

А. О. Бакума¹, аспірантка,

Н. В. Булавка², к.б.н., ст. наук. співробітник,

С. В. Чеботар^{1,3}, д.б.н., завідувач кафедри генетики та молекулярної біології,
провід. наук. співробітник

¹Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна; s.v.chebotar@gmail.com

²Миронівський інститут пшениці імені В. М. Ремесла НААН України,
вул. Центральна, 68, с. Центральне, Миронівський район, Київська область,
08853, Україна

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

ГЕНОТИПИ СУЧАСНИХ МИРОНІВСЬКИХ СОРТІВ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЗА *Ppd-A1*-, *Ppd-B1*-, *Ppd-D1*-ГЕНАМИ ТА ЇХ ЧУТЛИВІСТЬ ДО ФОТОПЕРІОДУ

Визначено аallelний стан генів *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* та чутливість до фотоперіоду в сучасних миронівських сортах озимої м'якої пшениці. Сорти диференційовано на три групи, що різняться генотипами за системою генів *Ppd-1* та показано для цих груп залежність чутливості до скорочення світлового дня від генотипу. У межах груп сортів з алелями *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* та *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* також спостерігали варіювання за тривалістю періоду до виходу на зерно.

Ключові слова: м'яка пшениця; чутливість; фотоперіод; гени *Ppd-A1*; *Ppd-B1*; *Ppd-D1*.

Однією з найважливіших господарсько-цінних ознак, яка визначає адаптивність культури до навколишнього середовища, є чутливість до фотоперіоду.

Багато видів злаків, у тому числі м'яка пшениця, реагують на зміну тривалості світлового дня прискоренням або уповільненням розвитку. Ступінь такої реакції у м'якої пшениці в основному обумовлений впливом трьох генів фотоперіодичної реакції ортологічної серії *Ppd-1*, які локалізовані в другій хромосомі кожного субгену ABD пшениці: *Ppd-A1* – 2A, *Ppd-B1* – 2B, *Ppd-D1* – 2D [14, 15, 18]. Домінантні алелі (*a*) генів *Ppd* знижують чутливість до тривалості дня та скорочують період до колосіння, а генотипи з рецесивними алелями (*b*) мають сильну реакцію на фотоперіод [4].

Присутність у генотипах сучасних сортів м'якої озимої пшениці одного або декількох доміантних генів *Ppd* скорочує тривалість вегетаційного періоду, що дозволяє рослинам уникати посухи та високих температур у період наливу зерна, а також епіфітотій бурої й стеблової іржі [11]. Вказані факти свідчать про селекційну цінність слабочутливих до фотоперіоду генотипів для умов

ступу та лісостепу України [9]. Але здатність затримувати розвиток при скороченні світлового дня восени для озимої пшениці є важливим адаптаційним механізмом, що забезпечує захист рослин у критичні фази від ушкоджень морозами, так само як і яровизаційна потреба, без забезпечення якої неможливий перехід до генеративного розвитку рослин. Генні системи, що забезпечують напередодні зимового періоду затримку розвитку, мають значний вплив на пристосування рослин до умов зимівлі [7, 17]. Слід відмітити, що поєднання потреби у високій тривалості яровизації з сильною фотоперіодичною чутливістю забезпечує високу адаптивність до жорстких природних умов, але перешкоджає швидкому розвитку рослин навесні, а відтак не дозволяє досягти рівня продуктивності, характерного для сучасних сортів інтенсивного типу. Для отримання високопродуктивних сортів озимої м'якої пшениці з високим адаптивним потенціалом необхідним є поєднання у їхньому генотипі певних алелів генів, що контролюють яровизаційну потребу та фотоперіодичну чутливість. Таким чином, інформація про алельний стан генів, що відповідають за реакцію на фотоперіод, є важливою для отримання нового селекційного матеріалу, достовірних характеристик генотипів сучасних українських сортів, які можна застосовувати в якості батьківських форм, зокрема сортів м'якої пшениці селекції Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла Національної академії аграрних наук України (МІП), вивченню яких за алельним станом генів системи *Ppd-1* присвячена робота.

Метою роботи є визначення алельного стану генів *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* у сортів озимої м'якої пшениці з МІП за допомогою молекулярних маркерів та зіставлення отриманих даних щодо генотипів за *Ppd-1*-генами з показниками чутливості сортів до фотоперіоду.

Матеріали та методи досліджень

Матеріалом для дослідження слугували сорти селекції МІП: Березиня миронівська, Горлиця миронівська, Економка, Зимоярка, Крижинка, Легенда миронівська, Миронівська золотOVERXа, Миронівська 65, Миронівська ранньостигла, Миронівська сторічна, Оберіг миронівський, Пам'яті Ремесла, Світанок миронівський, Ювіляр миронівський, що занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2000–2014 рр. [5].

Для вивчення фотоперіодичної чутливості у 2015 році проведено польовий дослід, у ході якого проросле насіння яровизували протягом 60 діб, висаджували у вегетаційні посудини на відкритому майданчику 16 квітня і вирощували за природного та штучно скороченого (12 годин) фотоперіоду по 30 рослин (2 вегетаційні посудини) кожного сорту у кожному з варіантів дослідження. Скорочення фотоперіоду здійснювали шляхом закривання рослин ящиком з темної плівки з 7 по 75 день після висадки. Дату виколювання кожної рослини відмічали

етикеткою. Дослід було закінчено 6 серпня, на 112 день після висаджування проростків.

ДНК виділяли з етиольованих паростків пшениці згідно з методичними рекомендаціями [6]. ПЛР проводили на ампліфікаторі «Analytik Jena» (Flex Cycler, Німеччина), як рекомендовано [12, 16, 19]. Для ідентифікації алелів генів *Ppd* використовували праймери, розроблені Дж. Біалес [12], М. Секі [19] та Г. Нішида [16] із співавторами (табл. 1).

Таблиця 1

Алель-специфічні праймери до генів *Ppd*

Праймер	Алель	Нуклеотидна послідовність праймерів	Розмір фрагментів ампліфікації, п. н.
Ppd-D1-F Ppd-D1-R1	<i>Ppd-D1b</i>	5'-ACGCCTCCCACTACACTG-3' 5'-GTTGGTTCAAACAGAGAGC-3'	414
Ppd-D1-F Ppd-D1-R2	<i>Ppd-D1a</i>	5'-ACGCCTCCCACTACACTG-3' 5'-CACTGGTGGTAGCTGAGATT-3'	288 2 377
Ppd-B1-F1 Ppd-B1-R1	<i>Ppd-B1b</i> <i>Ppd-B1a</i>	5'-ACACTAGGGCTGGTTCGAAGA-3' 5'-CCGAGCCAGTGC AAATTAAC-3'	1 292 1 600
Ppd-A1-F1 Ppd-A1-R2	<i>Ppd-A1b</i>	5'-CGTACTCCCTCCGTTTCTTT-3' 5'-GTTGGGGTCGTTTGGTGGTG-3'	299
Ppd-A1-F1 Ppd-A1-R3	<i>Ppd-A1a</i>	5'-CGTACTCCCTCCGTTTCTTT-3' 5'-AATTTACGGGGACCAAATACC-3'	338

Продукти ампліфікації фракціонували методом горизонтального електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням бромистого етидію та візуалізували за допомогою системи відеодокументації «Gel Doc™ XR+ System Bio-Rad» (США). Розміри ампліфікованих фрагментів обчислювали, використовуючи стандарт молекулярної маси ladder mix.

Статистичне опрацювання даних проводили засобами варіаційної статистики [8].

Результати досліджень та їх обговорення

Було визначено алельний стан генів *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* у сортів озимої м'якої пшениці МП за допомогою алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції. Згідно даних електрофоретичного розподілу продуктів ампліфікації алель-специфічної ПЛР у сортів: Горлиця миронівська, Економка, Крижинка,

Легенда миронівська, Миронівська 65, Миронівська ранньостигла, Оберіг миронівський, Пам'яті Ремесла, Світанок миронівський, Ювіляр миронівський виявлено фрагмент ампліфікації розміром 288 п. н., який відповідає алелю *Ppd-D1a*, що зумовлює нечутливість до фотоперіоду (рис. 1А, 1В). У сортів Берегиня миронівська, Зимоярка, Миронівська золотоверха, Миронівська сторічна виявлено фрагмент ампліфікації, розміром 414 п. н., який визначає рецесивний алель *Ppd-D1b* (рис. 1Б).

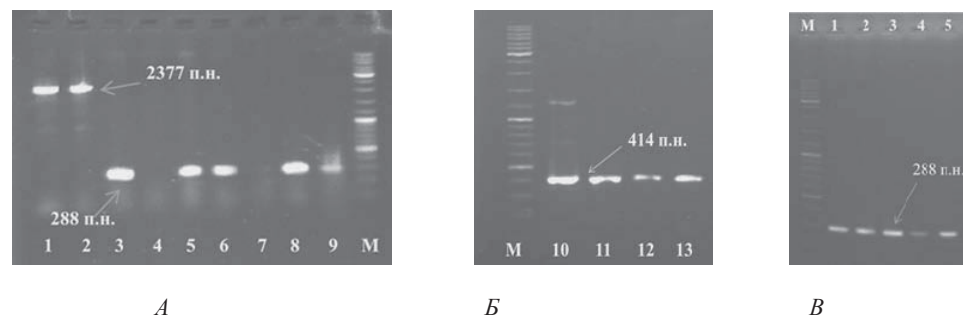


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з алель-специфічними праймерами:

А – до алелю *Ppd-D1a*: 1 – Зимоярка; 2 – Берегиня миронівська; 3 – Горлиця миронівська; 4 – Миронівська сторічна; 5 – Світанок миронівський; 6 – Оберіг миронівський; 7 – Миронівська золотоверха; 8 – Миронівська ранньостигла; 9 – Легенда миронівська; Б – до алелю *Ppd-D1b*: 10 – Зимоярка; 11 – Берегиня миронівська; 12 – Миронівська сторічна; 13 – Миронівська золотоверха; В – до алелю *Ppd-D1a*: 1 – Ювіляр миронівський; 2 – Миронівська 65; 3 – Економка; 4 – Крижинка; 5 – Пам'яті Ремесла; М – маркер молекулярної маси ladder mix.

Крім того, у сортів Берегиня миронівська та Зимоярка з праймерами до алелю *Ppd-D1a* виявлено фрагмент ампліфікації розміром 2 377 п. н. Згідно даних наведених Beales et al. [12] фрагмент 2 377 п. н. іноді також тестується в сортах пшениці, що свідчить про те, що праймери *Ppd-D1-F* і *Ppd-D1-R2* можуть ампліфікувати послідовність розміром 2 377 п. н. інтактного гену, але на практиці ця реакція не в змозі конкурувати з ампліфікацією менших за розмірами продуктів. Припущення стосовно відмінностей генотипів пшениці, для яких детектовано фрагмент ампліфікації розміром 2 377 п. н., на сьогоднішній день у публікаціях відсутні.

За локусом *Ppd-B1* виявлено фрагмент ампліфікації 1 292 п. н. для всіх проаналізованих сортів, така молекулярна маса фрагмента ампліфікації за даними М. Секі із співавторами [19] вказує на наявність алелю *Ppd-B1b*, тобто всі сорти несуть алель *Ppd-B1b* (рис. 2А, Б, В).

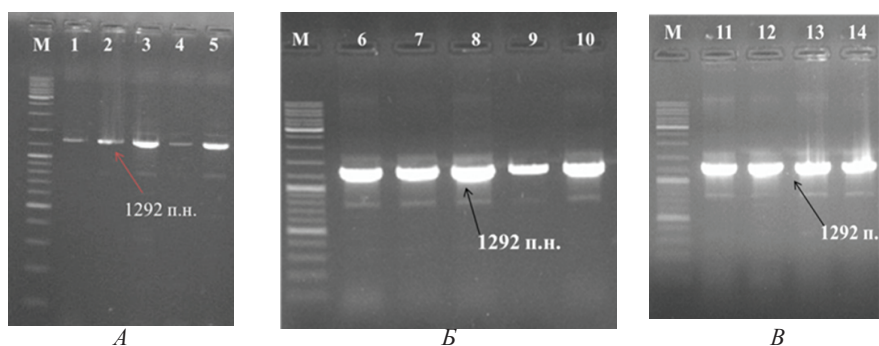


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з алель-специфічними праймерами:

А – до алелю *Ppd-B1b*: 1 – Зимоярка; 2 – Берегиня миронівська; 3 – Горлиця миронівська; 4 – Миронівська сторічна; 5 – Світанок миронівський; Б – до алелю *Ppd-B1b*: 6 – Оберіг миронівський; 7 – Миронівська золотоверха; 8 – Миронівська ранньостигла; 9 – Легенда миронівська; 10 – Ювіляр миронівський; В – до алелю *Ppd-B1b*: 11 – Миронівська 65; 12 – Економка; 13 – Крижинка; 14 – Пам’яті Ремесла; М – маркер молекулярної маси ladder mix.

В результаті ПЛР з алель-специфічними праймерами до алелів гену *Ppd-A1* у всіх сортів, крім сорту Горлиця миронівська, виявлено фрагмент ампліфікації, розміром 299 п. н., який відповідає алелю *Ppd-A1b* (рис. 3А, Б).

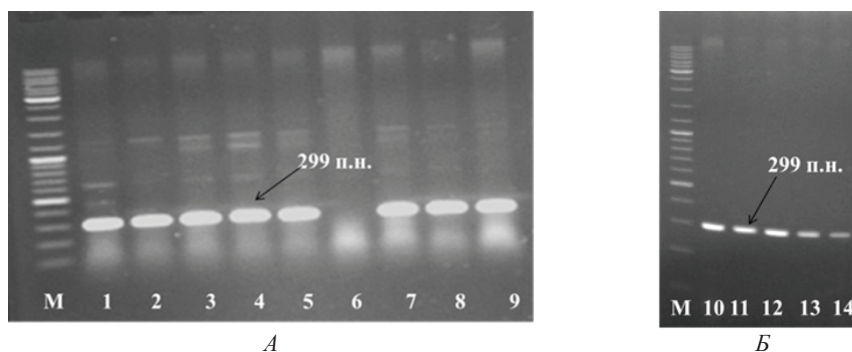


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з алель-специфічними праймерами:

А – до алелю *Ppd-A1b*: 1 – Зимоярка; 2 – Берегиня миронівська; 3 – Оберіг миронівський; 4 – Миронівська сторічна; 5 – Світанок миронівський; 6 – Горлиця миронівська; 7 – Миронівська золотоверха; 8 – Миронівська ранньостигла; 9 – Легенда миронівська; Б – до алелю *Ppd-A1b*: 10 – Ювіляр миронівський; 11 – Миронівська 65; 12 – Економка; 13 – Крижинка; 14 – Пам’яті Ремесла; М – маркер молекулярної маси ladder mix.

Співставлення даних молекулярно-генетичного аналізу з результатами польового дослідження, проведеного на базі МІП у 2015 році, дозволило оцінити ступінь впливу системи генів *Ppd* на чутливість рослин пшениці до фотоперіоду.

Представлено генотипову характеристику сортів за *Ppd-1*-алелями та їхню фотоперіодичну чутливість, визначену за зміною тривалості періоду від сходів до виколошування при штучному скороченні світлового дня (табл. 2). Фотоперіодичну чутливість сортів – Ювіляр миронівський, Миронівська ранньостигла, Пам’яті Ремесла, було вивчено у попередні роки (2007, 2008) [2].

Таблиця 2

Генотипова характеристика за алелями генів *Ppd-1* і фотоперіодична чутливість сортів озимої м’якої пшениці Миронівського інституту пшениці

№	Назва сорту	Генотип	Тривалість періоду сходи-колосіння (діб)			
			природний фотоперіод	короткий фотоперіод	d	t
1	Горлиця миронівська	<i>Ppd-A1a/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	71,3	72,4	1,1	1,87
2	Оберіг миронівський	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	90,1	94,0	3,9**	7,01
3	Світанок миронівський	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	85,0	91,0	6,0**	3,48
4	Крижинка	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	82,1	90,1	8,0**	5,43
5	Легенда миронівська	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	77,8	86,3	8,5**	5,94
6	Миронівська 65	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	65,5	77,7	12,2**	6,48
7	Економка	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	75,7	92,6	16,9**	8,72
8	Ювіляр миронівський	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	52,2	56,0	3,8 ²	-
9	Миронівська ранньостигла	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	42,0	48,3	6,3 ¹	-
10	Пам’яті Ремесла	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a</i>	45,0	54,1	9,1 ²	-
11	Миронівська сторічна	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b</i>	87,0	107,0	20,0**	18,22
12	Миронівська золотоверха	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b</i>	70,3	91,4	21,1**	10,90
13	Берегиня миронівська	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b</i>	81,7	107,0	25,3**	13,30
14	Зимоярка	<i>Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b</i>	59,2	96,0	36,8**	33,89

Примітка: d – різниця за тривалістю періоду до колосіння між рослинами, що вирощуються в умовах скороченого і природного дня; t – критерій Стюдента; ** – рівень значимості = 0,01; ¹ – фотоперіодична чутливість сорту вивчалась у 2007 році; ² – фотоперіодична чутливість сорту вивчалась у 2008 році.

Сорт Горлиця миронівська ($d = 1,1$) з генотипом *Ppd-A1a/Ppd-B1b/Ppd-D1a* виявився нечутливим до скорочення фотоперіоду. У сортів з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* затримка виколошування при вирощуванні за скороченого фотоперіоду становила від 3,8 – у сорту Ювіляр миронівський – до 16,9 діб – у сорту Економка, тобто ці сорти виявили слабку та середню чутливість до фотоперіоду. Сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* мали сильну реакцію на скорочення довжини дня – від 20 діб затримки виколошування – у сорту Миронівська сторічна – до 36,8 діб – у сорту Зимоярка. Особливо сильну чутливість до фотоперіоду виявив останній сорт, який є дворучкою [3], тобто виколошується за весняного посіву без яровизації, а отже здатність його до перезимівлі зумовлена саме затримкою розвитку за короткої тривалості дня восени. Зазначимо також, що, окрім сорту Зимоярка, значною затримкою виколошування (25,3 доби) при вирощуванні за короткого фотоперіоду відзначався сорт Берегиня миронівська. За даними алель-специфічної ПЛР до *Ppd-D1a* з ДНК, виділеної з етиольованих паростків пшениці цих сортів, детектовано фрагмент ампліфікації розміром 2 377 п. н. у обох вказаних сортів.

За тривалістю періоду до колосіння на природному та на короткому фотоперіоді до групи I належить один сорт – Горлиця миронівська з генотипом *Ppd-A1a/Ppd-B1b/Ppd-D1a*. До групи II – сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a*, до III – сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b*. Різниця за середньою тривалістю періоду до виколошування рослин поміж вказаними групами була значно вищою при вирощуванні за скороченого світлового дня порівняно з варіантом досліду, коли рослини вирощувались за природної довжини дня (табл. 3). Це свідчить, по-перше, про те, що досліджувана нами система генів *Ppd* контролює насамперед реакцію рослин м'якої пшениці на скорочену довжину дня, а, по-друге, що на темпи розвитку рослин значною мірою впливають ще й інші генетичні системи, зокрема, вірогідно, й ті, що зумовлюють її яровизаційну потребу.

Таблиця 3

Відмінності між групами сортів з різними *Ppd-I*-алелями за тривалістю періоду сходи-колосіння на природному та на короткому фотоперіоді

Групи сортів за генотипом	Природний фотоперіод		Короткий фотоперіод	
	d	t	d	t
I/II	7,58**	4,78	16,27**	11,39
I/III	3,64*	2,02	28,10**	18,52
II/III	3,93**	2,80	11,83**	11,12

Примітка: I – сорти з генотипом *Ppd-A1a/Ppd-B1b/Ppd-D1a*; II – сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a*;

III – сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b*; d – різниця між групами генотипів за тривалістю періоду сходи-колосіння (діб); t – критерій Ст'юдента; ** – рівень значимості = 0,01; * – рівень значимості = 0,05.

Також було проаналізовано різницю за тривалістю періоду до колосіння між окремими сортами у середині груп з певним генотипом: *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* (табл. 4) та *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* (табл. 5) за природного та скороченого фотоперіоду. Зазначимо, що в обох варіантах досліду при вирощуванні навесні з попередньою яровизацією різниця поміж сортами озимої пшениці була значно більшою, ніж та, що зазвичай спостерігається у польових умовах за осіннього посіву, що дозволяє виявити генетичні відмінності поміж сортами за фенотиповим проявом особливостей розвитку рослин. У групі II, до якої належать сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a*, за природного фотоперіоду найбільше відрізнялись від інших сорти Оберіг миронівський, тривалість періоду сходи – колосіння у якого була найдовшою, та Миронівська 65 з найкоротшою тривалістю вказаного періоду. Зауважимо, що сорт Оберіг миронівський за раніше отриманими даними [1] має яровизаційну потребу тривалістю 50 діб, що вочевидь зумовлює його уповільнений у порівнянні з іншими сортами розвиток.

Таблиця 4

Відмінності між сортами миронівського інституту пшениці з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* за тривалістю періоду сходи-колосіння на природному та короткому фотоперіоді за 2015 рік

с орти	Оберіг миронівський	с вітанок миронівський	Крижинка	Легенда	м миронівська 65	Економка
Оберіг миронівський	0	5,52**	7,99**	11,93**	24,56**	14,37**
Світанок миронівський	2,95**	0	2,94	7,22**	19,52**	9,33**
Крижинка	3,86**	0,91	0	4,28**	16,57**	6,39**
Легенда миронівська	7,68**	4,73**	3,82*	0	12,29**	2,11
Миронівська 65	16,33**	13,38**	12,48**	8,65**	0	10,18**
Економка	1,43	1,52	2,43	6,25**	14,90**	0

Примітка: над діагоналлю – різниця (добы) між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* за тривалістю періоду сходи – колосіння на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця (добы) між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* за тривалістю періоду сходи – колосіння на короткому фотоперіоді; ** – рівень значимості = 0,01; * – рівень значимості = 0,05.

Таблиця 5

Відмінності між сортами Миронівського інституту пшениці з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за датою колосіння на природному та короткому фотоперіоді за 2015 рік

Сорти	Миронівська сторічна	Миронівська золотоверха	Берегиня миронівська	Зимоярка
Миронівська сторічна	0	16,78**	5,38*	27,82**
Миронівська золотоверха	15,58**	0	11,39**	11,04**
Берегиня миронівська	0,07	15,65**	0	22,44**
Зимоярка	11,32**	4,26*	11,39**	0

Примітка: над діагоналлю – різниця (добы) між сортами МП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за датою колосіння на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця (добы) між сортами МП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за датою колосіння на короткому фотоперіоді; ** – рівень значимості = 0,01; * – рівень значимості = 0,05.

При вирощуванні на короткому фотоперіоді сорти у групі з цим же генотипом мали різницю за тривалістю періоду від сходів до колосіння загалом нижчу, у ряді випадків недостовірну, вона варіювала від 0,91 доби (Світанок миронівський та Крижинка) до максимуму 16,33 доби (Оберіг миронівський та Миронівська 65).

Серед досліджених сучасних миронівських сортів пшениці озимої визначено 4 сорти – носії генотипу *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* (III група сортів); всі ці сорти мали достовірні попарні відмінності за датою колосіння на природному фотоперіоді, причому мінімальна різниця 5,38 діб відмічена для Миронівської сторічної та Берегині миронівської, максимальна ж різниця спостерігалася між Миронівською сторічною та Зимояркою – 27,82 діб. Для сортів цієї групи, чутливих до скорочення довжини дня, найбільш помітно, що темпи їх розвитку за природного фотоперіоду навесні залежать від інших генетичних систем, окрім *Ppd*, пов'язаних найскоріше з їхньою яровизаційною потребою, оскільки сорт Зимоярка, який є дворучкою і може виколошуватись без впливу яровизаційних температур і виколошується за таких умов вирощування першим, Миронівська золотоверха, яка за отриманими даними при вивченні особливостей її розвитку має яровизаційну потребу тривалістю 30 діб – другою, Берегиня миронівська (яровизаційна потреба 40 діб) – третьою, а Миронівська сторічна (яровизаційна потреба 50 діб) – останньою [1]. Цікаво, що на короткому фотоперіоді різниця між сортами цієї групи за темпами їхнього розвитку значно скорочується: різниця між сортами Миронівська сторічна та Берегиня миронівська визначалася як недостовірною, максимальна різниця обох вказаних сортів з Миронівською золотоверхою становить приблизно 16 діб, а з Зимояркою – близько 11. Отже,

за короткого світлового дня знижується вплив на темпи розвитку рослин генетичних систем, що зумовлюють їхню яровизаційну потребу, і зростає вплив генів, що зумовлюють чутливість до фотоперіоду. Крім того, наявність достовірної різниці між строками колосіння, визначеними для цих сортів, може бути викликана тим, що ці сорти відносяться до різних гаплотипів у межах визначених алелів генів *Ppd-1*. За попередніми даними [13] у двох контрастних за фенотиповим проявом алелів *Ppd-D1a* (забезпечує нечутливість до фотоперіоду) і *Ppd-D1b* (присутній у чутливих до фотоперіоду рослин озимої пшениці) знайдено поліморфізм нуклеотидної послідовності, який автори розділили на шість функціонально відмінних гаплотипів. У цієї ж роботи було [13] показано, що визначені гаплотипи контролюють різний рівень експресії послідовності *Ppd-D1* і по різному впливають на час колосіння. Так, у сортів, які були віднесені до гаплотипу I та мають делецію розміром 2 089 п. н. перед кодувчою ділянкою (алель *Ppd-D1a*), середня тривалість періоду до колосіння була найменшою (207 діб). Наявність TE-інсерції в першому інтроні нуклеотидної послідовності алелю *Ppd-D1b* (гаплотип III) знижує його рівень експресії, завдяки чому такі сорти виголошуються найдовше (217 діб). Сорти, віднесені до гаплотипу II (делеція 2 089 п. н. відсутня), гаплотипу IV (наявна делеція розміром 5 п. н. в сьомому екзоні) та гаплотипу V (мають інсерцію розміром 16 п. н. у восьмому екзоні), мали середню тривалість періоду до колосіння 210, 211 та 208 діб відповідно. Виходячи з нашого припущення стосовно миронівських сортів, в подальших дослідженнях плануємо перевірити ці сорти на наявність зазначених мутацій за допомогою молекулярних маркерів.

Результати дослідів підтверджують вплив системи генів *Ppd-1* м'якої пшениці на темпи розвитку рослин, особливо помітний за короткого світлового дня, який відповідає тривалості дня восени при підготовці рослин до зими. Для оптимального виживання рослин пшениці м'якої озимої протягом зимівлі необхідним є поєднання у генотипі певних алелей генів, що контролюють фотоперіодичну чутливість з тими, що відповідають за яровизаційну потребу і вивчення яких може бути предметом подальших досліджень. Використання молекулярних маркерів здатне істотно прискорити процес отримання поліпшених генотипів і зробити його більш скерованим.

Висновки

1. Серед досліджених сучасних сортів пшениці МПП визначено три групи сортів, що відрізняються генотипами за генами *Ppd-1*:

I група – генотип *Ppd-A1a/Ppd-B1b/Ppd-D1a* – Горлиця миронівська;

II група – генотип *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* – Крижинка, Легенда миронівська, Миронівська 65, Миронівська ранньостигла, Оберіг миронівський, Пам'яті Ремесла, Світанок миронівський, Ювіляр миронівський;

III група – генотип *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* – Берегиня миронівська, Зимоярка, Миронівська золотоверха, Миронівська сторічна.

2. Встановлено залежність чутливості досліджених сортів до скорочення світлового дня від генотипу за системою генів *Ppd*. Сорт Горлиця миронівська з генотипом *Ppd-A1a/Ppd-B1b/Ppd-D1a* виявився нечутливим до скорочення фотоперіоду. У сортів з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* затримка виколошування при вирощуванні за скороченого фотоперіоду становила від 3,8 до 16,9 діб, тобто ці сорти виявили слабку та середню чутливість до фотоперіоду. Сорти з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* мали сильну реакцію на скорочення довжини дня, затримка виколошування тривала від 20 до 36,8 діб.

3. Найбільш значною затримкою виколошування при вирощуванні за короткого фотоперіоду відзначалися сорти Берегиня миронівська (25,3 діб) та Зимоярка (36,8 діб). Для обох цих сортів детектовано фрагмент ампліфікації розміром 2 377 п. н. з алель-специфічними праймерами до *Ppd-D1a*.

4. Різниця за середньою тривалістю періоду до виколошування рослин поміж вказаними групами була значно вищою при вирощуванні за скороченого світлового дня порівняно з варіантом досліду, коли рослини вирощувалися за природної довжини дня, що вказує на те, що досліджувана система генів *Ppd-1* контролює, насамперед, реакцію рослин м'якої пшениці на скорочену довжину дня.

5. Виявлено значну взаємозалежність фенотипового прояву алелей генів *Ppd-1*, що контролюють чутливість до фотоперіоду рослин пшениці м'якої озимої, з генетичними системами, що зумовлюють тривалість яровизаційної потреби рослин.

Список використаної літератури

1. Булавка Н. В. Яровизаційна потреба сортів озимої м'якої пшениці в зв'язі з їх морозостійкістю / Н. В. Булавка // Земледілля і селекція в Білорусі. Сб. научн. тр. – Мн. ІВЦ «Мінфін». – 2014. – Вип. 50. – С. 383–392.
2. Булавка Н. В. Яровизаційна потреба та фотоперіодична чутливість сортів озимої м'якої пшениці селекції МПП / Н. В. Булавка // Агробіологія: збірник наукових праць Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – 2010. – Вип. 2 (69). – С. 138.
3. Василюк П. М. Агробіологічні особливості сортів-дворучок пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L. / П. М. Василюк, Л. І. Улич // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. – 2012. – № 2. – С. 4–7.
4. Гончаров Н. П. Генетический контроль фотопериодической реакции у мягкой пшеницы (обзор) / Н. П. Гончаров // С.-х. биология. – 1986. – № 11. – С. 84–90.
5. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2015 році [Електронний ресурс]. – Режим доступу до матеріалів: <http://vet.gov.ua/sites/default/files/ReestrEU-2015-04-23.pdf>.
6. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: [научно – методическое руководство / ред. Ю. М. Сиволап] – К.: Аграрна наука, 1998. – С. 8–33.
7. Мокану Н. В. Различия эффектов аллелей генов *Vrd 1* и *Ppd-D1* по зимо- морозостойкости и урожаю у озимой пшеницы / Н. В. Мокану, В. И. Файт // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 6. – С. 26–33.
8. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск: Вышэйшая школа, 1973. – 319 с.
9. Файт В. И. Влияние различий генов *Ppd* на агрономические признаки озимой мягкой пшеницы / В. И. Файт, В. Р. Фёдорова // Цитология и генетика. – 2007. – № 6. – С. 26–33.
10. Файт В. И. Идентификация и эффекты аллелей генов темпов развития пшеницы: автореф. дис. на соискание уч. степени д-ра биол. наук: спец. 03.00.15 «Генетика» / В. И. Файт – Одесса, 2008. – 40 с.
11. Федорова В. Р. Відмінності ефектів генів фотоперіодичної реакції в озимій м'якої пшениці: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.15 «Генетика» / В. Р. Федорова. – Одеса, 2004. – 19 с.

12. Beales J. A Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod intensive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Beales, A. Turner, S. Griffiths et al // Theor. Appl. Genet. – 2007. – Vol. 115. – P. 721–723.
13. Guo Z. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene / Z. Guo, Y. Song, R. Zhou, Z. Ren, J. Jia // NewPhytol. – 2010. – Vol. 185, № 3. – P. 841–851.
14. Law C.N. A genetic study of day-length response in wheat / C. N. Law, J. Sutka, A. J Worland // Heredity. – 1978. – Vol. 41, № 2. – P. 185–191.
15. McIntosh R. A. Catalogue of gene symbols for wheat / R. A. McIntosh, Y. Yamazaki, K. M. Devos et al. // Proc. 10th Inter. Wheat Genet. Symp. – Paestum (Italy). – 2003. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/top/top.jsp>.
16. Nishida H. 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 / H. Nishida, T. Yoshida, K. Kawakami et al. // Molecular Breeding. – 2013. – Vol. 31, № 1. – P. 27–37.
17. Prasil I.T. The relationship between vernalization requirement and frost tolerance in substitution lines of wheat / I. T. Prasil, P. Prasilova, K. Pankova // Biologia plantarum. – 2005. – № 49 (2). – P. 95–200.
18. Scarth R. The control of the day-length response in wheat by the genes 2 chromosomes / R. Scarth, C. N. Law // Z. Pflanzenzucht. – 1984. – Vol. 92, № 2. – P. 140–150.
19. Seki M. Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-B1a* and *Ppd-D1a* and their effect on heading time in Japanese wheat cultivars / M. Seki, M. Chono, H. Matsunaka, M. Fujita, S. Oda, K. Kubo, C. Kiribuchi-Otobe, H. Kojima., H. Nishida, K. Kato // Breeding Sci. – 2011. – Vol. 61. – P. 405–412.

Стаття надійшла до редакції 28.01.2016

А. А. Бакума¹, Н. В. Булавка², С. В. Чеботарь^{1,3}

¹Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина

²Мироновский институт пшеницы имени В. М. Ремесла НААН Украины, ул. Центральная, 68, с. Центральное, Мироновский район, Киевская область, 08853, Украина

³Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения НААН Украины, ул. Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина

ГЕНОТИПЫ СОВРЕМЕННЫХ МИРОНОВСКИХ СОРТОВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО *Ppd-A1*-, *Ppd-B1*-, *Ppd-D1*-ГЕНАМ И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФОТОПЕРИОДУ

Резюме

Проблема. Система генов фотопериодической реакции *Ppd-I* влияет на скорость развития мягкой пшеницы. Доминантные аллели (*a*) генов *Ppd* снижают чувствительность к продолжительности дня и сокращают период до колошения, а генотипы с рецессивными аллелями (*b*) имеют сильную реакцию на фотопериод. Информация об аллельном состоянии генов, отвечающих за реакцию на фотопериод, важна для получения нового селекционного материала и достоверных характеристик генотипов современных украинских сортов, которые можно применять в качестве родительских форм. **Цель работы** заключалась в определении аллельного состояния генов *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* в современных мироновских сортах озимой мягкой пшеницы с помощью молекулярных маркеров и сопоставлении полученных данных о генотипах по *Ppd-I*-генам с показателями чувствительности сортов к фотопериоду. **Методы.** Аллель-специфичная ПЦР с праймерами к генам *Ppd-D1*, *Ppd-A1*, *Ppd-B1*. **Результаты.** Определено аллельное состояние генов *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* и чувствительность к фотопериоду в современных мироновских сортах озимой

мягкой пшеницы. **Выводы.** Сорты дифференцированы на три группы, различающиеся генотипами по системе генов *Ppd-1* – I группа – генотип *Ppd-A1a* / *Ppd-B1b* / *Ppd-D1a*, II группа – генотип *Ppd-A1b* / *Ppd-B1b* / *Ppd-D1a*; III группа – генотип *Ppd-A1b* / *Ppd-B1b* / *Ppd-D1b* – и показана для этих групп зависимость чувствительности к сокращению светового дня от генотипа. В рамках групп сортов с аллелями *Ppd-A1b* / *Ppd-B1b* / *Ppd-D1a* и *Ppd-A1b* / *Ppd-B1b* / *Ppd-D1b* также наблюдали варьирование по продолжительности периода до колошения.

Ключевые слова: мягкая пшеница; чувствительность; фотопериод; гены *Ppd-A*; *Ppd-B1*; *Ppd-D1*.

A. O. Vakuma¹, N. V. Bulavka², S. V. Chebotar^{1,3}

¹Odesa National Mechnykov University, Department of Genetics and Molecular Biology,

2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine

²The V. M. Remeslo Myronivka Institute of wheat National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,

68, Centralna str., s. Central, Myronovskyy area, Kievska region, 08853, Ukraine

³Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

3, Ovidiopolska doroga str., Odesa, 65036, Ukraine

THE GENOTYPES OF MODERN MYRONIVSKY VARIETIES OF WINTER WHEAT FOR *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* GENES AND THEIR SENSITIVITY TO PHOTOPERIOD

Abstract

Problem. The system of photoperiodic response genes *Ppd-1* affects the speed of winter wheat growth. Dominant alleles (*a*) of *Ppd* genes reduce the sensitivity to daylength and shorten the time period before heading, while genotypes with recessive alleles (*b*) have a strong response to photoperiod. Information about the alleles of the photoperiod genes is important for obtaining new breeding material and reliable characteristics of the genotypes of modern Ukrainian varieties which can be used as parental forms. **The aim** of the work was to determine alleles of genes *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* for modern Myronivsky varieties of winter wheat using molecular markers and to compare the genotypes according to *Ppd-1* genes with the sensitivity of varieties to photoperiod. **Methods.** We used methods of allele-specific PCR with primers to *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* genes. **Results.** Alleles of genes *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* and sensitivity to photoperiod for modern Myronivsky varieties of winter wheat have been detected. **Conclusion.** Varieties have been differentiated into three groups, with different genotypes according to the system of genes *Ppd-1* – group I – genotype *Ppd-A1a*/*Ppd-B1b*/*Ppd-D1a*, group II – genotype *Ppd-A1b*/*Ppd-B1b*/*Ppd-D1a*, group III – genotype *Ppd-A1b*/*Ppd-B1b*/*Ppd-D1b* – and the dependence of the sensitivity to reduction of daylight according to genotype has been shown for these groups. Also, within the group of varieties with alleles *Ppd-A1b*/*Ppd-B1b*/*Ppd-D1a* and *Ppd-A1b*/*Ppd-B1b*/*Ppd-D1b* variation in time of heading was observed.

Key words: winter wheat, sensitivity; photoperiod, genes *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1*.

References

1. Bulavka NV (2014) "The vernalization requirement of varieties of winter wheat in connection with their frost resistance" ["Jarovizacijska potrebnost' sortov ozimog m'jagkoj pshenicy v svjazi s ih morozoustojchivost'ju"], Agriculture and breeding in Belarus. "Anthology of scientific treatises", 50, pp. 383 – 392.
2. Bulavka NV (2010) "The vernalization requirement and the sensitivity to photoperiod of varieties of winter wheat of breeding by the V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat" ["Jarovyvzacijska potreba ta fotoperiodychna chutlyvist' sortiv ozymoi' m'jakoi' pshenicy selekcii' MIP"], Agrobiology: "Anthology of scientific treatises" by The Bila Tserkva National Agrarian University, No 69, 2, p. 138.
3. Vasylyuk PM, Ulych LI (2012) "Agrobiological features of varieties-alternate of winter wheat (*Triticum aestivum* L.)" ["Agrobiologichni osoblyvosti sortiv-dvoruchok pshenicy m'jakoi' (*Triticum aestivum* L.)"], Plant Varieties Studying and Protection, No 2, pp. 4–7.
4. Goncharov NP (1986) "Genetic control of the photoperiodic response in winter wheat (review)" ["Geneticheskij kontrol' fotoperiodicheskoj reakcii u m'jagkoj pshenicy (obzor)"], Agriculture biology, No 11, pp. 84–90.
5. State Register of plant varieties that are suitable for dissemination in Ukraine in 2015 [Derzhavnyj rejestr sortiv roslyn, prydatnyh dlja poshyrennja v Ukraïni u 2015 roci] (2015) , retrieved from: <http://vet.gov.ua/sites/default/files/ReestrEU-2015-04-23.pdf>.
6. Using of PCR analysis in genetic and breeding studies (1998) In editor: Sivolap Yu. M. [Ispol'zovanie PCR-analiza v genetiko-selekcionnyh issledovanijah], Kiev: Agricultural Sciences, 33 p.
7. Mokanu NV, Fajt VI (2008) "The differences of the effects of *Vrd1* and *Ppd-D1* gene alleles on winterhardiness, frost resistance, and yield in winter wheat" ["Razlichija jeffektov allelej genov *Vrd 1* i *Ppd-D1* po zimozostojkosti i urozhaju u ozimog pshenicy"], Cytol. Genet., vol. 42, No 6, pp. 26–33.
8. Rokickij PF (1973) Biological statistics [Biologicheskaja statistika], Minsk, 319 p.
9. Fajt VI, Fjodorova VR (2007) "The influence of *Ppd* gene differences on agronomical traits of winter bread wheat" ["Vlijanie razlichij genov *Ppd* na agronomicheskie priznaki ozimog m'jagkoj pshenicy"], Cytol Genet., 41, No 6, pp. 26–33.
10. Fajt VI (2008) "Identification and effects of gene alleles controlling developmental rate in wheat" ["Identifikacija i jeffekty allelej genov tempov razvitija pshenicy"] dis. dokt. biol. nauk], PhD thesis: 03.00.15 Plant Breeding and Genetic Institute Odessa, 40 p.
11. Fedorova VR (2004) "Differences in effects of photoreaction genes in winter bread wheat" ["Vidminnosti efektyv geniv fotoperiodychnoi' reakcii' v ozymoi' m'jakoi' pshenicy"] dis. kand. biol. nauk], PhD thesis: 03.00.15 Plant breeding and genetic institute Odessa, 19 p.
12. Beales J, Turner A, Griffiths S, Snape JW, Laurie DA (2007) "A Pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.)", Theor. Appl. Genet 115, No 5, pp. 721–733.
13. 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, No 3, pp. 841–851.
14. Law CN, Sutka J, Worland AJ (1978) "A genetic study of day-length response in wheat", Heredity, 41, No 2, pp. 185–191.
15. McIntosh RA, Yamazaki Y, Devos KM, Dubcovsky J, Rogers WJ, Appels A (2003) "Catalogue of gene symbols for wheat", Proc. 10th Int. Wheat Genet. Symp., Paestum (Italy),. retrieved from: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/top/top.jsp>.
16. Nishida H, Yoshida T, Kawakami K, Fujita M, Long B, Akashi Y, Laurie DA, 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", Molecular Breeding, 31, No 1, pp. 27–37.
17. Prasil IT, Prasilova P, Pankova K (2005) "The relationship between vernalization requirement and frost tolerance in substitution lines of wheat", Biologia plantarum, No 49 (2), pp. 95–200.
18. Scarth R, Law CN (1984) "The control of the day-length response in wheat by the genes 2 chromosomes", Z. Pflanzenzucht, 92, No 2, pp. 140–150.
19. Seki M, Chono M, Matsunaka H, Fujita M, Oda S, Kubo K, Kiribuchi-Otobe C, Kojima H, Nishida H, Kato K (2011) "Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-B1a* and *Ppd-D1a* and their effect on heading time in Japanese wheat cultivars", Breeding Sci, 61, pp. 405–412.