

EDN: JPHRZI

УДК 633.11*165.6:577.125:631.674.1

The Effect of *Aegilops tauschii* Coss. Introgression in the Wheat Genome on Isozyme Composition and Activity of Leaf Lipoxygenase under Variable Water Supply

Marina D. Permyakova* and Alexey V. Permyakov

Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
Irkutsk, Russian Federation

Received 06.02.2023, received in revised form 05.12.2024, accepted 09.12.2024

Abstract. Lipoxygenase (LOX), a key enzyme of lipid metabolism, is involved in signaling pathways of adaptation to an unfavorable environment. Introgression of wild cereal genes that control LOX activity can be useful in breeding wheat for tolerance to stress, including water deficit. Using Western blotting, we compared the isozyme composition of LOX in the leaves of the synthetic hexaploid ‘Syn6x’, carrying the D genome from *Aegilops tauschii* Coss., and the wheat ‘Chinese Spring’ (CS). Four forms of lipoxygenase, different in intracellular localization, were studied: soluble, membrane-bound (without chloroplast membranes), soluble chloroplast and chloroplast membrane-bound. The studies were carried out under optimal water supply and simulated soil drought. Five soluble and six membrane-bound molecular forms of LOX have been found. Sin6x, as compare to CS, had two additional molecular forms of soluble and membrane LOX but it lacked three chloroplast LOX isoforms found in CS. Water deficit induced two molecular forms of LOX: soluble in Syn6x and bound to chloroplast membranes in CS. Spectrometry was used to study LOX activity in CS, Syn6x and twenty introgressive recombinant lines which carried different sites of introgression from *Ae. tauschii* in the 2D chromosome of the CS genome. In most lines, introgression of wild cereals caused an increase in enzymatic activity. Under water deficit, Syn6x increased the activity of soluble LOX, while CS increased the activity of chloroplast forms of the enzyme. In introgressive lines, the patterns of LOX activity changes were similar to one of the parental patterns (CS or Syn6x) for each of the four forms of LOX studied.

Keywords: lipoxygenase, wheat, *Aegilops tauschii* Coss., introgression, water deficit, stress adaptation.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: marperm@rambler.ru

ORCID: 0000-0002-0259-8531 (Permyakova M.); 0000-0003-0002-5470 (Permyakov A.)

Acknowledgements. This research was carried out with the partial financial support of the RFBR project № 15–04–02762. The research equipment was provided by the Bioanalytics Shared Research Facility Centre of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Citation: Permyakova M. D., Permyakov A. V. The effect of *Aegilops tauschii* Coss. introgression in the wheat genome on isozyme composition and activity of leaf lipoxygenase under variable water supply. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2024, 17(4), 409–419. EDN: JPHRZI



Влияние интрогрессии *Aegilops tauschii* Coss. в геноме пшеницы на изоферментный состав и активность липоксигеназы листьев в условиях разного водообеспечения

М. Д. Пермякова, А. В. Пермяков
*Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
Российская Федерация, Иркутск*

Аннотация. Липоксигеназа (ЛОГ), как ключевой фермент липидного обмена, участвует в сигнальных путях адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды. Интрогрессия генов диких злаков, регулирующих активность ЛОГ, может быть полезна при селекции пшеницы на устойчивость к стрессам, в том числе к водному дефициту. Методом Вестерн-блоттинга мы изучили изоферментный состав ЛОГ в листьях синтетического гексаплоида Синтетик 6х (Синбх), несущего геном D от *Aegilops tauschii* Coss., в сравнении с пшеницей сорта Чайниз Спринг (ЧС). Были изучены четыре формы липоксигеназы, различающиеся внутриклеточной локализацией: растворимая, связанная с мембранами (кроме мембран хлоропластов), растворимая хлоропластная и связанная с мембранами хлоропластов. Исследования проводились в условиях оптимального водообеспечения и смоделированной почвенной засухи. Было обнаружено пять растворимых и шесть связанных с клеточными мембранами молекулярных форм ЛОГ. Синбх, в сравнении с сортом ЧС, имел по две дополнительные молекулярные формы растворимой и связанной с мембранами ЛОГ, однако у него отсутствовали выявляемые у сорта ЧС три хлоропластные изоформы. Дефицит воды индуцировал появление двух молекулярных форм ЛОГ: растворимой у Синбх и связанной с мембранами хлоропластов у ЧС. Спектрометрическим методом была изучена активность ЛОГ у ЧС, Синбх и двадцати интрогрессивных рекомбинантных линий, несущих разные участки интрогрессии от *Ae. tauschii* в хромосоме 2D генома ЧС. У большинства линий интрогрессия дикого злака вызывала повышение ферментативной активности. Под влиянием водного дефицита Синбх увеличивал уровень активности растворимой ЛОГ, а ЧС увеличивал активность хлоропластных форм фермента. У интрогрессивных линий характер изменения уровня активности каждой из изученных форм ЛОГ был подобен одному из родительских генотипов (ЧС или Синбх).

Ключевые слова: липоксигеназа, пшеница, *Aegilops tauschii* Coss., интрогрессия, водный дефицит, адаптация к стрессу.

Благодарности. Данная работа была выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ № 15–04–02762. Оборудование для исследований предоставлено Центром коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН.

Цитирование: Пермякова М.Д. Влияние интрогрессии *Aegilops tauschii* Coss. в геноме пшеницы на изоферментный состав и активность липоксигеназы листьев в условиях разного водообеспечения / М.Д. Пермякова, А.В. Пермяков // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2024. 17(4). С. 409–419. EDN: JPHRZI

Введение

Липоксигеназа (ЛОГ) катализирует окисление полиненасыщенных жирных кислот, реагируя как со свободными жирными кислотами, так и их этерифицированными производными. Большое число изоферментов ЛОГ инициирует пути образования различных физиологически активных оксипинов, в том числе фитогормона жасмоновой кислоты (ЖАК), а также оксипинов с функцией характерных реактивных эпоксидов, α , β -ненасыщенных карбониллов или альдегидов, которые вовлечены во многие процессы в онтогенезе растений и ответные реакции на стрессоры (Wasternack, Feussner, 2018). Известно, что при адаптации растений к водному дефициту главное значение имеет синергическое действие абсцизовой кислоты (АБК) и оксипинов, образованных ЛОГ и ферментами липоксигеназного пути катаболизма липидов (de Ollas, Dodd, 2016; Savchenko et al., 2014). Ранее нами было показано, что адаптация пшеницы к засухе была связана с активностью ЛОГ разной внутриклеточной локализации (Permyakova et al., 2017).

У *Triticum aestivum* L. ограничена генетическая вариация признаков, определяющих устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, и урожайность в неблагоприятных условиях, поскольку два события полиплоидизации и современная селекция привели к потере потенциально полезных аллелей

(Bonnin et al., 2014). Дикие родственники генетически гораздо более разнообразны, чем культивируемые пшеницы, и представляют собой важные генетические ресурсы для разнообразия признаков (Rauf et al., 2010). В селекции для передачи генетического материала диких злаков в геном пшеницы используют синтетические гексаплоиды (Давоян и др., 2012).

Дикий злак *Aegilops tauschii* Coss. является донором генома D гексаплоидной пшеницы и служит источником для многих генов качества зерна: высоко- и низкомолекулярных субъединиц глютеина (HMW-GS и LMW-GS), текстуры зерна (белки GSP, пуринолины) и активатора запасного белка (SPA). По данным секвенирования генома *Ae. tauschii* имеет избыток генов белков, обогащенных лейциновыми повторами, цитохромов P450, транскрипционных факторов DREB 2 и MYB (Jia et al., 2013). Эти семейства генов причастны к устойчивости к широкому спектру неблагоприятных факторов, включая засуху, а также к жасмонатному сигналингу (de Ollas, Dodd, 2016).

В данной работе представлены результаты изучения изоферментного состава ЛОГ в листьях синтетического гексаплоида Синбх, несущего геном D от *Ae. tauschii*, в сравнении с пшеницей Чайниз Спринг (ЧС) при нормальных условиях и под влиянием водного

дефицита, а также показано действие интрогрессии сегментов генома *Ae. tauschii* в хромосоме 2D пшеницы на уровень активности четырех форм ЛОГ, различающихся субклеточной локализацией.

Материалы и методы

Объектом исследования были сорт мягкой пшеницы ЧС; синтетический гексаплоид Синбх, полученный от скрещивания тетраплоидного эммера и дикорастущего злака *Ae. tauschii*; 20 интрогрессивных рекомбинантных линий (ИРЛ), каждая из которых содержит единственную гомозиготную интрогрессию *Ae. tauschii* в хромосоме 2D пшеницы сорта ЧС. ИРЛ 2D-3, 2D-4, 2D-7, 2D-11, 2D-13, 2D-14 несли интрогрессию в коротком плече. ИРЛ 2D-1.1, 2D-2, 2D-8, 2D-10, 2D-15, 2D-16, 2D-17, 2D-18 несли интрогрессию в длинном плече. Линии 2D-1.2, 2D-1.3, 2D-5, 2D-6, 2D-9, 2D-12 несли интрогрессию разной протяженности в областях, захватывающих оба хромосомных плеча. Получение и подробное описание линий представлено в работе Песцовой с соавторами (Pestsova et al., 2006).

Растения пшеницы выращивали в контролируемых условиях проходной климатической камеры CLF Plant Master (CLF Plant Climatic GmbH, Вертинген, Германия) при двух режимах водообеспечения. Оптимальный режим соответствовал 60 %-му, а воддефицитный – 30 %-му содержанию воды от полной почвенной влагоемкости (Журбицкий, 1968).

Флаговые листья трех отдельных растений, принимаемых за биологические повторности, были срезаны в стадии кушения через месяц после посева, заморожены в жидком азоте и хранились при -80°C . Первичный экстракт ЛОГ получали растиранием листьев в ступке с тройным количеством 0,1 М трис-НСl буферного раствора, содержащего 1 мМ ЭДТА (рН 7,5) в течение 25 мин при 4°C .

Были исследованы следующие белковые фракции:

1) растворимая фракция листьев, обогащенная цитозольными ЛОГ, РЛОГ (супернатант после центрифугирования при 105000 g);

2) микросомальная фракция листьев, обогащенная связанными с мембранами формами ЛОГ, МЛОГ (интенсивно растертый и ресуспендированный в том же буферном растворе осадок после центрифугирования при 105000 g);

3) фракция, обогащенная растворимой ЛОГ хлоропластов, хлРЛОГ (отцентрифугированный при 8000 g ресуспендированный осадок после центрифугирования при 1000 g);

4) фракция, обогащенная связанной с мембранами хлоропластов ЛОГ, хлМЛОГ (интенсивно растертый и ресуспендированный в том же буферном растворе осадок после центрифугирования при 105000 g растворимой фракции хлоропластов, получение которой описано в пункте 3).

Активность ЛОГ определяли по модифицированной методике Зиммерман и Вик (Zimmerman, Vick, 1970), измеряя скорость образования пероксидов жирных кислот при 234 нм на микропланшетном ридере Infinite M200 PRO (Tecan Group Ltd, Маннедорф, Швейцария). Реакционная среда объемом 200 мкл содержала 5–10 мкл ферментного экстракта с известным содержанием белка по Брэдфорд (Bradford, 1976). Субстратом служила эмульсия линолевой кислоты (ЛК) в этаноле (1:1), растворенная в 0,1 М трис-НСl буферном растворе, рН 7,5. Концентрация ЛК в реакционной смеси 56,7 мкМ/мл. Удельную активность выражали в единицах активности на мг белка в мл (Е/мг/мл).

Для получения образцов для электрофореза в полученные ферментные экстракты добавляли (1:1) 2-х кратный буфер для образцов (0,125 М трис-НСl, рН 6,8, 10 % β -

меркаптоэтанола, 4 % ДДС, 20 % глицерина и 0,004 % бромфенолового синего) и инкубировали 5 мин на кипящей водяной бане.

Электрофорез белков проводили в 12 % ПААГ (Laemmli, 1970) с использованием маркеров молекулярной массы (“Sigma”, США). Для электрофоретического разделения наносили по 20 мкг белка на трек. Нанесение белка нормализовали по окраске Кумасси. При Вестерн-блоттинге перенос белков из полиакриламидного геля на нитроцеллюлозную мембрану проводили в камере для блоттинга Criterion Blotter (BioRad) в охлажденном буфере для переноса при pH = 9,2 (48 мМ Трис, 39 мМ глицин, 10 % метанола) при напряжении 150 V в течение 5 часов. Детекцию липоксигеназы проводили иммунохимически с использованием первичных (Agriseria, AS 06 128; разведение 1: 1000) и вторичных антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой (Anti-Rabbit Ig G(Fe)AP (Promega); разведение 1: 1000) (Timmons, Dunbar, 1990).

Для статистической обработки в программе Microsoft Excel 2000 использовали данные двух независимых экспериментов в 3 биологических и 4–5 аналитических повторностях. Изменение уровня активности ЛОГ у генотипов под влиянием засухи рассчитывали как отношение среднего значения ферментативной активности в условиях засухи к среднему значению в контроле в % (З/К%). Влияние интрогрессии *Ae. tauschii* на уровень значений активности ЛОГ в условиях разного водообеспечения и отношение З/К% выявляли, сравнивая Синбх и отдельные ИРЛ с сортом-реципиентом ЧС.

Результаты

Молекулярные формы липоксигеназы

Чайниз Спринг и Синтетик 6х различались по составу как растворимых, так и мембранных липоксигеназ листьев (рис. 1). Во фракции растворимых белков листьев (РЛОГ) в контрольных условиях у сорта ЧС выявилась одна молекулярная форма 90 кДа,

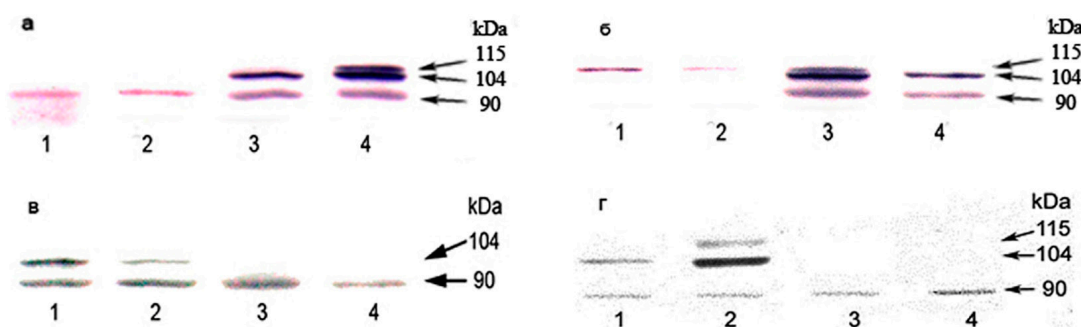


Рис. 1. Изоферментный состав липоксигеназы в четырех белковых фракциях из листьев пшеницы сорта Чайниз Спринг и синтетического гексаплоида Синтетик 6х при разных режимах водообеспечения: а – Растворимая фракция (без хлоропластов); б – Мембранная фракция (без мембран хлоропластов); в – Растворимая фракция хлоропластов; г – Мембранная фракция хлоропластов; 1 – Чайниз Спринг, нормальное водообеспечение; 2 – Чайниз Спринг, водный дефицит; 3 – Синтетик 6х, нормальное водообеспечение; 4 – Синтетик 6х, водный дефицит

Fig. 1. Isozyme composition of lipoxygenase in four protein fractions from the leaves of wheat ‘Chinese Spring’ and synthetic hexaploid ‘Synthetic 6x’ under different water supply regimes: a – Soluble fraction (without chloroplasts); b – Membrane fraction (without chloroplast membranes); c – Soluble fraction of chloroplasts; d – Membrane fraction of chloroplasts; 1 – ‘Chinese Spring’, normal water supply; 2 – ‘Chinese Spring’, water deficit; 3 – ‘Synthetic 6x’, normal water supply; 4 – ‘Synthetic 6x’, water deficit

а Синбх имел две растворимые молекулярные формы 90 и 104 кДа. В условиях засухи молекулярный состав у ЧС оставался без изменений, а у Синбх появлялась третья изоформа 115 кДа. Интенсивность окраски, отражающая уровень содержания белка изоформ ЛОГ, во всех случаях была выше у синтетической пшеницы (рис. 1а).

В микросомальной фракции, обогащенной связанными с мембранами ЛОГ (МЛОГ), сорт ЧС независимо от условий водообеспечения имел одну молекулярную форму 115 кДа, интенсивность окраски которой значительно снижалась в условиях засухи. У Синбх в контроле, кроме изоформы 115 кДа, выявлялись еще две дополнительные изоформы 90 и 104 кДа, однако изоформа 115 кДа не выявлялась в условиях засухи. Уровень содержания белка (интенсивность окраски) остальных изоформ у Синбх незначительно снижался при водном дефиците (рис. 1б).

Во фракции растворимых белков хлоропластов (хлРЛОГ) Чайниз Спринг и Синтетик бх тоже отличались по количеству изоферментов ЛОГ. ЧС имел две молекулярные формы 90 и 104 кДа, а Синбх только одну 90 кДа. В условиях засухи количество изоферментов у генотипов оставалось неизменным (рис. 1в).

Во фракции белков, связанных с мембранами хлоропластов (хлМЛОГ), у ЧС в контроле было две молекулярные формы 104 и 90 кДа; в условиях засухи выявлялась третья молекулярная форма 115 кДа, а интенсивность окраски изоформы 104 кДа значительно увеличивалась. У Синбх как в контроле, так и в условиях засухи выявлялась только одна молекулярная форма 90 кДа, а ее содержание было слегка выше в условиях водного дефицита (рис. 1г).

Активность липоксигеназы

При нормальном водообеспечении (рис. 2а) активность ЛОГ была выше в рас-

творимой белковой фракции. Показатели активности растворимой ЛОГ у родителей не имели статистически значимых различий. Линии 2D-1.3 и 2D-5 показали самый высокий уровень активности растворимой ЛОГ, а линии 2D-3, 2D-4, 2D-6, 2D-10 – наименьший. В мембранной фракции активность ЛОГ у Синбх была выше, чем у ЧС. Десять линий имели уровень активности выше, чем у ЧС. Линии 2D-2, 2D-9, 2D-14 отличались наиболее высоким, а линии 2D-1.2, 2D-8, 2D-15, 2D-16 – наиболее низким уровнем активности ЛОГ. В хлоропластных белковых фракциях значения ферментативной активности у всех генотипов были невысокими. Синбх и большинство линий, за исключением 2D-3, 2D-5, 2D-10, 2D-16, имели уровень активности ХлРЛОГ выше, чем у ЧС. Во фракции мембранных белков хлоропластов Синбх и все изученные линии, за исключением 2D-3, имели более высокий уровень ферментативной активности, чем ЧС.

В условиях засухи (рис. 2б), как и в контроле, наиболее высокий уровень значений активности ЛОГ наблюдался во фракции растворимых белков. Активность всех форм ЛОГ, кроме ХлРЛОГ, у Синбх была выше, чем у ЧС. Уровень активности РЛОГ у всех генотипов, за исключением линий 2D-6, 2D-10, 2D-15 и 2D-17, значительно превышал уровень ЧС. По уровню ферментативной активности МЛОГ все линии превосходили ЧС, а линии 2D-7, 2D-8, 2D-10 отличались наиболее высокой активностью. В хлоропластной растворимой фракции по уровню ферментативной активности родители значимо не различались. Линии 2D-1.3, 2D-3, 2D-5, 2D-11, 2D-13 и 2D-14 показали более низкий уровень активности, чем ЧС, а линии 2D-1.2, 2D-4, 2D-7, 2D-8, 2D-10 превышали ЧС. В хлоропластной мембранной фракции в условиях засухи все генотипы, кроме 2D-3 и 2D-9 статистически

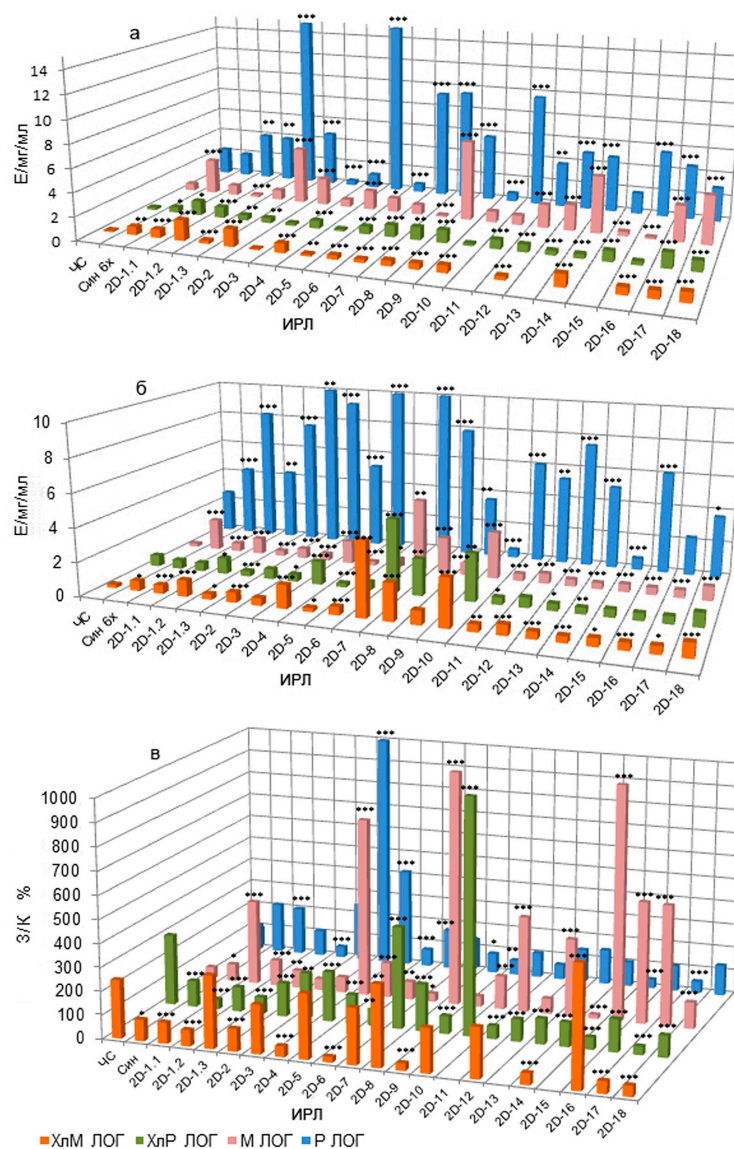


Рис. 2. Активность липоксигеназы в четырех белковых фракциях из листьев пшеницы интрогрессивных рекомбинантных линий Чайнииз Спринг (Синтетик 6х) по хромосоме 2D в условиях разного водообеспечения: а – Контроль, оптимальное водообеспечение; б – Засуха; в – З/К%, отношение среднего значения активности ЛОГ в условиях засухи к среднему значению в контроле в%. РЛОГ – активность растворимой формы ЛОГ листьев (без хлоропластов); МЛОГ – активность связанной с мембранами формы ЛОГ листьев (без мембран хлоропластов); хлРЛОГ – активность растворимой ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – активность ЛОГ, связанной с мембранами хлоропластов; ЧС – Чайнииз Спринг; Син 6х – Синтетик 6х; ИРЛ – интрогрессивные рекомбинантные линии. Значимость различий с сортом Чайнииз Спринг: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$. Линии 2D-11, 2D-13 и 2D-15 – нет данных в контроле (а) и по З/К% (в)

Fig. 2. Lipoxigenase activity in four protein fractions from the wheat leaves of introgressive recombinant lines 'Chinese Spring' / 'Synthetic 6x' on chromosome 2D under different water supply: а – Control, optimal water supply; б – Drought; в – D/K%, the ratio of the average value of LOX activity under drought to the average value in the control in%. RLOG – activity of soluble LOX in leaves (without chloroplasts); MLOG – activity of membrane LOX in leaves (without chloroplast membranes); chlRLOG – activity of soluble LOX in chloroplasts; chlMLOG – activity of LOX associated with chloroplast membranes; CS – wheat 'Chinese Spring'; Syn 6x – 'Synthetic 6x'; IRL – introgressive recombinant lines. Significance of differences with 'Chinese Spring': * – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$; *** – $P < 0.001$. Lines 2D-11, 2D-13 and 2D-15 – no data for optimal water supply (a) and for D/K% (c)

значимо превышали ЧС по уровню ферментативной активности. Линии 2D-1.2, 2D-4, 2D-7, 2D-8 и 2D-18 имели высокий уровень активности ЛОГ во всех белковых фракциях.

Как видно на рис. 2в, родители четко различались по характеру изменений уровней активности разных форм ЛОГ под воздействием засухи. Отношение Засуха/Контроль активности растворимой и мембранной форм ЛОГ было выше у Синбх, а З/К% обеих хлоропластных форм был выше у ЧС. По З/К% активности ЛОГ среди ИРЛ наблюдалась высокая вариабельность во всех четырех белковых фракциях. В растворимой фракции линии 2D-1.1, 2D-3, 2D-4, 2D-6 превышали сорт-реципиент, проявляя тенденцию, аналогичную синтетической пшенице. В мембранной фракции оба родителя снижали уровень активности под воздействием засухи, но Синбх в значительно меньшей степени. По З/К% активности МЛОГ 14 линий превышали уровень реципиента. Это линии 2D-1.1, 2D-1.2, 2D-1.3, 2D-4, 2D-5, 2D-6, 2D-8, 2D-10, 2D-11, 2D-13, 2D-15, 2D-16, 2D-17, 2D-18, причем у большинства из них, в отличие от родителей, З/К% активности МЛОГ были выше 100 %. З/К% активности обеих хлоропластных форм фермента у Синбх были значительно ниже, чем у ЧС, и многие линии проявляли тенденцию Синбх. По З/К% ХлРЛОГ это были все линии, кроме 2D-7 и 2D-10. По З/К% ХлМЛОГ тенденцию Синбх проявили девять линий – 2D-1.1, 2D-1.2, 2D-2, 2D-4, 2D-6, 2D-9, 2D-14, 2D-17, 2D-18.

Обсуждение

Липоксигеназа является одним из ключевых ферментов липидного метаболизма. Известно, что у растений присутствуют растворимые и связанные с биологическими мембранами формы фермента, однако об изоферментах ЛОГ у пшеницы – одной из основных сельскохозяйственных культур в мире,

очень мало сведений. Мы обнаружили в листьях пшеницы в стадии кушения пять растворимых и шесть связанных с мембранами молекулярных форм ЛОГ. Изоферментный состав изменялся в зависимости от генотипа и условий выращивания растений. Синбх, несущий геном D от *Ae. tauschii*, в сравнении с сортом ЧС, имел по две дополнительные молекулярные формы растворимой и связанной с мембраной ЛОГ, однако у него отсутствовали выявляемые у сорта ЧС три хлоропластные изоформы. При адаптации к водному дефициту индуцировались дополнительные молекулярные формы фермента растворимой ЛОГ у Синбх и связанной с мембранами хлоропластов ЛОГ у ЧС.

Изученные генотипы отличались большой вариабельностью уровней ферментативной активности, как при нормальном, так и при недостаточном водном режиме, а также вариабельностью отношения Засуха/Контроль. При двух водных режимах интрогрессия дикого злака у большинства линий, как и у Синбх, вызывала увеличение активности ЛОГ во всех четырех изученных белковых фракциях. Независимо от условий водообеспечения наибольшим уровнем активности отличалась РЛОГ.

Водный дефицит по-разному влиял на уровень активности растворимой, связанной с мембранами, растворимой хлоропластной и связанной с хлоропластными мембранами ЛОГ у ЧС, Синбх и двадцати ИРЛ. В условиях водного дефицита Синбх увеличивал активность растворимой ЛОГ, а ЧС повышал активность хлоропластных ЛОГ. У линий проявился высокий полиморфизм по ферментативной активности и тенденция одного из родителей независимо по каждой из изученных форм ЛОГ.

Известно о трех структурных генах ЛОГ в области 403 и 616 Мб хромосомы 2D гекса-

плоидной пшеницы (Wang et al., 2023). Линии 2D-1.3 и 2D-5 с наиболее протяженными участками интрогрессии, захватывающими оба хромосомных плеча, вероятно, несут аллели этих генов от *Ae. tauschii*. Эти две линии проявили схожую тенденцию в регуляции ферментативной активности: имели самый высокий уровень активности РЛОГ в контроле, который оставался высоким и в условиях засухи, несмотря на его значительное снижение под влиянием водного дефицита, при этом уровень активности ХлМЛОГ увеличивался в 3 раза.

У растений закрытие устьиц, ограничивающее транспирацию и фотосинтез, в то же время является эффективным механизмом защиты от патогенов и минимизации обезвоживания. Известно, что оксипирины, образованные разными изоферментами ЛОГ, такие как ЖАК, МетилЖАК и 12-оксофитодиеновая кислота (12-ОФДК), активируют сигнальные пути регуляции устьичных движений или модифицируют биосинтез АБК, играющей центральную роль в регуляции устьичных движений (Savchenko et al., 2014; de Ollas, Dodd, 2016; Xu et al., 2022). Имеются сообщения об уменьшении устьичной апертуры экзогенными жасмонатами и другими продуктами ЛОГ в микро- и наномолярных концентрациях (Evans, 2003; Montillet et al., 2013; Savchenko et al., 2014).

Ранее мы выявили солокализацию в хромосоме 2D пшеницы локусов, ассоциированных с активностью растворимой и хлоропластных форм ЛОГ, с локусами, связанными со скоростью транспирации, устьичной проводимостью, эффективностью

использования воды. Была показана корреляционная взаимосвязь между этими признаками (Permyakova et al., 2017).

В предыдущей работе также было показано, что Синбх обладал более высокой эффективностью использования воды за счет конститутивного низкого уровня транспирации и устьичной проводимости, при этом он лучше, чем ЧС сохранял зерновую продуктивность в условиях засухи (Permyakova et al., 2017). Экологическая пластичность Синбх, несущего гены ЛОГ дикого злака, может быть связана с автономным сигнальным путем липоксигеназного продукта 12-ОФДК. Этот путь связывает регуляторную петлю фотосинтеза, клеточный окислительно-восстановительный гомеостаз и транскрипционные регуляторные сети, позволяя растениям адаптироваться к неблагоприятным условиям, распределяя ресурсы и обеспечивая оптимальный рост, размножение и выживание (Liu, Park, 2021).

В данной работе было выявлено, что синтетический гексаплоид отличался от культурной пшеницы увеличением числа растворимых и связанных с мембранами молекулярных форм ЛОГ и снижением хлоропластных изоферментов. Такой изоферментный состав ЛОГ, вероятно, способствовал сохранению баланса между реакциями роста и защиты за счет регуляции транспирации и устьичной проводимости. Это предположение требует дальнейшего исследования с целью подтверждения перспективности интрогрессии генов ЛОГ дикого злака *Ae. tauschii* в геноме пшеницы для улучшения ее адаптации к неблагоприятным условиям.

Список литературы / References

Давоян Р. О., Бебякина И. В., Давоян О. Р., Зинченко А. Н., Давоян Э. Р., Кравченко А. М., Зубанова Ю. С. (2012) Синтетические формы как основа для сохранения и использования генофонда диких сородичей мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 16(1): 44–51

[Davoyan R. O., Bebyakina I. V., Davoyan O. R., Zinchenko A. N., Davoyan E. R., Kravchenko A. M., Zubanova Yu. S. (2012) Use of synthetic forms in the preservation and exploitation of the gene pool of wild common wheat relatives. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* [Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii], 16(1): 44–51 (in Russian)]

Журбицкий З.И. (1968) *Теория и практика вегетационного метода*. Москва, Наука, 260 с. [Zhurbitskiy Z.I. (1968) *Theory and practice of the vegetation method*. Moscow, Nauka, 260 p. (in Russian)]

Bonnin I., Bonneuil C., Goffaux R., Montalent P., Goldringer I. (2014) Explaining the decrease in the genetic diversity of wheat in France over the 20th century. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 195: 183–192

Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2): 248–254

De Ollas C., Dodd I.C. (2016) Physiological impacts of ABA–JA interactions under water–limitation. *Plant Molecular Biology*, 91(6): 641–650

Evans N.H. (2003) Modulation of guard cell plasma membrane potassium currents by methyl jasmonate. *Plant Physiology*, 131(1): 8–11

Jia J., Zhao S., Kong X., Li Y., Zhao G., He W., Appels R., Pfeifer M., Tao Y., Zhang X., Jing R., Zhang C., Ma Y., Gao L., Gao C., Spannagl M., Mayer K. F. X., Li D., Pan S., Zheng F., Hu Q., Xia X., Li J., Liang Q., Chen J., Wicker T., Gou C., Kuang H., He G., Luo Y., Keller B., Xia Q., Lu P., Wang J., Zou H., Zhang R., Xu J., Gao J., Middleton C., Quan Z., Liu G., Wang J., International Wheat Genome Sequencing Consortium, Yang H., Liu X., He Z., Mao L., Wang J. (2013) *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. *Nature*, 496(7443): 91–95

Laemmli U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259): 680–685

Liu W., Park S.W. (2021) 12-oxo-phytodienoic acid: a fuse and/or switch of plant growth and defense responses? *Frontiers in Plant Science*, 12: 724079

Montillet J.-L., Leonhardt N., Mondy S., Tranchimand S., Rumeau D., Boudsocq M., Garcia A. V., Douki T., Bigeard J., Lauriere C., Chevalier A., Castresana C., Hirt H. (2013) An abscisic acid-independent oxylipin pathway controls stomatal closure and immune defense in Arabidopsis. *PLoS Biology*, 11(3): e1001513

Permyakova M.D., Permyakov A.V., Osipova S.V., Pshenichnikova T.A., Shishparenok A.A., Rudikovskaya E.G., Rudikovskiy A.V., Verkhoturlov V.V., Börner A. (2017) Chromosome regions associated with the activity of lipoxygenase in the genome D of *Triticum aestivum* L. under water deficit. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(1): 28–40

Pestsova E.G., Borner A., Roder M.S. (2006) Development and QTL assessment of *Triticum aestivum*–*Aegilops tauschii* introgression lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 112(4): 634–647

Rauf S., Teixeira da Silva J.A., Khan A.A., Naveed A. (2010) Consequences of plant breeding on genetic diversity. *International Journal of Plant Breeding*, 4(1): 1–21

Savchenko T., Kolla V.A., Wang C. – Q., Nasafi Z., Hicks D.R., Phadungchob B., Chehab W.E., Brandizzi F., Froehlich J., Dehesh K. (2014) Functional convergence of oxylipin and abscisic acid pathways controls stomatal closure in response to drought. *Plant Physiology*, 164(3): 1151–1160

Timmons T.M., Dunbar B.S. (1990) Protein blotting and immunodetection. *Methods in Enzymology*, 182: 679–688

Wang Z., Luo Y., Yu J., Kou X., Xie L., Deng P., Li T., Chen C., Ji W., Liu X. (2023) Genome-wide identification and characterization of lipoxygenase genes related to the English grain aphid infestation response in wheat. *Planta*, 257(5): 84

Wasternack C., Feussner I. (2018) The oxylipin pathways: biochemistry and function. *Annual Review of Plant Biology*, 69: 363–386

Xu B.-Q., Wang J.-J., Peng Y., Huang H., Sun L.-L., Yang R., Suo L.-N., Wang S.-H., Zhao W.-C. (2022) *SIMYC 2* mediates stomatal movement in response to drought stress by repressing *SICH5 1* expression. *Frontiers in Plant Science*, 13: 952758

Zimmerman D. C., Vick B. A. (1970) Hydroperoxide isomerase. A new enzyme of lipid metabolism. *Plant Physiology*, 46(3): 445–453