

- 6 Karabourniotis G., Bornman J. Penetration of UV-A, UV-B and blue light through the leaf trichome layers of two xeromorphic plants, olive and oak, measured by optical fibre microprobes // *Physiol. Plant.* 1999. Vol. 105. P. 655–661.
- 7 Liakoura V., Stavrianakou S., Liakopoulos G., Karabourniotis G., Manetas Y. Effects of UV-B radiation on *Olea europaea*: comparisons between a greenhouse and a field experiment // *Tree Physiol.* 1999. Vol. 19. P. 905–908.
- 8 Leon J., Bukovac M.J. Cuticle development and surface morphology of olive leaves with reference to penetration of foliar applied chemicals // *Am. Soc. Hortic. Sci.* 1978. Vol. 103. P. 465–472.
- 9 Richardson A., Berlyn G. Changes in foliar spectral reflectance and chlorophyll fluorescence of four temperate species following branch cutting // *Tree Physiol.* 2002. Vol. 22. P. 499–506.
- 10 Bongi G., Mencuccini M., Fontanazza G. Photosynthesis of olive leaves: effect of light flux density, leaf age, temperature, peltates and H₂O vapour pressure deficit on gas exchange // *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1987. Vol. 112. P. 143–148.
- 11 Mediavilla S., Escudero A., Heilmeyer H. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons // *Tree Physiol.* 2001. Vol. 21. P. 251–259.
- 12 Bosabalidis A.M., Kofidis G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars // *Plant Science.* 2002. Vol. 163(2). P. 375–379.
- 13 Cosmulescu S., Scriciu F., Manda M. Determination of Leaf characteristics in different medlar genotypes using the imagej program // *Hortic. Sci.* 2020. Vol. 47. P. 117–121.
- 14 Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике // *Основы и методы.* М.: Изд-во МГУ. 2004, 312 с.
- 15 Ельпителифов Е.Н. Изменение поверхности листовой пластинки хвои видов рода *Pinus* L. при влиянии факторов биотической природы // *ScienceRise: Biological Science.* 2017. Vol. 3. P. 7–11.

DOI 10.18699/GPB2024-101

Анализ структурной организации и экспрессии гена *Vrn-D1*, контролирующего тип развития у *Aegilops tauschii* Coss.

Чепурнов Г.Ю.*

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирск, Россия

*email: grigory.tchepurnov@yandex.ru

Проведено исследование 15 образцов *Aegilops tauschii* Coss. различного эколого-географического происхождения и установлен тип развития (яровой/озимый). Проведен анализ структуры гена *Vrn-D1* методами ПЦР и секвенирования по Сэнгеру. Выявлены три аллельных варианта: (i) интактный, (ii) с делецией 5437 п.н. в первом интроне и (iii) ранее не описанный аллельный вариант с делецией 3273 п.н. в первом интроне. Выявлено, что яровой тип развития растений *Ae. tauschii* может формироваться благодаря новому варианту гена *Vrn-D1*.

Ключевые слова: яровость, скороспелость, ген, *Vrn-D1*, *Aegilops tauschii*.

Analysis of the structural organization and expression of the *Vrn-D1* gene, which controls the type of development in *Aegilops tauschii* Coss.

Chepurinov G.Yu.*

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

*email: grigory.tchepurnov@yandex.ru

A study was carried out on 15 samples of Aegilops tauschii Coss. of various ecological and geographical origins and the type of development (spring/winter) has been established. The structure of the Vrn-D1 gene was analyzed using PCR and Sanger sequencing. Three allelic variants were identified: (i) intact, (ii) with a deletion of 5437 bp. in the first intron and (iii) a previously undescribed allelic variant with a 3273 bp deletion. in the first intron. It was revealed that the spring type of plant development of Ae. tauschii can be formed due to a new variant of the Vrn-D1 gene.

Key words: vernality, precocity, gene, Vrn-D1, Aegilops tauschii.

Яровизация представляет собой воздействие на растения низких температур, которые инициируют процессы формирования колоса. Этот процесс необходим для защиты флоральных меристем растений от негативного воздействия низких температур в зимний период. Тем не менее яровые растения, способные к цветению без воздействия низких температур, оказались лучше приспособлены для выращивания в континентальных районах средних широт (от 40° до 60° с.ш.) [1]. Генетический контроль реакции на яровизацию у злаковых растений обусловлен генами *Vrn*, действующими в едином каскаде, начало которого происходит благодаря экспрессии генов локуса VRN-1 в листьях [2]. Аллели генов этого локуса хорошо изучены у культивируемых сортов рода *Triticum*, в отличие от диких сородичей и доноров элементарных геномов полиплоидных пшениц. Недостаточное количество исследований сокращает доступный пул ценных аллелей, которые могли быть использованы при создании новых сортов в рамках селекционного процесса. Вид *Aegilops tauschii*, являющийся донором D генома полиплоидных пшениц, в основном содержит озимые растения, однако были обнаружены и яровые образцы с достаточно коротким вегетационным периодом [3]. Изучение генетических механизмов, лежащих в основе формирования таких фенотипов, может предоставить селекционерам и генетикам информацию, полезную для выведения сортов пшеницы, более адаптированных к конкретным условиям выращивания.

Тип развития оценивали относительно контрольных образцов. Всего из 15 образцов 11 имели яровой тип развития и 4 – озимый тип развития (см. таблицу).

У всех 15 образцов *Ae. tauschii* был проведен анализ структуры первого интрона гена *Vrn-D1*. С целью выявления интактного интрона у озимых образцов был проведен ПЦР-анализ с использованием специфических праймеров, амплифицирующих

фрагмент длиной 998 п.н. (рис. 1а). Для яровых образцов использовались специфические праймеры, разработанные в предшествующем исследовании [4]. ПЦР-продукт длиной 747 п.н., указывающий на наличие делеции 5437 п.н. в первом интроне гена *Vrn-D1* (определяющей яровой тип развития), был обнаружен во всех образцах, за исключением ярового образца К-992 (рис. 1б).

Тип развития исследуемых образцов *Ae. tauschii*

Тип развития образцов	Название образцов
Яровые (n=11)	KU-20-6 (яровой контроль), KU-2002, К-864, К-608, C21-51-43, KU-2009, C21-5144, C21-5118, C21-4030, C21-5112, К-992
Озимые (n=4)	К-1740 (озимый контроль), КТ-120-15, К-1657, C21-51-29

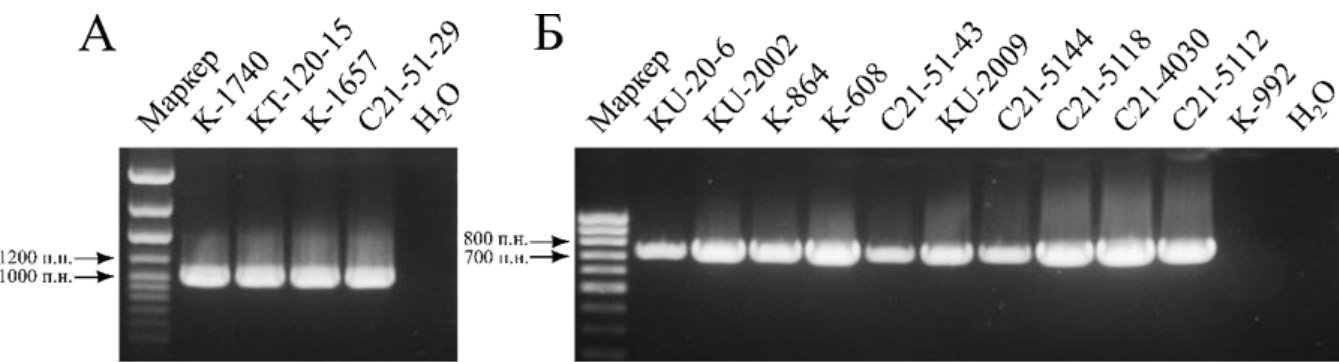


Рис. 1. А – Электрофорез продуктов ПЦР участка первого интрона гена *Vrn-D1* у озимых образцов. Б – Электрофорез продуктов ПЦР участка первого интрона гена *Vrn-D1* у яровых образцов

Поскольку образец К-992 не имел ранее описанного аллеля, мы амплифицировали всю последовательность первого интрона гена *Vrn-D1* у данного образца. Полученный ПЦР-продукт секвенировали по Сэнгеру. В результате секвенирования была установлена делеция 3273 п.н. (рис. 2).

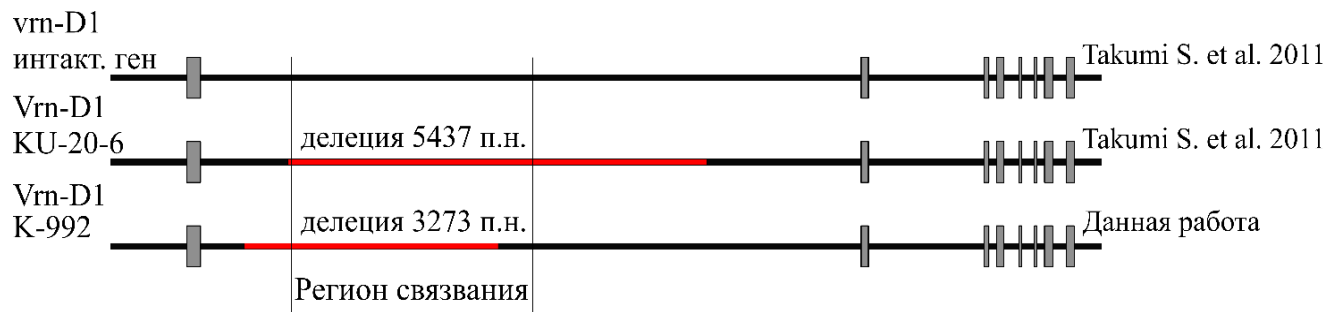


Рис. 2. Положение делеций первого интрона трех аллельных вариантов гена *Vrn-D1* у *Ae. tauschii*. Серыми прямоугольниками изображены экзоны, черными полосами интроны, красными полосами делеции. Регион связывания – последовательность, содержащая сайты связывания с белком-репрессором GRP-7, делеции в которой формируют яровой тип развития у растений пшеницы и ячменя [4]

Предположительно, положение делеции в первом интроне гена *Vrn-D1* у образца К-992 могло влиять на экспрессию этого гена в листьях. Чтобы подтвердить

это предположение, было проведено исследование относительного уровня экспрессии данного гена. Было обнаружено, что уровень экспрессии нового аллеля *Vrn-D1* у образца К-992 значительно отличался от экспрессии интактного аллеля озимого образца К-1740, начиная с 3-й недели развития и до фазы колошения (рис. 3).

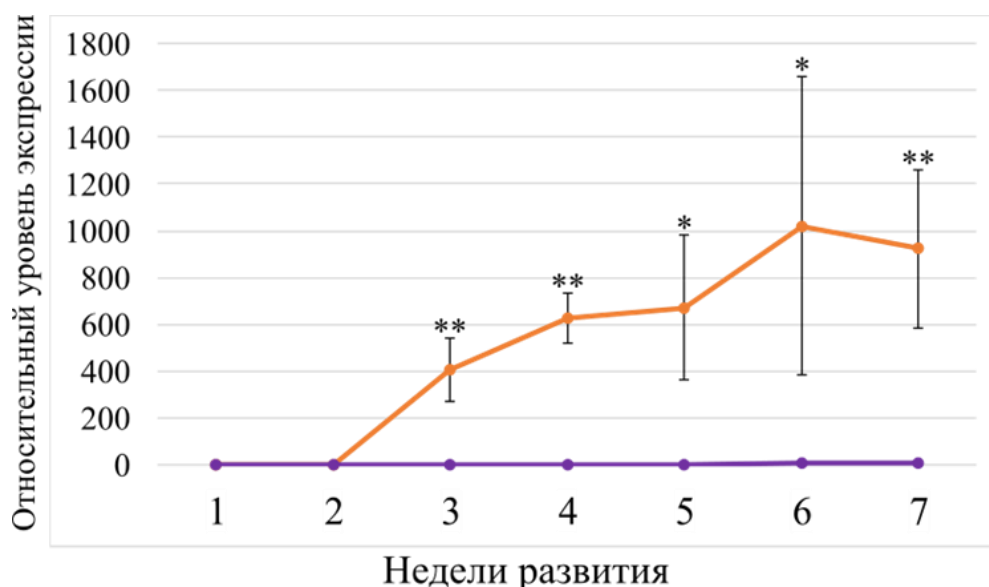


Рис. 3. Изменение относительного уровня экспрессии образцов К-992 (обозначен оранжевым) и К-1740 (обозначен фиолетовым). Данные для всех выборок выражены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$). Для проверки статистической значимости использовали t-критерий Стьюдента (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$)

Новый вариант гена *Vrn-D1*, выявленный у образца К-992, представляет интерес для понимания генетических механизмов, регулирующих продолжительность вегетационного периода злаковых растений

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 22-16-20026 и Правительства Новосибирской области.

Список литературы

- 1 Flood R.G., Halloran G.M. Genetics and Physiology of Vernalization Response in Wheat // In Advances in Agronomy. 1986. V. 39. P. 87–125.
- 2 Chen A., Dubcovsky J. Wheat TILLING Mutants Show That the Vernalization Gene *VRN1* Down-Regulates the Flowering Repressor *VRN2* in Leaves but Is Not Essential for Flowering // PLoS ONE. 2012. V. 8. P. 245–257.
- 3 Goncharov N. P. Genetic resources of wheat related species: The *Vrn* genes controlling growth habit (spring vs. winter) // Euphytica. 1998. V.100. P. 371–376.
- 4 Takumi S., Nishioka E., Morihiro H. et al. Natural variation of morphological traits in wild wheat progenitor *Aegilops tauschii* Coss. // Breed. Sci. 2009. V. 59. P. 579–588.