





doi 10.18699/vjgb-26-45

Характеристика генов галактуронатредуктаз (*GalUR*) чеснока (*Allium sativum* L.) и изменение их экспрессии в ответ на абиотические стрессоры

М.А. Филюшин , Т.М. Середин, А.В. Щенникова , Е.З. Кочиева 

Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия

 michel7753@mail.ru

Аннотация. Помимо основного L-галактозного пути синтеза L-аскорбиновой кислоты (АсК) в растениях, известно три альтернативных пути. Один из них, D-галактуроновый, считается специфичным для тканей с избытком D-галактуроната – субстрата D-галактуронатредуктазы (*GalUR*), относящейся к семейству альдегидкеторедуктаз (AKR). В настоящей работе идентифицировано семейство генов AKR чеснока *Allium sativum* L. и определено семь генов, *AsGalUR1–7*, предположительно кодирующих ферменты *GalUR*. Охарактеризованы структура и филогения генов *AsGalUR1–7* и кодируемых ими белков, а также профиль экспрессии генов *AsGalUR* в различных органах растения чеснока (*in silico* и ПЦР-РБ). На основе полученных данных гены условно разделены на корневую (*AsGalUR1–4*) и листовую (*AsGalUR5–7*) группы по признаку наибольшей экспрессии в подземной и надземной частях растения соответственно. Проведен анализ экспрессии генов *AsGalUR* в листьях и корнях в ответ на воздействие засухи, солевого и холодового стрессоров, а также экзогенных фитогормонов (абсцизовая кислота, метилжасмонат), вкупе с измерением содержания АсК. Показано, что обработка гормонами подавляет экспрессию всех анализируемых генов в обоих типах органов. Холодовые условия в корнях стимулируют экспрессию корневых генов и подавляют – листовых и оказывают противоположный эффект в листьях. Осмотические стрессоры (NaCl, PEG) подавляют транскрипцию всех генов в листьях, но не меняют (NaCl) или стимулируют (PEG) ее в корнях, что сопровождается ростом накопления АсК. В листьях в стрессовых условиях выявлена положительная корреляция между экспрессией генов *AsGalUR1* и 4 и содержанием АсК. Полученные данные могут стать основой для дальнейшего изучения механизмов регуляции синтеза АсК у чеснока и других видов *Allium*.

Ключевые слова: чеснок; *Allium sativum* L.; биосинтез L-аскорбиновой кислоты; D-галактуроновый путь; D-галактуронатредуктаза; *GalUR*


Для цитирования: Филюшин М.А., Середин Т.М., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Характеристика генов галактуронатредуктаз (*GalUR*) чеснока (*Allium sativum* L.) и изменение их экспрессии в ответ на абиотические стрессоры. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(3):412-423. doi 10.18699/vjgb-26-45

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 24-76-10005; характеристика и анализ генов, экспрессионный анализ) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (анализ экспрессии на основе данных транскриптомного анализа).

Characteristics of galacturonate reductase (*GalUR*) genes in garlic (*Allium sativum* L.) and changes in their expression in response to abiotic stressors

М.А. Filyushin , Т.М. Seredin , A.V. Shchennikova , E.Z. Kochieva 

Skryabin Institute of Bioengineering, Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

 michel7753@mail.ru

Abstract. In plants, the synthesis of L-ascorbic acid (Aa), in addition to the main L-galactose pathway, is carried out by three known alternative pathways. One of them, the D-galacturonic acid pathway, is thought to be specific for tissues with excess D-galacturonate, the substrate of D-galacturonate reductase (*GalUR*), which belongs to the Aldo-Keto Reductase (AKR) superfamily. In this study, the AKR gene family of garlic *Allium sativum* L. was identified and seven genes, *AsGalUR1–7*, presumably encoding *GalUR* enzymes, were determined. The structure and phylogeny of the *AsGalUR1–7* genes and the proteins they encode, as well as the *AsGalUR1–7* expression pattern in different organs of the garlic plant (*in silico* and qRT-PCR), were characterized. Based on the obtained data, the genes were conditionally divided into root (*AsGalUR1–4*) and leaf (*AsGalUR5–7*) groups depending on the highest expression level in the underground and aboveground parts of the plant, respectively. The *AsGalUR* expression in leaves and roots was analyzed in response to drought, salt and cold stresses, as well as exogenous phytohormones (abscisic acid, methyl jasmonate), accompanied by

the AsA content measurement. It was shown that hormone treatment suppresses the expression of all analyzed genes in both organ types. Cold conditions stimulate the expression of root group genes and suppress that of leaf group genes in roots, and have the opposite effect in leaves. Osmotic stressors (NaCl, PEG) suppress the transcription of all genes in leaves, but do not change (NaCl) or stimulate (PEG) it in roots, which is accompanied by an increase in AsA accumulation in organs of both types. A positive correlation between the expression of the *AsGalUR1* and 4 genes and the AsA content is found in leaves under stress conditions. The data obtained can form the basis for further study of the mechanisms regulating AsA synthesis in garlic and other *Allium* species.

Key words: garlic; *Allium sativum* L.; L-ascorbic acid biosynthesis; D-galacturonic pathway; D-galacturonate reductase; GalUR

For citation: Filyushin M.A., Seredin T.M., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Characteristics of galacturonate reductase (*GalUR*) genes in garlic (*Allium sativum* L.) and changes in their expression in response to abiotic stressors. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(3):412-423. doi 10.18699/vjgb-26-45

Введение

L-аскорбиновая кислота (АсК, аскорбат) является одним из основных компонентов неферментативной антиоксидантной системы растений (Smirnoff, Wheeler, 2024). Необходимое количество аскорбата в клетках поддерживается путем баланса между биосинтезом, деградацией и рециклингом (восстановлением окисленных форм) АсК (Smirnoff, 2018), а также транспортом аскорбата. АсК синтезируется преимущественно в листьях (Franceschi, Tarlyn, 2002; Badejo et al., 2012) и доставляется по флоэме в различные части растения в виде стабильных и защищенных от окисления аскорбилгликозидов (Richardson et al., 2021; Huang et al., 2025).

У растений биосинтез АсК идет в основном по L-галактозному пути Смирнова–Уиллера. Однако имеются три альтернативных пути, D-галактуроновый, L-гулозный и мио-инозитоловый (Broad et al., 2020; Smirnoff, Wheeler, 2024), которые также вносят существенный вклад в накопление аскорбата в некоторых органах или на определенных стадиях развития растения. Например, для листьев земляники *Fragaria* × *ananassa* Duchesne ex Rozier характерен L-галактозный путь, а для спелых ягод – D-галактуроновый (Agius et al., 2003; Cruz-Rus et al., 2011; Liu et al., 2022). Похожим образом листья и растущие плоды томата *Solanum lycopersicum* L. синтезируют АсК по L-галактозному пути, а спелые плоды – по D-галактуроновому пути (Badejo et al., 2012). Переход в спелых плодах от основного пути биосинтеза АсК к альтернативному варианту связывают с активной деградацией пектина клеточных стенок, образованного главным образом остатками галактуроновой кислоты и конвертацией его основного мономера, D-галактуроната, в АсК (Peltonen, Richard, 2022).

Среди альтернативных путей D-галактуроновый путь наиболее хорошо изучен. Он начинается, как говорилось выше, с разложения пектина, в результате которого образуется D-галактуроновая кислота, переходящая в D-галактуронат (D-GalUA) с последующим восстановлением до L-галактоната, катализируемым D-галактуронатредуктазой. L-галактонат с помощью альдонолактоназы превращается в L-галактоно-1,4-лактон, под действием L-галактозолактондегидрогеназы окисляющийся до АсК (Ishikawa et al., 2008; Peltonen, Richard, 2022).

Галактуронатредуктазы (EC 1.1.1.365; GalUR) структурно относятся к семейству альдегидкеторедуктаз (AKR)

(Duan et al., 2020), одно из 16 подсемейств которого, AKR4, включает белки AKR растительного происхождения (Penning, 2015). Количество генов *AKR*, идентифицированных у высших растений (Sengupta et al., 2015), значительно варьирует в зависимости от вида. Например, геном *Arabidopsis thaliana* L. содержит 22 гена *AKR*, *S. lycopersicum* – 25, а *F. × ananassa* – 80 генов (Duan et al., 2020; Liu et al., 2022), и функции их белковых продуктов не ограничиваются участием в синтезе АсК. AKR контролируют образование также других вторичных метаболитов и осмолитов растений, включая витамин B6, сорбитол, изофлавоны, фитоэстрогены и др. (Sengupta et al., 2015; Ha et al., 2019). Считается, что такая функциональная дифференциация белков AKR способна повысить эффективность адаптации растений к различным условиям окружающей среды, в том числе стрессовым воздействиям. Говоря о синтезе АсК, интересно отметить, что к семейству AKR относятся не только ферменты GalUR D-галактуронового пути, но и L-галактозодегидрогеназа (L-GalDH) основного L-галактозного пути (Vargas et al., 2022).

Чеснок (*Allium sativum* L.) – экономически значимая овощная культура с ежегодным производством около 30 млн т (FAO; <http://www.fao.org>). Содержание аскорбата в листьях и луковиче активно изучается на различных сортах и образцах чеснока (Skoczylas et al., 2023; Šnirc et al., 2023; Pora et al., 2024; Yenealem et al., 2024). Однако данные о молекулярной регуляции метаболизма АсК в растениях *A. sativum* и не менее экономически ценных родственных видов *Allium* представлены результатами наших исследований. Так, в геноме *A. sativum* идентифицированы и охарактеризованы отдельные гены монодегидроаскорбатредуктаз (*MDHAR*) пути рециклинга аскорбата (Анисимова и др., 2022) и установлен характер изменения экспрессии генов биосинтеза и рециклинга АсК в ответ на заражение растений чеснока патогенным грибом *Fusarium proliferatum* (Щенникова и др., 2025). У лука-поррея (*Allium porrum* L.) определена вариабельность гена ГДФ-L-галактозофосфорилазы *GGPI* L-галактозного пути (Анисимова и др., 2021a) и изучены возможные корреляции между содержанием АсК и уровнем экспрессии генов *MDHAR* (Анисимова и др., 2021b; Филюшин и др., 2021), а также некоторых других генов L-галактозного пути и рециклинга АсК (Филюшин и др., 2025).

Целью настоящей работы стали идентификация и характеристика генов D-галактуронатредуктаз (*GalUR*) в

геноме чеснока *A. sativum* и определение профилей их экспрессии в различных органах растения, а также в ответ на воздействие абиотических стрессовых факторов и экзогенную обработку фитогормонами.

Материалы и методы

Идентификация и структурная характеристика генов *AsGalUR* чеснока. Поиск последовательностей генов галактуронатредуктаз проводили в геномных и транскриптомных данных чеснока *A. sativum* сорта Ershuizao (PRJNA606385, сборка Garlic.V2.fa), доступных в базе данных AlliumDB (<https://allium.qau.edu.cn/>). В качестве референса использовали последовательности галактуронатредуктаз томата (LOC101256763 и LOC101250974 (=SLAKR4B)) (Suekawa et al., 2016) и земляники (*FaGalUR*; AF039182.1) (Agius et al., 2003).

Выравнивание и анализ последовательностей выполняли в программе MEGA 7.0 (<https://www.megasoftware.net/>). Для белковых последовательностей *AsGalUR* определяли: консервативные домены и мотивы (NCBI-CDD, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>; MEME 5.5.7, <http://meme-suite.org/tools/meme>), молекулярный вес (Mw) и изоэлектрическую точку (pI) (ExPASy, <https://web.expasy.org/protparam/>), молекулярную функцию и клеточную локализацию в терминах Gene Ontology (GO, PANNZER, <http://ekhidna2.biocenter.helsinki.fi/sanspanz/>). Филогенетический анализ выполняли с использованием последовательностей AKR *A. sativum*, *S. lycopersicum* и *A. thaliana* (MEGA 7.0, метод ближайших соседей (Neighbor-Joining), бутстрэп на основе 1000 повторений).

Анализ профиля экспрессии генов *AsGalUR* в различных органах растения чеснока. Профиль экспрессии идентифицированных генов *AsGalUR* в органах чеснока определяли двумя способами – *in silico* и методом ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени (ПЦР-РВ).

In silico анализ экспрессии генов *AsGalUR* осуществляли на основе секвенированных транскриптомов различных органов растения чеснока сорта Ershuizao (корни, листья, стебли, проростки, бутоны, цветки, луковичы на стадиях развития 1–8) (Sun et al., 2020). Данные визуализировали в виде тепловой карты (Heatmapper, <http://www.heatmapper.ca/expression/>), где уровень экспрессии выражали в значениях ФРKM (fragments per kilobase per million mapped reads – фрагменты на килобазу транскриптов на миллион картированных прочтений).

С помощью ПЦР-РВ определяли экспрессию генов *AsGalUR* в корнях, донце, луковиче, ложном стебле и листьях растений чеснока сорта Скорпион, выращенных в почве в условиях теплицы (ЭУИК, ФИЦ биотехнологии РАН; фотопериод 16 ч (световая фаза с 8:00); день/ночь – 22/16 °С; освещенность 190 мкМ/(м²с)). Растительный материал растирали в жидком азоте и применяли для выделения суммарной РНК с очисткой от примесей ДНК (RNeasy Plant Mini Kit и RNase free DNasey set; QIAGEN, Германия) и синтеза кДНК (GoScript™ Reverse Transcription System, Promega, США).

Таблица 1. Последовательности праймеров для проведения ПЦР-РВ

Ген	Последовательность праймеров (5'→3')
<i>AsGalUR1</i>	TGCCATCCGAAGGAGTCTTGT AGCATTTGGCACTCCTCCATC
<i>AsGalUR2</i>	TGCCATCCGAAGGAGTCTTGT AGCATTTGGCACTCCTCCATG
<i>AsGalUR3</i>	GAGGAGTGCCAAATGCTTGGAT CGTCCACCCAAAGGAGAGTG
<i>AsGalUR4</i>	GTGTAACGATGCCATCCTGAT CTACTGGAAATGGGTGTGATCC
<i>AsGalUR5</i>	CTGCTGTTAATCAGGTGGAGT ACACTTCCCCACGGAGCTC
<i>AsGalUR6</i>	CTGCTGTTAATCAGGTGGAGC ACACTTCCCCACGGAGCTC
<i>AsGalUR7</i>	TCGGTGTGAGCAATTTCTCATC ACACTTCCCCACGGAGCTC
<i>GAPDH</i>	CCATGTTTGTGTTGGTGTGAATGAG TGGTGCAGCTAGCGTTGGAGAC
<i>UBQ</i>	AAGCCAAGATACAGGACAAG GCATACCACCTCTCAATCTC

На основе идентифицированных последовательностей *AsGalUR* были разработаны специфичные праймеры для ПЦР-РВ (табл. 1). В качестве референсных генов были гены *GAPDH* (MZ171220.1) и *UBQ* (MZ171222.1). Реакционная смесь включала 3 нг кДНК и набор «Реакционная смесь для проведения РВ-ПЦР в присутствии SYBR Green I и ROX» (ООО «Синтол», Россия). Реакцию проводили в системе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США) в двух биологических и шести технических повторах в следующих условиях: 95 °С – 5 мин; 40 циклов (95 °С – 15 с; 62 °С – 50 с). Данные статистически обрабатывали, используя односторонний дисперсионный анализ (One-Way ANOVA) с поправкой Бонферрони (multiple comparisons, corrected with Bonferroni test) и визуализировали в программе GraphPad Prism v. 8 (<https://www.graphpad.com>).

Анализ динамики экспрессии генов *AsGalUR* в проростках чеснока при воздействии различных стрессоров (засуха, засоление, холод) и экзогенных фитогормонов. Растения чеснока сорта Скорпион выращивали до получения 15-дневных проростков в прозрачных стеклянных стаканах в воде; зубки чеснока закрепляли в пористой полиэтиленовой подложке так, чтобы только нижняя часть зубка (зона корней) находилась в воде. В 9:00 и 15:00 световой фазы роста собирали пробы листьев и корней (хранили при –80 °С) для последующего анализа (ПЦР-РВ) экспрессии генов *AsGalUR*.

Для создания стрессовых условий опытные растения на 24 ч перемещали в соответствующие водные растворы (100 мМ NaCl – засоление; 10 % PEG-6000 – засуха; 100 мкМ абсцизовой кислоты (АБК); 100 мкМ метил-

жасмоната (MeJA)). Контрольные растения оставляли в воде. Для холодового воздействия опытные растения помещали в климатическую камеру (4 °С, без освещения), параллельно выдерживая контроль в темноте при 22 °С. Через 6 и 24 ч воздействия стрессора/гормона у растений опытной и контрольной групп отбирали корни и листья (хранили при –80 °С).

Собранный растительный материал растирали в жидком азоте и применяли для получения препаратов РНК/кДНК и проведения ПЦР-РВ, как описано выше.

Определение содержания аскорбата в тканях растения. Содержание (мг/г сырого веса) АсК измеряли в корнях и листьях растений чеснока, подвергнутых стрессовым воздействиям и обработке фитогормонами. Анализ выполняли с помощью набора “L-Ascorbic acid” (R-Biopharm AG, Германия) с регистрацией спектров поглощения на спектрофотометре Eppendorf BioSpectrometer® basic (Eppendorf, Германия). С использованием программы GraphPad Prism v. 8 (<https://www.graphpad.com>) осуществляли регрессионный анализ данных (поиск корреляций между уровнем экспрессии генов галактуронатредуктаз и содержанием аскорбата).

Результаты

Идентификация и структурная характеристика генов галактуронатредуктаз чеснока

В геноме *A. sativum* было идентифицировано 27 генов, кодирующих белки семейства АКР, из которых 7 гомологичны *GalUR S. lycopersicum* (LOC101256763 и LOC101250974) и *F. × ananassa* (AF039182.1) и аннотировались в AlliumDB как “KEGG pathway: D-galacturonate reductase”. Эти семь генов чеснока были пронумерованы *AsGalUR1–7* в порядке их локализации на хромосомах 5, 6 и 7. Гены различались количеством экзонов – 3 (*AsGalUR5–7*) или 4 (*AsGalUR1–4*) и размерами – от 1105 п. н. (*AsGalUR5*) до 4085 п. н. (*AsGalUR7*). По длине кодирующей последовательности (CDS) и предсказанным физико-химическим свойствам кодируемых белков гены были сходными (табл. 2).

Для построения филогенетической дендрограммы были использованы аминокислотные последовательно-

сти всех 27 идентифицированных АКР *A. sativum* в сравнении с гомологами АКР *S. lycopersicum* и *A. thaliana*. На полученной дендрограмме белки разделились на два подсемейства, АКР4А и АКР4В (рис. 1). Последовательности *AsGalUR1–7* формировали отдельную кладу внутри АКР4А, разделившись на субклады I (*AsGalUR1–4*) и II (*AsGalUR5–7*). Первые (I) оказались гомологами галактуронатредуктаз *A. thaliana* (AT1G59950 и AT1G59960 (Duan et al., 2020)), *S. lycopersicum* *SlAKR4B* (LOC101250974 (Suekawa et al., 2016)) и неохарактеризованного белка *S. lycopersicum* АКР (LOC101254364). Вторые (II) объединились с *S. lycopersicum GalUR* (LOC101256763 (Suekawa et al., 2016)) (см. рис. 1). Гомология последовательностей *AsGalUR* внутри субклад достигала 86–99 % (I) и 89–95 % (II), а между субкладами I и II – 48–52 %.

В белковых последовательностях *AsGalUR1–7* (в сравнении с гомологами из *S. lycopersicum*, *Vitis vinifera* L., *F. × ananassa* и *A. thaliana*) было определено положение консервативного АКР-домена PF00248.18, а также в соответствии с (Suekawa et al., 2016) идентифицировано 10 функционально важных остатков аминокислот (ао), включая сайты связывания растительных АКР с кофакторами (рис. 2).

В тех же белках установлены консервативные мотивы (рис. 3). Состав и положение мотивов были сходными внутри группы анализируемых белков, за исключением несколько различающихся С-концевых консенсусов, что связано с вариабельностью внедоменной области. Так, у отдельных белков отсутствовали мотивы 7 (AT1G59950 и AT1G59960), 8 (*Sl_LOC101256763*, *FaGalUR* и *VvGalUR*) или оба мотива (*AsGalUR2*).

Проведенный анализ последовательностей *AsGalUR1–7* в PANNZER предсказал, что все семь белков обладают оксидоредуктазной активностью (GO:0016616) и локализованы в цитозоле (GO:0005829).

Определение профиля экспрессии генов *AsGalUR1–7* в растениях чеснока

На основе данных транскриптомного анализа *A. sativum* сорта Ershuizao (Sun et al., 2020) были определены профили экспрессии генов *AsGalUR1–7* в различных органах чеснока (включая стадии 1–8 роста и развития луковицы)

Таблица 2. Характеристика генов *AsGalUR*

Ген	ID гена/ID транскрипта	Локализация в геноме	Длина гена, п. н.	Кол-во экзонов	CDS, п. н.	Белок, ао	Mw, кДа	pI
<i>AsGalUR1</i>	Asa5G02985/ Asa3G05397.1	chr5: 764719171..764720824	1654	4	945	314	35.0	5.73
<i>AsGalUR2</i>	Asa5G05896/ Asa5G00222.1	chr5: 1607364860..1607366708	1849	4	969	322	36.2	5.48
<i>AsGalUR3</i>	Asa6G06508/ Asa1G06086.1	chr6: 1808233236..1808234881	1646	4	945	314	35.1	5.73
<i>AsGalUR4</i>	Asa6G06509/ Asa1G06085.1	chr6: 1808295357..1808297099	1743	4	951	316	35.5	5.21
<i>AsGalUR5</i>	Asa7G05242.1/ Asa5G04903.1	chr7: 1457744393..1457745497	1105	3	963	320	36.1	6.39
<i>AsGalUR6</i>	Asa7G05243.1/ Asa5G04902.1	chr7: 1457746950..1457748486	1537	3	975	324	36.7	5.96
<i>AsGalUR7</i>	Asa7G05244.1/ Asa4G05086.1	chr7: 1458214446..1458218530	4085	3	963	320	36.1	6.18

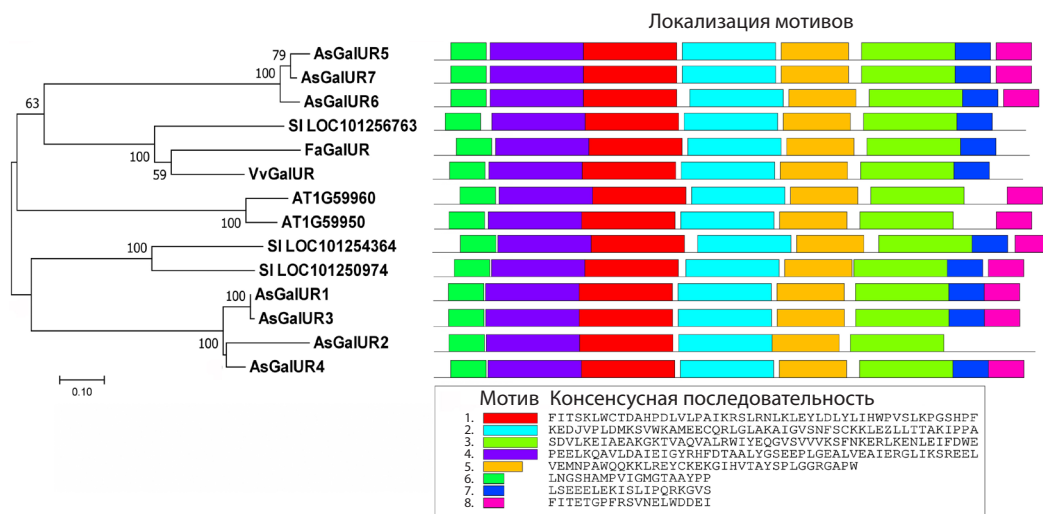


Рис. 3. Филогенетические взаимоотношения и сравнительное профилирование консервативных мотивов галактуронатредуктаз *A. sativum* (As), *F. x ananassa* (Fa), *V. vinifera* (Vv), *A. thaliana* (AT) и *S. lycopersicum* (SI).



Рис. 4. Тепловая карта экспрессии *AsGalUR1–7* в различных органах чеснока *A. sativum* сорта Ershuizao на основе транскриптомных данных (Sun et al., 2020).

Цифрами в прямоугольниках указаны средние значения FPKM по трем биологическим повторам. Для луковиц приведены стадии развития 1–8, соответствующие возрасту 192, 197, 202, 207, 212, 217, 222 и 227 дней.

(рис. 4). Выявлено, что гены *AsGalUR1*, 3 и 4 (субклада I) экспрессируются во всех анализируемых органах с наиболее высокими уровнями в корнях (все три гена), листьях (*AsGalUR3* и 4), стеблях (*AsGalUR1* и 3) и бутонах (*AsGalUR1*). Транскрипты четвертого гена субклады I – *AsGalUR2* в анализируемых органах отсутствовали.

Транскрипты генов субклады II *AsGalUR5–7* присутствовали преимущественно в надземных органах (кроме цветков) с максимумом в проростках (все три гена). *AsGalUR5* и 7 (но не *AsGalUR6*) также высоко экспрессировались в листьях, стеблях и бутонах. В луковицах и корнях уровень экспрессии генов *AsGalUR5–7* был низким относительно надземной части растения.

В целом по предпочтительному профилю экспрессии (см. рис. 4) гены были условно отнесены к корневой (*AsGalUR1*, 3 и 4, несмотря на значимое количество транскриптов, в том числе в листьях/стеблях) и листовой (*AsGalUR5–7*) группам, что соответствовало их распределению по филогенетическим субкладам I и II (см. рис. 1).

Исключение составил ген *AsGalUR2* субклады I (см. рис. 1), для которого не выявлена экспрессия в органах чеснока (см. рис. 4).

В органах растений чеснока сорта Скорпион профили экспрессии генов *AsGalUR1–7* определены методом ПЦП-РВ (рис. 5). В отличие от транскриптомных данных (см. рис. 4), везде были детектированы транскрипты гена *AsGalUR2*, тогда как *AsGalUR6*, напротив, не экспрессировался. Гены субклады I (*AsGalUR1–4*) экспрессировались во всех анализируемых органах, с максимумом в корнях и донце. Транскрипты генов субклады II (*AsGalUR5* и *AsGalUR7*) выявлены только в листьях (максимум) и ложном стебле (см. рис. 5).

Таким образом, результаты ПЦП-РВ (см. рис. 5) внесли коррективы в *in silico* профиль экспрессии генов *AsGalUR2* и 6 (см. рис. 4) и подтвердили возможность разделения генов субклад I и II на гены с преимущественной экспрессией в подземной (I) и надземной (II) частях растения.

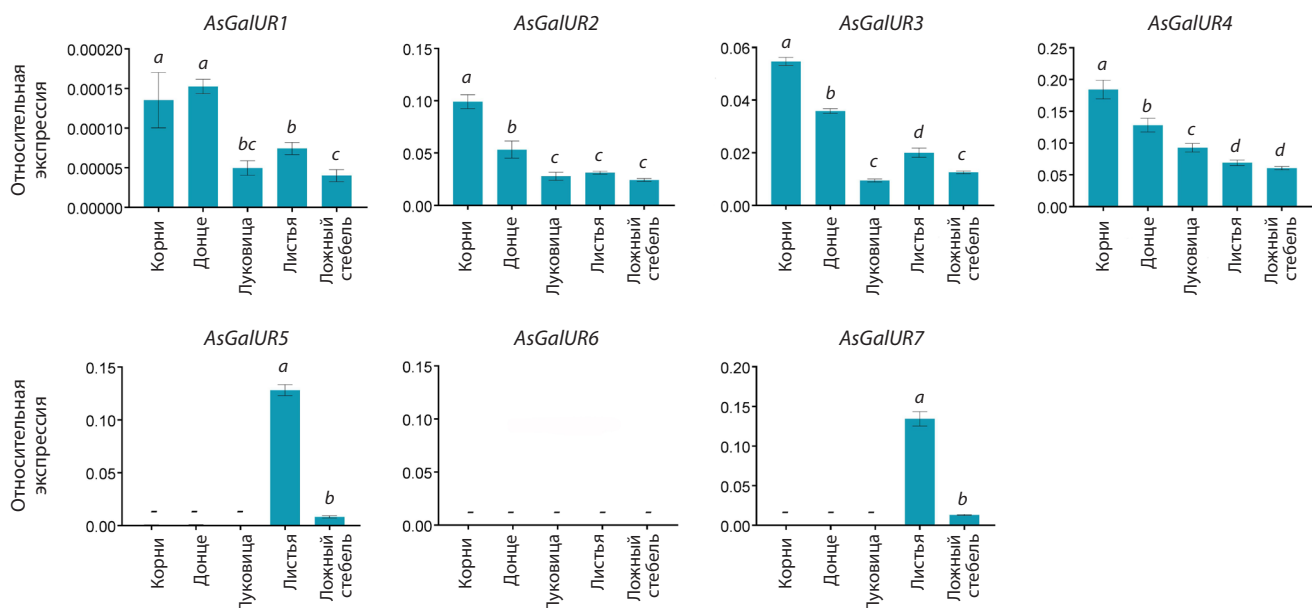


Рис. 5. Профиль экспрессии (ПЦР-ПВ) генов *AsGalUR1–7* в растениях чеснока сорта Скорпион. Значимые различия уровня экспрессии гена между разными органами при $a-d p < 0.05$.

Определение профиля экспрессии генов *AsGalUR1–7* в проростках чеснока: 6-часовая динамика в световой фазе роста растения и реакция на стрессовые воздействия и экзогенные фитогормоны

Профиль экспрессии генов *AsGalUR1–5* и *7* был определен в корнях и листьях 15-дневных проростков чеснока сорта Скорпион в двух временных точках (9:00 и 15:00) световой фазы роста (рис. 6). Подтверждено, что гены корневой субклады I (*AsGalUR1–4*) наиболее активны в корнях, а гены листовой субклады II (*AsGalUR5* и *7*) – в листьях. Причем в течение 6 ч световой фазы роста растений уровень экспрессии генов менялся незначительно, сохраняя органоспецифичность. Интересно, что транскрипты «листных» генов *AsGalUR5* и *AsGalUR7*, которые у взрослых растений присутствовали только в надземных органах (см. рис. 5), в проростках обнаружены также в корнях, хотя и с существенно более низким (в 20–25 раз) уровнем экспрессии, чем в листьях (см. рис. 6).

Для определения вовлеченности галактуронатредуктазы в стрессовый ответ растений чеснока 15-дневные проростки сорта Скорпион были подвергнуты воздействию различных стрессоров: засоление, засуха, похолодание, экзогенные фитогормоны АБК и MeJA. Через 6 и 24 ч воздействия в корнях и листьях растений была проанализирована экспрессия генов *AsGalUR1–5* и *7* (рис. 7).

В случае корней показано, что избыток NaCl не меняет (*AsGalUR1*, *3–5* и *7*) или подавляет (*AsGalUR2*, 6 ч в стрессовых условиях) экспрессию генов. Обезвоживание (PEG) значительно стимулировало (в 1.5–9.3 раза) экспрессию генов в обеих временных точках, за исключением *AsGalUR7*, уровень транскриптов которого через 24 ч приблизился к контрольным значениям. Шесть часов холодового воздействия повлияли на отдельные гены, снизив (*AsGalUR3*, *4* и *5*) или повысив (*AsGalUR7*) их экс-

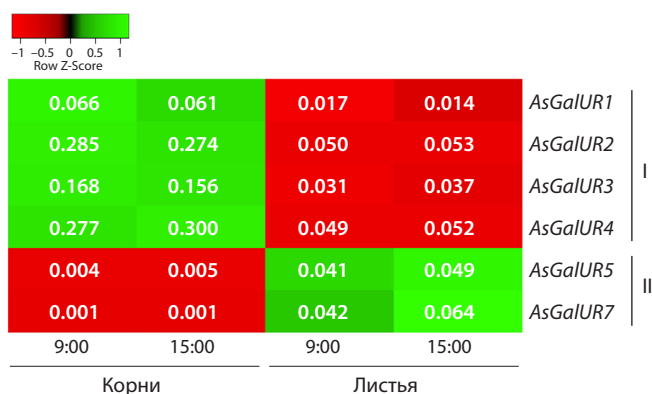


Рис. 6. Тепловая карта экспрессии (по результатам ПЦР-ПВ) генов *AsGalUR1–5* и *7* в корнях и листьях 15-дневных растений чеснока сорта Скорпион в двух временных точках световой фазы роста растения: 9:00 и 15:00.

Цифрами указаны средние значения уровней экспрессии генов *AsGalUR*, нормированные на экспрессию референсных генов *GAPDH* и *UBQ*.

прессию. Однако спустя 24 ч изменилась экспрессия уже всех генов, причем специфичным для субклад образом: она стала выше (*AsGalUR1–4*, субклада I) или ниже (*AsGalUR5* и *7*, субклада II) контрольного уровня. Обработка фитогормонами значительно снизила экспрессию всех генов, в случае *AsGalUR5* и *7* – до нулевых значений (см. рис. 7, а).

В листьях 6 ч воздействия солевого стрессора стимулировали экспрессию *AsGalUR7* (в 1.5 раза), а 24 ч – подавляли активность всех генов, кроме *AsGalUR2*. Шесть часов засухи не меняли экспрессию генов (*AsGalUR5* и *7*) или приводили к снижению (*AsGalUR1–4*); через 24 ч уровень транскриптов *AsGalUR1–5* и *7* снизился в 2.5–3.4 раза. В ответ на 6 ч холодовых условий экспрессия генов по-

а

1.00	0.86	1.21	1.64	2.33	0.92	2.61	0.84	0.58	0.49	0.51	<i>AsGalUR1</i>
1.00	0.75	1.04	1.52	2.02	0.79	1.66	0.57	0.60	0.53	0.40	<i>AsGalUR2</i>
1.00	0.85	1.24	1.48	2.01	0.78	1.31	0.46	0.54	0.53	0.41	<i>AsGalUR3</i>
1.00	0.93	1.07	2.42	2.43	0.81	1.30	0.66	0.74	0.64	0.44	<i>AsGalUR4</i>
1.00	0.86	0.87	9.30	2.76	0.38	0.53	0.26	0.00	0.15	0.34	<i>AsGalUR5</i>
1.00	0.95	0.81	2.48	1.15	2.10	0.80	0.46	0.00	0.00	0.41	<i>AsGalUR7</i>

б

1.00	1.03	0.85	0.65	0.38	1.12	2.09	0.86	0.51	0.83	0.49	<i>AsGalUR1</i>
1.00	1.09	0.97	0.75	0.38	1.25	1.05	0.94	0.61	1.05	0.67	<i>AsGalUR2</i>
1.00	1.01	0.76	0.63	0.29	0.45	1.57	0.83	0.47	0.86	0.41	<i>AsGalUR3</i>
1.00	0.90	0.80	0.60	0.40	1.06	0.78	0.82	0.52	0.78	0.61	<i>AsGalUR4</i>
1.00	1.21	0.72	1.23	0.48	4.17	1.27	0.91	0.54	0.76	0.82	<i>AsGalUR5</i>
1.00	1.46	0.65	1.01	0.39	3.64	1.10	0.94	0.48	0.69	0.63	<i>AsGalUR7</i>

в

1.00	0.94	0.91	1.48	1.31	1.21	1.16	1.17	0.89	1.18	1.09	Корни
1.00	1.27	0.88	1.46	0.96	1.36	1.13	1.02	0.97	1.02	0.91	Листья

Контроль 6 ч 24 ч 6 ч 24 ч 6 ч 24 ч 6 ч 24 ч 6 ч 24 ч

NaCl PEG Холод ABA MeJA

Рис. 7. Динамика экспрессии генов *AsGalUR* в корнях (а) и листьях (б) проростков чеснока в ответ на абиотические стрессоры (засоление, 100 мМ NaCl; засуха, 10 % PEG-6000; холодовой стресс, 4 °С) и экзогенные фитогормоны (100 мкМ АБК; 100 мкМ MeJA). Изменение содержания АсК (в) в корнях и листьях тех же проростков чеснока в ответ на абиотические стрессоры и фитогормоны.

Значимо ($p < 0.05$) отличающиеся от контроля значения выделены полужирным шрифтом. Градиентная окраска ячеек от красного к зеленому соответствует изменению уровня экспрессии гена в сторону снижения (оттенки красного) или повышения (оттенки зеленого) по отношению к контролю (желтый цвет).

высилась (*AsGalUR5* и *7*), снизилась (*AsGalUR3*) или не изменилась (*AsGalUR1*, *2* и *4*); 24 ч воздействия привели к увеличению экспрессии *AsGalUR1*, *3* и *5*. Обработка АБК и MeJA так же, как и в корнях, негативно повлияла на экспрессию генов *AsGalUR1–5* и *7* (см. рис. 7, б).

В проростках чеснока, подвергнутых воздействиям стрессовых факторов и экзогенных фитогормонов, было определено содержание аскорбата, которое в корнях и листьях составило 1.4–2.2 и 12.1–24.3 мг/100 г соответственно (см. рис. 7, в). В ответ на засуху (PEG) в корнях обнаружено увеличение содержания АсК в обеих временных точках (6 и 24 ч стресса), тогда как другие стрессоры и фитогормоны не повлияли на количество аскорбата. В листьях наблюдалось повышенное накопление аскорбата через 6 ч воздействия NaCl, засухи и холодового стрессора, однако через 24 ч содержание АсК вернулось к контрольным значениям (см. рис. 7, в).

Проведенный корреляционный анализ выявил значимую ($p < 0.05$) взаимосвязь между содержанием аскорбата в листьях проростков чеснока и уровнем экспрессии генов *AsGalUR1* (коэффициент корреляции $r = 0.63$) и *AsGalUR4* ($r = 0.66$) в стрессовых условиях.

Обсуждение

D-галактуроновый путь биосинтеза L-аскорбиновой кислоты в растениях впервые открыт в 1950-х годах, и тогда же обнаружен фермент D-галактуронатредуктаза,

катализирующий восстановление метилового эфира D-галактуроновой кислоты до L-галактоновой кислоты (Ishewood, Mapson, 1956), преобразуемой в несколько этапов в АсК (Ishikawa et al., 2008; Peltonen, Richard, 2022). В 2003 г. клонирован первый ген семейства *GalUR*, кодирующий D-галактуронатредуктазу, у земляники *F. × ananassa* (*FaGalUR*), в спелых ягодах которой аскорбат синтезируется преимущественно по D-галактуроновому пути (Agius et al., 2003; Cruz-Rus et al., 2011).

В данной работе в геноме чеснока *A. sativum* впервые идентифицировано генное семейство *AKR4* (см. рис. 1), подсемейство *AKR4A* которого включает гены *GalUR* растений. Семнадцать из 27 обнаруженных генов *AsAKR* входило в подсемейство *AKR4A*, что согласовалось с более высоким количеством генов *AKR4A* в сравнении с *AKR4B* у высших растений (Duan et al., 2020). Семь генов группы *AKR4A*, *AsGalUR1–7* (см. рис. 1 и табл. 2), кодировали гомологи известных белков GalUR *S. lycopersicum* (Suekawa et al., 2016), *A. thaliana* (Duan et al., 2020) и *F. × ananassa* (Agius et al., 2003).

На основании структурной гомологии сделано предположение, что *AsGalUR1–7* могут выполнять функции D-галактуронатредуктаз в растениях чеснока. Присутствие в последовательностях всех белков *AsGalUR1–7*, характерных для AKR функционально важных сайтов и консервативного домена (см. рис. 2), в совокупности с результатами GO-анализа также свидетельствовало о

наличии у *AsGalUR1–7* свойственной АКР оксидоредуктазной активности при локализации в цитозоле клетки. Предсказанная локализация *AsGalUR1–7* согласовалась с тем, что двухстадийный переход D-галактуроната в L-галактоно-1,4-лактон с участием GalUR происходит именно в цитозоле (Smirnov et al., 2001).

Уже по количеству экзонов гены разделились на две группы: *AsGalUR1–4* (4 экзона) и *AsGalUR5–7* (3 экзона) (см. табл. 2), что позволило предположить существование функциональных различий между ними, связанных, возможно, со специфичностью экспрессии для отдельных органов/тканей/стадий развития и/или с адаптивными реакциями растения чеснока. Разделение подтвердилось при филогенетическом анализе. На дендрограмме *AsGalUR1–7* сформировали две субклады – I (*AsGalUR1–4*) и II (*AsGalUR5–7*) (см. рис. 1), хотя набор консервативных мотивов у белков выглядел одинаково, за исключением С-концевой части *AsGalUR2* (см. рис. 3). Особенности С-концевой последовательности *AsGalUR2* могут свидетельствовать о наличии у данного белка индивидуальных функциональных особенностей, но не отменяют его участия в синтезе АсК. Разное количество генов *GalUR* субклад I и II у *A. sativum* и, к примеру, *S. lycopersicum*, *A. thaliana* или *Brassica rapa* L. (Duan et al., 2020) (см. рис. 1) предполагает появление предшественников данных генов до разделения классов однодольных и двудольных и дальнейшую видоспецифичную дупликационную эволюцию соответствующих генных семейств.

Как упоминалось выше, активация D-галактуроновой синтеза АсК как альтернативы основному L-галактозному пути происходит в спелых сочных плодах, что связывают с деградацией пектина клеточной стенки в мякоти с высвобождением D-галактуроната (субстрат для GalUR) (Cruz-Rus et al., 2011; Badojo et al., 2012). Растущие и зреющие плоды получают необходимое количество аскорбата за счет внутреннего синтеза по основному пути и транслокации АсК из листьев (Badojo et al., 2012). Размягчение созревших плодов сопровождается разрушением клеточных стенок. Также распадается пектин, который составляет ~35 % первичных стенок у двудольных и незлаковых однодольных (в том числе у чеснока) (Mohnen, 2008) и на ~70 % состоит из остатков галактуроновой кислоты (Mølhøj et al., 2004; Cruz-Rus et al., 2011; Badojo et al., 2012). Происходит значительное повышение количества субстрата для GalUR, что стимулирует в плодах переключение на альтернативный путь синтеза АсК (Peltonen, Richard, 2022).

Таким образом, для включения D-галактуроновой пути растению необходим D-галактуронат как субстрат для GalUR (Peltonen, Richard, 2022). Однако в вегетативных тканях, как и в растущих запасающих органах, данное соединение строго необходимо для синтеза пектина клеточной стенки, поскольку рост и развитие растения сопровождаются активным делением клеток (Mohnen, 2008). Тем не менее постоянное присутствие больших концентраций D-галактуроната в цитозоле клеток вегетативных тканей говорит о том, что и там может идти D-галактуроновый синтез АсК как минорное, малозаметное дополнение к

основному L-галактозному пути. Это косвенно подтверждается положительной корреляцией между содержанием АсК и уровнем экспрессии генов галактуронатредуктаз, обнаруженной в листьях *B. rapa* (Duan et al., 2020) и чайного куста (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) (Li et al., 2017).

В данной работе проанализирована экспрессия генов *AsGalUR1–7* в различных органах растения *A. sativum* сорта Ershuizao (*in silico*, по транскриптомам (Sun et al., 2020)) (см. рис. 4), а также в листьях и корнях (ПЦР-РВ) чеснока сорта Скорпион, в том числе в ответ на абиотические стрессоры и обработку экзогенными фитогормонами (см. рис. 5–7). Кроме вегетативных органов, в анализ *in silico* были включены образцы луковиц (как запасающего органа) на нескольких стадиях роста и созревания (Sun et al., 2020).

Проведенный анализ подтвердил, что группы генов *AsGalUR*, относящихся к субкладам I и II, различаются особенностями профиля экспрессии и, предположительно, функциональной специализацией. Так, уровень транскриптов генов *AsGalUR1–4* (I) оказался значительно выше в подземной части растения чеснока в сравнении с надземными органами; обратная картина наблюдалась для генов *AsGalUR5–7* (II) (см. рис. 4–6). Это предполагает органоспецифичное участие данных генов в D-галактуроновом пути; и гены субклад получили условное название корневых (*AsGalUR1–4*) и листовых (*AsGalUR5–7*). Некоторые вопросы остаются касательно генов *AsGalUR2* и 6, показавших разные результаты в зависимости от вида анализа, но в совокупности (см. рис. 4 и 5) они соответствуют особенностям своих групп, хотя и требуют дополнительного исследования. Далее мы опирались на результаты ПЦР-РВ, т. е. исключили из работы *AsGalUR6*.

Ожидается члены корневой группы *AsGalUR1–4* в луковице экспрессировались значительно выше листовых генов, однако каких-либо выраженных тенденций изменения уровня транскриптов в процессе приближения к стадии созревания не наблюдалось (см. рис. 4). Возможно, это связано с тем, что у сочных плодов и подземных корнеплодов по-разному определяется состояние полного созревания. Если у плодов биологическая спелость сопровождается размягчением мякоти (Badojo et al., 2012), то у корнеплодов она означает увеличение и вакуолизацию клеток с целью накопления питательных веществ и наступление физиологического покоя (Teper-Vamnlker et al., 2012). Размягчение тканей корнеплодов может быть признаком их выхода из покоя, увядания или гниения.

В согласии с тем, что 12 генов *GalUR B. rapa* демонстрируют очевидную дивергенцию экспрессии при различных стрессовых воздействиях (Duan et al., 2020), гены *AsGalUR1–5* и 7 в нашем исследовании также реагировали разнообразно и органозависимо как на абиотические стрессоры, так и на экзогенные фитогормоны АБК и MeJA (см. рис. 7, а, б). Несмотря на условное разделение генов на корневую и листовую группы, их экспрессия в ответ на воздействия в большинстве случаев менялась и в корнях, и в листьях (см. рис. 7, а, б). Это указывает на вовлеченность всех генов *AsGalUR1–5* и 7 в синтез АсК

по альтернативному пути при стрессовых воздействиях во всем растении, но с преимущественной специфичностью в подземной или надземной части.

Экзогенные фитогормоны подавляли экспрессию и тех, и других генов в обоих типах ткани (см. рис. 7, а, б), что согласуется с ролью АБК и MeJA как регуляторов роста растения и стимуляторов клеточного деления (Fattorini et al., 2009; Xie et al., 2020). К примеру, обработка гормонами ускоряет деление клеток, что требует повышенного синтеза пектина, уменьшает количество возможного субстрата для *GalUR* и, как следствие, снижает экспрессию генов *AsGalUR*. С другой стороны, показано, что экзогенная АБК стимулирует синтез АсК (Xu et al., 2022), однако это, скорее всего, относится к основному пути синтеза аскорбата. К тому же мы не наблюдали увеличения содержания аскорбата в ответ на фитогормоны (см. рис. 7, в), что может предполагать отсутствие влияния или отложенный стимулирующий эффект АБК на синтез АсК.

Ответ на абиотические стрессоры был более разнообразен (см. рис. 7, а, б). Основным отличием реакции условно корневых генов (*AsGalUR1-4*) от условно листовых генов (*AsGalUR5, 7*) стала противоположная динамика экспрессии при воздействии пониженной температуры. В корнях спустя 24 ч воздействия экспрессия корневых генов увеличивалась, а листовых – снижалась (см. рис. 7, а). В листьях, напротив, через 6 ч воздействия резко выросла экспрессия листовых *AsGalUR5, 7* и снизилась или не изменилась экспрессия корневых генов *AsGalUR1-4* (см. рис. 7, в). Это согласуется с положительной зависимостью холодостойкости растения от содержания АсК (Fu et al., 2023) и подчеркивает органоспецифичность увеличения активности генов *AsGalUR* в ответ на холод, приведшего к существенному (листья) или более слабому (корни) повышению содержания аскорбата (см. рис. 7, в).

Аскорбиновая кислота способствует устойчивости растений к засолению и засухе (Younis et al., 2010). В соответствии с этим экспрессия генов *AsGalUR* менялась в ответ на осмотические/ионные стрессоры (PEG, NaCl), и больший эффект наблюдался в корнях, что связано с особенностями создания стрессовых условий (корни погружены в раствор PEG или NaCl). Однако функциональных различий между листовыми и корневыми генами *AsGalUR* не обнаружено; в листьях уровень экспрессии всех генов снизился, а в корнях не изменился (NaCl) или повысился (PEG) (см. рис. 7, а, б), что сопровождалось ростом накопления АсК в тканях (см. рис. 7, в). Здесь же отметим, что корреляция между экспрессией гена и содержанием аскорбата в стрессовых условиях обнаружена только в листьях и только для генов *AsGalUR1* и *4*, отнесенных нами к корневой группе, что подтверждает условность функционального разделения генов *AsGalUR* при адаптационных ответах растения чеснока.

Полученные данные полностью согласуются с тем, что в стрессовых условиях в растении могут активироваться альтернативные пути синтеза аскорбата (Xu et al., 2012; Ruggieri et al., 2016). В частности, это может быть связано со снижением в ответ на стрессоры потока основного

L-галактозного пути синтеза (из-за активного вовлечения предшественника пути – D-глюкозы, в стрессовые реакции растения), что продемонстрировано при анализе мутантов *vtc1* и *vtc2* *A. thaliana* (Quiñones et al., 2024).

Заключение

В настоящей работе идентифицировано семейство генов *AKRA. sativum* и определено семь генов, *AsGalUR1-7*, предположительно кодирующих D-галактуронатредуктазы – ключевые ферменты альтернативного D-галактуронового пути биосинтеза L-аскорбиновой кислоты. Охарактеризованы структура и филогения генов и кодируемых белков, а также органоспецифичный профиль экспрессии генов *AsGalUR1-7*, на основе чего гены были условно разделены на корневую (*AsGalUR1-4*) и листовую (*AsGalUR5-7*) группы. Проведен анализ экспрессии генов в ответ на воздействие абиотических стрессовых факторов (засоление, засуха, холод) и экзогенных фитогормонов (АБК, MeJA), который выявил дополнительные функциональные особенности генов в определении стрессоустойчивости растения чеснока.

Список литературы / References

- Анисимова О.К., Щенникова А.В., Кочиева Е.З., Филюшин М.А. Идентификация и полиморфизм гена ГДФ-L-галактозофосфорилазы (*ApGGPI*) у сортов лука-порей. *Генетика*. 2021а;57(3): 311-320. doi 10.31857/S0016675821030036
- [Anisimova O.K., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z., Filyushin M.A. Identification and variability of the GDP-L-galactose phosphorilase gene *ApGGPI* in leek cultivars. *Russ J Genet*. 2021a;57(3): 311-318. doi 10.1134/S1022795421030030]
- Анисимова О.К., Середин Т.М., Щенникова А.В., Кочиева Е.З., Филюшин М.А. Оценка содержания витамина С и экспрессии гена ГДФ-L-галактозофосфорилазы (*VTC2*) у сортов лука-порей (*Allium porrum* L.). *Физиология растений*. 2021б;68(1):75-84. doi 10.31857/S0015330320060020
- [Anisimova O.K., Seredin T.M., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z., Filyushin M.A. Estimation of the vitamin C content and GDP-L-galactose phosphorylase gene (*VTC2*) expression level in leek (*Allium porrum* L.) cultivars. *Russ J Plant Physiol*. 2021b;68(1):85-93. doi 10.1134/S1021443720060023]
- Анисимова О.К., Щенникова А.В., Кочиева Е.З., Филюшин М.А. Идентификация генов монодегидроаскорбатредуктаз (*MDHAR*) чеснока (*Allium sativum* L.) и их участие в ответе на заражение *Fusarium proliferatum*. *Генетика*. 2022;58(7):754-764. doi 10.31857/S0016675822070037
- [Anisimova O.K., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z., Filyushin M.A. Identification of monodehydroascorbate reductase (*MDHAR*) genes in garlic (*Allium sativum* L.) and their role in the response to *Fusarium proliferatum* infection. *Russ J Genet*. 2022;58(7):773-782. doi 10.1134/S1022795422070031]
- Филюшин М.А., Анисимова О.К., Кочиева Е.З., Щенникова А.В. Корреляция содержания аскорбиновой кислоты и профиля экспрессии генов монодегидроаскорбатредуктаз (*MDHARs*) у лука-порей (*Allium porrum* L.). *Физиология растений*. 2021;68(5):501-508. doi 10.31857/S0015330321050031
- [Filyushin M.A., Anisimova O.K., Kochieva E.Z., Shchennikova A.V. Correlation of ascorbic acid content and the pattern of monodehydroascorbate reductases (*MDHARs*) gene expression in leek (*Allium porrum* L.). *Russ J Plant Physiol*. 2021;68(5):849-856. doi 10.1134/S1021443721050034]
- Филюшин М.А., Середин Т.М., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Содержание витамина С и профиль экспрессии генов метаболизма аскорбата в зеленых листьях и отбеленной части ложного

- стебля гибридов F₁ лука-порея (*Allium porrum* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(2):200-209. doi 10.18699/vjgb-25-23
- [Filyushin M.A., Seredin T.M., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Vitamin C content and profile of ascorbate metabolism gene expression in green leaves and bleached parts of the pseudostem of leek (*Allium porrum* L.) F₁ hybrids. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(2):200-209. doi 10.18699/vjgb-25-23]
- Щенникова А.В., Кочиева Е.З., Филлюшин М.А. Гены биосинтеза и рециклинга аскорбата вовлечены в ответные реакции растений чеснока *Allium sativum* L. на заражение *Fusarium proliferatum*. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2025; 520(1):117-121. doi 10.31857/S2686738925010191
- [Shchennikova A.V., Kochieva E.Z., Filyushin M.A. Ascorbate biosynthesis and recycling genes are involved in the responses of garlic *Allium sativum* L. plants to *Fusarium proliferatum* infection. *Dokl Biochem Biophys*. 2025;520(1):49-52. doi 10.1134/S1607672924601057]
- Agius F., González-Lamothe R., Caballero J.L., Muñoz-Blanco J., Botella M.A., Valpuesta V. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. *Nat Biotechnol*. 2003;21(2):177-181. doi 10.1038/nbt777
- Badejo A.A., Wada K., Gao Y., Maruta T., Sawa Y., Shigeoka S., Ishikawa T. Translocation and the alternative D-galacturonate pathway contribute to increasing the ascorbate level in ripening tomato fruits together with the D-mannose/L-galactose pathway. *J Exp Bot*. 2012;63(1):229-239. doi 10.1093/jxb/err275
- Broad R.C., Bonneau J.P., Hellens R.P., Johnson A.A.T. Manipulation of ascorbate biosynthetic, recycling, and regulatory pathways for improved abiotic stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(5):1790. doi 10.3390/ijms21051790
- Cruz-Rus E., Amaya I., Sánchez-Sevilla J.F., Botella M.A., Valpuesta V. Regulation of L-ascorbic acid content in strawberry fruits. *J Exp Bot*. 2011;62(12):4191-4201. doi 10.1093/jxb/err122
- Duan W., Huang Z., Li Y., Song X., Sun X., Jin C., Wang Y., Wang J. Molecular evolutionary and expression pattern analysis of *AKR* genes shed new light on GalUR functional characteristics in *Brassica rapa*. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):5987. doi 10.3390/ijms21175987
- Fattorini L., Falasca G., Kevers C., Rocca L.M., Zadra C., Altamura M.M. Adventitious rooting is enhanced by methyl jasmonate in tobacco thin cell layers. *Planta*. 2009;231(1):155-168. doi 10.1007/s00425-009-1035-y
- Franceschi V.R., Tarlyn N.M. L-Ascorbic acid is accumulated in source leaf phloem and transported to sink tissues in plants. *Plant Physiol*. 2002;130(2):649-656. doi 10.1104/pp.007062
- Fu Q., Cao H., Wang L., Lei L., Di T., Ye Y., Ding C., Li N., Hao X., Zeng J., Yang Y., Wang X., Ye M., Huang J. Transcriptome analysis reveals that ascorbic acid treatment enhances the cold tolerance of tea plants through cell wall remodeling. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(12):10059. doi 10.3390/ijms241210059
- Ha J., Kang Y.G., Lee T., Kim M., Yoon M.Y., Lee E., Yang X., Kim D., Kim Y.J., Lee T.R., Kim M.Y., Lee S.H. Comprehensive RNA sequencing and co-expression network analysis to complete the biosynthetic pathway of coumestrol, a phytoestrogen. *Sci Rep*. 2019; 9(1):1934. doi 10.1038/s41598-018-38219-6
- Huang J., Wu H., Gao R., Wu L., Wang M., Chu Y., Shi Y., Xiang L., Yin Q. Integrated multi-omics analysis reveals glycosylation involving 2-O-β-D-Glucopyranosyl-L-ascorbic acid biosynthesis in *Lycium barbarum*. *Int J Mol Sci*. 2025;26(4):1558. doi 10.3390/ijms26041558
- Isherwood F.A., Mapson L.W. Biological synthesis of ascorbic acid: the conversion of derivatives of D-galacturonic acid into L-ascorbic acid by plant extracts. *Biochem J*. 1956;64(1):13-22. doi 10.1042/bj0640013
- Ishikawa T., Nishikawa H., Gao Y., Sawa Y., Shibata H., Yabuta Y., Maruta T., Shigeoka S. The pathway via D-galacturonate/L-galactonate is significant for ascorbate biosynthesis in *Euglena gracilis*: identification and functional characterization of aldonolactonase. *J Biol Chem*. 2008;283(45):31133-31141. doi 10.1074/jbc.M803930200
- Li H., Huang W., Wang G.L., Wang W.L., Cui X., Zhuang J. Transcriptomic analysis of the biosynthesis, recycling, and distribution of ascorbic acid during leaf development in tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Sci Rep*. 2017;7:46212. doi 10.1038/srep46212
- Liu H., Wei L., Ni Y., Chang L., Dong J., Zhong C., Sun R., Li S., Xiong R., Wang G., Sun J., Zhang Y., Gao Y. Genome-wide analysis of ascorbic acid metabolism related genes in *Fragaria × ananassa* and its expression pattern analysis in strawberry fruits. *Front Plant Sci*. 2022;13:954505. doi 10.3389/fpls.2022.954505
- Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*. 2008;11(3):266-277. doi 10.1016/j.pbi.2008.03.006
- Mølhøj M., Verma R., Reiter W.D. The biosynthesis of D-Galacturonate in plants. functional cloning and characterization of a membrane-anchored UDP-D-Glucuronate 4-epimerase from *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 2004;135(3):1221-1230. doi 10.1104/pp.104.043745
- Peltonen K.E., Richard P. Identification of a D-galacturonate reductase efficiently using NADH as a cofactor. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2022; 35:e00744. doi 10.1016/j.btre.2022.e00744
- Penning T.M. The aldo-keto reductases (AKRs): overview. *Chem Biol Interact*. 2015;234:236-246. doi 10.1016/j.cbi.2014.09.024
- Popa P.-M., Băbeanu C., Cosmulescu S.-N. Evaluation of chemical compounds in local garlic genotypes from southwestern Romania. *Appl Sci*. 2024;14(16):6899. doi 10.3390/app14166899
- Quiñones C.O., Gesto-Borroto R., Wilson R.V., Hernández-Madrigal S.V., Lorence A. Alternative pathways leading to ascorbate biosynthesis in plants: lessons from the last 25 years. *J Exp Bot*. 2024;75(9):2644-2663. doi 10.1093/jxb/erae120
- Richardson A.T., McGhie T.K., Cordiner S.B., Stephens T.T.H., Larsen D.S., Laing W.A., Perry N.B. 2-O-β-d-Glucopyranosyl l-ascorbic acid, a stable form of vitamin C, is widespread in crop plants. *J Agric Food Chem*. 2021;69(3):966-973. doi 10.1021/acs.jafc.0c06330
- Ruggieri V., Bostan H., Barone A., Frusciantè L., Chiusano M.L. Integrated bioinformatics to decipher the ascorbic acid metabolic network in tomato. *Plant Mol Biol*. 2016;91(4-5):397-412. doi 10.1007/s11103-016-0469-4
- Sengupta D., Naik D., Reddy A.R. Plant aldo-keto reductases (AKRs) as multi-tasking soldiers involved in diverse plant metabolic processes and stress defense: a structure-function update. *J Plant Physiol*. 2015;179:40-55. doi 10.1016/j.jplph.2015.03.004
- Skoczylas J., Jędrszczyk E., Dziadek K., Dacewicz E., Kopeć A. Basic chemical composition, antioxidant activity and selected polyphenolic compounds profile in garlic leaves and bulbs collected at various stages of development. *Molecules*. 2023;28(18):6653. doi 10.3390/molecules28186653
- Smirnoff N. Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med*. 2018;22:116-129. doi 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.033
- Smirnoff N., Wheeler G.L. The ascorbate biosynthesis pathway in plants is known, but there is a way to go with understanding control and functions. *J Exp Bot*. 2024;75(9):2604-2630. doi 10.1093/jxb/era505
- Smirnoff N., Conklin P.L., Loewus F.A. biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 2001; 52:437-467. doi 10.1146/annurev.arplant.52.1.437
- Šnirc M., Lidiková J., Čeryová N., Pintér E., Ivanišová E., Musilová J., Vollmannová A., Rybníkář S. Mineral and phytochemical profiles of selected garlic (*Allium sativum* L.) cultivars. *South Afr J Bot*. 2023;158:319-325. doi 10.1016/j.sajb.2023.05.024
- Suekawa M., Fujikawa Y., Inada S., Murano A., Esaka M. Gene expression and promoter analysis of a novel tomato aldo-keto reductase in response to environmental stresses. *J Plant Physiol*. 2016;200:35-44. doi 10.1016/j.jplph.2016.05.015

- Sun X., Zhu S., Li N., Cheng Y., Zhao J., Qiao X., Lu L., ... Zhao X., Tian S., Su J., Cheng Z., Liu T. A chromosome-level genome assembly of garlic (*Allium sativum*) provides insights into genome evolution and allicin biosynthesis. *Mol Plant*. 2020;13(9):1328-1339. doi 10.1016/j.molp.2020.07.019
- Teper-Bamnolker P., Buskila Y., Lopesco Y., Ben-Dor S., Saad I., Holdengreber V., Belausov E., Zemach H., Ori N., Lers A., Eshel D. Release of apical dominance in potato tuber is accompanied by programmed cell death in the apical bud meristem. *Plant Physiol*. 2012;158(4):2053-2067. doi 10.1104/pp.112.194076
- Vargas J.A., Leonardo D.A., D'Muniz Pereira H., Lopes A.R., Rodriguez H.N., Cobos M., Marapara J.L., Castro J.C., Garratt R.C. Structural characterization of L-galactose dehydrogenase: an essential enzyme for vitamin C biosynthesis. *Plant Cell Physiol*. 2022;63(8):1140-1155. doi 10.1093/pcp/pcac090
- Xie Q., Essemine J., Pang X., Chen H., Cai W. Exogenous application of abscisic acid to shoots promotes primary root cell division and elongation. *Plant Sci*. 2020;292:110385. doi 10.1016/j.plantsci.2019.110385
- Xu X., Zhang Q., Gao X., Wu G., Wu M., Yuan Y., Zheng X., ... Qi T., Li H., Luo Z., Li Z., Deng W. Auxin and abscisic acid antagonistically regulate ascorbic acid production via the SIMAPK8-SIARF4-SIMYB11 module in tomato. *Plant Cell*. 2022;34(11):4409-4427. doi 10.1093/plcell/koac262
- Yenealem D., Eyayu D., Tibebe D., Mulugeta M., Kassa Y., Moges Z., Kerebih F., Fentie T., Amare A., Ayalew M. Electrochemical characterization and detection of ascorbic acid in garlic using activated glassy carbon electrode: a comprehensive study. *Food Anal Methods*. 2024;17:1473-1483. doi 10.1007/s12161-024-02660-3
- Younis M.E., Hasaneen M.N., Kazamel A.M. Exogenously applied ascorbic acid ameliorates detrimental effects of NaCl and mannitol stress in *Vicia faba* seedlings. *Protoplasma*. 2010;239(1-4):39-48. doi 10.1007/s00709-009-0080-5

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.09.2025. После доработки 13.01.2026. Принята к публикации 13.01.2026.