

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 582.951.4; 575.164; 577.21; 547.973
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2026-70-3-223-231>

Поступило в редакцию 13.05.2026
Received 13.05.2026

О. Г. Бабак, К. К. Яцевич, Е. В. Дрозд, Н. А. Мартиновская,
Н. В. Анисимова, академик А. В. Кильчевский

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА ОРТОЛОГОВ ГЕНА *ATROVIOLACEAE* ТОМАТА У ОВОЩНЫХ ПАСЛЕНОВЫХ КУЛЬТУР (РОДЫ *SOLANUM*, *CAPSICUM*) ДЛЯ РАЗРАБОТКИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ, СВЯЗАННЫХ С НАКОПЛЕНИЕМ АНТОЦИАНОВ В РАСТЕНИЯХ

Аннотация. Представлены результаты изучения полиморфизма гомологов гена *Atrorhiza* (*ATV*) *Solanum lycopersicum* у перца (род *Capsicum*) и баклажана (*S. melongena*), разработки молекулярных маркеров, связанных с накоплением антоцианов в различных частях данных культур, плоды которых наряду с томатом являются важными овощными продуктами для функционального питания. На основе секвенирования генов гомологов (*ETC3-1* и *ETC3-2* MYB-like ТФ *ETC3* у перца и *SmeATV* MYB-like ТФ у баклажана) у форм с различным накоплением антоцианов в вегетативных органах и плодах выявлены аллели, детерминирующие синтез нефункциональных аминокислотных последовательностей, связанных с повышением накопления антоцианов у перца, усилением репрессии синтеза антоцианов у баклажана. Разработаны молекулярные маркеры к аллелям генов-гомологов, позволяющие дифференцировать селекционный материал по накоплению антоцианов в плодах и вегетативных органах.

Ключевые слова: гомология генов, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Solanum melongena*, синтез антоцианов, ДНК маркеры

Для цитирования. Оценка полиморфизма ортологов гена *Atrorhiza* томата у овощных пасленовых культур (роды *Solanum*, *Capsicum*) для разработки молекулярных маркеров, связанных с накоплением антоцианов в растениях / О. Г. Бабак, К. К. Яцевич, Е. В. Дрозд [и др.] // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2026. – Т. 70, № 3. – С. 223–231. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2026-70-3-223-231>

Olga G. Babak, Konstanciya K. Yatsevich, Lizaveta V. Drozd, Nataliya A. Martinovskaya,
Natalia V. Anisimova, Academician Alexander V. Kilchevsky

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus

EVALUATION OF THE POLYMORPHISM OF *ATROVIOLACEAE* TOMATO GENE ORTHOLOGS IN NIGHTSHADE CROPS (*CAPSICUM*, *MELONGENA* GENERA) TO DEVELOP MOLECULAR MARKERS ASSOCIATED WITH ANTHOCYANIN ACCUMULATION IN PLANTS

Abstract. This paper presents study results on the polymorphism of *Atrorhiza* (*ATV*) *Solanum lycopersicum* gene orthologs in pepper (genus *Capsicum*) and eggplant (*S. melongena*), as well as the developments in molecular markers associated with anthocyanin accumulation in various parts of these crops, whose fruits, along with tomatoes, constitute important vegetable products for functional nutrition. Based on sequencing of homologous genes (*ETC3-1* and *ETC3-2* MYB-like transcription factor (TF) *ETC3* in pepper, and *SmeATV* MYB-like TF in eggplant) in accessions with varying levels of anthocyanin accumulation in vegetative organs and fruits, alleles leading to the synthesis of nonfunctional amino acid sequences have been identified; these are associated with increased anthocyanin accumulation in pepper and with enhanced repression of anthocyanin synthesis in eggplant. Molecular markers targeting these alleles of the homologous genes have been developed, enabling the discrimination of breeding material according to anthocyanin accumulation in fruits and vegetative organs, have been developed.

Keywords: gene homology, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Solanum melongena*, anthocyanin synthesis, DNA markers

For citation. Babak O. G., Yatsevich K. K., Drozd L. V., Martinovskaya N. A., Anisimova N. V., Kilchevsky A. V. Evaluation of the polymorphism of *Atrorhiza* tomato gene orthologs in nightshade crops (*Capsicum*, *Melongena* genera) to develop molecular markers associated with anthocyanin accumulation in plants. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi* = *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2026, vol. 70, no. 3, pp. 223–231 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2026-70-3-223-231>

Введение. Растущая потребность в продуктах для здорового питания обеспечивает устойчивый интерес к созданию современных сортов овощных культур с высокими антиоксидантными свойствами [1], одним из путей усиления которых является повышение содержания биологически активных веществ, в частности антоцианов в плодах и вегетативных органах. В связи с этим изучение вопросов генетической регуляции накопления данной группы пигментов, влияния взаимосвязи аллелей на процесс биосинтеза антоцианов и поиск новых способов повышения их концентрации в пищевых продуктах является актуальной задачей генетических исследований растений [2]. Важность изучения генетической регуляции накопления антоцианов в растениях также связана с участием данной группы пигментов в ответной реакции на воздействие ряда абиотических стрессов (пониженная температура, избыточная солнечная радиация) [3; 4]. Повышение концентрации антоцианов в различных частях растений способствует уменьшению их поражения грибными и бактериальными инфекциями, способствуя увеличению периода сохранности плодов [5].

Генетика биосинтеза антоцианов достаточно хорошо изучена к настоящему моменту у важнейшей овощной пасленовой культуры – томата [3; 6]. Установлена основополагающая роль транскрипционной регуляции накопления данной группы пигментов. Транскрипционная регуляция контролируется несколькими классами факторов транскрипции (TF), включая MYB TF, выполняющими роль как активаторов, так и репрессоров данного процесса [3; 7; 8].

Ген *Atroviolacea* (*ATV*), кодирующий белок R3 Myb-TF, связан с биосинтезом антоциана как в плодах томата (наряду с *Ant1*, *An2*), так и в вегетативных органах [9; 10]. Ген *ATV* кодирует белок R3-MYB, экспрессия которого подавляет выработку антоцианов у растений томата. Мутация *atv* вызывает выработку укороченной версии фактора R3-MYB, которая не может полноценно реализовывать свои функции, что приводит к более высокому накоплению антоцианов прежде всего в вегетативных органах. У форм, в генотипах которых локализованы доминантные аллели *Ant1-like*, *An2*, *An1-like*, *An2-like*, мутантный аллель *atv* усиливает накопление антоцианов и в плодах [8–11].

В ранее выполненных исследованиях выявлены полиморфизмы R2R3 Myb- и R3-MYB TF генов, связанные с различным характером биосинтеза антоцианов в плодах, разработаны молекулярные маркеры к полиморфизмам, связанным с различным характером накопления антоцианов, изучено взаимодействие аллелей в различных комбинациях на широком материале [11]. Выявлены и изучены наиболее схожие по нуклеотидному составу и функциям с геном *Ant1 S. lycopersicum* последовательности генов у *Capsicum annuum* (*Myb113-like1* и *Myb113-like2*), *Solanum melongena* (*Myb1*), установлены аллельные различия нуклеотидных последовательностей этих генов, приводящие к изменению структуры кодируемого белка и нарушению процесса биосинтеза антоцианов в плодах и вегетативных органах, разработаны молекулярные маркеры для разделения форм перца и баклажана по накоплению антоцианов в плодах [12; 13].

Целью и задачами данного этапа исследований являлись изучение полиморфизма ортологов гена *Atroviolacea* (*ATV*) томата (*Solanum lycopersicum*) у перца (род *Capsicum*) и баклажана (*S. melongena*), разработка молекулярных маркеров, позволяющих дифференцировать образцы по накоплению антоцианов в растениях, для расширения знаний по генетике накопления антоцианов и повышения эффективности селекционного процесса у изучаемых культур.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись образцы перца (виды *Capsicum frutescens* и *Capsicum annuum*) и баклажана (*Solanum melongena*) коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Изучаемые формы характеризовались широким фенотипическим разнообразием по признаку «накопление антоцианов в плодах и вегетативных органах».

Выделение ДНК проводили из молодых верхушечных листьев растений с использованием набора реактивов «Нуклеосорб» типа С (Праймтех, Беларусь) согласно протоколу производителя. Количество ДНК в образце определяли на спектрофотометре Ultrospec 3300 pro.

Биоинформатический поиск ортологов гена *Atroviolacea* (*ATV*) *Solanum lycopersicum* в геноме перца и баклажана осуществляли в программе Blast генетической базы NSBI [14]. Нуклеотидные последовательности кандидатов-ортологов гена *Atroviolacea* у образцов перца и баклажана с контрастной антоциановой окраской частей растения определяли путем секвенирования по Сэнгеру с применением набора Big Dye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно методике производителя. Компьютерную обработку данных, полученных в результате секвенирования, проводили в программе Sequencing Analysis Software v 5.2 (Applied Biosystems).

Анализ секвенированных фрагментов осуществляли с использованием программы Chromas. Полученные последовательности генов *ETC3-1*, *ETC3-2* и *SmeATV* выравнивали относительно референсных, указанных в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Список праймеров, использованных в работе

Table 1. A list of primers used in research

Ген Gene	Праймер Primer	Последовательность Sequence	Назначение Purpose
Перец (<i>Capsicum annuum</i>)			
<i>ETC3-1</i> (XM_016699926 – номер доступа в базе GeneBank)	CaETC3-1 F1/R1	F: ACTCTTGCAAAAATCAGAGCCA R: CATCAGCACTTCTTCCTGGGAT	Секвенирование
	CaETC3-1 F2/R2	F: TGGTCGGAGAGCGGTATGTA R: AGGTAGTGAGAAAATCCAGCGA	Секвенирование
	CaETC3-1 F3/R3	F: CCTCGCTGTCTTCTATTTC R: TCGATATCAAATTTTATTGTCTAAC	Секвенирование
	CaETC3-1 Pr0-F/R	F: ACTTGATCCGCCTTCTTCACA R: CTCCTGGGTGGCTCTGATT	Секвенирование
	CaETC3-1 Pr1-F/R	F: GATCACAATGTGTGGTTCGATT R: CCCAACAAGTGGTATCAAAGCC	Секвенирование
	CaETC3-1 del33-F/R	F: GTGTTRTTGTATGAGAAGGGGGT R: ACACTTTCACCAAACAAAAAGTG	SCAR-маркер
	CaETC3-1 Ins15-F/R	F: TCATCACTGCTTGTTCATGG R: GGCATTGAAACCAATTTGC	SCAR-маркер
<i>ETC3-2</i> (XM_016723933 – номер доступа в базе GeneBank)	CaETC3-2 F1/R1	F: TCATGACCAACGTGTCCTT R: GCAATTCGGTGCACTAAAGC	Секвенирование
	CaETC3-2 F2/R2	F: TCAAGCCTTGGAACAGCCT R: ATTGGCCTCAAATGCTAAAACA	Секвенирование
	CaETC3-2 F3/R3	F: TGTTTTAGCATTTGAGGCCAAT R: AGTGTGCCAAGTCGATAGGG	Секвенирование
	CaETC3-2 F4/R4	F: TTTGAGATCCCGAAAGATG R: TCTCAAACCTTTCTTTAGTAGTGT	Секвенирование
	CaETC3-2 Pr0-F/R	F: GGAAGTAGGAAGGAGCATAACCC R: ACAATGGTGAGCTAGTGAAGCA	Секвенирование
	CaETC3-2 Pr1-F/R	F: GACCACACGAACCCTTCTCC R: AGGTTTCTGATATGCCCCAGC	Секвенирование
	OGF_PagI-F/R	F: AGCTATGCTTCACTAGCTCACC R: TCACTGCCCTCTTTCGCATCT	CAPS-маркер (PagI)
	CaETC3-2 HphI-F/R	F: TGTTTTAGCATTTGAGGCCAAT R: AGCCACAATTTAAATGAGACACAA	CAPS-маркер (HphI)
Баклажан (<i>Solanum melongena</i>)			
<i>SmeATV</i> (Sme2.5_06838.1 – номер доступа в базе Solgemomics)	SmeATV-F1/R1	F: TTTTCTTGGACCACGCCACA R: TACGCGCGAATCCGAGATG	Секвенирование
	SmeATV-F2/R2	F: AGTGAACAGAGGGAGCAGGTT R: CATCAGCTCTTCTCCAGGGAT	Секвенирование
	SmeATV-F3/R3	F: CGACCCGAGTGGTTGCATTA R: GCAAGCTGCACGATTCTCTG	Секвенирование
	SmeATV-F4/R4	F: GCTAGAATATGTTTGCCGTTGGC R: TGGTACACATCCCTGTTTCCAA	Секвенирование
	SmeATV-F5/R5	F: ACGCACGAAGAAATCAAAAGGT R: TTGGTTTTGGGCTGGGCTAA	Секвенирование
	SmeATV-F6/R6	F: GGGCCTCAACAACAATTGGG R: CAAGGGTGCCTTGTCTCGAA	Секвенирование
	SmeATVPr00-F/R	F: TGTCCACCACAAAGGTCACTC R: GCTGAGACCAGTGAGGCATT	Секвенирование
	SmeATVPr01-F/R	F: GACCAGGCCTAAAGAGCTGC R: GTTAGAGTGACCTTTGTGGTGGA	Секвенирование
	SmeAtv-Ins46+2-F/R	F: TCCCTGGAAGAAGAGCTGATG R: CTTCTTTTGTTCGCTTTACTAGTCC	SCAR-маркер

На основе выявленного полиморфизма подобрали праймеры (табл. 1, SCAR-, CAPS- и dCAPS-маркеры), для дизайна которых использовали программу Primer-BLAST на сайте NSBI [14]. Для оценки эффективности разработанных праймеров проводили ДНК-типирование линейного материала и расщепляющихся поколений и сопоставление полученных результатов с фенотипическим проявлением накопления антоцианов в различных частях растений. ПЦР реакцию проводили в Термоциклере Biometra T Professional Basic. Продукты ПЦР реакции разделяли методом электрофореза в 2 %-ном агарозном геле и документировали с помощью системы Bio-Rad GelDoc2000. Размеры амплифицированных фрагментов определяли при использовании в качестве маркера молекулярного веса 50–100 bp Plus DNA ladder (Thermo Scientific). Также для оценки связи между выявленными аллелями генов *ETC3-1* и *ETC3-2* и синтезом антоцианов проводили оценку уровня экспрессии структурных генов биосинтеза антоцианов: *Chs* – ген халконсинтазы (Chalcone synthase), *Dfr* – ген дигидрофлавонол-4-редуктазы (Dihydroflavonol-4-reductase), *Ans* – ген антоцианидинсинтазы (Anthocyanidin synthase) у образцов *Capsicum frutescens*.

Выделение РНК проводили при помощи набора Universal RNA Extraction Kit (Bioneer) из листьев взрослых растений. Синтез кДНК выполняли при помощи набора Maxima First Strandc DNA Synthesis Kit for RT-qPCR (ThermoScientific) в термоциклере Biometra.

Экспрессию целевых генов у изучаемых растений анализировали с помощью метода ПЦР в реальном времени с детекцией флуоресцентного сигнала интеркалирующего красителя Eva Green после каждого цикла амплификации с использованием набора ArtMix Color (АртБиоТех, Беларусь). В качестве референсного гена использовали ген тубулина b-Tub. Анализ проводили с учетом трехкратной биологической и аналитической повторности с соблюдением отрицательного контроля.

Результаты и их обсуждение. Для выполнения поставленной цели осуществлен биоинформатический поиск в генетических базах данных GeneBank и Solgenomics ортологов гена *Atroviolacea (ATV) Solanum lycopersicum* (мРНК NM_001365378, GeneBank) в геноме перца и баклажана. У перца выявлены наиболее близкие по нуклеотидной последовательности MYB транскрипционные факторы у *Capsicum annuum* – ETC3 (мРНК XM_016699926 и мРНК XM_016723933, GeneBank). Для краткой идентификации выявленных генов мы использовали в дальнейшей работе их названия *ETC3-1* и *ETC3-2* (табл. 1). У баклажана выявлена последовательность Sme2.5_06838.1 (Solgenomics). Уровень сходства выявленных последовательностей в гомологичных участках составляет 73–87 %.

Анализ результатов секвенирования гена *ETC3-1* у образцов перца выявил существенные отличия в промоторной области относительно референса. Так, для форм ОГФ и Милашка вида *Capsicum frutescens* с высокой концентрацией антоциана в плодах и вегетативных органах характерны: делеция размером 33 п. н., вставка размером 15 п. н., однонуклеотидная вставка тимина, 24 SNP. К выявленным крупным Indel в промоторной области разработаны молекулярные SCAR-маркеры CaETC3-1del33 и CaETC3-1ins15 (табл. 1) и выполнена их успешная апробация (рис. 1). Температура отжига праймеров 58 и 57 °C соответственно для каждого маркера. Размеры продуктов ПЦР с маркером CaETC3-1del33 составили 230 и 197 п. н., с маркером CaETC3-1ins15 – 191 и 206 п. н.

Сравнительный анализ последовательностей гена *ETC3-2* показал, что для большинства сортов были характерны единичные SNP и однонуклеотидные Indel в промоторной области и одна SNP в интроне 3. При этом у сорта ОГФ с наибольшим накоплением антоцианов в плодах и вегетативных органах отмечено 18 SNP и 1 Indel в промоторной области, 23 SNP и вставка размером 29 п. н. в интронной области. Наиболее существенным отличием в структуре данного гена у сорта ОГФ оказались две однонуклеотидные делеции (del C, del T) и SNP (C/G) в первом экзоне, что привело к формированию более раннего старт-кодона, сдвигу рамки считывания и образованию раннего стоп-кодона во втором экзоне. Данные изменения структуры аллеля *ETC3-1^M* обуславливают формирование новой короткой нефункциональной белковой последовательности R3-MYB ТФ, приводящей к снятию репрессии синтеза антоцианов. К данному изменению структуры гена (del C и SNP C/G) у сорта ОГФ разработан и успешно апробирован CAPS-маркер OGF_PagI (табл. 1, рис. 2). Температура отжига праймеров для данного маркера – 60 °C. Размеры продуктов рестрикции – 345 и 284/61 п. н. у аллелей *ETC3-1* и *ETC3-1^M* соответственно.

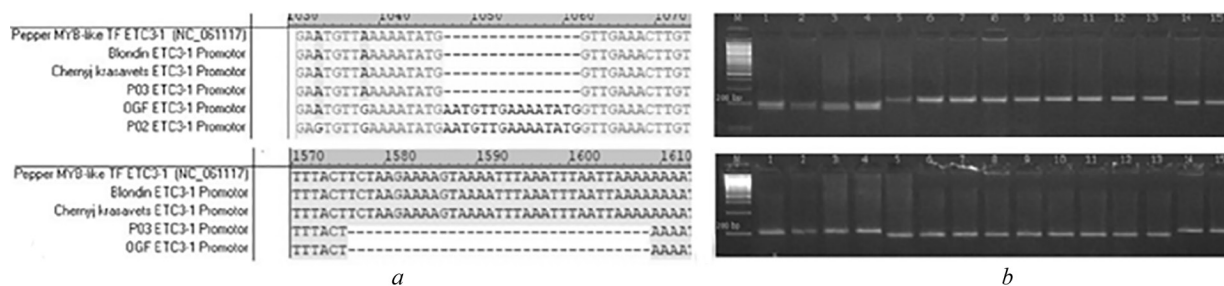


Рис. 1. Разработка ДНК-маркеров на основе полиморфизма в промоторной области гена *ETC3-1* MYB-like ТФ:

a – выравнивание участка гена *ETC3-1* MYB-like ТФ ETC3 (LOC107854931) с соответствующими последовательностями ДНК перца сортов Блондин, Черный красавец, ОГФ, Милашка (P02), Триколор (P03); *b* – электрофорез продуктов амплификации со SCAR-маркерами CaETC3-1del33 и CaETC3-1ins15 (M – маркер молекулярного веса ДНК; 1, 2 – ОГФ; 3, 4 – Милашка; 5 – Триколор (P03); 6, 7 – Шоколадная красавица; 8, 9 – Черный красавец; 10, 11 – Блондин; 12, 13 – Златозар; 14, 15 – Л160-10)

Fig 1. Development of DNA markers based on polymorphism in the promoter region of the ETC3-1 MYB-like TF gene: *a* – alignment of the gene region *ETC3-1* MYB-like TF ETC3 (LOC107854931) with corresponding DNA sequences of pepper varieties Blondin, Cherny Krasavets, OGF, Milashka (P02), Tricolor; *b* – electrophoresis of amplification products with SCAR markers CaETC3-1del33 and CaETC3-1ins15 (M – a DNA molecular weight marker; 1, 2 – OGF; 3, 4 – Milashka; 5 – Tricolor; 6, 7 – Shokoladnaya krasavica; 8, 9 – Chernyj krasavets; 10, 11 – Blondin; 12, 13 – Zlatozar; 14, 15 – L160-10)



Рис. 2. Разработка ДНК-маркера на основе полиморфизма гена *ETC3-2* MYB-like ТФ ETC3 у растений *C. frutescens*: *a* – выравнивание гена *ETC3-2* MYB-like ТФ ETC3 с соответствующими последовательностями ДНК перца сортов Блондин, Черный красавец, ОГФ, Милашка (P02), Триколор (P03); *b* – электрофорез продуктов рестрикции с OGF_PagI CAPS-маркером (M – маркер молекулярного веса ДНК; 1, 2 – ОГФ; 3 – Милашка; 4 – Триколор; 5 – Шоколадная красавица; 6 – Черный красавец; 7 – Блондин; 8 – Златозар; 9 – Л160-10)

Fig. 2. Development of DNA marker based on polymorphism of the *ETC3-2* MYB-like ETC3 TF gene in *C. frutescens* plants: *a* – alignment of the *ETC3-2* MYB-like TF ETC3 gene with corresponding DNA sequences of pepper varieties Blondin, Cherny Krasavets, OGF, Milashka (P02), Tricolor (P03); *b* – electrophoresis of restriction products with the OGF_PagI CAPS marker (M – a DNA molecular weight marker; 1, 2 – OGF; 3 – Milashka; 4 – Tricolor; 5 – Shokoladnaya krasavica; 6 – Chernyj krasavets; 7 – Blondin; 8 – Zlatozar; 9 – L160-10)

Наряду с генетическими полиморфизмами, выявленными у *C. frutescens*, у сорта Черный красавец, имеющего наибольшее накопление антоцианов в плодах среди форм вида *Capsicum annuum*, выявлен ряд полиморфизмов, отличных от остальных форм: 2 SNP в промоторной области и 1 SNP-замена во втором экзоне, а также ряд общих полиморфизмов, характерных для образца ОГФ *C. frutescens*: однонуклеотидная делеция и 4 SNP в промоторе и интронах. На основе SNP-замены (Т-А) во 2 экзоне, характерной только для сорта Черный красавец, разработан CAPS-маркер CaETC3-2_NrpI (табл. 1). Температура отжига праймеров для данного маркера – 58 °С. У сорта Черный красавец ампликон не режется рестриктазой NrpI, и при электрофоретической разгонке визуализируется продукт размером 251 п. н. При разрезании ампликона образуются два фрагмента размером 108 и 143 п. н. (рис. 3). Созданный маркер CaETC3-2_NrpI успешно апробирован на линейном материале перца и образцах расщепляющейся популяции F₂ П45 (Л45-11 × Черный красавец). Полученные результаты подтвердили эффективность работы маркера, а также связь между аллелем *ETC3-2*_{ЧК}, выявленным у сорта Черный красавец, и фенотипом – темно-фиолетовыми плодами на стадии технической спелости, высоким накоплением антоцианов в вегетативных органах.

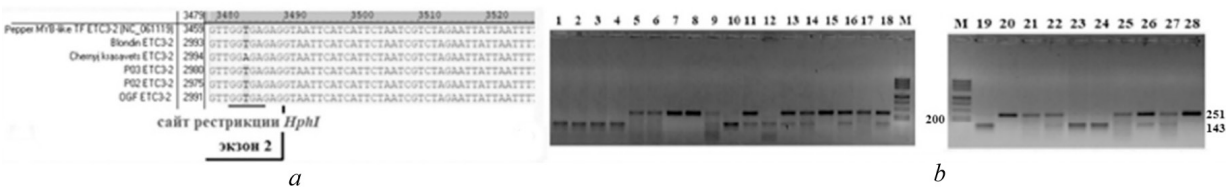


Рис. 3. Разработка ДНК-маркера на основе полиморфизма гена *ETC3-2* MYB-like ТФ ETC3 с накоплением антоцианов в растениях *C. annuum*: *a* – полиморфная область выравнивания гена *ETC3-2* MYB-like ТФ ETC3 (LOC107877244, GenBank-XM_016723933); *b* – электрофорез продуктов рестрикции с CAPS-маркером CaETC3-2_HphI на образцах перца (М – маркер молекулярного веса ДНК; 1, 2 – ОГФ; 3, 4 – Блондин; 5–8 – Черный красавец; 9–28 – гибридная популяция F₂ П45 Л45-11 × Черный красавец)

Fig. 3. Development of DNA marker based on polymorphism of the *ETC3-2* MYB-like ETC3 TF gene in *C. annuum* plants: *a* – the polymorphic region of the gene alignment ETC3-2 MYB-like TF ETC3 (LOC107877244, GenBank-XM_016723933); *b* – electrophoresis of restriction products with the CAPS marker CaETC3-2_HphI on the pepper samples (M – a DNA molecular weight marker; 1, 2 – OGF; 3, 4 – Blondin; 5–8 – Chernyj krasavec; 9–28 – hybrid population F₂ P45 L45-11 × Chernyj krasavec)

Наряду с изучением эффективности разработанных ДНК-маркеров на популяционном материале образцов *C. annuum* в 2025 г. проводилась оценка относительного уровня экспрессии структурных генов биосинтеза антоцианов *Chs*, *Dfr*, *Ans* у форм *Capsicum frutescens* с различным накоплением изучаемых пигментов в вегетативных органах и плодах (табл. 2). При оценке уровня экспрессии структурных генов учитывали аллельный состав генов ТФ ETC3 и ранее изученных генов R2R3 MYB ТФ [12; 13]. В качестве контроля выбран сорт Эврика, имеющий одинаковые с формами ОГФ и Милашка аллели генов *Myb113-like1* и *Myb113-like2*. Согласно полученным данным, у форм с мутантными аллелями наблюдался повышенный относительный уровень экспрессии (ОУЭ) всех трех изучаемых генов. Особенно значительное повышение ОУЭ у форм с выявленными мутантными аллелями (*ETC3-1^M* и *ETC3-2^M*) было по генам *Dfr* и *Ans* – более чем в 500–900 раз. Полученные результаты подтверждают усиление экспрессии структурных генов, связанных с синтезом антоцианов у форм с выявленными аллелями. Снижение уровня репрессии антоцианов в растениях при формировании нефункциональных белковых последовательностей согласуется с функциями аллелей *Atv* и *atv* у томата [9; 10].

Т а б л и ц а 2. Оценка относительного уровня экспрессии структурных генов биосинтеза антоцианов *Chs*, *Dfr*, *Ans* у форм *Capsicum frutescens*

T a b l e 2. Evaluation of the relative expression level of the anthocyanin biosynthesis structural genes *Chs*, *Dfr*, *Ans* in *Capsicum frutescens* forms

Сорт, особенности накопления антоцианов Variety, characteristics of anthocyanin accumulation	Аллели генов <i>ETC3-1</i> и <i>ETC3-2</i> Gene alleles <i>ETC3-1</i> and <i>ETC3-2</i>	Аллели генов <i>Myb113-like1</i> и <i>Myb113-like2</i> Gene alleles <i>Myb113-like1</i> and <i>Myb113-like2</i>	<i>Chs</i>	<i>Dfr</i>	<i>Ans</i>
ОГФ, максимальное накопление в плодах и вегетативных органах	<i>ETC3-1^M</i> , <i>ETC3-2^M</i>	<i>Myb113-like1</i> (TT), <i>Myb113-like2</i> (CC)	20,25	788,35	804,9
Милашка, высокое накопление в плодах и жилках листьев	<i>ETC3-1^M</i> , <i>ETC3-2</i>	<i>Myb113-like1</i> (TT), <i>Myb113-like2</i> (CC)	16,32	555,16	912,08
Жаркий сезон, отсутствие накопления в плодах и вегетативных органах	<i>ETC3-1</i> , <i>ETC3-2</i>	<i>Myb113-like1-delT</i> , <i>Myb113-like2</i> (AA)	8,93	10,87	1,55
Эврика, среднее накопление в плодах и жилках листьев	<i>ETC3-1</i> , <i>ETC3-2</i>	<i>Myb113-like1</i> (TT), <i>Myb113-like2</i> (CC)	Контроль		

Таким образом, на основании изучения связи выявленных полиморфизмов генов транскрипционного фактора ETC3 у форм рода *Capsicum* с фенотипом, а также ОУЭ структурных генов показано, что нарушение структуры ДНК (промотора гена *ETC3-1* и образование короткой последовательности гена *ETC3-2* вследствие формирования раннего стоп-кодона) приводит к блокированию функции репрессии синтеза антоцианов в растениях.

Секвенирование и анализ гена *SmeAtv* у образцов баклажана (*S. melongena*) с различным накоплением антоцианов в плодах и вегетативных органах показали, что у большинства сортов выявлено соответствие нуклеотидной структуры референсной последовательности (Sme2.5_06838.1, табл. 1). При этом у сорта Пеликан с полным отсутствием антоцианов в плодах и вегетативных органах (белая окраска плодов) в полноразмерном гене с дистальным участком промотора обнаружены 45 SNP, 5 однонуклеотидных Indel, 3 двухнуклеотидные Indel, трехнуклеотидная делеция и вставки размером 5 и 46 пар оснований. В целом у данного аллеля наблюдалось увеличение длины последовательности гена, что, предположительно, может быть связано с усилением его функциональной активности и повышением репрессии антоцианов. Для ДНК-типирования аллеля гена *SmeATV* у сорта Пеликан с нарушением синтеза антоцианов разработан и успешно апробирован SCAR-маркер *SmeAtv-Ins48* для выявления вставки размером 46 и 2 п. н. в интроне 3 (табл. 1, рис. 4). В результате ПЦР с данным маркером у образцов с диким аллелем образуется ампликон размером 245 п. н., у полиморфного варианта сорта Пеликан – 293 п. н. (рис. 4, с).

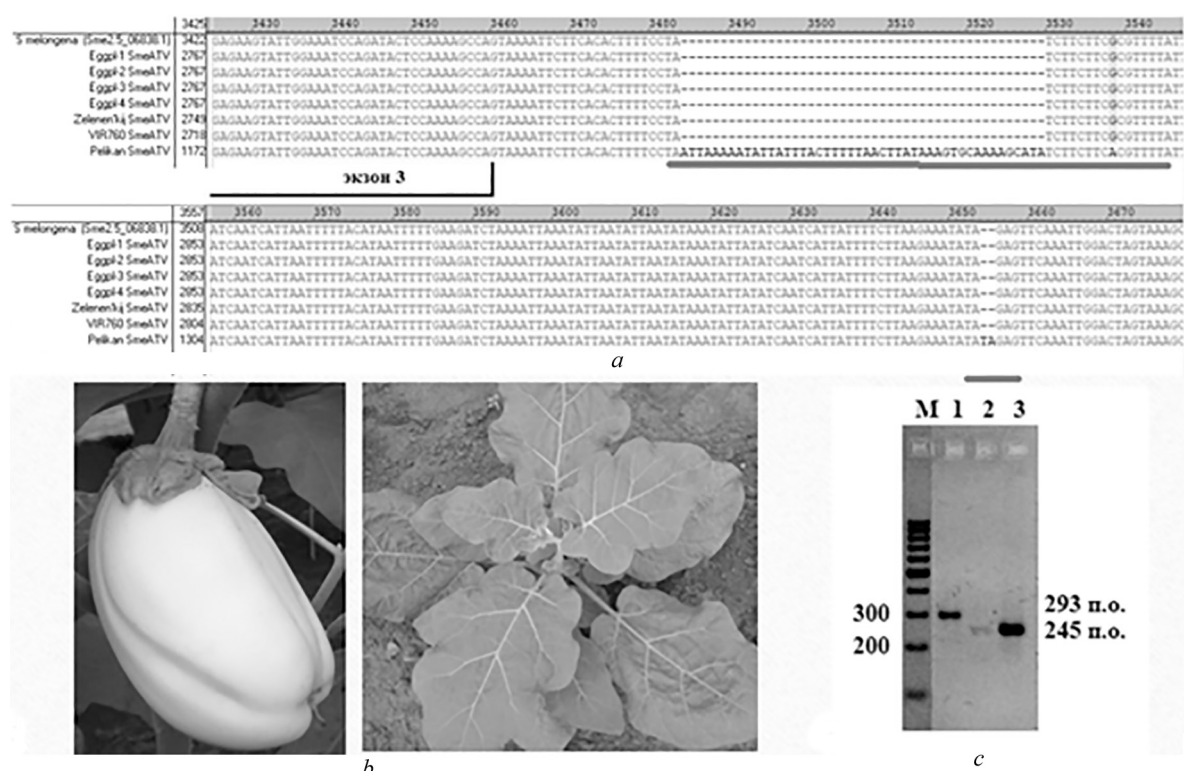


Рис. 4. Изучение связи полиморфизма гена *SmeATV* MYB-like ТФ с накоплением антоцианов в растениях баклажана: а – выравнивание гена *SmeATV* с соответствующими последовательностями ДНК сортов баклажана; б – фенотип сорта Пеликан; в – апробация SCAR-маркера *SmeAtv-Ins48*: 1 – Пеликан; 2 – Зелененький; 3 – ВИР 760

Fig. 4. Study of the polymorphic association of the *SmeATV* MYB-like TF gene and the anthocyanin accumulation in eggplant plants: a – alignment of the *SmeATV* gene with corresponding DNA sequences of eggplant varieties; b – phenotype of the Pelican variety; c – testing of the SCAR marker *SmeAtv-Ins48*: 1 – Pelican; 2 – Zelenenkiy; 3 – VIR 760

Закключение. Проведен поиск кандидатов генов-гомологов *Atroviolacea* (*ATV*) томата (*Solanum lycopersicum*) у перца (*Capsicum frutescens* и *Capsicum annuum*) – гены *ETC3-1* и *ETC3-2* MYB-like ТФ *ETC3* и у баклажана (*Solanum melongena*) – *SmeATV* MYB-like ТФ. Установлен аллельный полиморфизм, связанный с изменением функции данного гена. У представителей рода *Capsicum* выявлены аллели, приводящие к усилению накопления антоцианов в плодах и вегетативных органах *ETC3-1^M* и *ETC3-2^M* (формы ОГФ, Милашка *Capsicum frutescens*), *ETC3-2^{ЧК}* (сорт Черный красавец *Capsicum annuum*) за счет потери основной функции генов – репрессии синтеза антоцианов в растениях. У баклажана выявлен аллель *SmeATV-ins48* (сорт Пеликан), связанный с полным отсутствием антоцианов в плодах и вегетативных органах. Разработаны SCAR-маркеры

CaETC3-1del33 и CaETC3-1ins15 для выявления полиморфизма гена *ETC3-1*; CAPS-маркеры OGF_PagI и CaETC3-2_NphI для выявления полиморфизма гена *ETC3-2*, связанного с высоким накоплением антоцианов в вегетативных и генеративных органах у рода *Capsicum*, SCAR-маркер SmeAtv-Ins48 для выявления полиморфизма гена *SmeAtv*, связанного с полной блокировкой синтеза антоцианов у баклажана. Данные маркеры могут быть использованы в селекционном процессе, направленном на регуляцию накопления антоцианов в плодах и вегетативных органах.

Список использованных источников

1. Антиоксидантная активность сортов томата и перца / А. А. Лапин, Н. Ф. Тенькова, С. И. Игнатова [и др.] // Овощи России. – 2008. – № 1–2. – С. 64–66.
2. Molecular aspects of anthocyanin fruit tomato in relation to high pigment-1 / M. Sapir, M. Oren-Shamir, R. Ovadia [et al.] // Journal of Heredity. – 2008. – Vol. 99, N 3. – P. 292–303. <https://doi.org/10.1093/jhered/esm128>
3. Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in *Solanaceous* vegetables: a review / Y. Liu, Yu. Tikunov, R. E. Schouten [et al.] // Frontiers in Chemistry. – 2018. – Vol. 6. – Art. 52. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00052>
4. Accumulation of anthocyanins in tomato skin extends shelf life / L. Bassolino, Ya. Zhang, H. J. Schoonbeek [et al.] // New Phytologist. – 2013. – Vol. 200, N 3. – P. 650–655. <https://doi.org/10.1111/nph.12524>
5. Anthocyanins double the shelf life of tomatoes by delaying overripening and reducing susceptibility to gray mold / Y. Zhang, E. Butelli, R. De Stefano [et al.] // Current Biology. – 2013. – Vol. 23, N 12. – P. 1094–1100. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.072>
6. Молекулярно-генетические механизмы формирования окраски плодов и семян растений / В. Ф. Аджиева, О. Г. Бабак, О. Ю. Шоева [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 5. – С. 561–573. <https://doi.org/10.18699/VJ15.073>
7. Genome-wide identification and analysis of the MYB transcription factor superfamily in *Solanum lycopersicum* / Z. Li, R. Peng, Y. Tian [et al.] // Plant and Cell Physiology. – 2016. – Vol. 57, N 8. – P. 1657–1677. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw091>
8. Alternative splicing in the anthocyanin fruit Gene encoding an R2R3 MYB transcription factor affects anthocyanin biosynthesis in tomato fruits / S. Colanero, A. Tagliani, P. Perata, S. Gonzali // Plant Communications. – 2020. – Vol. 1, N 1. – Art. 100006. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2019.100006>
9. A putative R3 MYB repressor is the candidate gene underlying atrovioleum, a locus for anthocyanin pigmentation in tomato fruit / X. Cao, Z. Qiu, X. Wang [et al.] // Journal of Experimental Botany. – 2017. – Vol. 68, N 21–22. – P. 5745–5758. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx382>
10. Colanero, S. The atrovioleum gene encodes an R3-MYB protein repressing anthocyanin synthesis in tomato plants / S. Colanero, P. Perata, S. Gonzali // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 9. – Art. 830. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00830>
11. Разработка молекулярных маркеров накопления антоцианов в плодах и изучение особенностей взаимодействия генов *Ant1*, *An2* и *Atv* у *Solanum lycopersicum* / О. Г. Бабак, Е. В. Дрозд, Н. А. Некрашевич [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика. – Мн., 2024. – Т. 36. – С. 7–23.
12. Identification of DNA markers of anthocyanin biosynthesis disorders based on the polymorphism of *Anthocyanin 1* tomato ortholog genes in pepper and eggplant / O. Babak, T. Nikitinskaya, N. Nekrashevich [et al.] // Crop Breeding, Genetics and Genomics. – 2020. – Vol. 2, N 3. – Art. e200011. <https://doi.org/10.20900/cbgg20200011>
13. Изучение полиморфизма генов R2R3 Myb транскрипционных факторов культур семейства *Solanaceae* и гена *Myb114* рода *Brassica* в связи с регуляцией биосинтеза антоцианов / О. Г. Бабак, Н. В. Анисимова, Т. В. Никитинская [и др.] // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 4. – С. 414–424. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-414-424>
14. GenBank, 1982–2026 // National Library of Medicine. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (date of access: 14.04.2026).

References

1. Lapin A. A., Tenikova N. F., Ignatova S. I., Bukharova A. P., Bukharov A. F. Antioxidant activity in cultivar types of tomato and bell pepper. *Ovoshchi Rossii = Vegetable crops of Russia*, 2008, no. 1–2, pp. 64–66 (in Russian).
2. Sapir M., Oren-Shamir M., Ovadia R., Reuveni M., Evenor D., Tadmor Ya., Nahon S., Shlomo H., Chen L., Meir A., Levin I. Molecular aspects of anthocyanin fruit tomato in relation to high pigment-1. *Journal of Heredity*, 2008, vol. 99, no. 3, pp. 292–303. <https://doi.org/10.1093/jhered/esm128>
3. Liu Y., Tikunov Yu., Schouten R. E., Marcelis L. F. M., Visser R. G. F., Bovy A. Anthocyanin biosynthesis and degradation mechanisms in *Solanaceous* vegetables: a review. *Frontiers in Chemistry*, 2018, vol. 6, art. 52. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00052>
4. Bassolino L., Zhang Y., Schoonbeek H. J., Kiferle C., Perata P., Martin C. Accumulation of anthocyanins in tomato skin extends shelf life. *New Phytologist*, 2013, vol. 200, no. 3, pp. 650–655. <https://doi.org/10.1111/nph.12524>
5. Zhang Y., Butelli E., De Stefano R., Schoonbeek H., Magusin A., Pagliarini C., Wellner N., Hill L., Orzaez D., Granell A., Jones J. D. G., Martin C. Anthocyanins double the shelf life of tomatoes by delaying overripening and reducing susceptibility to gray mold. *Current Biology*, 2013, vol. 23, no. 12, pp. 1094–1100. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.072>

6. Adzhieva V. F., Babak O. G., Shoeva O. Y., Kilchevsky A. V., Khlestkina E. K. Molecular-genetic mechanisms underlying fruit and seed coloration in plants. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2015, vol. 19, no. 5, pp. 561–573 (in Russian). <https://doi.org/10.18699/VJ15.073>
7. Li Z., Peng R., Tian Y., Han H., Xu J., Yao Q. Genome-wide identification and analysis of the MYB transcription factor superfamily in *Solanum lycopersicum*. *Plant and Cell Physiology*, 2016, vol. 57, no. 8, pp. 1657–1677. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw091>
8. Colanero S., Tagliani A., Perata P., Gonzali S. Alternative splicing in the anthocyanin fruit gene encoding an R2R3 MYB transcription factor affects anthocyanin biosynthesis in tomato fruits. *Plant Communications*, 2020, vol. 1, no. 1, art. 100006. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2019.100006>
9. Cao X., Qiu Z., Wang X., Giang T. V., Liu X., Wang J., Wang X., Gao J., Guo Ya., Du Yo., Wang G., Huang Z. A putative R3 MYB repressor is the candidate gene underlying atrovioleaceum, a locus for anthocyanin pigmentation in tomato fruit. *Journal of Experimental Botany*, 2017, vol. 68, no. 21–22, pp. 5745–5758. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx382>
10. Colanero S., Perata P., Gonzali S. The atrovioleacea gene encodes an R3-MYB protein repressing anthocyanin synthesis in tomato plants. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, art. 830. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00830>
11. Babak O. G., Drozd E. V., Nekrashevich N. A., Anisimova N. V., Yatsevich K. K., Kilchevsky A. V. Development of molecular markers for the accumulation of anthocyanins in fruits and studying the specifics of *Ant1*, *An2* and *Atv* gene interaction in *Solanum lycopersicum*. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* [Molecular and Applied Genetics]. Minsk, 2024, vol. 36, pp. 7–23 (in Russian).
12. Babak O., Nikitinskaya T., Nekrashevich N., Yatsevich K., Kilchevsky A. Identification of DNA markers of anthocyanin biosynthesis disorders based on the polymorphism of *Anthocyanin 1* tomato ortholog genes in pepper and eggplant. *Crop Breeding, Genetics and Genomics*, 2020, vol. 2, no. 3, art. e200011. <https://doi.org/10.20900/cbagg20200011>
13. Babak O. G., Anisimova N. V., Nikitinskaya T. V., Nekrashevich N. A., Yatsevich K. K., Drozd L. V., Fateev D. A., Berensen F. A., Artemyeva A. M., Kilchevsky A. V. Investigating of the polymorphism of *Solanaceae* R2R3 Myb and *Brassica Myb114* genes of transcription factors in connection with the anthocyanin biosynthesis regulation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi* = *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 4, pp. 414–424 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-4-414-424>
14. GenBank, 1982–2026. *National Library of Medicine*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (accessed 14 April 2026).

Информация об авторах

Бабак Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. E-mail: babak_olga@mail.ru.
 Яцевич Констанция Константиновна – науч. сотрудник. E-mail: yakon-kon@yandex.ru.
 Дрозд Елизавета Валерьевна – канд. биол. наук, науч. сотрудник. E-mail: drozd.liza@bk.ru.
 Мартиновская Наталья Александровна – науч. сотрудник. E-mail: n.martinovskaya@igc.by.
 Анисимова Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. E-mail: n.anisimova@igc.by.
 Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about the authors

Babak Olga G. – Ph. D. (Biology), Assistant Professor, Leading Researcher. E-mail: babak_olga@mail.ru.
 Yatsevich Konstanciya K. – Researcher. E-mail: yakon-kon@yandex.ru.
 Drozd Lizaveta V. – Ph. D. (Biology), Researcher. E-mail: drozd.liza@bk.ru.
 Martinovskaya Natalya A. – Researcher. E-mail: n.martinovskaya@igc.by.
 Anisimova Natalia V. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. E-mail: n.anisimova@igc.by.
 Kilchevsky Alexander V. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.