP_019068532.1
<i>SWEET6</i>	TRINITY_DN10403_c0_g1_i2.p1	bidirectional sugar transporter SWEET2a, XP_004233011.1
Путь метаболизма каротиноидов		
<i>PSY1</i>	TRINITY_DN59246_c0_g1_i2.p1	phytoene synthase 1, NP_001234812.1
<i>PSY2</i>	TRINITY_DN6268_c0_g1_i3.p1	phytoene synthase 2, NP_001234671.1
<i>NCED1</i>	TRINITY_DN3512_c2_g1_i3.p1	9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, NP_001234455.1
Флавоноидный путь		
<i>CHS1</i>	TRINITY_DN6959_c0_g2_i2.p1	chalcone synthase 1, NP_001234033.2
<i>CHS2</i>	TRINITY_DN6763_c0_g1_i3.p1	chalcone synthase 2, NP_001234036.2
<i>F3H</i>	TRINITY_DN5746_c0_g1_i2.p1	flavanone 3-dioxygenase, NP_001316412.1
<i>DFR</i>	TRINITY_DN49807_c0_g1_i1.p1	dihydroflavonol 4-reductase, NP_001234408.2

бируются в коже плода сорта Снежный и детектируются в значительно меньших и сходных между собой количествах в мякоти (оба сорта) и коже (Влас) (рис. 3). При рассмотрении части пути, относящейся к синтезу антоцианов, оказалось, что уровень экспрессии первого гена ветви, *DFR*, в коже и мякоти плода сорта Снежный значительно выше, чем у сорта Влас. Однако количество транскриптов в значении ФРКМ для *DFR* предельно низкое во всех четырех образцах (0.49–3.44), поэтому о существенной разнице между сортами говорить нельзя, так как уровень транскриптов гена приближается к нулю. При этом транскрипты последующих генов ветви биосинтеза антоцианов, *ANS* (антоцианидинсинтаза) и *UFGT* (UDP-глюкозофлавоноид-3-О-глюкозилтрансфераза), не вошли в список ДЭГ и детектировались в следовых количествах (см. рис. 3).

Анализ транскриптов генов фитоинсинтаз – ключевых изоферментов метаболизма каротиноидов (Rosas-Saa-

vedra, Stange, 2016) – показал следовые количества мРНК *PSY1* в коже (Снежный) и мякоти (оба сорта) плода и их существенный уровень в коже плода сорта Влас (см. рис. 3). В то же время транскрипты *PSY2* присутствовали в относительно значимых количествах в коже (Снежный, Влас) и мякоти (Снежный) плода. При этом число транскриптов *PSY2* было существенно больше у сорта Снежный (см. рис. 3). Другой ДЭГ, связанный с катаболизмом каротиноидов, ген 9-*цис*-эпоксикаротиноиддиоксигеназы (*NCED1*), катализирующей синтез АБК из ксантофиллов β, β -ветви пути (Rosas-Saavedra, Stange, 2016), высоко транскрибировался в коже и мякоти плода сорта Влас, тогда как в плоде сорта Снежный детектировались только следовые количества (см. рис. 3).

В список ДЭГ, связанных с необратимым гидролизом сахарозы и транспортом моно- и дисахаридов, вошли гены вакуолярной инвертазы (*VINV1*), инвертаз клеточной стенки (*CWINV1–3*), нейтральных/щелочных инвер-

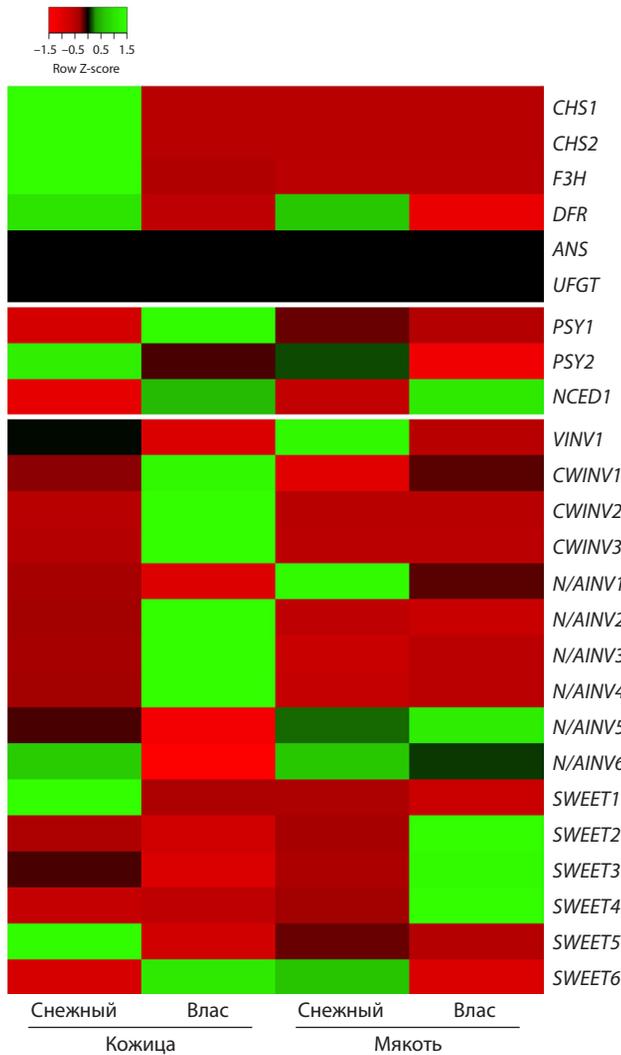


Рис. 3. Тепловая карта экспрессии ДЭГ, связанных с метаболизмом антоцианов и каротиноидов, а также с гидролизом сахарозы и транспортом растворимых сахаров в кожице и мякоти биологически спелого плода (PR) сортов Снежный и Влас (*S. melongena*).

Построено по данным транскриптомного анализа.

таз (*N/AINV1–6*) и унипортеров сахаров (*SWEET1–6*) (см. таблицу).

В кожице плода сорта Снежный наиболее высокий уровень экспрессии имели гены четырех инвертаз (*VINV1*, *CWINV1*, *N/AINV5* и 6) и трех унипортеров сахаров (*SWEET1*, 3 и 5); в мякоти плода – гены четырех инвертаз (*VINV1*, *N/AINV1*, 5 и 6) и двух унипортеров сахаров (*SWEET5* и 6) (см. рис. 3).

В целом сорт Влас отличался от сорта Снежный значительными уровнями экспрессии и большим числом активных генов инвертаз и унипортеров сахаров. В кожице плода сорта Влас наиболее высоко транскрибировались гены шести инвертаз (*CWINV3*, *CWINV1* и 2, *N/AINV2–4*) и одного унипортера сахаров (*SWEET6*); в мякоти плода – гены четырех инвертаз (*CWINV1*, *N/AINV1*, 5 и 6) и трех унипортеров сахаров (*SWEET2–4*) (см. рис. 3).

Таким образом, профиль экспрессии генов метаболизма антоцианов, каротиноидов и сахаров различался как

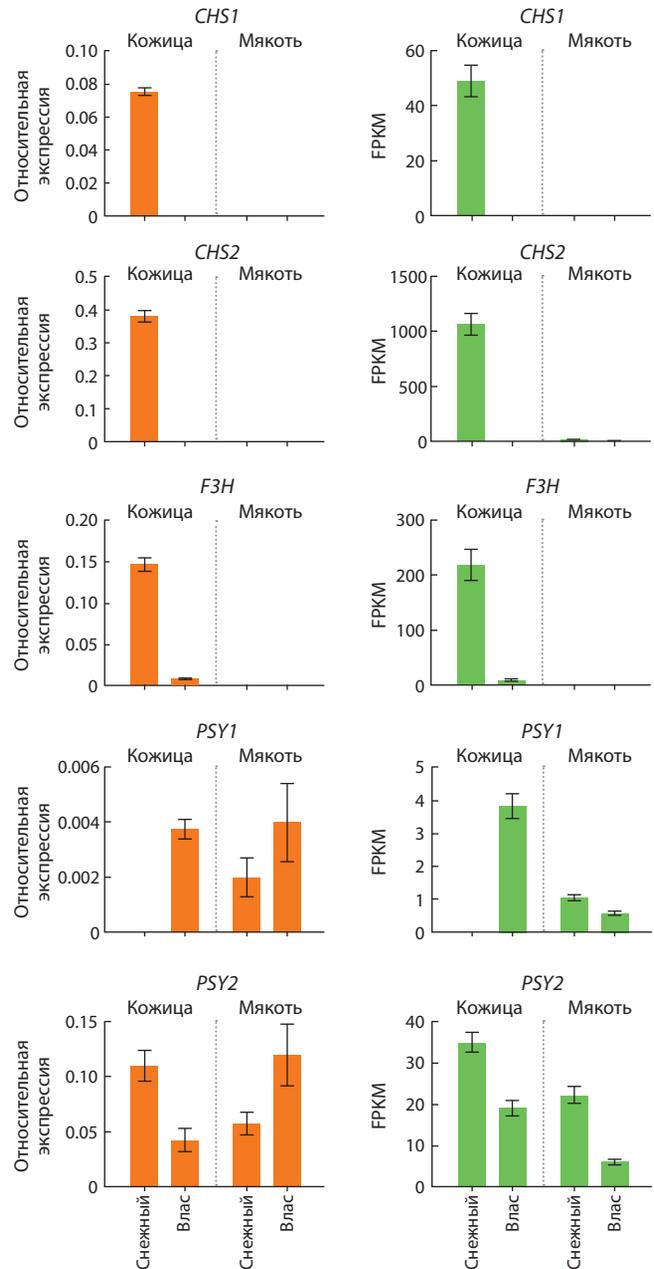


Рис. 4. Профили экспрессии по данным ПЦР-РВ (слева) и транскриптомного анализа (справа) генов *CHS1*, *CHS2*, *F3H*, *PSY1* и *PSY2*.

Отсутствие экспрессии генов *DFR*, *ANS* также подтверждено ПЦР-РВ; графики не приведены. Последовательности праймеров для генов *CHS1*, *CHS2*, *F3H*, *DFR*, *ANS* и референсного гена *GAPDH* взяты из статьи (Филиюшин и др., 2023б); для генов *PSY1* и *PSY2* – из (Кулакова и др., 2023).

внутри каждого сорта (кожица vs мякоть), так и между сортами (кожица vs кожица, мякоть vs мякоть).

Транскриптомные данные были валидированы с помощью ПЦР-РВ: в тех же тканях плода была определена экспрессия генов *CHS1*, *CHS2*, *F3H*, *DFR*, *ANS* (флавоноидный путь), *PSY1* и *PSY2* (каротиногенез) (рис. 4). Было показано, что характер экспрессии этих генов согласуется с транскриптомными данными, за исключением несущественных различий в соотношении уровней экспрессии генов *PSY1* и *PSY2* в мякоти плода между сортами (см. рис. 4).

Обсуждение

Морфологическое разнообразие сортов баклажана стало предметом многих исследований, что способствует оптимизации селекции новых сортов с улучшенными характеристиками (Martínez-Ispizua et al., 2021). Особое внимание уделяется метаболитам (содержание, регуляция синтеза/накопления), обладающим антиоксидантными свойствами и/или определяющими онтогенез/стрессоустойчивость и вкусовые качества плода (Martínez-Ispizua et al., 2021). Рассматриваемые нутрицевтики главным образом включают полифенолы, аскорбиновую кислоту, каротиноиды и, реже, гликоалкалоиды и сахара (Gürbüz et al., 2018; Akhbari et al., 2019; Condurache et al., 2021; Martínez-Ispizua et al., 2021; Saha et al., 2023).

В нашем исследовании были охарактеризованы образцы двух сортов баклажана *S. melongena*, различающиеся окраской кожицы плода: Снежный (белая окраска) и Влас (фиолетовая окраска) (см. рис. 1). Характеристика включала содержание суммы антоцианов, суммы каротиноидов и растворимых сахаров в кожице и мякоти плода (СМ и РР) в сопровождении анализа экспрессии генов, кодирующих ключевые стадии метаболизма данных соединений в тканях биологически спелого плода (РР).

С помощью биохимического анализа подтверждено, что фиолетовая окраска кожицы плода сорта Влас определяется присутствием антоцианов (см. рис. 2, а). Значительно более высокое содержание каротиноидов в кожице плода сорта Влас в сравнении с мякотью, а также плодом сорта Снежный (см. рис. 2, б), не сказывается на окраске плода, видимо, в силу наличия большого количества антоцианов.

В случае плода сорта Влас содержание и тех, и других пигментов существенно снижалось при переходе от технической к биологической спелости (см. рис. 2, а, б). Это может быть связано со снижением экспрессии генов биосинтеза данных метаболитов или с ускоренным катаболизмом пигментных соединений. Уменьшение концентрации наблюдалось и для растворимых сахаров (см. рис. 2, в, г). Эти результаты соответствуют снижению вкусовых и антиоксидантных характеристик плода на стадии биологической спелости и объясняют коммерческое использование плодов технической спелости.

Согласно транскриптомному анализу, гены метаболизма антоцианов, каротиноидов и сахаров дифференциально экспрессируются как между тканями плода внутри одного сорта, так и между сортами (см. таблицу). Это, предположительно, определяет внутри- и межсортные различия в содержании соответствующих соединений в тканях плода.

В целом полученные данные по экспрессии генов флавоноидного пути соответствуют ранее показанному профилю их экспрессии у сортов баклажана с белой и фиолетовой кожицей (Филюшин и др., 2023б). Согласно этим данным, именно между технической и биологической стадиями созревания плода происходят значительные изменения экспрессии генов флавоноидного пути, за счет чего снижается содержание антоцианов в кожице плода фиолетовоплодного сорта.

Неожиданностью стала существенно более высокая экспрессия ключевых генов флавоноидного пути (до антоциановой ветви) в плоде сорта Снежный в сравнении с плодом сорта Влас (см. рис. 3), что говорит о возможности

синтеза в плоде сорта Снежный большего количества флавоноидов, исключая антоцианы. Поскольку в плоде сорта Снежный содержание каротиноидов минимально, а экспрессия генов флавоноидного пути сравнительно высока, можно предположить, что желтая окраска зрелого плода (РР) сорта Снежный (см. рис. 1, а) связана с накоплением флавоноидов (бесцветных или имеющих желтую окраску). Это отличает плоды баклажана от плодов родственных видов томата (*S. lycopersicum*) и перца (*Capsicum annuum*), окраска которых связана с накоплением каротиноидов (Филюшин и др., 2020).

Кроме того, эти результаты противоположны данным немногочисленных исследований по сравнению содержания фенольных соединений у белых и фиолетовых плодов баклажана, которые свидетельствуют о большем накоплении их фиолетовыми плодами (Martínez-Ispizua et al., 2021; Colak et al., 2022). Обе эти работы включали анализ только одного белоплодного сорта (Martínez-Ispizua et al., 2021; Colak et al., 2022), как и в нашем случае. Таким образом, белоплодные сорта баклажана могут существенно различаться друг с другом по содержанию фенольных соединений и, следовательно, по антиоксидантной активности.

Показанный в работе профиль экспрессии генов, с которых начинается биосинтез каротиноидов, – генов фитинсинтаз, *PSY1*, *PSY2*, соответствует известной специфичности активности каждого из двух изоферментов к определенному типу пластид (Rosas-Saavedra, Stange, 2016). Так, *PSY1*, кодирующий хромoplast-специфичный фермент, экспрессировался в следовых количествах, тогда как хлоропласт-специфичному *PSY2* соответствовало тогда как порядок больше транскриптов (см. рис. 3, 4). В то же время высокий уровень экспрессии гена 9-цис-эпоксикаротиноиддиоксигеназы (*NCED1*), катализирующей превращение каротиноидов β,β-ветви в АБК (Rosas-Saavedra, Stange, 2016), в плоде сорта Влас, и его следовые количества в плоде сорта Снежный (см. рис. 3) предполагают повышенное содержание АБК в фиолетовом плоде. С учетом комплексных функций АБК (Waadt et al., 2022) этот факт может говорить о большей эффективности процессов развития, созревания и ответа на стрессовые факторы у фиолетового плода по сравнению с белым плодом.

Содержание АБК положительно связывают с количеством антоцианов и растворимых сахаров (Teribia et al., 2016), хотя количество последних не коррелирует с накоплением фенольных соединений, а также каротиноидов (Martínez-Ispizua et al., 2021).

Концентрация растворимых сахаров регулируется, в том числе, гидролизом (с помощью инвертаз) и транспортом между тканями (с помощью транспортеров сахаров) (Liu et al., 2022; Ren et al., 2022; Филюшин и др., 2023а). Семейство инвертаз включает нейтральные/щелочные (N/AINV) и кислые (вакуолярные и клеточные стенки; VINV/CWINV) ферменты, участвующие в регуляции онтогенеза и стрессоустойчивости растений (Qian et al., 2016), как и унипортеры сахаров семейства SWEET (Fan et al., 2023; Filyushin et al., 2023).

В сравнении с сортом Влас плоды сорта Снежный содержали больше гексоз и меньше сахарозы (см. рис. 2), что, на первый взгляд, находится в противоречии с более низкой активностью генов инвертаз (см. рис. 3). Однако

эти расхождения могут быть следствием неполного соответствия плодов двух анализируемых сортов по степени биологической спелости. Спелые сочные плоды характеризуются увеличенными клетками с крупными вакуолями, которые активно накапливают и хранят сахара (Hedrich et al., 2015). В коже и мякоти плода сорта Снежный наблюдается наиболее высокий уровень экспрессии единственного найденного ДЭГ вакуолярной инвертазы *VINV1* (см. рис. 3), что соответствует наиболее высокому содержанию там гексоз (см. рис. 2) и, вероятно, является признаком полной биологической спелости плода. В то же время в плоде сорта Влас высоко экспрессируются инвертазы клеточной стенки и нейтральные/щелочные инвертазы (см. рис. 3), работающие в цитоплазме и хлоропластах (Qian et al., 2016), где гексозы активно утилизируются для процессов развития (Hedrich et al., 2015). То есть анализируемый плод данного сорта, возможно, еще не достиг полного созревания и находится на промежуточной стадии, предшествующей биологической спелости. Наблюдаемая межсортовая разница по содержанию сахаров в плоде может быть следствием транспортной регуляции их количества, в том числе с помощью унипортеров семейства SWEET (Filyushin et al., 2023).

Заключение

В настоящей работе проведена сравнительная характеристика спелого плода двух сортов баклажана *S. melongena* с белой (Снежный) и фиолетовой (Влас) окраской кожицы с использованием биохимического и транскриптомного анализов. Показано, что фиолетовая окраска плода сорта Влас связана с присутствием антоцианов и сопровождается повышенным накоплением каротиноидов и сахарозы, что согласуется с профилем экспрессии генов, связанных с ключевыми стадиями метаболизма данных соединений и транспортом растворимых сахаров. В сравнении с сортом Влас плод сорта Снежный характеризуется большим количеством гексоз и, возможно, флавоноидов.

Список литературы / References

Кулакова А.В., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Экспрессия генов биогенеза каротиноидов в процессе длительного холодового хранения клубней картофеля. *Генетика*. 2023;59(8):914-928. DOI 10.31857/S001667582308009X
[Kulakova A.V., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Expression of carotenoid biosynthesis genes during the long-term cold storage of potato tubers. *Russ. J. Genet.* 2023;59(8):794-807. DOI 10.1134/S1022795423080094]
Филошин М.А., Джос Е.А., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Зависимость окраски плодов перца от соотношения основных пигментов и профиля экспрессии генов биосинтеза каротиноидов и антоцианов. *Физиология растений*. 2020;67(6):644-653. DOI 10.31857/S0015330320050048
[Filyushin M.A., Dzhos E.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Dependence of pepper fruit colour on basic pigments ratio and expression pattern of carotenoid and anthocyanin biosynthesis genes. *Russ. J. Plant Physiol.* 2020;67(6):1054-1062. DOI 10.1134/S1021443720050040]
Филошин М.А., Слугина М.А., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Дифференциальный профиль экспрессии генов унипортеров сахаров семейства SWEET в регуляции качественных признаков плода у видов томата (*Solanum* секция Lycopersicon). *Физиология растений*. 2023а;70(4):354-364. DOI 10.31857/S001533032360002X

[Filyushin M.A., Sluginina M.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Differential expression of sugar uniporter genes of the SWEET family in the regulation of qualitative fruit traits in tomato species (*Solanum* section Lycopersicon). *Russ. J. Plant Physiol.* 2023а; 70(4):70. DOI 10.1134/S102144372360023X]
Филошин М.А., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Коэкспрессия структурных и регуляторных генов флавоноидного пути выявляет особенности биосинтеза антоцианов в органах баклажана (*Solanum melongena* L.). *Физиология растений*. 2023б;70(3):241-250. DOI 10.31857/S0015330322600747
[Filyushin M.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Coexpression of structural and regulatory genes of the flavonoid pathway reveals the characteristics of anthocyanin biosynthesis in eggplant organs (*Solanum melongena* L.). *Russ. J. Plant Physiol.* 2023б;70:27. DOI 10.1134/S1021443722603147]
Akhbari M., Hamed S., Aghamiri Z.S. Optimization of total phenol and anthocyanin extraction from the peels of eggplant (*Solanum melongena* L.) and biological activity of the extracts. *J. Food Measure. Character.* 2019;13:3183-3197. DOI 10.1007/s11694-019-00241-1
Alappat B., Alappat J. Anthocyanin pigments: beyond aesthetics. *Molecules*. 2020;25(23):5500. DOI 10.3390/molecules25235500
Colak N., Kurt-Celebi A., Gruz J., Strnad M., Hayirlioglu-Ayaz S., Choung M.G., Esatbeyoglu T., Ayaz F.A. The phenolics and antioxidant properties of black and purple versus white eggplant cultivars. *Molecules*. 2022;27(8):2410. DOI 10.3390/molecules27082410
Condurache N.N., Croitoru C., Enachi E., Bahrim G.E., Stanciu N., Rapeanu G. Eggplant peels as a valuable source of anthocyanins: extraction, thermal stability and biological activities. *Plants*. 2021; 10:577. DOI 10.3390/Plants10030577
Fan X.W., Sun J.L., Cai Z., Zhang F., Li Y.Z., Palta J.A. *MeSWEET15a/b* genes play a role in the resistance of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) to water and salt stress by modulating sugar distribution. *Plant Physiol. Biochem.* 2023;194:394-405. DOI 10.1016/j.plaphy.2022.11.027
Filyushin M.A., Anisimova O.K., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Genome-wide identification, expression, and response to *Fusarium* infection of the SWEET gene family in garlic (*Allium sativum* L.). *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(8):7533. DOI 10.3390/ijms24087533
Gürbüz N., Uluişik S., Frarya A., Fraryc A., Doğanlara S. Health benefits and bioactive compounds of eggplant. *Food Chem.* 2018; 268:602. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.06.093
Hedrich R., Sauer N., Neuhaus H.E. Sugar transport across the plant vacuolar membrane: nature and regulation of carrier proteins. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2015;25:63-70. DOI 10.1016/j.pbi.2015.04.008
Hirakawa H., Shirasawa K., Miyatake K., Nunome T., Negoro S., Ohya A., Yamaguchi H., Sato S., Isobe S., Tabata S., Fukuoka H. Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative solanum species indigenous to the old world. *DNA Res.* 2014;21:649. DOI 10.1093/dnares/dsu027
Jiang W., Li N., Zhang D., Meinhardt L., Cao B., Li Y., Song L. Elevated temperature and drought stress significantly affect fruit quality and activity of anthocyanin-related enzymes in jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. 'Lingwuchangzao'). *PLoS One*. 2020;15(11):e0241491. DOI 10.1371/journal.pone.0241491
Keunen E., Peshev D., Vangronsveld J., Van Den Ende W., Cuyper A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant Cell Environ.* 2013;36(7):1242-1255. DOI 10.1111/pce.12061
Lelario F., De Maria S., Rivelli A.R., Russo D., Milella L., Bufò S.A., Scranò L. A complete survey of glycoalkaloids using LC-FTICR-MS and IRMPD in a commercial variety and a local landrace of eggplant (*Solanum melongena* L.) and their anticholinesterase and antioxidant activities. *Toxins (Basel)*. 2019;11(4):230. DOI 10.3390/toxins11040230
Liu Y.H., Song Y.H., Ruan Y.L. Sugar conundrum in plant-pathogen interactions: roles of invertase and sugar transporters depend on pathosystems. *J. Exp. Bot.* 2022;73(7):1910-1925. DOI 10.1093/jxb/erab562

- Martínez-Ispizua E., Calatayud Á., Marsal J.I., Mateos-Fernández R., Díez M.J., Soler S., Valcárcel J.V., Martínez-Cuenca M.R. Phenotyping local eggplant varieties: commitment to biodiversity and nutritional quality preservation. *Front. Plant Sci.* 2021;12:696272. DOI 10.3389/fpls.2021.696272
- Pérez-Torres I., Castrejón-Téllez V., Soto M.E., Rubio-Ruiz M.E., Manzano-Pech L., Guarner-Lans V. Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):1786. DOI 10.3390/ijms22041786
- Qian W., Yue C., Wang Y., Cao H., Li N., Wang L., Hao X., Wang X., Xiao B., Yang Y. Identification of the invertase gene family (INVs) in tea plant and their expression analysis under abiotic stress. *Plant Cell Rep.* 2016;35(11):2269-2283. DOI 10.1007/s00299-016-2033-8
- Ren R., Wan Z., Chen H., Zhang Z. The effect of inter-varietal variation in sugar hydrolysis and transport on sugar content and photosynthesis in *Vitis vinifera* L. leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 2022;189:1-13. DOI 10.1016/j.plaphy.2022.07.031
- Rosas-Saavedra C., Stange C. Biosynthesis of carotenoids in plants: enzymes and color. *Subcell. Biochem.* 2016;79:35-69. DOI 10.1007/978-3-319-39126-7_2
- Saha P., Singh J., Bhanushree N., Harisha S.M., Tomar B.S., Rathinasabapathi B. Eggplant (*Solanum melongena* L.) nutritional and health promoting phytochemicals. In: Kole C. (Ed.) Compendium of Crop Genome Designing for Nutraceuticals. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023;1463-1493. DOI 10.1007/978-981-19-4169-6_53
- Shi J., Zuo J., Xu D., Gao L., Wang Q. Effect of low-temperature conditioning combined with methyl jasmonate treatment on the chilling resistance of eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *J. Food Sci. Technol.* 2019;56(10):4658-4666. DOI 10.1007/s13197-019-03917-0
- Tao T., Hu W., Yang Y., Zou M., Zhou S., Tian S., Wang Y. Transcriptomics reveals the molecular mechanisms of flesh colour differences in eggplant (*Solanum melongena*). *BMC Plant Biol.* 2023;23(1):5. DOI 10.1186/s12870-022-04002-z
- Teribia N., Tijero V., Munné-Bosch S. Linking hormonal profiles with variations in sugar and anthocyanin contents during the natural development and ripening of sweet cherries. *Nat. Biotechnol.* 2016;33(6):824-833. DOI 10.1016/j.nbt.2016.07.015
- Waadt R., Sella C.A., Hsu P.K., Takahashi Y., Munemasa S., Schroeder J.I. Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2022;23(10):680-694. DOI 10.1038/s41580-022-00479-6
- Yang G., Li L., Wei M., Li J., Yang F. SmMYB113 is a key transcription factor responsible for compositional variation of anthocyanin and color diversity among eggplant peels. *Front. Plant Sci.* 2022;13:843996. DOI 10.3389/fpls.2022.843996
- You Q., Li H., Wu J., Li T., Wang Y., Sun G., Li Z., Sun B. Mapping and validation of the epistatic *D* and *P* genes controlling anthocyanin biosynthesis in the peel of eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Hortic. Res.* 2022;10(2):uhac268. DOI 10.1093/hr/uhac268
- Zhang Y., Hu Z., Chu G., Huang C., Tian S., Zhao Z., Chen G. Anthocyanin accumulation and molecular analysis of anthocyanin biosynthesis-associated genes in eggplant (*Solanum melongena* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2014;62:2906. DOI 10.1021/jf404574c

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.05.2024. После доработки 27.06.2024. Принята к публикации 28.06.2024.