

Алельний стан *Ppd-1* генів, що контролюють чутливість до фотоперіоду, у низки генотипів пшениці м'якої озимої

А. О. Бакума¹, Г. О. Чеботар¹, А. В. Ткачук¹, С. В. Чеботар^{1, 2*}, Т. З. Москалець³, В. В. Москалець³

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
*e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

²Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення НААН України,
вул. Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна

³Інститут садівництва НААН України, вул. Садова, 23, с. Новосілки, м. Київ, 03027, Україна

Мета. Визначення алельного стану генів *Ppd-1*, що контролюють чутливість до фотоперіоду, у сортів та ліній пшениці м'якої озимої Носівської селекційно-дослідної станції Миронівського інституту пшениці ім. В. М. Ремесла НААН (НСДС МІП) і Полтавської державної аграрної академії МОН України (ПДАА), та зіставлення отриманих результатів молекулярно-генетичного аналізу з даними польових спостережень щодо строків колосіння та цвітіння. **Методи.** Виділення ДНК, алель-специфічна ПЛР, електрофорез фрагментів ампліфікації в агарозних та поліакриламідних гелях, дисперсійний аналіз. **Результати.** Визначено, що сорт 'Ювівата 60' має рецесивний генотип *Ppd-1* та належить до III гаплотипу за комбінацією мутацій у структурі *Ppd-D1* гена. Лінія 'Л41/95' виявилася гетерогенною за алелями гена *Ppd-D1*, що відповідало наявності гаплотипів III і VII. Усі інші досліджені зразки характеризувалися алелями *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b* та *Ppd-D1a* та належали до гаплотипу VII. За результатами статистичної обробки даних тривалість періоду від першого травня до колосіння була найменшою в сорту 'Донская полукарликовая' в умовах як Лісостепу, так і Полісся–Лісостепу України, найбільшою – у сортів 'Ювівата 60', 'Миронівська 61' та лінії 'Л41/95'. Відмінності між зазначеними групами були достовірними й становили приблизно 10 діб. **Висновки.** За алельним станом генів *Ppd-1* досліджено селекційний матеріал з високою адаптивною здатністю для умов вирощування в перехідній зоні Полісся–Лісостеп. За алелями генів *Ppd-1* досліджені сорти та лінії виявили невисокий рівень поліморфізму (12,5% – *Ppd-D1b* (III), 12,5% – *Ppd-D1a/b* (III/VII), 75% – *Ppd-D1a* (VII), що узгоджується з гіпотезою надання селекціонерами більшої переваги слабкочутливим до фотоперіоду генотипам пшениці в умовах України. Генотипи з домінантним алелем *Ppd-D1a* (VII) в умовах Півдня України практично повністю домінують. Водночас у північніших широтах погодні умови нівелюють переваги, що мають генотипи з *Ppd-D1a*.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L.; чутливість до фотоперіоду; алель-специфічна ПЛР.

Вступ

Сорти та лінії пшениці м'якої озимої характеризуються різними темпами вегетації,

що дає їм змогу пристосовуватися до різноманітних кліматичних і географічних умов. Глобальні й регіональні зміни клімату зумовлюють потребу підвищення адаптивного потенціалу рослин пшениці озимої. Метою селекції пшениці озимої в перехідній зоні Полісся–Лісостеп є створення сортів, адаптованих, здебільшого, для цієї екологічної ніші.

Висока адаптивність поліплоїдної пшениці пояснюється її складним геномом, якому притаманні алельні варіації та варіації кількості копій генів, які суттєво впливають на регуляцію росту й розвитку рослин [1]. Тривалість періоду «сходи–колосіння» *Triticum aestivum* L. визначає час цвітіння, опосеред-

Alla Bakuma

<https://orcid.org/0000-0001-7190-2210>

Galyna Chebotar

<https://orcid.org/0000-0002-7465-4678>

Angela Tkachuk

<https://orcid.org/0000-0002-5670-6446>

Sabina Chebotar

<https://orcid.org/0000-0002-9130-7272>

Tetiana Moskalets

<https://orcid.org/0000-0003-4373-4648>

Valentyn Moskalets

<https://orcid.org/0000-0002-3786-297X>

ковано впливає на врожайність і таким чином є однією з найважливіших агрономічних ознак. Час настання колосіння значною мірою залежить від чутливості рослин пшениці до фотоперіоду – реакції на тривалість світлового дня. У *T. aestivum* чутливість до фотоперіоду визначається *Ppd-1* генами, розташованими на гомеологічних хромосомах 2A, 2B і 2D [2]. Домінантні алелі цих генів скорочують тривалість періоду «сходи–колосіння» завдяки зниженню реакції рослин на фотоперіод в умовах короткого світлового дня. Такі алелі з'явилися в генотипі пшениці дикого типу внаслідок мутацій (делецій або інсерцій) у промоторних регіонах генів *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* або ж збільшення кількості копій гена *Ppd-B1* [3–6]. Гени *Ppd-1* належать до сімейства регуляторів псевдовідповіді та відіграють важливу роль у контролюванні циркадних ритмів завдяки збільшенню експресії білків CONSTANS (CO) за довгого світлового дня. Білки CO взаємодіють із білками, що кодуються локусом, який контролює FLOWERING TIME (FT), унаслідок чого посилюється їхня експресія та індукуються цвітіння. Алелі генів *Ppd-1*, які зумовлюють нейтральну реакцію на фотоперіод, активують гени яровизації й запускають раннє цвітіння за короткої довжини світлового дня, у деяких випадках, навіть коли вимоги до яровизації не виконуються [7].

Мета досліджень – визначення алельного стану генів *Ppd-1*, що контролюють чутливість до фотоперіоду, у сортів та ліній пшениці м'якої озимої Носівської селекційно-дослідної станції Миронівського інституту пшениці ім. В. М. Ремесла НААН (НСДС МП) і Полтавської державної аграрної академії МОН України (ПДАА), та зіставлення отриманих результатів молекулярно-генетичного аналізу з даними польових спостережень щодо строків колосіння та цвітіння. Сорти й лінії, які аналізували в роботі, випробувані в Національному центрі генетичних ресурсів рослин України, схвалені, зареєстровані та використовуються в селекційних програмах ПДАА, Миронівського інституту пшениці ім. В. М. Ремесла НААН (МП), Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН. Дослідження молекулярно-генетичних особливостей цього матеріалу пшениці м'якої озимої дасть змогу охарактеризувати його алельний стан і надалі вести маркерну селекцію (MAS – marker assisted selection) для ефективного добору генотипів з певними комбінаціями алелів та гаплотипів, що детермінують чутливість до фотоперіоду.

Матеріали та методика досліджень

Аналізували сорти та лінії пшениці м'якої озимої НСДС МП ('Ювівата 60', 'КС1', 'КС14', 'КС22-04', 'Л59-95', 'Зоряна Носівська', 'Л41/95'), ПДАА ('Аріївка') та контрольні сорти 'Донская полукарликовая' й 'Миронівська 61', надані співробітником Інституту садівництва НААН В. В. Москальцем. Родоводи досліджених ліній наведено в таблиці 1.

Сорти 'Ювівата 60', 'Зоряна Носівська' належать до напівінтенсивного типу для низького й середнього агрофонів. Сорт 'Аріївка' та лінії 'Л41-95', 'Л59-95', 'КС1' – універсального типу, придатні для вирощування після різних попередників. Сорт 'Донская полукарликовая' – інтенсивного типу, добре відселектований, вирівняний, ранньостиглий, крупнозерний, урожайний з високою та стабільною якістю зерна, зимо- й посухостійкий, був одним із основних як батьківських, так і материнських компонентів у гібридизації.

ДНК виділяли з етиологованих паростків пшениці згідно з методикою [12]. Алель-специфічну та гніздову ПЛР проводили на ампліфікаторі FlexCycler (Analytik Jena, Німеччина), умови ПЛР описано в публікаціях [3–6]. Нуклеотидні послідовності праймерів для детекції алелів генів чутливості до фотоперіоду докладно описано в статті Бакума та ін. [13]. Фрагменти ампліфікації, отримані в ПЛР, розділяли за допомогою горизонтального та вертикального електрофорезу в 1%-му агарозному або в 7%-му поліакриламідному гелі.

Дати настання колосіння та цвітіння рослин пшениці фіксували під час проведення польових дослідів на базі НСДС МП (перехідна зона Полісся–Лісостеп) і Білоцерківського національного аграрного університету МОН України (Лісостеп України) протягом семи років (2010–2017 рр.). Дослідне поле Носівської селекційно-дослідної станції знаходиться в межах окремого екотону Дніпровської низовини, у сфері впливу двох фізико-географічних зон – Полісся та Лісостепу. Ґрунт дослідної ділянки – чорнозем вилугуваний малогумусний легкосуглинковий. Дослідне поле Білоцерківського НАУ розташовано в центральній частині Правобережного Лісостепу – у Бузько-Середньодніпровському окрузі Дністровсько-Дніпровської лісостепової провінції. Ґрунт – чорнозем типовий. Розміщення ділянок – рендомізоване, повторність досліду – 3–6-разова і в різних екологічних зонах змінювалася залежно від однорідності поля за ґрунтовими та рельєфними особливостями, попередника, якості

Таблиця 1

Родовід досліджених у роботі сортів та ліній пшениці м'якої озимої

№	Назва сорту / лінії (номер національного каталогу, свідоцтва)	Родовід	Рік створення	Оригіатор
1	'Аріївка' (№ 171136)	'Донская полукарликовая' × 'К6477/91'	2007	ПДАА [8]
2	лінія 'КС1' (38-95, UA0107961)	'Донская полукарликовая' × 'К6477/91'	1995	НСДС МІП [9]
3	лінія 'КС22-04' (UA0108019)	'Зоряна Носівська' × 'Миронівська 61'	2004	НСДС МІП [9]
4	лінія 'Л59-95' (UA0108016)	♀ 'Донская полукарликовая' × ♂ [♀ ('Maris Malder' × ♂ 'Pony') × ♂ 'Донская полукарликовая']	1995	НСДС МІП [9]
5	'Зоряна Носівська' (UA 0110603, № 521)	('Обрій' × 'Maris Hunstman') × 'Maris Hunstman'	1998	НСДС МІП [10]
6	'Донская полукарликовая'	('Русалка' × 'Северодонская')	1983	Всеросійський науково-дослідний інститут зернових культур ім. І. Г. Каліненко
7	лінія 'КС14-05' (UA 0123342, № 1913)	♀ 'Maris Hunstman' × ♂ ('Киянка' × 'Pony')	2005	НСДС МІП / Інститут садівництва НААН [9]
8	лінія 'Л41/95' (UA 010803, № 757)	'Мирлебен' × 'Поліська 92'	1995	НСДС МІП [9]
9	'Ювівата 60' (лінія 'Л4639/96') (UA 0108163, № 1102; сорт у Держреєстрі з 2014 р.)	('Поліська 90' × 'Мирлебен') × ('Holger' × 'ППГ296')	1996	НСДС МІП [9]
10	'Миронівська 61'	внутрішньовидова гібридизація з подальшим індивідуальним добром з гібридної популяції 'Іллічівка' × 'Hadmersleben 6508-74'	1987	МІП [11]

підготовки площі до сівби, обсягів насінневого матеріалу. Загальна площа дослідної ділянки становила 12 м². Попередниками пшениці м'якої озимої були однорічні зернові та зернобобові, технологія вирощування – загальноприйнята для умов Лісостепу [14]. Для визначення початку періодів колосіння й цвітіння спостерігали за ділянкою конкретного генотипу пшениці і за виколювання та зацвітання приблизно 50% рослин відмічали відповідні дати згідно із загальноприйнятою методикою [15, 16].

Клімат перехідної Полісько-Лісостепової та Лісостепової зон – помірно континентальний, теплий, м'який, з достатнім зволоженням. Умови вирощування протягом 2010–2017 рр. були різноманітними. Підвищена температура в травні (що зазначена за період 2010–2014 рр., порівняно з багаторічною нормою) і червні (2010–2013 рр.) не давала змоги рослинам пшениці максимально використовувати свій потенціал для проходження фенофаз колосіння та цвітіння (накопичувати необхідну кількість асимілятів) і зумовила термальну посуху, яка може негативно впливати на формування зерна і, як наслідок, урожайність. Надзвичайно посушливим був жовтень 2013 та 2014 рр., протягом яких у Лісостепу випало лише 6–15 мм, у Поліссі–Лісостепу – 6–24 мм опа-

дів. У 2017 р. кількість опадів за вегетацію була нижчою за середньобогаторічні показники – за квітень, травень і червень випало всього 56 мм опадів.

Статистично дані обробляли за допомогою програмного забезпечення Statistica 10 методом одно- й двохфакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) [17]. Достовірність впливу факторів «Лінія», «Зона вирощування» та їхньої взаємодії визначено за F-критерієм Фішера для відповідного фактора або взаємодії.

Результати досліджень

Селекційний матеріал пшениці м'якої озимої, який аналізується в статті, створено на Носівській селекційно дослідній станції, що знаходиться в умовах південного екотону Полісся, або перехідної зони Полісся–Лісостеп. Багаторічні польові дослідження дали змогу цей матеріал диференціювати на стабільні, вузько- та широкоадаптивні сорти/лінії. Остання група ('Ювівата 60', 'Л4639/96', 'Л41/95' та ін.) характеризується широким діапазоном екологічної пластичності, сорти, віднесені до неї, мають високу масу 1000 зерен, крупнозерні, багатоквіткові. І варто зазначити, що використання в селекційному процесі багатоквіткових форм пшениці достовірно зумовлює збільшення показника кіль-

кості зерен з колоса в наступних гібридних популяціях [18, 19]. Саме вони якнайповніше реалізують свій генетичний потенціал у зазначеній зоні вирощування, на підставі чого виділені в полісько-лісостеповий екотип серед досліджуваних сортів і ліній пшениці.

Визначено генотипи досліджуваних сортів та ліній за локусами *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1*. За локусом *Ppd-A1* не виявлено поліморфізму. У результаті електрофоретичного розподілу фрагментів ампліфікації, отриманих за допомогою алель-специфічної ПЛР, визначено

наявність алеля *Ppd-A1b*, тобто делеція 1085 п. н. у промоторному регіоні відсутня (рис. 1 а). Також у всіх досліджених сортів та ліній детектовано рецесивний алель *Ppd-B1b*. Отримано продукт ПЛР розміром 1299 п. н., що свідчить про відсутність інсерції 308 п. н. в області промотора (рис. 1 б). Водночас не виявлено фрагментів 223 п. н. та 425 п. н., які визначають у генотипі три та чотири копії *Ppd-B1* відповідно, наявність яких призводить до зменшення чутливості до фотоперіоду (рис. 1 в, г).

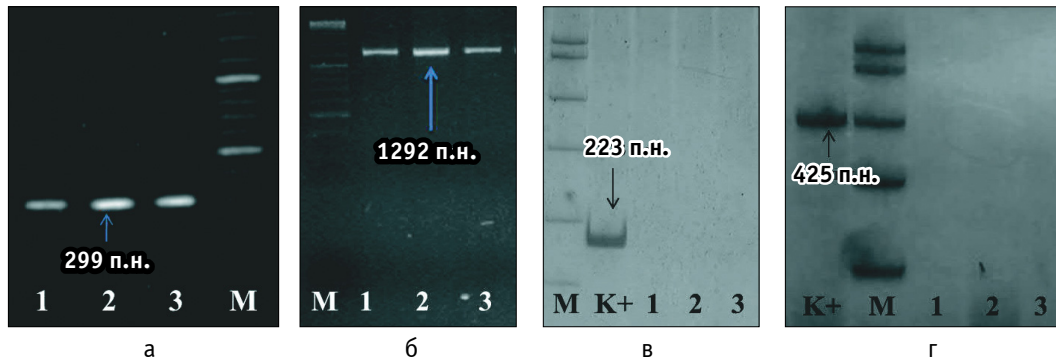


Рис. 1. Електрофореграма фрагментів ампліфікації, отриманих у ПЛР з ДНК сортів/ліній з алель-специфічними праймерами:

- а) *Ppd-A1b*: 1 – ‘Аріївка’; 2 – лінія ‘КС1’; 3 – лінія ‘КС 22-04’; М – маркер молекулярної маси *ladder mix*;
- б) *Ppd-B1b*: 1 – ‘Аріївка’; 2 – лінія ‘КС1’; 3 – лінія ‘КС22-04’; М – маркер молекулярної маси *ladder mix*;
- в) трикопійний *Ppd-B1* типу ‘Sonoga64’: 1 – ‘Аріївка’; 2 – лінія ‘КС1’; 3 – лінія ‘КС22-04’; К+ – ‘Елегія миронівська’; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*;
- г) чотирикопійний *Ppd-B1* типу ‘Chinese Spring’: 1 – ‘Аріївка’; 2 – лінія ‘КС1’; 3 – лінія ‘КС22-04’; К+ – ‘Струна миронівська’; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*.

За геном *Ppd-D1* рецесивний алель *b* визначено в генотипі сорту ‘Ювівата 60’. Лінія ‘Л41/95’ виявилася гетерогенною за цим локусом. В інших сортів та ліній пшениці м’якої детектовано домінантний алель *Ppd-D1a* (рис. 2).

Алель *Ppd-D1b* у сорту ‘Ювівата 60’ та в лінії ‘Л41/95’ був, найімовірніше, успадкований від донорного сорту ‘Мирлебен’, у генотипі якого цей алель виявлено раніше [20]. Крім того, другою батьківською формою сорту ‘Ювівата 60’ є сорт ‘Поліська 90’,



Рис. 2. Електрофореграма фрагментів ампліфікації, отриманих у ПЛР з пулом ДНК, виділеної з п’яти зернівок сортів/ліній, з алель-специфічними праймерами:

- а) *Ppd-D1b*: 1 – ‘Аріївка’; 2 – лінія ‘КС1’; 3 – лінія ‘КС22-04’; 4 – лінія ‘Л59-95’; 5 – ‘Зоряна Носівська’; 6 – ‘Донская полукарликовая’; 7 – лінія ‘КС14’; 8 – лінія ‘Л41/95’; 9 – ‘Ювівата 60’; 10 – ‘Миронівська 61’; М₂ – маркер молекулярної маси *ladder mix*;
- б) *Ppd-D1a*: 1 – ‘Аріївка’; 2 – лінія ‘КС1’; 3 – лінія ‘КС 22-04’; 4 – лінія ‘Л59-95’; 5 – ‘Зоряна Носівська’; 6 – ‘Донская полукарликовая’; 7 – лінія ‘КС14’; 8 – лінія ‘Л41/95’; 9 – ‘Ювівата 60’; 10 – ‘Миронівська 61’; М₁ – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*; М₂ – маркер молекулярної маси *ladder mix*.

який є носієм алеля *Rht8b* гена короткостебловості [21], що дає змогу припустити, що цей сорт є рецесивним за геном *Ppd-D1*, оскільки домінантний алель *Ppd-D1a* зазвичай успадковується разом з алелем *Rht8c* гена короткостебловості. У родоводі сорту 'Аріївка', ліній 'КС1' та 'Л59-95' задіяний сорт 'Донская полукарликовая' (його також досліджували в роботі), що має в генотипі алель *Ppd-D1a*, який обумовлює нейтральну реакцію на фотоперіод. Аналіз походження сорту 'Зоряна носівська' дає змогу припустити, що *Ppd-D1a* алель успадкований від сорту 'Обрій' [22].

Сьогодні на основі молекулярної структури гена *Ppd-D1* виділяють десять функціонально відмітних гаплотипів, які контролюють різний рівень експресії гена і по-різному впливають на тривалість періоду «сходи-колосіння» [23].

За допомогою алель-специфічних маркерів у генотипах досліджених рослин визначено наявність мутацій у нуклеотидній послідовності гена *Ppd-D1*, таких як інсерції 24 п. н. і 15 п. н., розділені 105 п. н. у непошкодженому регіоні промотора (рис. 2 а), вставка транспозону типу MLE (mariner-like transposable element) в інтроні 1 (рис. 3 а), відсутність делеції 5 п. н. у сьомому екзоні (рис. 3 б) та делеція 16 п. н. у восьмому екзоні (рис. 3 в).

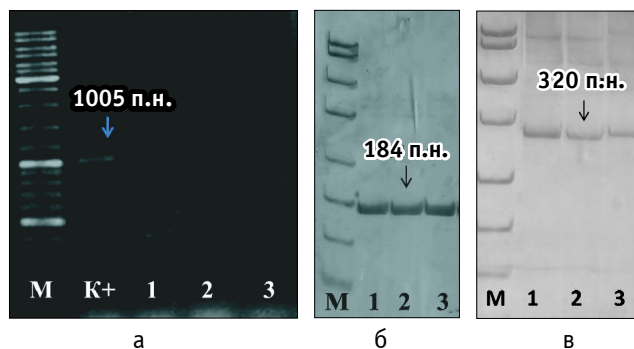


Рис. 3. Електрофореграма розподілу в 7%-му ПААГ фрагментів ампліфікації, отриманих у ПЛР із ДНК сортів/ліній з алель-специфічними праймерами:

- а) *Ppd-P5* (TE інсерція в інтроні 1): 1 – 'Аріївка'; 2 – лінія 'КС1'; 3 – лінія 'КС22-04'; К+ – 'Зимоярка'; М – маркер молекулярної маси *ladder mix*;
 б) *Ppd-P7* (делеція 5 п. н. в екзоні 7): 1 – 'Аріївка'; 2 – лінія 'КС1'; 3 – лінія 'КС22-04'; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*;
 в) *Ppd-P3* (інсерція 16 п. н. у екзоні 8): 1 – 'Аріївка'; 2 – лінія 'КС1'; 3 – лінія 'КС22-04'; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*.

Поєднання вказаних мутацій із ключовою делецією 2089 п. н., яка зумовлює нейтральну реакцію на фотоперіод, дало змогу віднести генотип сорту 'Ювівата 60' до гаплотипу III, а гетерогенну за локусом *Ppd-D1* лінію 'Л41/95' – до гаплотипів III і VII. Інші сорти та лінії віднесено до гаплотипу VII (табл. 2). Згідно з даними Guo et al. [5], гаплотип III характери-

Таблиця 2

***Ppd-D1* гаплотипи досліджених сортів та ліній пшениці**

Алель <i>Ppd-D1</i>	Сорт, лінія	<i>Ppd-D1</i> гаплотип	Кількість сортів	Інсерції 24 п. н. + 15 п. н. у промоторі	Делеція 2089 п. н. у промоторі	ТЕ інсерція в інтроні 1	Делеція 5 п. н. в екзоні 7	Інсерція 16 п. н. в екзоні 8
<i>b</i>	'Ювівата 60'	III	1	відсутні	відсутня	наявна	відсутня	відсутня
<i>a</i>	'Аріївка', 'КС1', 'КС22-04', 'Л59-95', 'Зоряна Носівська', 'Донская полукарликовая', 'КС14', 'Миронівська 61'	VII	8	відсутні	наявна	наявна	відсутня	відсутня
<i>b/a</i>	Лінія 'Л41/95'	III/VII	1	відсутні	відсутня / наявна	наявна	відсутня	відсутня

зується найнижчим рівнем експресії гена *Ppd-D1* порівняно з I–VI гаплотипами, що призводить до більш пізнього виколювання таких рослин і може бути перевагою за вирощування в північних широтах, оскільки дасть змогу рослинам уникнути дії низьких температур у разі цвітіння наприкінці весни – початку літа. Наразі дослідження рівня експресії VII гаплотипу гена *Ppd-D1* не проводили.

У результаті однофакторного дисперсійного аналізу даних польового дослідження щодо

темсів колосіння та цвітіння, виявлено достовірний вплив фактору «Лінія» ($P = 0,01$) на зазначені ознаки. Найраніше виколювання в умовах Лісостепу та Полісся–Лісостепу України було характерне для сорту 'Донская полукарликовая', найбільш пізні – для сортів 'Ювівата 60', 'Миронівська 61' та лінії 'Л41/95' (табл. 3). Різниця між зазначеними групами була достовірною – приблизно 10 діб. Але за врожайністю досліджені лінії різнилися між собою в межах похибки.

Таблиця 3

Характеристика досліджених сортів та ліній пшениці м'якої озимої за агрономічними ознаками

Назва сорту, лінії	Середнє за 2010–2017 рр.					
	(Лісостеп)			(Полісся–Лісостеп)		
	ДК	ДЦ	Урожайність, г/м ²	ДК	ДЦ	Урожайність, г/м ²
'Аріївка'	23,13	27,13	637,5	25,13	30,25	687,09
'КС1'	23,25	27,25	624,3	25,13	29,63	623,35
'КС22-04'	21,50	26,38	590,6	23,88	28,25	632,68
'Л59-95'	20,63	25,00	577,8	22,50	26,63	536,36
'Зоряна Носівська'	24,25	28,75	555,3	26,13	31,00	595,44
'Ювівата 6'0	27,25	31,88	661,4	30,25	34,50	640,54
'КС14'	22,63	26,75	578,6	24,13	29,75	556,00
'Л41/95'	26,75	31,88	597,9	29,13	34,00	577,23
'Донская полукарликовая'	17,25	21,50	530,0	19,00	23,00	519,59
'Миронівська 61'	26,13	30,50	591,0	28,38	33,00	579,48
НІР _{0,05}	3,92	3,74	–	3,82	3,36	–
НІР _{0,01}	5,2	5,1	–	5,06	4,47	–

Примітка. ДК – дата колосіння; ДЦ – дата цвітіння (відлік діб, починаючи з першого травня).

Серед сортів та ліній, у родоводі яких наявний сорт 'Донская полукарликовая', лише лінія 'Л59-95' достовірно не відрізнялася від материнського сорту за часом цвітіння, що може свідчити про наявність у генотипі цих зразків інших генів, що впливають на швид-

кість проходження фенофаз, які ми не тестуємо в цій роботі. Також цікавим є досить пізні колосіння та цвітіння рослин сорту 'Миронівська 61' (для якого характерна наявність *Ppd-D1a* алеля), практично на рівні чутливих до фотоперіоду сорту 'Ювівата 60' та лінії

Таблиця 4

Вплив факторів «Лінія» та «Зона вирощування» на досліджувані показники

Ознаки	Джерело варіації, mS			Похибка
	«Лінія»	«Зона вирощування»	Взаємодія «Лінія» × «Зона вирощування»	
df	9	1	9	140
ДК	164,92***	174,31***	0,72	15,17
ДЦ	179,0***	211,6***	1,2	13,2
Урожайність	29222	5	4074	22268

*** – достовірно за $p = 0,001$.

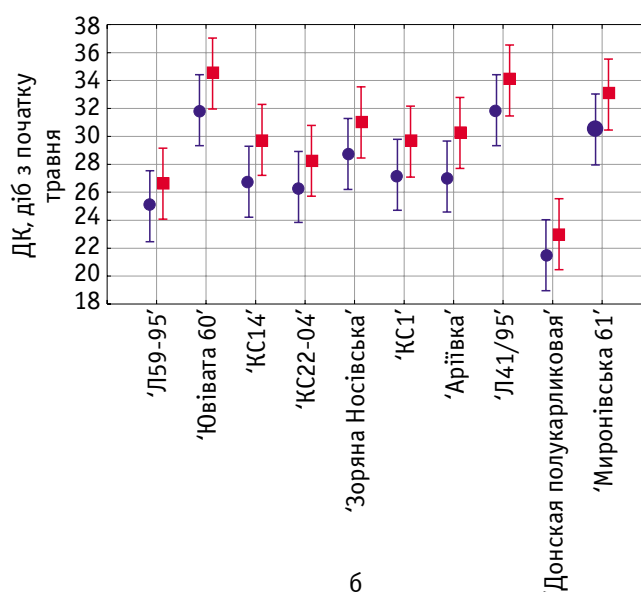
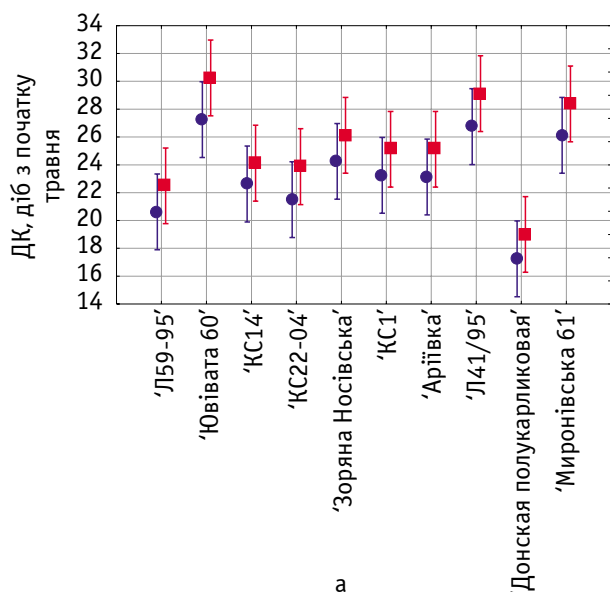


Рис. 4. Час колосіння (а) та цвітіння (б) досліджених ліній в умовах Лісостепу (синій кружечок) та перехідної зони Полісся–Лісостеп (червоний квадрат)

Примітка. ■, ● – середні значення, I – дисперсія.

‘Л41/95’. Наявні відмінності можуть бути обумовлені іншими генетичними системами або епігенетичними чинниками. Загалом, зразки з рецесивним алелем гена *Ppd-D1* мали схильність до більш пізнього колосіння та цвітіння, ніж сорти й лінії з доміантним алелем. За даними двохфакторного дисперсійного аналізу (табл. 4), фактори «Лінія» та «Зона вирощування» достовірно впливали на ДК та ДЦ, однак не на врожайність. В умовах Лісостепу цвітіння та колосіння відбувалося приблизно на дві доби раніше, ніж умовах перехідної зони Полісся–Лісостеп (рис. 4).

Лінії з наявністю (*Ppd-D1a*) та відсутністю делеції розміром 2089 п. н. перед кодуєчим регіоном (*Ppd-D1b*), незалежно від зони вирощування, достовірно між собою не різнилися за врожайністю, що може пояснюватися селекційним добором, який спрямований на створення високоврожайних сортів.

Також на відсутність відмінностей може впливати наявність лише по одному зразку з *Ppd-D1b* та *Ppd-D1a/b* у групах та досить висока дисперсія за ознакою врожайність (рис. 5).

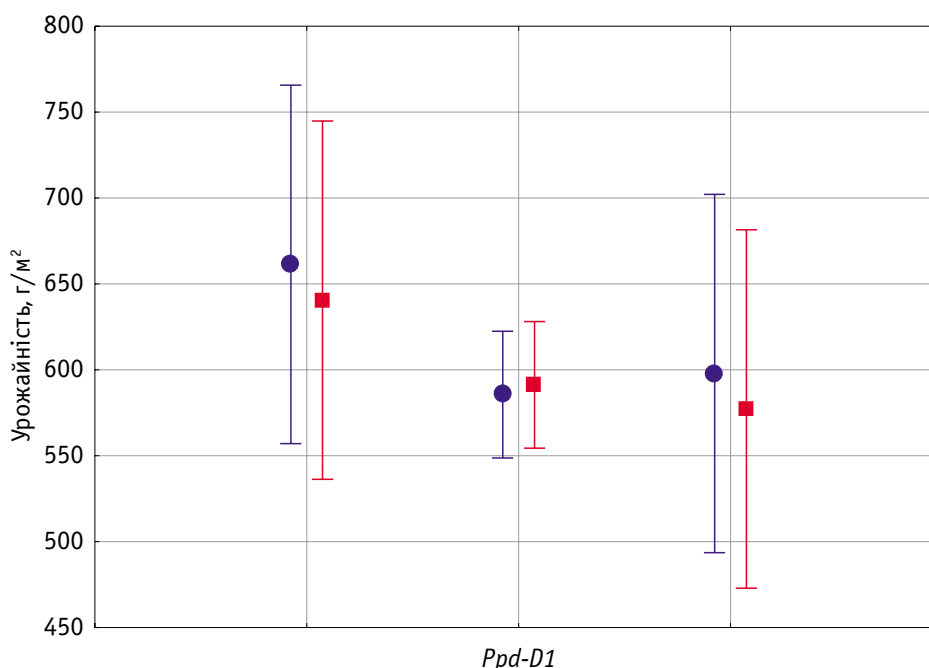


Рис. 5. Урожайність досліджених ліній залежно від алельного стану гена *Ppd-D1* в умовах Лісостепу (синій кружечок) та Полісся–Лісостепу (червоний квадрат)
Примітка. ■, ● – середнє значення, I – дисперсія.

Висновки

Проаналізовані в роботі нові сорти та лінії повною мірою відповідають напрямку селекції пшениці м'якої озимої для умов Полісся й Лісостепу, оскільки поєднують високу адаптивність до несприятливих абіотичних чинників, продуктивність, зокрема за ознаками крупнозерність, багатоквітковість, маса 1000 зерен та ін. У зазначених агрокліматичних зонах переважають сорти з *Ppd-D1a* алелем (VII гаплотип). Як показано нами раніше, усі сорти Степового екотопу [13] належали до VII гаплотипу, але серед інших сортів, що належали до лісостепового екотопу, траплялися носії *Ppd-D1b* алеля [24, 25], які належать до гаплотипів II, III та IV, проте їхній відсоток був досить малий, особливо серед озимих сортів.

За вирощування нових генотипів пшениці в умовах Лісостепу й перехідної зони Полісся–Лісостеп спостерігаються подібні тенденції щодо більш раннього колосіння та цвітіння рослин зі зменшеною чутливістю до фотоперіоду. Цікавим залишається питання – який генетичний механізм дає змогу сорту ‘Донская полукарликовая’ бути найранішим серед усіх досліджених зразків (навіть серед сортів з тим самим *Ppd-D1a* алелем).

Водночас для умов Полісся й перехідної зони Полісся–Лісостеп немає нагальної потреби створювати сорти з раннім колосінням, характерним для сорту ‘Донская полукарликовая’, оскільки для цієї екологічної ніші умови травня, час від часу, супроводжуються низькими й від'ємними температурами повітря, що спричиняє повну або часткову білоколосицю, стерильність колоса, підви-

щення утворення підгонів і, як наслідок, нерівномірне досягання й зниження продуктивності посівів.

Використана література

- Shi C., Zhao L., Zhang X. et al. Gene regulatory network and abundant genetic variation play critical roles in heading stage of polyploidy wheat. *BMC Plant Biol.* 2019. Vol. 19, Iss. 1. 6. doi: 10.1186/s12870-018-1591-z
- Worland A. J., Appendino M. L., Sayers E. J. The distribution, in European winter wheats, of genes that influence ecoclimatic adaptability whilst determining photoperiodic insensitivity and plant height. *Euphytica.* 1994. Vol. 80, Iss. 3. P. 219–228. doi: 10.1007/BF00039653
- Beales J., Turner A., Griffiths S. et al. Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2007. Vol. 115, Iss. 5. P. 721–733. doi: 10.1007/s00122-007-0603-4
- Nishida H., Yoshida T., Kawakami K. et al. Structural variation in the 5' upstream region of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-A1a* and *Ppd-B1a* identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.), and their effect on heading time. *Mol. Breed.* 2013. Vol. 31, Iss. 1. P. 27–37. doi: 10.1007/s11032-012-9765-0
- Guo Z., Song Y., Zhou R. et al. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytol.* 2010. Vol. 185, Iss. 3. P. 841–851. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03099.x
- Díaz A., Zikhali M., Turner A. et al. Copy number variation affecting the *Photoperiod-B1* and *Vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*). *PLoS One.* 2012. Vol. 7, Iss. 3. e33234. doi: 10.1371/journal.pone.0033234
- Arjona J. M., Royo C., Dreisigacker S. et al. Effect of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* allelic variants on grain number and thousand kernel weight of durum wheat and their impact on final grain yield. *Front. Plant Sci.* Vol. 9. 888. doi: 10.3389/fpls.2018.00888
- Москалець В. І., Тищенко В. М., Москалець Т. З. та ін. Екологічно пластичний, високопродуктивний сорт пшениці м'якої озимої «Аріївка». *Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області.* 2019. Вип. 26. С. 96–105.
- Москалець В. І., Москалець В. В., Москалець Т. З. Характеристика вихідного матеріалу пшениці м'якої озимої Носівської селекційно-дослідної станції ІСГМіАПВ НААН України. *Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області.* 2014. Вип. 16. С. 146–163.
- Москалець В. В., Москалець В. І., Москалець Т. З., Піка Ю. М. Агробіологічна характеристика екотипу пшениці м'якої озимої *Triticum aestivum* L. сорту Зоряна носівська. *Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області.* 2011. Вип. 11. С. 114–120.
- Власенко В. А., Кочмарський В. С., Колючий В. Т. та ін. Селекційна еволюція миронівських пшениць. Миронівка, 2012. 326 с.
- Pervais Z. H., Turi N. A., Khaliq I. et al. A modified method for high-quality DNA extraction for molecular analysis in cereal plants. *Genet. Mol. Res.* 2011. Vol. 10, Iss. 3. P. 1669–1673. doi: 10.4238/vol10-3gmr1346
- Бакума А. О., Чеботар Г. О., Лавриненко Ю. О., Чеботар С. В. Альтернативний стан генів систем *Ppd-1* та *Vrn-1* у сортів озимої м'якої пшениці Інституту зрошуваного землеробства НААН України. *Вісник ОНУ. Біологія.* 2019. Т. 24, Вип. 1. С. 49–64. doi: 10.18524/2077-1746.2019.1(44).168799
- Сайко В. Ф. Сучасні технології вирощування конкурентоспроможного зерна. *Зб. наук. праць ННЦ «Ін-т землеробства УААН».* 2004. Спец. вип. С. 26–31.
- Методика проведення експертизи сортів рослин групи зернових, круп'яних та зернобобових на придатність до поширення в Україні / за ред. С. О. Ткачик. Вінниця : Нілан-ЛТД, 2016. 82 с.
- Куликович С. Н., Куликович Е. Н. Диагностика стадий развития озимой пшеницы по шкале ВВСН. Минск : Наша Идея, 2014. 36 с.
- McDonald J. H. Handbook of Biological Statistics. 2nd ed. Baltimore, Maryland, USA : Sparky House Publ., 2009. 317 p.
- Арбузова В. С., Добровольская О. Б., Мартинек П. и др. Наследование признака «многоцветковость» у мягкой пшеницы и оценка продуктивности колоса гибридов F₂. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2016. Т. 20, № 3. С. 355–363. doi: 10.18699/VJ16.125
- Цаценко Л. В., Савиченко Д. Л. Многоцветковые формы озимой мягкой пшеницы как модельный объект в изучении репродуктивного потенциала главного колоса. *Научный журнал КубГАУ.* 2018. № 140. doi: 10.21515/1990-4665-140-024
- Wilhelm E. P. Genetic analysis of the group IV *Rht* loci in wheat: a thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy / University of East Anglia John Innes Centre, 2011. 319 p.
- Чеботарь С. В. Аллельная характеристика генов короткостебельности в генетическом пуле сортов озимой мягкой пшеницы Украины. *Генетичні ресурси рослин.* 2008. № 6. С. 96–103.
- Файт В. И., Балашова И. А., Федорова В. Р., Бальвинская М. С. Идентификация генотипов *Ppd-1* сортов мягкой пшеницы методами генетического и STS-ПЦР анализа. *Физиология раст. и генетика.* 2014. Т. 46, № 4. С. 325–336.
- Zhang X., Gao M., Wang S. et al. Allelic variation at the vernalization and photoperiod sensitivity loci in Chinese winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Front. Plant Sci.* 2015. Vol. 6. 470. doi: 10.3389/fpls.2015.00470
- Chebotar G., Bakuma A., Filimonov V., Chebotar S. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian bread wheat varieties. *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.* 2019. Вип. 80. С. 82–89. doi: 10.30970/vlubs.2019.80.10
- Філімонов В. М., Бакума А. О., Чеботар Г. О. та ін. ПЛР-аналіз генів фотоперіодичної чутливості у сортів м'якої озимої пшениці селекції Білоцерківської дослідно-селекційної станції. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* 2019. Т. 16, № 2. С. 217–226.

References

- Shi, C., Zhao, L., Zhang, X., Lv, G., Pan, Y., & Chen, F. (2019). Gene regulatory network and abundant genetic variation play critical roles in heading stage of polyploidy wheat. *BMC Plant Biol.*, 19(6), 6. doi: 10.1186/s12870-018-1591-z
- Worland, A. J., Appendino, M. L., & Sayers, E. J. (1994). The distribution, in European winter wheats, of genes that influence ecoclimatic adaptability whilst determining photoperiodic insensitivity and plant height. *Euphytica*, 80(3), 219–228. doi: 10.1007/BF00039653
- Beales, J., Turner, A., Griffiths, S., Snape, J., & Laurie, D. (2007). Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 115(5), 721–733. doi: 10.1007/s00122-007-0603-4
- Nishida, H., Yoshida, T., Kawakami, K., Fujita, M., Long, B., Akashi, Y., Laurie, D. A., & Kato, K. (2013). Structural variation in the 5' upstream region of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-A1a* and *Ppd-B1a* identified in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.), and their effect on heading time. *Mol. Breed.*, 31(1), 27–37. doi: 10.1007/s11032-012-9765-0
- Guo, Z., Song, Y., Zhou, R., Ren, Z., & Jia, J. (2010). Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytol.*, 185(3), 841–851. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03099.x
- Díaz, A., Zikhali, M., Turner, A., Isaac, P., & Laurie, D. A. (2012). Copy number variation affecting the *Photoperiod-B1* and *Vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*). *PLoS One.*, 7(3), e33234. doi: 10.1371/journal.pone.0033234

7. Arjona, J. M., Royo, C., Dreisigacker, S., Ammar, K., & Villegas, D. (2018). Effect of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* allelic variants on grain number and thousand kernel weight of durum wheat and their impact on final grain yield. *Front. Plant Sci.*, 9, 888. doi: 10.3389/fpls.2018.00888
8. Moskalets, V. I., Tyshchenko, V. N., Moskalets, T. Z., Pysarenko, P. V., Hrynyk, I. V., & Moskalets, V. V. (2019). Environmentally plastic, high-yielding variety of winter common wheat Aryivka. *Visnik Centru naukovoogo zabezpečennâ APV Harkivs'koi oblasti* [Bulletin of the Center for Science Provision of Agribusiness in the Kharkiv region], 26, 96–105 [in Ukrainian]
9. Moskalets, V. I., Moskalets, V. V., & Moskalets, T. Z. (2014). Characterization of soft winter wheat outgoing material of Nosivska breeding experiment station of NAAS of Ukraine. *Visnik Centru naukovoogo zabezpečennâ APV Harkivs'koi oblasti* [Bulletin of the Center for Science Provision of Agribusiness in the Kharkiv region], 16, 146–163. [in Ukrainian]
10. Moskalets, V. V., Moskalets, V. I., Moskalets, T. Z., & Pika, Y. M. (2011). Agrobiological characterization of wheat soft winter ecotypes *Triticum aestivum* L. cultivar Zoriana Nosivska. *Visnik Centru naukovoogo zabezpečennâ APV Harkivs'koi oblasti* [Bulletin of the Center for Science Provision of Agribusiness in the Kharkiv region], 11, 114–120. [in Ukrainian]
11. Vlasenko, V. A., Kochmarskyi, V. S., Koliuchyi V. T., Kolomiets, L. A., Khomenko, S. O., & Solona, V. Yu. (2012). *Selektsiina evoliutsiia myronivskykh pshenyts* [Selection evolution of Myronivka wheat]. Myronivka: N.p. [in Ukrainian]
12. Pervaiz, Z. H., Turi, N. A., Khaliq, I., Rabbani, M. A., & Malik, S. A. (2011). A modified method for high-quality DNA extraction for molecular analysis in cereal plants. *Genet. Mol. Res.*, 10(3), 1669–1673. doi: 10.4238/vol10-3gmr1346
13. Bakuma, A. O., Chebotar, G. O., Lavrynenko, U. O., & Chebotar, S. V. (2019). Allelic status of the *Ppd-1* and *Vrn-1* genetic systems in winter wheat varieties of the Institute of irrigated agriculture of NAAS Ukraine. *Visnik ONU. Biologiâ* [Odesa National University Herald. Biology], 24(1), 49–64. doi: 10.18524/2077-1746.2019.1(44).168799 [in Ukrainian]
14. Saiko, V. F. (2004). Modern technologies of growing competitive grain. *Zbirnik naukovih prac Nacional'nogo naukovoogo centru "Institut zemlerobstva NAAN"* [Proceedings of the NSC "Institute of Agriculture of NAAS"], *Spec. Iss.*, 26–31. [in Ukrainian]
15. Tkachyk, S. O. (2016). *Metodyka provedennia ekspertyzy sortiv roslyn hrupy zernovykh, krupianykh ta zernobobovykh na prydatnist do poshyrennia v Ukraini* [Method for DUS examination of grain, cereal and leguminous varieties in Ukraine]. Vinnytsia: Nilan-LTD. [in Ukrainian]
16. Kulinkovich, S. N., & Kulinkovich, E. N. (2014). *Diagnostika stadiy razvitiya ozimoy pshenitsy po shkale BBCH* [Diagnostics of the stages of development of winter wheat on the BBSN scale: a methodological guide]. Minsk: Nasha Ideya. [in Russian]
17. McDonald, J. H. (2009). *Handbook of Biological Statistics*. (2nd ed.). Baltimore, Maryland, USA: Sparky House Publ.
18. Arbutova, V. S., Dobrovolskaya, O. B., Martinek, P., Chumanova, E. V., & Efremova, T. T. (2016). Inheritance of signs of "many-flowered" common wheat and evaluation of productivity of the spike of F₂ hybrids. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* [Vavilov J. Gen. Breed.], 20(3), 355–363. doi: 10.18699/VJ16.125 [in Russian]
19. Tsatsenko, L. V., & Savichenko, D. L. (2018). Multiflowers forms of bread winter wheat as a model object in the research of the reproductive potential of the main ear. *Naučnyj žurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Scientific Journal of KubSAU], 140. doi: 10.21515/1990-4665-140-024 [in Russian]
20. Wilhelm, E. P. (2011). *Genetic analysis of the group IV Rht loci in wheat* (PhD. thesis). University of East Anglia John Innes Centre.
21. Chebotar, S. V. (2008). Allelic characteristics of dwarfing genes in the genetic pool of winter wheat varieties of Ukraine. *Genetični resursi roslyn* [Plant Genetic Resources], 6, 96–103. [in Russian]
22. Fayt, V. I., Balashova, I. A., Fedorova, V. R., & Balinskaja, M. S. (2014). Identification of genotypes *Ppd-1* varieties of wheat genetic methods and STS-PCR analysis. *Fiziol. Rast. Genet.* [Plant Physiology and Genetics], 46(4), 325–336. [in Russian]
23. Zhang, X., Gao, M., Wang, S., Chen, F., & Cui, D. (2015). Allelic variation at the vernalization and photoperiod sensitivity loci in Chinese winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Front. Plant Sci.*, 6, 470. doi: 10.3389/fpls.2015.00470
24. Chebotar, G., Bakuma, A., Filimonov, V., & Chebotar, S. (2019). Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian bread wheat varieties. *Visnik Lviv's'kogo universitetu. Seriâ biologična* [Visnyk of Lviv University. Biological series], 80, 82–89. doi: 10.30970/vlubs.2019.80.10
25. Filimonov, V. M., Bakuma, A. A., Chebotar, G. A., Burdeniuk-Tarasevych, L. A., & Chebotar, S. V. (2018). PCR-analysis of photoperiodous sensitivity genes in bread wheat varieties from Bilatserkovska Experimental Breeding Station. *Visn. ukr. tov. genet. sel.* [The Bulletin of Ukrainian Society of Geneticists and Breeders], 16(2), 217–226. [in Russian]

UDC 577.2:633.1

Bakuma, A. O.¹, Chebotar, H. O.¹, Tkachuk, A. V.¹, Chebotar, S. V.^{1,2*}, Moskalets, T. Z.³, & Moskalets, V. V.³ (2020). Alleles of *Ppd-1* genes that control sensitivity to photoperiod in a number of bread winter wheat genotypes. *Plant Varieties Studying and Protection*, 16(3), 253–261. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.3.2020.214926>

¹Odesa National Mechnykov University, 2 Dvorianska St., Odesa, 65082, Ukraine, *e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

²Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, NAAS of Ukraine, 3 Ovidiopol'ska doroha St., Odesa, 65036, Ukraine

³Institute of Horticulture, NAAS of Ukraine, 23 Sadova St., Novosilky, Kyiv, 03027, Ukraine

Purpose. PCR-analysis of the alleles of photoperiod sensitivity genes *Ppd-1* in cultivars and winter bread wheat lines of the Nosivska Breeding and Research Station of the V. M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine and Poltava State Agrarian Academy and comparison data of molecular genetic analysis with field experiment data that characterized heading and flowering time. **Methods.** of DNA isolation, allele-specific PCR, agarose and polyacrylamide gel electrophoresis, analysis of variance were used. **Result.** the *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b*, and *Ppd-D1b* alleles were detected in the genotype of the

cv. 'Yuvivata 60', according to the combination of polymorphisms in the nucleotide sequence of the *Ppd-D1* gene, this cultivar was assigned to the III haplotype. Line 'L41/95' was heterogeneous by alleles of the *Ppd-D1* gene, which corresponded to the haplotypes III and VII. All other tested cultivars and lines were characterized by alleles *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b* and *Ppd-D1a*, and assigned to haplotype VII. The earliest heading time in both the Forest-Steppe and Polissia–Forest-Steppe regions of Ukraine was observed for the 'Donskaya polukarlikovaya', according to the one-way variance analysis, the latest – for the 'Yuvivata 60', 'Myronivska 61' and

'L41/95', differences between these groups were significant and were about 10 days. **Conclusions.** A unique breeding material with high adaptive capacity created for cultivation in the Polissia–Forest-Steppe zone was analyzed for detection of alleles *Ppd-1* genes. There were not revealed high level polymorphism for alleles of *Ppd-1* genes among tested varieties and lines (12.5% – *Ppd-D1b* (III), 12.5% – *Ppd-D1a/b* (III/VII), 75% – *Ppd-D1a* (VII), that agrees with the

hypothesis that breeders gave a greater preference for the light-insensitive wheat genotype under Ukrainian conditions. The genotypes carriers of the *Ppd-D1a* (VII) are almost completely dominate in the southern part of Ukraine. At the same time, in more northern latitudes weather conditions of May offset the benefits that have earlier plants in the south.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; photoperiodic sensitivity; allele-specific PCR.

Надійшла 25.08.2020

Погоджено до друку 22.09.2020