

МЕЖВИДОВОЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *DEP1*
И ФОРМА КОЛОСА У ПШЕНИЦ© 2019 г. В. Ю. Вавилова^{1, *}, И. Д. Конопацкая¹, А. Г. Блинов¹, Н. П. Гончаров¹¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: valeriya-vavilova@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 08.11.2018 г.

После доработки 28.11.2018 г.

Принята к публикации 05.12.2018 г.

Проведен анализ последовательностей гена *DEP1* у десяти образцов видов *Triticum macha* Desagr. et Menabde, *T. antiquorum* Neeg ex Udacz., *T. sphaerococcum* Persiv., мутантов мягкой и твердой пшениц и единичного полукompактного образца донора генома D мягкой пшеницы *Aegilops tauschii* Coss. В результате сравнения было показано, что у всех исследованных образцов пшеницы кроме образца изогенной линии мягкой пшеницы i: *Sp-M808(Vrn1)* представлено по одному аллельному варианту каждого из генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D*. Последовательности генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D*, полученные для образцов пшениц и мутантов мягкой и твердой пшениц, идентичны описанным ранее. Исключение составляют образцы *Sp-M808(Vrn1)* и *sp-M808(Vrn1)*. В изогенной линии *Sp-M808(Vrn1)* были обнаружены новые аллельные варианты: *Dep1-Aa*, *Dep1-Bb*, *Dep1-Da* и *Dep1-Db*. Новые аллели *Dep1-Ba* и *Dep1-Dc* были описаны для изогенной линии *sp-M808(Vrn1)*. Индивидуальные мутации генов *Dep1* были выявлены у отдельных образцов пшениц. Однако аллели, коррелирующие с определенной морфологией колоса у пшениц, не установлены. В уникальном образце *Ae. tauschii* KT-120-16 с полукompактным колосом был обнаружен аллель *Dep1-Dd*, отличающийся от аллеля *Dep1-D* спельтоидных образцов *Ae. tauschii* наличием делеций в 5'-UTR. Эти делеции, вероятно, оказывают влияние на экспрессию гена *Dep1-Dd* и определяют формирование компактного колоса у *Ae. tauschii* KT-120-16.

Ключевые слова: морфология колоса, ген *DEP1*, вариабельность, *Triticum*, *Aegilops*.

DOI: 10.1134/S0016675819070142

Молекулярно-генетический контроль сложного и хозяйственно важного признака “форма колоса” у пшениц рода *Triticum* L. изучен недостаточно [1–6]. Ген *DENSE AND ERECT PANICLE 1 (DEP1)*, первоначально описанный у риса *Oryza sativa* L., может быть кандидатом на роль гена, контролирующего компактную форму колоса у пшениц [7]. У риса ген *DEP1* расположен на хромосоме 9 и кодирует вторую γ -субъединицу типа AGG3 гетеротримерного G-белка [8, 9]. В исследованиях Ху и соавт. [9] было показано, что у риса ген *OsDEP1* плейотропно контролирует группу признаков, в том числе плотность метелки, число зерен в ней и формирование высокопродуктивной метелки (erect panicle). Мутантный аллель *dep1* отличается от *DEP1* делецией, которая приводит к потере цистеин-богатого домена на C-конце γ -субъединицы белка (gain-of-function mutation). Наличие аллеля *dep1* приводит к формированию особой архитектуры метелки, хорошо развитых сосудистых пучков, увеличению числа зерен на метелку и увеличению урожайности.

При изучении гена *DEP1* у ячменя *Hordeum vulgare* L. была продемонстрирована взаимосвязь между вариабельностью последовательности данного гена и морфологией колоса и урожайностью [10, 11]. Были выявлены мутации, вызывающие потерю функции (loss-of-function mutations), например у сорта Golden Promise они приводят к удлинению стебля и увеличению размера зерновок [11]. Кроме того, в 5'-нетранслируемом районе (5'-untranslated region (5'-UTR)) гена *DEP1* ячменя обнаружена дополнительная открытая рамка считывания, которая, как ожидается, может участвовать в посттранскрипционной регуляции гена [10].

В экспериментах Хуанг и соавт. [8] продемонстрировано, что у пшеницы подавление экспрессии *TaDEP1* приводит к формированию более длинного и менее компактного колоса с меньшим числом колосков. Вариабельность гена *DEP1* у пшениц была изучена для ряда ди-, тетра- и гексаплоидных пшениц и были выявлены делеции по сравнению с геном *DEP1* у ячменя, однако

корреляции между аллелями данного гена и морфологией колоса не обнаружено [7, 8].

В настоящей работе изучена варибельность 5-го экзона и нетранслируемых районов 5'-UTR и 3'-UTR генов *DEP1* для образцов *T. macha* Descarp. et Menabde, *T. antiquorum* Heer ex Udacz., *T. sphaerococcum* Perciv., *Aegilops tauschii* Coss. (=syn. *Ae. squarrosa* L.), а также для двух изогенных линий мягкой пшеницы и трех мутантных линий мягкой и твердой пшениц (табл. 1). Изогенная линия мягкой пшеницы с геном *cp* Мирановская 808 (*Vrn1*) (i: *cp*-M808(*Vrn1*)) является сестринской линией изогенной линии *Sp*-M808(*Vrn1*) [12]. Характеристика других изогенных и мутантных линий, проанализированных в настоящем исследовании, дана в публикации Косуге с соавт. [13]. Для каждого из 10 изученных образцов гексаплоидных пшениц и одного образца эгилопса Тауша, характеризуемого полукompактной формой колоса [14], при стандартных световом и температурном режимах в условиях тепличного комплекса было выращено по 10 растений. После созревания для всех растений визуально был определен основной признак морфологии колоса – форма (нормальная, компактная, компактоидная, спельтоидная, полукompактная). Результаты представлены в табл. 1.

Из листьев выращенных растений была выделена тотальная ДНК с помощью коммерческого набора реагентов (DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)). В настоящем исследовании с использованием специфических праймеров *Dep1*-MF 5'-CAGATCGAAACTGTGCATAT-3' и *Dep1*-MR 5'-TACTAGAGCTACTTCACTCC-3' [7] для исследуемых образцов был амплифицирован фрагмент, охватывающий 5-й экзон и 3'-UTR генов *DEP1*. Продукты амплификации ПЦП ожидаемого размера получены для всех исследуемых образцов, клонированы (pGEM-T Easy kit (Promega)), амплифицированы с помощью стандартной пары праймеров (M13F: 5'-GTTTTCCAGTCACGAC-3', M13R: 5'-AGCGGATAACAATTTCACACAGGA-3') и секвенированы с использованием ЦКП “Геномика” СО РАН (<http://sequest.niboch.nsc.ru/>). Нуклеотидные последовательности 5-го экзона и 3'-UTR генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D* были размещены в базе данных GenBank NCBI под номерами: МК166804–МК166832. Для нуклеотидных последовательностей получены предполагаемые аминокислотные последовательности в программе ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>).

Сравнение полученных последовательностей 5-го экзона и 3'-UTR генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D* с последовательностями данных генов, представленными в базе данных GenBank, проводилось с использованием программ MAFFT

v7.397 [15] и AliView 1.18.1 [16]. В результате сравнения было показано, что у всех исследованных образцов пшеницы, кроме образца изогенной линии мягкой пшеницы i: *Sp*-M808(*Vrn1*), представлено по одному аллельному варианту каждого из генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D* (табл. 1; рис. 1,а). Полученные последовательности генов *Dep1-A* идентичны описанным ранее последовательностям А-геномной копии данного гена. Исключение составляет последовательность образца i: *Sp*-M808 (*Vrn1*). В 5-м экзоне гена *Dep1-Aa* данного образца обнаружена нуклеотидная замена, которая приводит к аминокислотной замене Вал → Мет (ам. позиция 283) (рис. 1,а).

Отличия между новыми и описанными ранее последовательностями гена *Dep1-B* были выявлены только для образцов изогенных линий *Sp*-M808(*Vrn1*) и *cp*-M808(*Vrn1*). Для образца *cp*-M808(*Vrn1*) характерна однонуклеотидная замена, приводящая к аминокислотной замене Цис → Арг в 139-й ам. позиции (*Dep1-Ba*). В образце *Sp*-M808(*Vrn1*) отсутствует делеция длиной 30 пн в 5-м экзоне, характерная для описанного ранее аллеля *Dep1-B*, а последовательность “встройки” имеет гомологию 93.3% с аналогичным районом генов *Dep1-A* и *Dep1-D* (обозначен *Dep1-Bb*) (рис. 1,а). Повидимому, новый аллель *Dep1-Bb* является результатом кроссинговера между хромосомами А и В.

Для изогенной линии *Sp*-M808(*Vrn1*) выявлены два аллельных варианта гена *Dep1-D* (обозначены как *Dep1-Da* и *Dep1-Db*). В случае аллеля *Dep1-Da* последовательность 5-го экзона была идентична ранее описанному D-геномному варианту, однако последовательность 3'-UTR частично гомологична аналогичному району гена *Dep1-A* (рис. 1,а). *Dep1-Db* отличается от аллеля *Dep1-D*, описанного ранее, двумя нуклеотидными заменами, которые приводят к двум аминокислотным заменам (Мет → Арг и Лей → Фен в 118-й и 120-й ам. позиции соответственно). Таким образом, данный участок 5-го экзона *Dep1-Db* идентичен *Dep1-A* и *Dep1-B* (рис. 1,а). Последовательность 5-го экзона *Dep1-D* сестринской изогенной линии *cp*-M808(*Vrn1*) с 1 по 379 пн идентична *Dep1-A*, а последовательность 5-го экзона с 380 по 632 пн и 3'-UTR длиной 173 пн идентичны аллелю *Dep1-D*, описанному для гексаплоидных видов пшениц (аллель *Dep1-Dc*) (рис. 1,б). Новые аллельные варианты гена *Dep1-D*, выявленные в настоящей работе, также, по-видимому, образовались в результате кроссинговера. Последовательности 5-го экзона и 3'-UTR *Dep1-D* для других восьми образцов пшениц и образца *Ae. tauschii* идентичны ранее описанному варианту *Dep1-D*.

Последовательности 5'-UTR генов *DEP1* для образцов пшениц и полукompактного образца

Таблица 1. Характеристика образцов, использованных для изучения генов *DEP1*

Номер по каталогу	Название вида	Генетический банк	Место сбора	Форма колоса	5'-UTR генов <i>DEP1</i> в GenBank	5-й экзон и 3'-UTR генов <i>DEP1</i> в GenBank
К-31689	<i>T. tacha</i> Descarg. et Menabde	ВИР	Грузия	Компактная	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>
К-28195	<i>T. tacha</i> Descarg. et Menabde	»	»	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>
К-58671	<i>T. tacha</i> Descarg. et Menabde	»	»	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>
К-56397	<i>T. antiquorum</i> Heeg ex Udacz.	»	Таджикистан	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>
К-13173	<i>T. sphaerococcum</i> Perciv.	»	Индия	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>
i: <i>cp-M808(Vrn I)</i>	Изогенная линия мягкой пшеницы	»	Россия	Нормальная	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-Ba</i> <i>Dep I-Dc</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-Ba</i> <i>Dep I-Dc</i>
i: <i>Sp-M808(Vrn I)</i>	Изогенная линия мягкой пшеницы	»	»	Компактная	<i>Dep I-Aa</i> <i>Dep I-Bb</i> <i>Dep I-Da</i> <i>Dep I-Db</i>	<i>Dep I-Aa</i> <i>Dep I-Bb</i> <i>Dep I-Da</i> <i>Dep I-Db</i>
МСК 2617	Мутант мягкой пшеницы сорта Скала	АлгНИИСХ	»	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i> <i>Dep I-D</i>
св. МА 17648	Мутант линии твердой пшеницы	»	»	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i>
МСК 739	Мутант линии твердой пшеницы	»	»	»	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i>	<i>Dep I-A</i> <i>Dep I-B</i>
КТ-120-16	<i>Ae. tauschii</i> Coss.	КІВР, Япония	Китай	Полукомпактная	<i>Dep I-Dd</i>	<i>Dep I-Dd</i>

<i>T. urartu</i> (GQ324995)	94	99	116	118	120	126	129	134	139	143	146	156	170	174
<i>T. monococcum</i> (MF979621–MF979624)	R S K L C V C	R P S C L D	C E P N S C C S P N C	R S C F K I P S C	---	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>T. aestivum</i> (FAOM01 374184)	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N R S C S P N C	C S C S C F K I P S C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>T. durum</i> (MF979625–MF979626)	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>Dep1-A*</i>	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>T. compactum</i> , <i>T. spelta</i> (MF979627–MF979628)	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn I) DEPI-Aa</i>	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>T. aestivum</i> (E1039902)	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>T. aestivum</i> (CCYC011397742)	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C
<i>Dep1-B**</i>	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn D) DEPI-Ba</i>	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn D) DEPI-Bb</i>	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>Dep1-D***</i> , <i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn D) Dep1-Da</i>	R S K L C I C	R P M C L D	C K P N S C C S P N C	C S C F K I P S C K P S C G C F E C	---	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>Ae. tauschii</i> (MTCGU01048243)	R S K L C I C	R P M C L D	C K P N S C C S P N C	C S C F K I P S C K P S C G C F E C	---	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>Ae. tauschii</i> KT-120-16 <i>Dep1-Dd</i>	R S K L C I C	R P M C L D	C K P N S C C S P N C	C S C F K I P S C K P S C G C F E C	---	---	---	---	---	---	---	---	S S G C N P C	S S G C N P C
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn I) Dep1-Dc</i>	R S K L C I C	R P R C F D	C E P N S C C S P N C	C S C S C F K I P P C	C K P S C G C F D C C S C S C	---	---	---	---	---	---	---	S G G C N P C	S G G C N P C

<i>T. urartu</i> (GQ324995)	187	194	201	206	210	220	222	227	234	263	271	283	306
<i>T. monococcum</i> (MF979621–MF979624)	S I G G C C G D C K P S C S C G E Q C Q	---	---	---	---	G G	---	---	---	C S S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> (FAOM01 374184)	S I G G C C G D C K P S C S C G E Q C Q	C S C A G C	---	---	---	G G L S C F K L P K C S C A R C	---	---	---	C G G S C L S C A K	---	---	C X
<i>T. durum</i> (MF979625–MF979626)	S I G G C C G D C K P S C S C G E Q C Q	C S C A G C	---	---	---	G G L S C F K L P K C S C A R C	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>Dep1-A*</i>	S I G G C C G D C K P S C S C G E Q C Q	C S C A G C	---	---	---	G G L S C F K L P K C S C A R C	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. compactum</i> , <i>T. spelta</i> (MF979627–MF979628)	S I G G C C G D C K P S C S C G E Q C Q	C S C A G C	---	---	---	G G L S C F K L P K C S C A R C	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn I)</i>	S I G G C C G D C K P S C S C G E Q C Q	C S C A G C	---	---	---	G G L S C F K L P K C S C A R C	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> (E1039902)	S I G G C C G D S R P S C S C G E Q C	---	---	---	---	G G L S C F K L P K C S C A R C	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> (CCYC011397742)	S I G G G	---	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>Dep1-B**</i>	S I G G G	---	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn I)</i>	S I G G G	---	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> (FAOM01 1435944)	S I G G G C C G D S R P S C S C G E Q C	C S C A G C	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>Dep1-D***</i> , <i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn D) Dep1-Da</i>	S I G G G C C G D C K P S C S C G E Q C	C S C A G C	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>Ae. tauschii</i> (MTCGU01048243)	S I G G G C C G D C K P S C S C G E Q C	C S C A G C	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>Ae. tauschii</i> KT-120-16 <i>Dep1-Dd</i>	S I G G G C C G D C K P S C S C G E Q C	C S C A G C	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X
<i>T. aestivum</i> i: <i>cp-M808(Vrn I) Dep1-Dc</i>	S I G G G C C G D C K P S C S C G E Q C	C S C A G C	---	---	---	G G	---	---	---	C S G S C L S C P K	---	---	C X

<i>Dep1-A, Dep1-Aa</i>	1	3	16	73	82	84	93	129	176	178
<i>Dep1-B, Dep1-Ba, Dep1-Bb</i>	G T T	---	G T T T A A G C C T T	T T C	---	---	---	G A T T G A C A T A T G G T G G G T G T T T C T C A	---	C A T G T A G A
<i>Dep1-Da</i>	A C T	---	G T T A A G C C T T	T T C	---	---	---	C T T G A C G T A T G G T G G T T C A C A	---	T G T A A A
<i>Dep1-D*, Dep1-Db</i>	A T T	---	G T T A A G C C C G T	T T C	---	---	---	G A T T G A C A T A T G G T G G T T C A	---	C A T G T A A A
<i>Ae. tauschii Dep1-Dd</i>	A T T	---	G T T T A A G C C C G T	T T C	---	---	---	C T T G A C A T A C G G T G G T G T T C A C A T G T A T G T A A A	---	G T A

Рис. 1. Варибельность последовательностей 5-го экзона генов *DEP1* у пшениц и эгилопов (*a*). Варибельность последовательностей 3'-UTR генов *DEP1* у пшениц и эгилопов (*b*). * – образцы *T. macha* (K-31689, K-28195 и K-58671), *T. antiqum* K-56397, *T. sphaerosomum* K-13173, *T. aestivum* i: *cp-M808(Vrn I)*, мутанты *T. durum* MA 17648 и МСК 739; ** – образцы *T. macha* (K-31689, K-28195 и K-58671), *T. antiqum* K-56397, *T. sphaerosomum* K-13173, мутант сорта мягкой пшеницы Скала МСК 2617, мутанты *T. durum* MA 17648 и МСК 739; *** – образцы *T. macha* (K-31689, K-28195 и K-58671), *T. antiqum* K-56397, *T. sphaerosomum* K-13173. Аминоислотные и нуклеотидные позиции указаны в соответствии с последовательностью *T. monosomum* (MF979621). Полуожирным шрифтом выделены образцы, проанализированные в настоящей работе. Градацией серого цвета обозначены последовательности генов *Dep1-A, Dep1-B* и *Dep1-D*.

Таблица 2. Вариабельность 5'-UTR генов *DEP1* у пшениц и эгилопсов

Образцы (номер в базе данных GenBank)	Номер нуклеотидной позиции 5'-UTR генов до старт-кодона гена <i>DEP1</i> относительно последовательности <i>T. aestivum</i> (FAOM01435944)										
	-674	-578	-431	-415...-411	-398	-384	-350	-280...-276	-227...-222	-181...-174	-7
<i>T. aestivum</i> (FAOM01435944), <i>T. macha</i> (3 образца), <i>T. antiquorum</i> , <i>T. sphegococcum</i>	T	G	A	TCACC	T	TCTC	T	TТАСТ	GCCCCC	ACGCACGC	G
Изотенные линии мягкой пшеницы i: <i>Ср-М808(Vrn1)</i> , <i>Ср-М808(Vrn1)</i>	T	G	A	TCACC	A	TCTC	T	TТАСТ	GCCCCC	ACGCACGC	G
<i>T. comtractum</i> (MF979629)	T	G	G	TCACC	T	TCTC	C	TТАСТ	GCCCCC	ACGCACGC	A
<i>T. spelta</i> (MF979630)	T	G	A	TCACC	T	TCTC	T	TТАСТ	GCCCCC	ACGCACGC	G
<i>Ae. tauschii</i> cv. AL8/78 (MCGU01048243)	T	G	A	TCACC	T	TCTC	T	TТАСТ	-----	ACGCACGC	G
<i>Ae. tauschii</i> KT-120-16	G	A	A	-----	T	-----	T	-----	-----	-----	G

Примечание. Полуужирным шрифтом обозначены образцы, проанализированные в настоящей работе.

Ae. tauschii были получены с использованием подходов, описанных выше для 5-го экзона *DEP1*. ПЦР-амплификацию фрагментов с геномной ДНК проводили с помощью специфических пар праймеров: Dep1-LF 5'-GCCGTGCGTGCAATCAAT-3' и Dep1-LR 5'-ACCTTGAGGAACGTGAGCT-3' (*Dep1-A*, *Dep1-D*) [7], Dep1-L2F 5'-GТАCTGCTAGTACGTGATGGC-3' и Dep1-LR 5'-ACCTTGAGGAACGTGAGCT-3' (*Dep1-B*). Нуклеотидные последовательности 5'-UTR генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D* были размещены в базе данных GenBank NCBI под номерами MK166833–MK166861.

Сравнительный анализ последовательностей 5'-UTR, выявленных в образцах пшеницы и представленных в базе данных GenBank, показал отсутствие новых аллельных вариантов (табл. 2). При проведении сравнения последовательностей 5'-UTR гена *Dep1-D* у образцов *Ae. tauschii* KT-120-16 (генотип обозначен *Dep1-Dd*) и *Ae. tauschii* cv. AL8/78 (MCGU01048243) были выявлены четыре делеции длиной 4, 5, 5 и 8 пн (табл. 2).

В рамках настоящего исследования были обнаружены новые аллельные варианты генов *Dep1-A*, *Dep1-B* и *Dep1-D* (рис. 1, табл. 2). В отличие от ячменя, для которого описаны lose-of-function мутации, у пшениц и эгилопсов не выявлены мутации, приводящие к потере функции гена. При сравнении образца с компактной формой колоса i: *Sp-M808(Vrn1)* с образцом с нормальной формой колоса i: *sp-M808(Vrn1)* выявлены различия в нуклеотидных последовательностях 5-го экзона и 3'-UTR, приводящие к аминокислотным заменам в белке Dep1 (рис. 1). Данные различия могут быть связаны с формированием компактной формы колоса у изогенной линии *Sp-M808(Vrn1)*. Однако аллельные варианты генов *DEP1*, выявленные у образца *Sp-M808(Vrn1)*, не были обнаружены у других исследованных образцов с компактной формой колоса. Таким образом, для генов *DEP1* выявлены индивидуальные мутации в отдельных образцах пшениц, однако аллели, коррелирующие с определенной морфологией колоса у пшениц, не обнаружены. Поскольку ранее было показано, что подавление экспрессии *DEP1* у *T. aestivum* приводит к изменению формы колоса [8], участие гена *DEP1* в контроле формирования данного признака у пшениц не вызывает сомнений. Однако результаты настоящего исследования и результаты Вавиловой и соавт. [7] показывают, что влияние гена *DEP1* на форму колоса не связано с вариативностью последовательности данного гена. Для уникального образца *Ae. tauschii* KT-120-16 с полукомпактным колосом был выявлен аллель *Dep1-Dd*, отличающийся от аллеля *Dep1-D* спельтоидных образцов *Ae. tauschii* наличием делеций в 5'-UTR. Эти делеции могут оказывать влияние на экспрессию гена *Dep1-Dd* и определять формиро-

вание компактного колоса. Для подтверждения данной гипотезы требуется проведение дополнительных исследований экспрессии аллелей *Dep1-D* у эгилопсов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-16-10021).

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Simons K.J., Fellers J.P., Trick H.N. et al. Molecular characterization of the major wheat domestication gene *Q* // Genetics. 2006. V. 172. № 1. P. 547–555. doi 10.1534/genetics.105.044727
2. Zhang Z., Belcram H., Gornicki P. et al. Duplication and partitioning in evolution and function of homoeologous *Q* loci governing domestication characters in polyploid wheat // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. № 46. P. 18737–18742. doi 10.1073/pnas.1110552108
3. Rao M.V.P. Mapping of the compactum gene *C* on chromosome 2D of wheat // Wheat Inf. Serv. 1972. V. 35. P. 9.
4. Johnson E.B., Nalam V.J., Zemetra R.S. et al. Mapping the compactum locus in wheat (*Triticum aestivum* L.) and its relationship to other spike morphology genes of the Triticeae // Euphytica. 2008. V. 163. № 2. P. 193–201. doi 10.1007/s10681-007-9628-7
5. Гончаров Н.П., Гайдаленок Р.Ф. Локализация генов, контролирующих округлую форму зерновок и компактную форму колоса у *Triticum antiquorum* Heer ex Udacz // Генетика. 2005. Т. 41. № 11. С. 1531–1537.
6. Гончаров Н.П. Сравнительно-генетическое изучение тетраплоидных форм мягкой пшеницы без генома D // Генетика. 1997. Т. 33. № 5. С. 660–663.
7. Vavilova V., Konopatskaia I., Kuznetsova A.E. et al. *DEP1* gene in wheat species with normal, compactoid and compact spikes // BMC Genet. 2017. V. 18. Suppl. 1. P. 106. doi 10.1186/s12863-017-0583-6
8. Huang X., Qian Q., Liu Z. et al. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice // Nat. Genet. 2009. V. 41. № 4. P. 494–497. doi 10.1038/ng.352
9. Xu H., Zhao M., Zhang Q. et al. The *DENSE AND ERECT PANICLE 1 (DEP1)* gene offering the potential in the breeding of high-yielding rice // Breed. Sci. 2016. V. 66. P. 659–667. doi 10.1270/jsbbs.16120
10. Bélanger S., Gauthier M., Jean M. et al. Genomic characterization of the *Hordeum vulgare DEP1 (HvDEP1)* gene and its diversity in a collection of barley accessions // Euphytica. 2014. V. 1. P. 29–41. doi 10.1007/s10681-014-1089-1
11. Wendt T., Holme I., Dockter C. et al. *HvDep1* is a positive regulator of culm elongation and grain size in barley and impacts yield in an environment-dependent man-

- ner // PLoS One. 2016. V. 11. № 12. P. 1–21. doi 10.1371/journal.pone.0168924
12. Митрофанова О.П. Наследование и характер действия индуцированной мутации *Cp* (*Compact Plant*) мягкой пшеницы // Генетика. 1997. Т. 33. № 4. P. 482–488.
 13. Kosuge K., Watanabe N., Melnik V.M. et al. New sources of compact spike morphology determined by the genes on chromosome 5A in hexaploid wheat // Genet. Resour. Crop Evol. 2012. V. 59. № 6. P. 1115–1124. doi 10.1007/s10722-011-9747-9
 14. Goncharov N.P., Kondratenko E.Y., Kawahara T. Inheritance of dense spike in diploid wheat and *Aegilops squarrosa* // Hereditas. 2002. V. 137. № 2. P. 96–100.
 15. Katoh K., Standley D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. № 4. P. 772–780. doi 10.1093/molbev/mst010
 16. Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets // Bioinformatics. 2014. V. 30. № 22. P. 3276–3278. doi 10.1093/bioinformatics/btu531

Interspecific Polymorphism of *DEP1* Genes and the Spike Shape in Wheats

V. Yu. Vavilova^{a,*}, I. D. Konopatskaia^a, A. G. Blinov^a, and N. P. Goncharov^a

^aFederal Research Center Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

*e-mail: valeriyavavilova@bionet.nsc.ru

In the present study we performed the analysis of *DEP1* gene sequences in 10 accessions of *Triticum macha* Decapr. et Menabde, *T. antiquorum* Heer ex Udacz., *T. sphaerococcum* Perciv., mutants of common and bread wheat and one semicompactoid accession of the D genome donor for common wheat *Aegilops tauschii* Coss. The comparative analysis showed that all studied accessions, except for the near isogenic line *Cp*-M808(*Vrn1*), possess one allelic variant of each of the *Dep1-A*, *Dep1-B* and *Dep1-D* genes. The sequences of the *Dep1-A*, *Dep1-B* and *Dep1-D* obtained for the wheat accessions and mutants of common and bread wheat are identical to the previously described alleles. Near isogenic lines *Cp*-M808(*Vrn1*) and *cp*-M808(*Vrn1*) represent the exceptions. We described four new allelic variants for the i: *Cp*-M808(*Vrn1*) (*Dep1-Aa*, *Dep1-Bb*, *Dep1-Da* and *Dep1-Db*) and two new alleles for i: *cp*-M808(*Vrn1*) (*Dep1-Ba* and *Dep1-Dc*). Thus, sample-specific mutations were detected in *DEP1* genes of studied wheat accessions, however, alleles that correlate with a specific spike morphology in wheat were not detected. A new *Dep1-Dd* allele was identified for a unique semicompactoid accession of *Ae. tauschii* KT-120-16. This allele differs from the *Dep1-D* allele of spelt accessions of *Ae. tauschii* by the presence of several deletions in 5'-UTR. These deletions could affect the expression of the *Dep1-Dd* gene and thus determine the formation of a compact spike in *Ae. tauschii* KT-120-16.

Keywords: spike morphology, *DEP1* gene, variability, *Triticum*, *Aegilops*.