Stilbene biosynthesis in callus culture of grapes of different resistance to pathogens

Sundyreva M.A., Lutsky E.O., Mishko A.E.

FSBSI NCRRIH&V, Krasnodar, Russia

E-mail: taurim2012@yandex.ru

Key message. Low gene expression of CHI and CHS and high expression of PAL and STS were detected in varieties with a high content of stilbenes. A feature of varieties with low stilbene production was a weak level of PAL gene expression.

Keywords: stilbenes, grapes, callus culture, resistance to pathogens

Grapes and its products are an important source of stilbenes having the properties of maintaining human health and longevity. Plant cell and tissue cultures have a high proliferation and metabolism rate compared to whole plants. This makes them a convenient system for the biosynthesis of valuable biologically active substances. The purpose of the work was to identify the features of the formation of stilbenes in callus cultures of various grape varieties. Gene expression of chalcone synthase (CHS), chalconisomerase (CHI), phenylalanine ammonia lyase (PAL), stilbensynthase (STS) genes was determined by real-time PCR. The content of stilbenes was determined by capillary electrophoresis. Enzyme activity and total flavonoid content were determined spectrophotometrically. Various passages and the age of the culture did not significantly affect the biosynthesis of stilbenes in callus grapes. Piceid prevailed among stilbenes. High activity of guaiacol peroxidases and polyphenol oxidase was detected in more resistant to pathogens varieties, however, the activity of enzymes did not seem to affect the number of stilbenes. Weakly producing stilbenes callus cultures were characterized by very high expression of CHS, CHI genes with low PAL expression. This confirms the possibility of competitive suppression of the synthesis of stilbenes from the side of the synthesis of chalcones in conditions of substrate deficiency. In general, a feature of the varieties with a lower formation of stilbenes in callus was a weak level of PAL gene expression. Calluses of Krasnostop AZOS and Kober 5BB grape varieties, where the number of stilbenes were higher, are characterized by high expression of PAL genes, the expression of CHI and CHS genes is lower relative to PAL in comparison with weakly producing stilbene grape varieties.

This work was supported by the RFBR and the Ministry of Education and Science of the Krasnodar Territory, grant No. 19-44-233006 r_mol_a.

Биосинтез стильбенов в каллусной культуре винограда различных по устойчивости к патогенам сортов винограда

Сундырева М.А., Луцкий Е.О., Мишко А.Е.

ФГБНУ СКФНЦСВВ, Краснодар, Россия

Аннотация. Низкая экспрессия генов CHI и CHS и высокая - PAL и STS выявлена у сортов с высоким содержанием стильбенов. Особенностью сортов с низкой выработкой стильбенов был слабый уровень экспрессии гена PAL.

Ключевые слова: стильбены, виноград, каллусная культура, устойчивость к патогенам

Виноград и продукты его переработки являются важным источником стильбенов, обладающих свойствами поддержания здоровья и долголетия человека. Культуры клеток и тканей растений обладают большой скоростью пролиферации и метаболизма по сравнению с выращиваемыми растениями, что делает их удобной системой для биосинтеза ценных биологически активных веществ. Цель работы – выявить особенности процессов образования стильбенов в каллусных культурах различных сортов винограда. Экспрессию генов халконсинтазы (CHS), халконизомеразы (CHI), фенилаланинаминлиазы (PAL), стильбенсинтазы (STS) определяли методом ПЦР в реальном времени, содержание стильбенов – методом капиллярного электрофореза, активность ферментов и общее содержание флавоноидов – спектрофотометрическим методом. Различные пассажы и возраст культуры не оказали существенного влияния на биосинтез стильбенов в каллусах винограда. Преобладающим среди стильбенов был пикеид. Более высокая активность гваяколовых пероксидаз и полифенолоксидазы была выявлена в более устойчивых к патогенам сортах, однако активность ферментов, по-видимому, не оказывала влияния на количество стильбенов. Слабопродуцирующие стильбены каллусные культуры характеризуются очень высокой экспрессией генов CHS, CHI при низкой экспрессии PAL, что подтверждает возможность конкурентного подавления синтеза стильбенов со стороны ветви синтеза халконов при дефиците субстрата. В целом особенностью сортов с более низкой выработкой стильбенов в каллусе был слабый уровень экспрессии гена PAL. Каллусы сортов винограда Краностоп АЗОС и Кобер 5ББ, где количество стильбенов было выше, отличаются высокой экспрессией генов PAL, экспрессия генов CHI, CHS ниже относительно PAL в сравнении со слабопродуцирующими стильбены сортами винограда.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Краснодарского края, грант № 19-44-233006 p_mol_a.