

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 577.218:575.167

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-3-194-203>

Поступила в редакцию 10.09.2025

Received 10.09.2025

А. Н. Заинчковская, Е. А. Фомина, О. Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ОТДЕЛЬНЫХ *CBF*-ГЕНОВ У СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В МОДЕЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ

Аннотация. Проведено исследование уровня экспрессии генов *CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19*, *CBF21* методом ПЦР в режиме реального времени в условиях моделирования холодного стресса у сортов озимой пшеницы Иркутская, Гирлянда и Кубус, обладающих различным уровнем морозостойкости. Показано, что ген *CBF3* не экспрессируется при температуре +4 °С. Уровень его экспрессии возрастает по мере снижения температуры до –4 °С и достигает максимума у сорта Гирлянда, превышая значения в контроле в 407 и 363 раза через 2 и 24 ч соответственно. Для гена *CBF15.2* выявлено 2 основных пика экспрессии у всех исследуемых сортов через 2 ч после снижения температуры до –2 °С и через 2 ч после снижения температуры до –4 °С. Профиль экспрессии гена *CBF19* характеризуется самой выраженной реакцией на воздействие холодного стресса у исследуемых сортов при снижении температуры до +4 °С, а также через 24 ч при ее снижении до –2 °С у сортов Иркутская и Кубус. Наибольшее увеличение уровня экспрессии гена *CBF21* (в 45 раз) выявлено для сорта Гирлянда через 24 ч после снижения температуры до –2 °С. Результаты показывают, что уровень экспрессии генов увеличивается как на начальных (гены *CBF19* и *CBF21*), так и на промежуточных (гены *CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19* и *CBF21*) и конечных этапах (гены *CBF3* и *CBF15.2*) моделирования холодного стресса. Он зависит от генотипа и в целом больше у зимостойкого сорта Гирлянда. Результаты могут быть использованы для оценки потенциала устойчивости образцов пшеницы к холодному воздействию.

Ключевые слова: озимая пшеница, холодный стресс, морозоустойчивость, транскрипционные факторы, *CBF*-гены

Для цитирования: Заинчковская, А. Н. Влияние холодного стресса на уровень экспрессии отдельных *CBF*-генов у сортов озимой пшеницы в моделируемых условиях / А. Н. Заинчковская, Е. А. Фомина, О. Ю. Урбанович // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сэрыя біялагічных навук. – 2026. – Т. 71, № 3. – С. 194–203. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-3-194-203>

Anna N. Zainchkovskaya, Elena A. Fomina, Oksana Yu. Urbanovich

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

THE EFFECT OF COLD STRESS ON THE EXPRESSION LEVEL OF INDIVIDUAL *CBF* GENES IN WINTER WHEAT VARIETIES UNDER SIMULATED CONDITIONS

Abstract. The expression levels of the *CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19*, and *CBF21* genes were studied using real-time PCR under simulated cold stress conditions in winter wheat varieties Irkutskaya, Girlyanda, and Cubus, which exhibit different levels of frost resistance. It was shown that the *CBF3* gene is not expressed at +4 °C. Its expression level increases as the temperature decreases to –4 °C and reaches a maximum in the Girlyanda variety, exceeding the control values by 407.24 and 363.13 times after 2 and 24 hours, respectively. Two main expression peaks were revealed for the *CBF15.2* gene in all studied varieties: at 2 hours after temperature decrease to –2 °C and –4 °C, respectively. The *CBF19* gene expression profile was characterized by the most pronounced response to cold stress in the studied varieties when the temperature decreased to +4 °C, and 24 hours later when it decreased to –2 °C in the Irkutskaya and Cubus varieties. The greatest increase in the *CBF21* gene expression level (44.61 times) was revealed for the Girlyanda variety 24 hours after the temperature decreased to –2 °C. The results show that the gene expression level increased at both the initial (*CBF19* and *CBF21* genes), intermediate (*CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19* and *CBF21* genes) and final stages (*CBF3* and *CBF15.2* genes) of cold stress modeling. It depends on the genotype and is generally higher in the winter-hardy Girlyanda variety. The results can be used to assess the potential of wheat accessions to tolerate cold stress.

Keywords: winter wheat, cold stress, frost resistance, transcription factors, *CBF* genes

For citation: Zainchkovskaya A. N., Fomina E. A., Urbanovich O. Yu. The effect of cold stress on the expression level of individual *CBF* genes in winter wheat varieties under simulated conditions. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2026, vol. 71, no. 3, pp. 194–203 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2026-71-3-194-203>

Введение. Пшеница является одной из важнейших продовольственных культур во многих странах мира. По последним данным Национального статистического комитета (июль 2025 г.), в Республике Беларусь под посевные площади пшеницы было отведено 755 тыс. га, что составляет 30,4 % от всех площадей, занятых под зерновые и зернобобовые, и 13,2 % от всех посевных площадей в стране. Из них большая часть (около 619 тыс. га, или 82 %) отведена под сорта озимой пшеницы [1].

Виды злаковых культур умеренного климатического пояса характеризуются зимним типом развития в их естественной среде обитания [2, 3]. Две ключевые черты генотипов таких растений – это потребность в яровизации и холодовая акклиматизация. Яровизация определяется как индукция цветения после длительного воздействия холода. Более того, пшеницевые обычно классифицируются как растения длинного светового дня, потому что большинство сортов, относящихся к данной трибе, цветут раньше, когда подвергаются воздействию более длительных по продолжительности световых дней. Этот механизм синхронизирует растения для цветения после низких зимних температур, оказывающих отрицательное влияние на рост и развитие [4, 5]. Холодовая акклиматизация – это способность культуры адаптироваться к низким температурам и затем переживать заморозки. Растения с зимним типом развития обычно высеваются осенью, и они характеризуются более высокой продуктивностью [6].

Адаптация растений к действию температурного стресса связана с изменением экспрессии довольно большого числа генов, среди которых гены *Cor/Lea* семейства [7]. Белки позднего эмбриогенеза (*Lea*) представляют собой надсемейство гидрофильных внутриклеточных белков, которые накапливаются в растительной клетке при клеточной дегидратации. Уровень экспрессии *Cor/Lea*-генов при действии низких температур коррелирует с морозоустойчивостью у пшеницы и других злаков [8].

Семейство факторов транскрипции, называемое CRT-связывающие факторы (CBF) / DRE-связывающие белки (DREB), регулирует экспрессию гена *Cor/Lea* путем связывания элементов CRT/DRE, что было показано для ряда растений, включая пшеницу [9]. Гены *CBF*-семейства включаются одними из первых в каскадный механизм формирования морозоустойчивости [10]. Сверхэкспрессия факторов транскрипции CBF/DREB пшеницы повышает устойчивость трансгенных растений к замораживанию [9, 11]. CBF-белки узнают специфические регуляторные элементы (CRT/DRE) в промоторной зоне своих целевых генов и индуцируют их экспрессию. Экспрессия CBF-факторов индуцируется одним или несколькими (холод, жара, засуха, соль) абиотическими стрессами и может частично регулироваться геном-индуктором *CBF*-экспрессии (*ICE*). Согласно современным данным кластер *CBF*-генов на хромосомах 5-й гомеологической группы *Triticeae* соответствует QTL-локусу толерантности к низким температурам. Среди видов *Triticeae* описана значительная вариабельность по признаку толерантности к низким температурам, также по этому признаку наблюдается значимый внутривидовой полиморфизм. Несколько исследований выявили значительную положительную корреляцию в контролируемых условиях между относительным накоплением COR/LEA-белков и приобретенной морозоустойчивостью, а также реакцией растений не только в условиях холода, но и в широком диапазоне температур выращивания – от холодных до оптимальных [7].

В геноме гексаплоидной пшеницы описано 65 *TaCBF*-генов, 27 из которых являются паралогами с 1–3 гомеологическими копиями, расположенными в субгеномах A, B и D [12]. По данным Международного консорциума по секвенированию генома пшеницы (The International Wheat Genome Sequencing Consortium, IWGSC), 54 *TaCBF*-гена расположены на хромосомах группы 5: 17 генов – на хромосоме 5A, 19 – на 5B и 18 – на 5D. Другие *TaCBF*-гены расположены на гомеологических хромосомах 6 (A, B и D) [13]. Согласно литературным данным значительный вклад в обеспечение холодоустойчивости у сортов и линий мягкой пшеницы был показан для генов *CBF3* [14], *CBF15.2* [8, 15–17], *CBF19* [14, 15] и *CBF21* [15].

Поскольку указанные гены играют важную роль в обеспечении холодоустойчивости у пшеницы, целью нашего исследования стало изучение влияния холодового стресса на изменение уровня их экспрессии у сортов мягкой озимой пшеницы различного генетического происхождения в моделируемых условиях для поиска критериев отбора устойчивых генотипов.

Материалы и методы исследования. *Растительный материал и условия выращивания растений.* Для исследования были выбраны следующие сорта озимой пшеницы, отличающиеся по морозостойкости: Иркутская – предоставлен Сибирским институтом физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Гирлянда и Кубус – предоставлены отделом зерновых колосовых культур Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по земледелию (г. Жодино). Сорт российской селекции Иркутская способен перезимовывать в условиях Восточной Сибири. Сорт белорусской селекции Гирлянда является районированным и обладает, согласно результатам полевых испытаний, высоким уровнем морозоустойчивости в климатических условиях Беларуси. В отличие от него сорт немецкой селекции Кубус в климатических условиях Беларуси обладает низким уровнем морозоустойчивости.

Условия выращивания. Растения высаживались в питательный торфяной грунт «ДВИНА» (ПУ «Витебскторф», Республика Беларусь) и выращивались на фитотроне до стадии 3-листового проростка, а затем – в климатической камере КК 1200 Fit (Pol-Eko-Aparatura, Польша) при относительной влажности 80 % и интенсивности освещения 15 000 лк. При выращивании растений был использован режим, представленный в табл. 1. Контрольную группу растений выращивали при температуре +16/+10 °C (12 ч день / 12 ч ночь) на протяжении всего эксперимента. Данный температурный режим принят как контрольный.

Таблица 1. Условия выращивания озимой пшеницы, моделирующие прохождение заморозков

Table 1. Growing conditions for winter wheat, simulating frost conditions

№ этапа	Условия	Кол-во дней от предыдущего этапа	Стадии развития растений пшеницы
1	+16/+10 °C (12 ч день / 12 ч ночь)	25	Кушение
2	+10/+4 °C (12 ч день / 12 ч ночь)	7	Кушение
3	+4 °C (48 ч ночь)	2	Удлинение стебля
4	+2 °C (60 ч ночь)	2	Удлинение стебля
5	–2 °C (24 ч ночь)	1	Удлинение стебля
6	5 дней +2 °C (12 ч ночь) / –2 °C (12 ч ночь)	5	Удлинение стебля
7	–4 °C (24 ч ночь)	1	Трубкавание

Примечание. Жирным шрифтом выделены стадии, на которых проходило выделение РНК. Уровень экспрессии генов измеряли через 2 и 24 ч после наступления соответствующего этапа моделируемых условий, выделенного в табл. 1 жирным шрифтом.

Получение препаратов РНК. Выделение РНК из узлов кушения растений на различных стадиях роста было осуществлено при помощи реагента для выделения суммарной РНК ExtractRNA (Евроген, Российская Федерация) согласно протоколу производителя.

Получение препаратов кДНК. Перед синтезом кДНК полученные препараты РНК были обработаны ДНКазой (DNase I, RNase-free (Thermo scientific, США) по предложенному производителем протоколу. Синтез кДНК проводили с использованием ArtMMLV Total (ООО «АртБиоТех», Республика Беларусь) согласно протоколу производителя.

Проведение ПЦР в режиме реального времени. Для проведения ПЦР в режиме реального времени использовали смесь ArtMix Color (ООО «АртБиоТех», Республика Беларусь) согласно протоколу производителя. При постановке реакции для каждого сорта использовали по 3 биологические повторности, каждая из которых включала 3 растения. При этом каждая биологическая повторность также была представлена 3 аналитическими повторностями. Для проведения амплификации была использована следующая программа: 3 мин – 95 °C; 38 циклов: 15 с – 95 °C, 20 с – при температуре отжига, указанной в табл. 2, 30 с – 72 °C.

Последовательность праймеров для отдельных *CBF*-генов и референсного гена, кодирующего первичную последовательность актина, приведена в табл. 2.

Таблица 2. Нуклеотидные последовательности праймеров, использованных для анализа экспрессии отдельных *CBF*-геновTable 2. Nucleotide sequences of primers used for expression analysis of individual *CBF* genes

Праймер	Последовательность 5'→3'	Температура отжига (T_m), °C	Источник
TaCBF3	F: AATCGTCGTCTGAGTCTGACAGTG R: TTCCGGGAACAAGTCAAGCCT	60	[14]
TaCBF15.2	F: GATGACGGAAGCTGTAGCCAAT R: AAACATTCCGTCGCCAGAAG	60	[15]
TaCBF19	F: GCCTCTGGAGCTACTGATGTCTG R: CAATCGGGATAGCAAAAATCCTC	62	
TaCBF21	F: TCATCGGAGCCCCAATCA R: CGTGCGTTAAGCCGTTGTG	60	
TaACT	F: ACCTTCAGTTGCCAGCAAT R: TCGACCGCTGGCATACAAG	56–64	[18]

Статистическая обработка данных. Количество целевого транскрипта рассчитывали относительно числа копий мРНК референсного гена, кодирующего первичную структуру актина, который стабильно экспрессируется в клетках вне зависимости от внешних воздействий на организм. Кратность изменения уровня экспрессии определенного *CBF*-гена в исследуемых условиях относительно контрольных условий (к. у.) проводили по методу $2^{-\Delta\Delta C_T}$, допуская, что уровень эффективности амплификации всех праймеров равен 100 %, где

$-\Delta\Delta C_T$ – изменение уровня экспрессии определенного *CBF*-гена в исследуемых условиях относительно контрольных условий.

$$-\Delta\Delta C_T = \Delta C_{T(\text{тест})} - \Delta C_{T(\text{к. у.})};$$

$$\Delta C_{T(\text{тест})} = C_{T(\text{CBF, тест})} - C_{T(\text{ACT, тест})};$$

$$\Delta C_{T(\text{к. у.})} = C_{T(\text{CBF, к. у.})} - C_{T(\text{ACT, к. у.})}, \text{ где}$$

$\Delta C_{T(\text{тест})}$ – изменение уровня экспрессии определенного *CBF*-гена относительно референсного гена актина в исследуемых условиях;

$\Delta C_{T(\text{к. у.})}$ – изменение уровня экспрессии определенного *CBF*-гена относительно референсного гена актина в контрольных условиях;

$C_{T(\text{CBF, тест})}$ – пороговый цикл для определенного *CBF*-гена в исследуемых условиях;

$C_{T(\text{ACT, тест})}$ – пороговый цикл для референсного гена актина в исследуемых условиях;

$C_{T(\text{CBF, к. у.})}$ – пороговый цикл для определенного *CBF*-гена в контрольных условиях;

$C_{T(\text{ACT, к. у.})}$ – пороговый цикл для референсного гена актина в контрольных условиях [19].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США). Сравнение выборок с целью выявления статистически значимых отличий между ними проводилось при помощи однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты и их обсуждение. Нами было проведено исследование уровня экспрессии генов *CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19*, *CBF21* методом ПЦР в режиме реального времени в условиях моделирования холодового стресса у сортов озимой пшеницы Иркутская, Гирлянда и Кубус, обладающих различным уровнем морозостойкости.

Показано, что ген *CBF3* (рис. 1) не экспрессируется у исследуемых сортов при температуре +4 °C. Уровень его экспрессии повышается при последующем снижении температуры, достигая пика при температуре –4 °C у сорта Гирлянда, превышая значения в контроле в 407 и 363 раза через 2 и 24 ч соответственно.

Профили экспрессии гена *CBF3* сортов Кубус и Иркутская в целом схожи. Уровень экспрессии гена у этих сортов достигает пика через 2 ч после увеличения температуры до +2 °C, а также значительно возрастает при температуре –4 °C через 24 ч – в 162 и 248 раз соответственно. Сорт Гирлянда характеризуется более высокими показателями уровня экспрессии на большинстве этапов моделирования холодового стресса относительно сортов Кубус и Иркутская, что наиболее наглядно видно при снижении температуры до –4 °C. Увеличение уровня экспрессии гена *CBF3* после длительного воздействия низких температур отмечено F. Sutton et al. [14] у устойчивых к заморозкам линий пшеницы, созданных на основе сорта Winoka, по сравнению с восприимчивыми

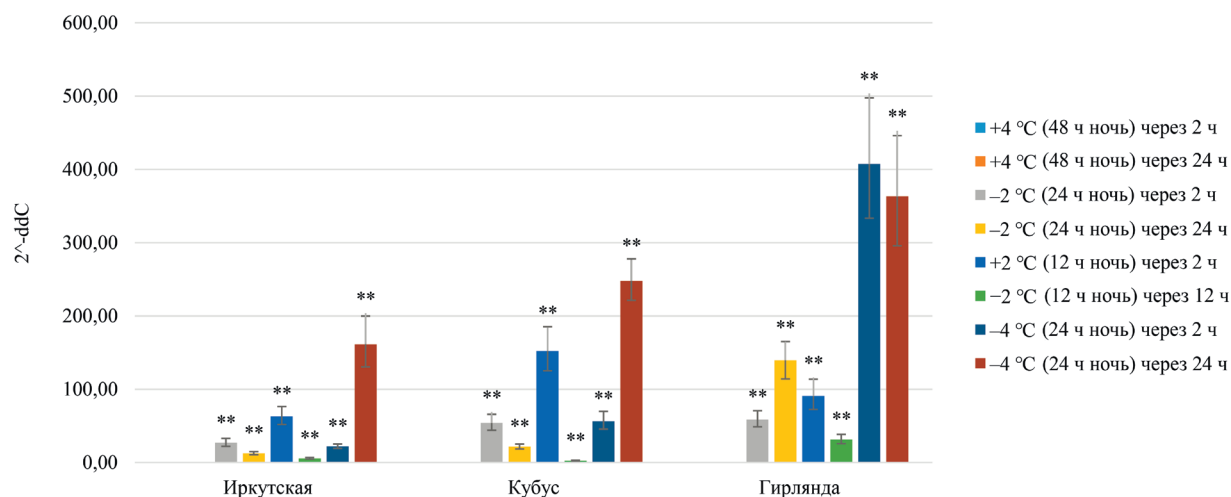


Рис. 1. Относительный уровень экспрессии гена *CBF3* у сортов озимой пшеницы Иркутская, Кубус и Гирлянда в моделируемых условиях холодного стресса. На диаграмме представлены средние значения и стандартные отклонения. Уровень экспрессии гена *CBF3* у растений, не подвергающихся холодному стрессу, равен 0 ($p < 0,01$ (**)) по сравнению с контролем)

Fig. 1. Relative expression level of the *CBF3* gene in winter wheat varieties Irkutskaya, Cubus and Girlyanda under simulated cold stress conditions. The diagram shows the mean values and standard deviations. The expression level of the *CBF3* gene in plants not subjected to cold stress is 0 ($p < 0.01$ (**)) compared to the control)

линиями, что может указывать на важный вклад данного гена в формирование ответа на холодовой стресс и возможность использования его в качестве маркера для оценки потенциала устойчивости.

Ген *CBF15.2* (рис. 2), как и ген *CBF3*, не экспрессируется в геноме трех исследуемых сортов пшеницы при снижении температуры до +4 °C. Однако через 2 ч после воздействия температуры -2 °C его экспрессия резко возрастает и превышает контрольные значения у сорта Иркутская в 134 раза, а у сортов Кубус и Гирлянда – в 120 и 105 раз соответственно. Уровень экспрессии данного гена достигает пика у сорта Гирлянда через 2 ч при снижении температуры до -4 °C, превышая показатели контрольных образцов в 370 раз. У сортов Кубус и Иркутская при наступлении указанных условий данный показатель увеличивается в 132 и 107 раз соответственно.

Значительное увеличение показателей уровня экспрессии *CBF15.2* может коррелировать с увеличением устойчивости отдельных генотипов к холодному стрессу. В пользу данного предположения говорят результаты исследования E. G. Todorovska et al. [15], в котором проанализирована экспрессия отдельных *CBF*-генов при температуре +2 °C и для гена *CBF15.2* установлен самый высокий уровень накопления транскриптов с максимальным их количеством через 4 ч у устойчивого озимого сорта Милена и через 2 ч – у чувствительного сорта Русалка. При этом у сорта Милена уровень экспрессии данного гена в 5 раз выше по сравнению с сортом Русалка [15]. Схожие результаты получены Y. Motomura et al. для толерантного зимостойкого сорта Мироновская 808, в котором установлено увеличение уровня экспрессии гена *CBF15* с максимумом между 4-м и 6-м часами воздействия низких температур [8], что напоминает картину, полученную для сорта Милена в исследовании E. G. Todorovska et al. В работе A. Vagujfalvi et al. также показано, что при холодной акклиматизации при температуре +2 °C гены *CBF* из центрального кластера локуса *Fr2* (*CBF14*, *CBF15* и *CBF16*) характеризуются самыми высокими уровнями транскриптов, которые более чем в 4 раза выше в линиях, несущих морозоустойчивые аллели локуса *Fr-A2*, чем в линиях, несущих чувствительные к морозу аллели [16]. Повышение уровня транскриптов генов *CBF16*, *CBF12* и *CBF15* при умеренно низких температурах (+15 °C) отмечено A. K. Кнох et al. только у морозоустойчивой линии пшеницы G3116, но не у чувствительной к морозу линии Dv92 [17]. Напротив, экспрессия гена *CBF15* не была выявлена M. O. Winfield et al. у зимостойких (Harnsek и Solstice) и яровых (Paragon) сортов ни в экспериментах по длительной акклиматизации, ни в экспериментах с шоковой акклиматизацией, при которой растения после

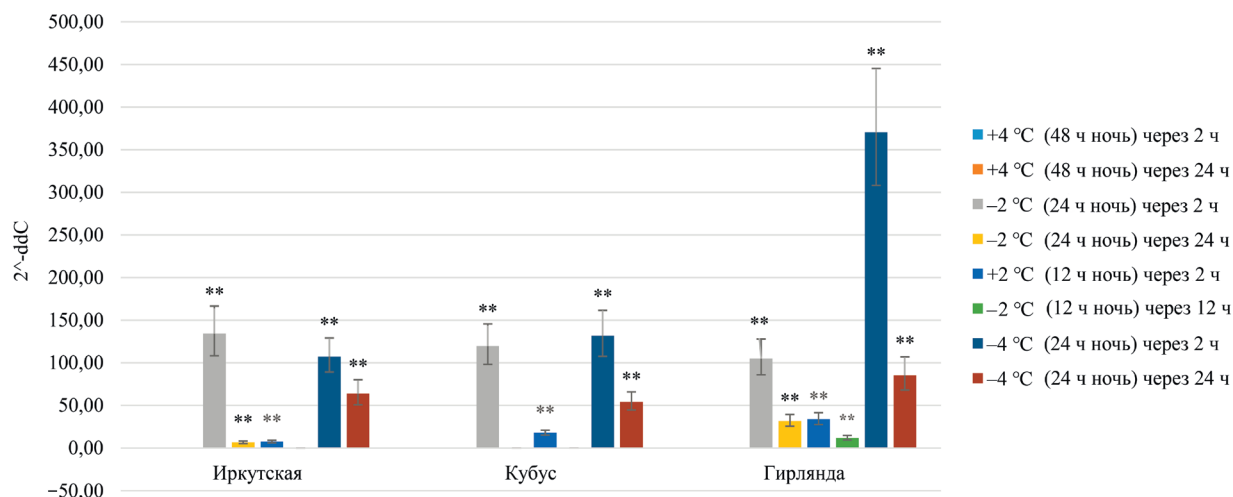


Рис. 2. Относительный уровень экспрессии гена *CBF15.2* у сортов озимой пшеницы Иркутская, Кубус и Гирлянда в моделируемых условиях холодного стресса. На диаграмме представлены средние значения и стандартные отклонения. Уровень экспрессии гена *CBF15.2* у растений, не подвергающихся холодному стрессу, равен 0 ($p < 0,01$ (**)) по сравнению с контролем)

Fig. 2. Relative expression level of the *CBF15.2* gene in winter wheat varieties Irkutskaya, Cubus and Girlyanda under simulated cold stress conditions. The diagram shows the mean values and standard deviations. The expression level of the *CBF15.2* gene in plants not subjected to cold stress is 0 ($p < 0.01$ (**)) compared to the control)

воздействия температуры +16 °C сразу же подвергались влиянию температуры +4 °C [20]. В проведенном нами исследовании также наблюдалось отсутствие экспрессии гена *CBF15.2* при температуре +4 °C, что свидетельствует о том, что работа гена инициируется более низкими температурами и зависит от времени и силы воздействия холодного стресса, а также от генотипа пшеницы.

Исследование уровня экспрессии гена *CBF19* (рис. 3) продемонстрировало наибольшее увеличение данного показателя у сорта Иркутская – в 219 раз через 24 ч после снижения температуры

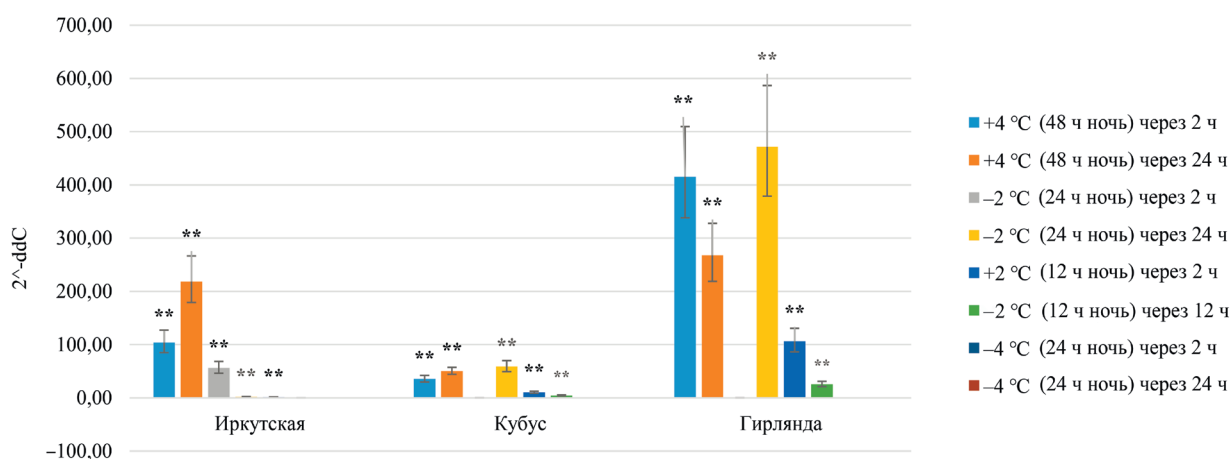


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии гена *CBF19* у сортов озимой пшеницы Иркутская, Кубус и Гирлянда в моделируемых условиях холодного стресса. На диаграмме представлены средние значения и стандартные отклонения. Уровень экспрессии гена *CBF19* у растений, не подвергающихся холодному стрессу, равен 0 ($p < 0,01$ (**)) по сравнению с контролем)

Fig. 3. Relative expression level of the *CBF19* gene in winter wheat varieties Irkutskaya, Cubus and Girlyanda under simulated cold stress conditions. The diagram shows the mean values and standard deviations.

The expression level of the *CBF19* gene in plants not subjected to cold stress is 0 ($p < 0.01$ (**)) compared to the control)

до +4 °C; у сорта Кубус – в 59 раз через 24 ч после снижения температуры до –2 °C; у сорта Гирлянда – в 471 раз также через 24 ч после снижения температуры до –2 °C. У каждого сорта наблюдался довольно высокий уровень экспрессии данного гена на начальном этапе моделируемых условий холодогового стресса, т. е. при температуре +4 °C. При установлении температуры –4 °C экспрессия гена *CBF19* прекращалась.

Показатели уровня экспрессии гена *CBF19* у сорта Гирлянда в целом выше, чем у сортов Кубус и Иркутская. Наши результаты дополняют данные, полученные Е. G. Todorovska et al., согласно которым ген *CBF19* по-разному экспрессируется в устойчивых и восприимчивых к холоду сортах озимой пшеницы. В частности, авторами показано увеличение уровня экспрессии данного гена в толерантном озимом сорте Милена с 1-го по 7-й час воздействия низких температур, в то время как восприимчивый озимый сорт Русалка показал гораздо более медленное увеличение транскрипта после 1-го часа воздействия холода с пиком на 4-м часу и последующим его снижением. В целом уровень экспрессии гена *CBF19* у сорта Милена был в 4 раза выше по сравнению с сортом Русалка [15]. F. Sutton et al. также показали, что указанный ген дифференциально экспрессируется у морозоустойчивых и морозочувствительных мутантных линий озимой пшеницы [14]. Таким образом, увеличение уровня его экспрессии может способствовать формированию повышенной морозоустойчивости. Вклад гена *CBF19* наиболее выражен на начальных этапах воздействия холодогового стресса.

Моделируемый холодоговой стресс оказывает влияние и на работу гена *CBF21* (рис. 4). Так, через 2 ч после снижения температуры до +4 °C у сортов Иркутская и Гирлянда уровень его экспрессии возрос в 14 и 17 раз соответственно. Затем показатели уровня экспрессии падали, и следующий пик наблюдался у сортов пшеницы через 24 ч при температуре –2 °C и через 2 ч – при последующем ее повышении до +2 °C (12 ч), за которым вновь последовало ее снижение. Низким уровнем экспрессии гена *CBF21* характеризовался сорт Кубус. Наибольший показатель уровня экспрессии данного гена (в 45 раз) был у сорта Гирлянда через 24 ч после снижения температуры до –2 °C. В целом, как и для других генов, на многих этапах у этого сорта он был выше по сравнению с сортами Иркутская и Кубус.

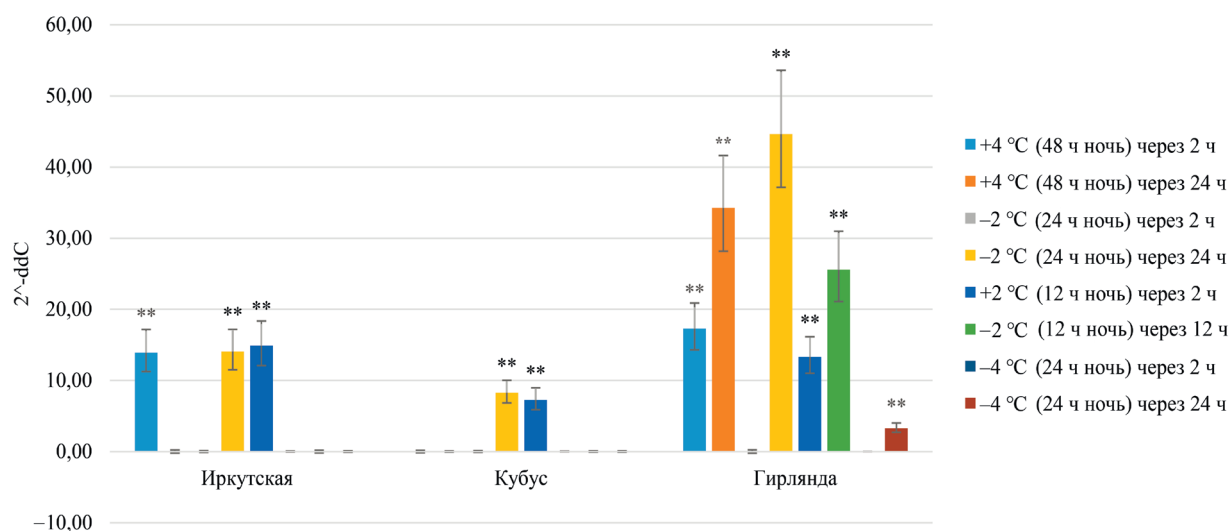


Рис. 4. Относительный уровень экспрессии гена *CBF21* у сортов озимой пшеницы Иркутская, Кубус и Гирлянда в моделируемых условиях холодогового стресса. На диаграмме представлены средние значения и стандартные отклонения. Уровень экспрессии гена *CBF21* у растений, не подвергающихся холодоговому стрессу, равен 0 ($p < 0,01$ (**)) по сравнению с контролем)

Fig. 4. Relative expression level of the *CBF21* gene in winter wheat varieties Irkutskaya, Cubus and Girlyanda under simulated cold stress conditions. The diagram shows the mean values and standard deviations. The expression level of the *CBF21* gene in plants not subjected to cold stress is 0 ($p < 0.01$ (**)) compared to the control)

Уровень экспрессии гена *CBF21* по сравнению с генами *CBF3*, *CBF15.2* и *CBF19* оказался ниже. Это отмечают и Е. G. Todorovska et al., в исследованиях которых показано максимальное накопление транскрипта указанного гена в сортах Милена и Русалка через 4 ч после начала холодовой акклиматизации и затем – снижение его уровня. Однако в толерантном сорте Милена уровень экспрессии гена *CBF21* был приблизительно в 4 раза выше по сравнению с восприимчивым сортом Русалка [15].

Заключение. В результате исследования показано влияние холодового стресса в моделируемых условиях на уровень экспрессии генов *CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19*, *CBF21* в сортах озимой пшеницы Иркутская, Гирлянда и Кубус, обладающих различным уровнем зимостойкости.

Наибольшую реакцию с самыми выраженными показателями уровня экспрессии всех исследованных генов демонстрирует зимостойкий сорт Гирлянда. Сорта Иркутская и Кубус уступают ему по уровню экспрессии всех четырех генов, хотя некоторые показатели у сорта Кубус могут превышать таковые у сорта Иркутская, и наоборот, что говорит о различиях их адаптивных механизмов. Уровень экспрессии гена *CBF3* максимально увеличивается у сортов пшеницы через 24 ч после снижения температуры в моделируемых условиях холодового стресса до -4°C . При этом у сорта Гирлянда показатель выше в 363 раза, чем у сортов Иркутская (в 162 раза) и Кубус (в 248 раз). Уровень экспрессии гена *CBF15.2* в данных условиях также достигает практически самых высоких значений: у сорта Гирлянда увеличивается в 370 раз, что в 4 и 3 раза выше, чем у сортов Иркутская и Кубус. Профиль экспрессии гена *CBF19* тоже выше у сорта Гирлянда, для которого самая выраженная реакция показана через 2 ч после снижения температуры до $+4^{\circ}\text{C}$ (в 415 раз) и через 24 ч после ее снижения до -2°C (в 471 раз). Наименьшие значения уровня экспрессии у всех сортов были выявлены для гена *CBF21*. Наибольшее увеличение кратности его экспрессии превысило значение контроля в 44,61 раза у сорта Гирлянда при снижении температуры до -2°C .

Таким образом, изучение уровня экспрессии генов *CBF3*, *CBF15.2*, *CBF19* и *CBF21* методом ПЦР в реальном времени в сортах озимой пшеницы показало, что они вносят разный вклад в ответ на воздействие холода в моделируемых условиях. Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень экспрессии указанных генов зависит от генотипа и что он больше у зимостойкого сорта Гирлянда на многих этапах моделирования холодового стресса. Результаты исследования могут быть использованы для оценки потенциала устойчивости образцов пшеницы к холодовому воздействию и разработки стратегий селекции зимостойких сортов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (проект № Б23УЗБ-027).

Acknowledgments. The work was carried out with the financial support of the BRFFR (project No. B23UZB-027).

Список использованных источников

1. Сельское хозяйство Республики Беларусь: стат. буклет / Нац. стат. ком. Респ. Беларусь; редкол.: И. В. Медведева (пред.) [и др.]. – Мн.: Информ.-вычисл. центр Нац. стат. ком. Респ. Беларусь. – 2025. – 36 с.
2. Phenology and related traits for wheat adaptation / J. Hyles, M. T. Bloomfield, J. R. Hunt [et al.] // Heredity. – 2020. – Vol. 125, N 6. – P. 417–430. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0320-1>
3. Genetic diversity and relationship between domesticated rye and its wild relatives as revealed through genotyping-by-sequencing / M. Schreiber, A. Himmelbach, A. Börner, M. Mascher // Evolutionary Applications. – 2019. – Vol. 12, N 1. – P. 66–77. <https://doi.org/10.1111/eva.12624>
4. Bond, D. M. The low temperature response pathways for cold acclimation and vernalization are independent / D. M. Bond, E. S. Dennis, E. J. Finnegan // Plant, Cell and Environment. – 2011. – Vol. 34, N 10. – P. 1737–1748. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02370.x>
5. *HvVRN2* Responds to Daylength, whereas *HvVRN1* Is Regulated by Vernalization and Developmental Status / B. Trevaskis, M. N. Hemming, W. J. Peacock, E. S. Dennis // Plant Physiology. – 2006. – Vol. 140, N 4. – P. 1397–1405. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073486>
6. Thomashow, M. F. Molecular Basis of Plant Cold Acclimation: Insights Gained from Studying the CBF Cold Response Pathway / M. F. Thomashow // Plant Physiology. – 2010. – Vol. 154, N 2. – P. 571–577. <https://doi.org/10.1104/pp.110.161794>
7. COR/LEA Proteins as Indicators of Frost Tolerance in Triticeae: A Comparison of Controlled versus Field Conditions / K. Kosová, M. Klíma, I. T. Prášil, P. Vítámvás // Plants. – 2021. – Vol. 10, N 4. – P. 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10040789>

8. A major quantitative trait locus for cold-responsive gene expression is linked to frost-resistance gene *Fr-A2* in common wheat / Y. Motomura, F. Kobayashi, J. C. M. Iehisa, Sh. Takumi // *Breeding Science*. – 2013. – Vol. 63, N 1. – P. 58–67. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.58>
9. Kobayashi, F. Transcriptional activation of *Cor/Lea* genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat *DREB2* homolog in transgenic tobacco / F. Kobayashi, M. Ishibashi, S. Takumi // *Transgenic Research*. – 2008. – Vol. 17, N 5. – P. 755–767. <https://doi.org/10.1007/s11248-007-9158-z>
10. Gilmour, S. J. Arabidopsis Transcriptional Activators CBF1, CBF2, and CBF3 have Matching Functional Activities / S. J. Gilmour, S. G. Fowler, M. F. Thomashow // *Plant Molecular Biology*. – 2004. – Vol. 54, N 5. – P. 767–781. <https://doi.org/10.1023/B:PLAN.0000040902.06881.d4>
11. Improvement of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors / S. Morran, O. Eini, T. Pyvovarenko [et al.] // *Plant Biotechnology Journal*. – 2011. – Vol. 9, N 2. – P. 230–249. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00547.x>
12. Wheat *CBF* gene family: identification of polymorphisms in the CBF coding sequence / S. Mohseni, H. Che, Z. Djilali, [et al.] // *Genome*. – 2012. – Vol. 55, N 12. – P. 865–881. <https://doi.org/10.1139/gen-2012-0112>
13. International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC). Shifting the limits in wheat research and breeding using a full-ly annotated reference genome / International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), R. Appels, K. Eversole, N. Stein [et al.] // *Science*. – 2018. – Vol. 361, N 6403. – P. eaar7191. <https://doi.org/10.1126/science.aar7191>
14. *Cbf* genes of the *Fr-A2* allele are differentially regulated between long-term cold acclimated crown tissue of freeze-resistant and – susceptible, winter wheat mutant lines / F. Sutton, D.-G. Chen, X. Ge, D. Kenefick // *BMC Plant Biology*. – 2009. – Vol. 9. – Art. 34. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-34>
15. The expression of *CBF* genes at *Fr-2* locus is associated with the level of frost tolerance in Bulgarian winter wheat cultivars / E. G. Todorovska, S. Kolev, N. K. Christov [et al.] // *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. – 2014. – Vol. 28, N 3. – P. 392–401. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.944401>
16. The expression of several *Cbf* genes at the *Fr-A2* locus is linked to frost resistance in wheat / A. Vagujfalvi, A. Aprile, A. Miller [et al.] // *Molecular Genetics and Genomics*. – 2005. – Vol. 274, N 5. – P. 506–514. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0047-y>
17. Identification of candidate *CBF* genes for the frost tolerance locus *Fr-A^m2* in *Triticum monococcum* / A. K. Knox, C. X. Li, A. Vagujfalvi [et al.] // *Plant Molecular Biology*. – 2008. – Vol. 67, N 3. – P. 257–270. <https://doi.org/10.1007/s1103-008-9316-6>
18. Assessment of candidate reference genes for the expression studies with brassinosteroids in *Lolium perenne* and *Triticum aestivum* / B. Jurczyk, E. Pocięcha, A. Janeczko [et al.] // *Journal of Plant Physiology*. – 2014. – Vol. 171, N 16. – P. 1541–1544. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.07.008>
19. Livak, K. J. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Method / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // *Methods*. – 2001. – Vol. 25, N 4. – P. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
20. Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat / M. O. Winfield, C. Lu, I. D. Wilson [et al.] // *Plant Biotechnology Journal*. – 2010. – Vol. 8, N 7. – P. 749–771. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00536.x>

References

1. Medvedeva I. V., Zhigarev T. P., Vasilevskaya Zh. N., Tarasyuk N. V., Yarkovets A. I., Letko O. V., Kondratenko E. G., Palkovskaya E. M., Zharikova A. V. (eds.). *Agriculture of the Republic of Belarus: Statistical booklet*. Minsk, Information and Computing Center of the National Statistical Committee of the Republic of Belarus, 2025. 36 p. (in Russian).
2. Hyles J., Bloomfield M. T., Hunt J. R., Trethowan R. M., Trevaskis B. Phenology and related traits for wheat adaptation. *Heredity*, 2020, vol. 125, no. 6, pp. 417–430. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0320-1>
3. Schreiber M., Himmelbach A., Börner A., Mascher M. Genetic diversity and relationship between domesticated rye and its wild relatives as revealed through genotyping-by-sequencing. *Evolutionary Applications*, 2019, vol. 12, no. 1, pp. 66–77. <https://doi.org/10.1111/eva.12624>
4. Bond D. M., Dennis E. S., Finnegan E. J. The low temperature response pathways for cold acclimation and vernalization are in-dependent. *Plant, Cell and Environment*, 2011, vol. 34, no. 10, pp. 1737–1748. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02370.x>
5. Trevaskis B., Hemming M. N., Peacock W. J., Dennis E. S. *HvVRN2* Responds to Daylength, whereas *HvVRN1* Is Regulated by Vernalization and Developmental Status. *Plant Physiology*, 2006, vol. 140, no. 4, pp. 1397–1405. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073486>
6. Thomashow M. F. Molecular Basis of Plant Cold Acclimation: Insights Gained from Studying the CBF Cold Response Pathway. *Plant Physiology*, 2010, vol. 154, no. 2, pp. 571–577. <https://doi.org/10.1104/pp.110.161794>
7. Kosová K., Klíma M., Prášil I. T., Vítámvás P. COR/LEA Proteins as Indicators of Frost Tolerance in Triticeae: A Comparison of Controlled versus Field Conditions. *Plants*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10040789>
8. Motomura Y., Kobayashi F., Iehisa J. C. M., Takumi S. A major quantitative trait locus for cold-responsive gene expression is linked to frost-resistance gene *Fr-A2* in common wheat. *Breeding Science*, 2013, vol. 63, no. 1, pp. 58–67. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.58>
9. Kobayashi F., Ishibashi M., Takumi S. Transcriptional activation of *Cor/Lea* genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat *DREB2* homolog in transgenic tobacco. *Transgenic Research*, 2008, vol. 17, no. 5, pp. 755–767. <https://doi.org/10.1007/s11248-007-9158-z>

10. Gilmour S. J., Fowler S. G., Thomashow M. F. Arabidopsis Transcriptional Activators CBF1, CBF2, and CBF3 have Matching Functional Activities. *Plant Molecular Biology*, 2004, vol. 54, no. 5, pp. 767–781. <https://doi.org/10.1023/B:PLAN.0000040902.06881.d4>
11. Morran S., Eini O., Pyvovarenko T., Parent B., Singh R., Ismagul A., Eliby S., Shirley N., Langridge P., Lopato S. Improve-ment of stress tolerance of wheat and barley by modulation of expression of DREB/CBF factors. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, vol. 9, no. 2, pp. 230–249. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00547.x>
12. Mohseni S., Che H., Djillali Z., Dumont E., Nankeu J., Danyluk J. Wheat CBF gene family: identification of polymorphisms in the CBF coding sequence. *Genome*, 2012, vol. 55, no. 12, pp. 865–881. <https://doi.org/10.1139/gen-2012-0112>
13. The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), Appels R., Eversole K., Stein N., Feuillet C., Keller B., Rogers J. [et al.]. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. *Science*, 2018, vol. 361, no. 6403, p. eaar7191. <https://doi.org/10.1126/science.aar7191>
14. Sutton F., Chen D.-G., Ge X., Kenefick D. Cbf genes of the Fr-A2 allele are differentially regulated between long-term cold acclimated crown tissue of freeze-resistant and – susceptible, winter wheat mutant lines. *BMC Plant Biology*, 2009, vol. 9, art. 34. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-34>
15. Todorovska E. G., Kolev S., Christov N. K., Balint A., Kocsy G., Vagujfalvi A., Galiba G. The expression of CBF genes at Fr-2 locus is associated with the level of frost tolerance in Bulgarian winter wheat cultivars. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2014, vol. 28, no. 3, pp. 392–401. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.944401>
16. Vagujfalvi A., Aprile A., Miller A., Dubcovsky J., Delugu G., Galiba G., Cattivelli L. The expression of several Cbf genes at the Fr-A2 locus is linked to frost resistance in wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, vol. 274, no. 5, pp. 506–514. <https://doi.org/10.1007/s00438-005-0047-y>
17. Knox A. K., Li C. X., Vagujfalvi A., Galiba G., Stockinger E. J., Dubcovsky J. Identification of candidate CBF genes for the frost tolerance locus Fr-A^m2 in *Triticum monococcum*. *Plant Molecular Biology*, 2008, vol. 67, no. 3, pp. 257–270. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9316-6>
18. Jurczyk B., Pocięcha E., Janeczko A., Paczyński R., Rapacz M. Assessment of candidate reference genes for the expression studies with brassinosteroids in *Lolium perenne* and *Triticum aestivum*. *Journal of Plant Physiology*, 2014, vol. 171, no. 16, pp. 1541–1544. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.07.008>
19. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} Method. *Methods*, 2001, vol. 25, no. 4, pp. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
20. Winfield M. O., Lu C., Wilson I. D., Coghill J. A., Edwards K. J. Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 2010, vol. 8, no. 7, pp. 749–771. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00536.x>

Информация об авторах

Зайнчковская Анна Николаевна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: A.Zainchkovskaya@igc.by

Фомина Елена Анатольевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Fomina@igc.by

Урбанович Оксана Юрьевна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: O.Urbanovich@igc.by

Information about the authors

Anna N. Zainchkovskaya – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: A.Zainchkovskaya@igc.by

Elena A. Fomina – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Fomina@igc.by

Oksana Yu. Urbanovich – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: O.Urbanovich@igc.by