

ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ДЕТЕРМІНАЦІЇ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ РЕАКЦІЇ ПШЕНИЦІ

Тоцький В.М.¹, Мутерко О.Ф.¹, Балашова І.А.², Дьяченко Л.Ф.¹

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
біологічний факультет, кафедра генетики і молекулярної біології;
Україна, м. Одеса, 65058, пров.Шампанський, 2, muterko@gmail.com, diachenkolff@mail.ru

²Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААНУ
Україна, м. Одеса, 65036, Овідіопольська дорога, 3, genote2006@mail.ru

Огляд присвячений аналізу сучасної літератури з проблеми молекулярно-генетичних механізмів фотоперіодичної реакції пшениці. Обговорюється роль нещодавно відкритих у пшениці генів RR (Response Regulator), молекулярна організація кодованих ними білків, а також молекулярно-генетичні процеси, що обумовлюють залежність часу цвітіння пшениці від особливостей її фотоперіодичної реакції. Простежено зв'язок між експресією RR- та інших генів пшениці з чутливістю цих рослин до фотоперіоду.

Ключові слова: фотоперіодизм, RR - гени, м'яка пшениця

Вступ. Біологічні процеси, що відбуваються у мікроорганізмів, рослин та тварин багато в чому залежать від так званих циркадних або добових ритмів, молекулярні механізми яких в даний час інтенсивно вивчаються.

Дуже важливим циркадним ритмом рослин є фотоперіодизм – реакція рослин на тривалість світлового дня (фотоперіод), від чого залежить термін їх зацвітання. Відомо, що так звані „довгоденні” рослини зацвітають за довготривалого світлового дня, а „короткоденні” – за умов короткого світлового періоду доби, нарешті існують так звані „нейтральні” рослини, які зовсім не виявляють залежності від фотоперіоду. Варіабельність фотоперіодичної відповіді у різних рослин забезпечує їх адаптацію до різних умов середовища.

Фотоперіодизм розглядають як реакцію живих організмів на періодичні, сезонні коливання тривалості світлового періоду доби. Зміна тривалості світлового дня є для організму сигналом, що повідомляє про зміни цілого комплексу екологічних чинників в ході зміни сезонів року. Реакція рослин на фотоперіод проявляється у прискоренні або уповільненні їх зростання та розвитку залежно від комплексу сезонних кліматичних умов певного регіону (Скрипчинський, 1975). Отже, фотоперіодична чутливість у рослин виникає в процесі еволюції як генетично детермінована адаптивна реакція на кліматичні умови конкретного регіону, слугуючи таким чином прикладом регіональної адаптації. Так, раннє цвітіння, обумовлене низькою чутливістю до фотоперіоду, допомагає рослинному організму уникати несприятливих умов літнього сезону, наприклад, посухи під час наливу зерна та враження шкідниками (Kato, Yokoуата, 1992; Удачин, 1989).

Фотоперіодична чутливість є однією з найважливіших господарсько-цінних ознак, що визна-

чає адаптивність рослин до умов навколишнього середовища. У м'якої пшениці чутливість до фотоперіоду визначається алельним станом генів локусу *Ppd-1*, що локалізовані в коротких плечах хромосом другої гомеологічної групи. Наявність в геномі домінантних алелів *Ppd-D1a*, *Ppd-B1a* та *Ppd-A1a* супроводжується відсутністю фотоперіодичної чутливості рослин, в той час як гомозиготність за рецесивними алелями *Ppd-D1b*, *Ppd-B1b* і *Ppd-A1b* обумовлює чутливість до фотоперіоду (McIntosh et al., 2009). Домінантні алелі локусу *Ppd1* виявляють епістатичну взаємодію в ряду *Ppd-D1a* > *Ppd-B1a* > *Ppd-A1a*.

Нещодавно було виявлено гомологію між геном *Ppd-H1* – детермінантом фотоперіодичної чутливості ячменю, та ділянкою 2D хромосоми м'якої пшениці, де, згідно даних генетичного аналізу, локалізовано ген *Ppd-D1* (Börner et al., 1998). Ген *Ppd-H1* було клоновано, секвеновано та ідентифіковано як представника сімейства генів, що кодують білки - регулятори відповіді типу - PRR (pseudo-response regulator) (Turner et al., 2005). Представники цього сімейства приймають участь в реакціях рослинного організму, що виникають у відповідь на дію чинників зовнішнього середовища.

Протягом останніх років активно вивчають білки, кодовані генами PRR, а також їх зв'язок з процесами, що відбуваються на клітинному рівні при зміні умов середовища, зокрема тривалості світлового дня.

Молекулярна організація і функція білкових продуктів генів RR. При вивченні впливу гормонів цитокінінового ряду на процес розвитку арабідопсису було встановлено, що цитокініни приймають участь у відповіді рослин на зміну тривалості світлового періоду доби. Одним із перших виявлених чутливих до цитокініну генів є ген, названий регулятором відповіді *ARR5*

(*Arabidopsis* Response Regulator 5). Надалі було виявлено ще 7 цитокінін-залежних генів - регуляторів відповіді (*RR*-генів), споріднених з *ARR5*, що впливають на функціонування двокомпонентної системи трансдукції сигналів, схожої з бактеріальною двокомпонентною системою (West, Stock, 2001).

У арабідопсису ідентифіковано наступні ключові компоненти цієї системи відповіді, які є властивими й іншим рослинам: сенсорна гістидинкіназа, гістидин-вміщуючий фосфотрансферуючий білок (разом вони складають перший компонент двокомпонентної системи) та регулятор відповіді *RR* (response regulator) (Ferreira, Kieber, 2005). Ініціація відповідної реакції відбувається в момент зв'язування цитокініну з позаклітинним сигнальним доменом гістидинкінази, що в свою чергу обумовлює автофосфорилування залишку гістидину, локалізованого в межах трансмісійного домену, який розташований у цитоплазмі клітини. Далі, за допомогою фосфотрансферуючого білка відбувається фосфорилування регулятора відповіді *RR*, що обумовлює його активацію і належну відповідь рослини на зовнішній чинник (рис. 1).

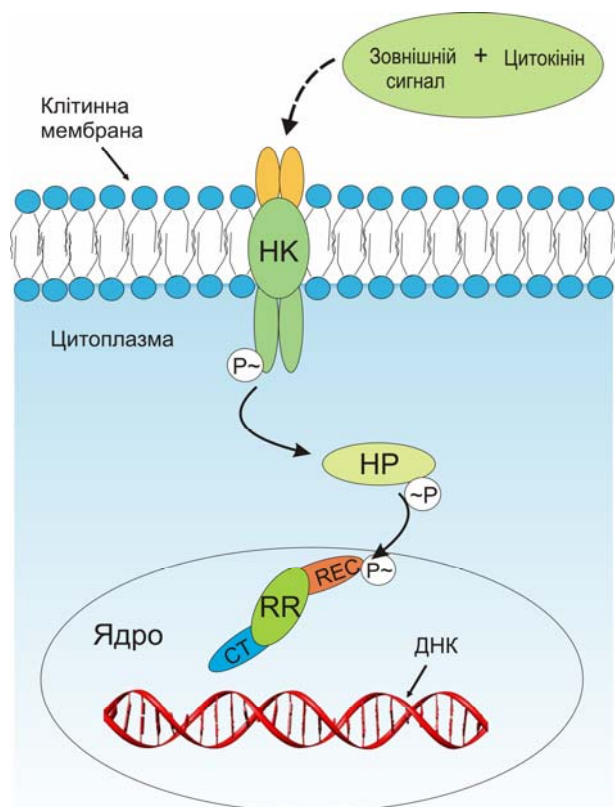


Рис.1. Спрощена модель трансдукції зовнішнього сигналу двокомпонентною системою у рослин. НК – гістидин кіназа, НР – гістидин-вміщуючий фосфотрансферуючий білок, RR – регулятор відповіді, REC – рецепторний домен RR білка, СТ – С-термінальний домен RR білка.

RR-протеїни (регулятори відповіді) є ключовими елементами каскаду фосфорилування, оскільки саме вони індукують активність транскрипції структурних цільових генів. Грунтуючись на доменній структурі та амінокислотних послідовностях, розрізняють три типи *RR* протеїнів: А-тип, В-тип та псевдо-тип.

Тип А містить рецепторний домен (REC) з послідовністю амінокислот аспарат-аспарат-лізин (D-D-K) та короткий С-термінальний домен, функція якого остаточно не ідентифікована. Білки А типу кодуються генами, транскрипти яких швидко накопичуються після дії цитокініну (D'Agostino et al., 2000).

Типу В також властива наявність рецепторного домену (REC) з D-D-K структурою та протяжний С-термінальний домен. Останній містить *Myb*-like ДНК-зв'язуючу ділянку – GARP.

GARP домен присутній у білках загального класу специфічних для рослин факторів транскрипції, таких як GOLDEN2 у кукурудзи, *ARR* у арабідопсису та *Psr1* у хламідомонади. GARP домен має високу варіабельність і є багатим на глутамінові та пролінові залишки, які, зазвичай, присутні в білках – активаторах транскрипції. Крім того, зазначений С-термінальний домен містить сигнал ядерної локалізації (NLS) який, зв'язуючись з NLS білка імпорту, локалізує *RR*-протеїни на внутрішній ядерній мембрані, запобігаючи їх взаємодії з цільовими генами (Imamura et al., 2001).

Псевдо-*RR* гени кодують білки майже ідентичні *RR*-білкам інших типів, оскільки вони містять схожий рецепторний домен. Проте псевдо-*RR*-протеїни утримують глутамат замість центрального аспартату в структурі D-D-K домену, що запобігає фосфорилуванню *PRR* (Makino et al., 2000). Разом з тим показано, що саме псевдо-*RR* білки є компонентами механізмів здійснення фотоперіодичної реакції і циркадних ритмів рослин (Salome et al., 2006).

Отже, *RR*-протеїни активізуються в процесі фосфорилування, яке забезпечують гомологи гістидинкінази. Для більшості *RR*-білків характерна наявність двох функціональних ділянок: ділянки, де розташований рецептор „регулятора відповіді”, локалізований ближче до N-кінця протеїну (REC домен), та області варіабельного С-термінального ефекторного домену, який вступає у взаємодію з відповідною ділянкою молекули ДНК (цільовим геном) в процесі регуляції транскрипції (Mizuno, Nakamichi, 2005). Варіабельність С-термінального домену забезпечує поліморфізм факторів транскрипції даного типу.

REC домен *RR*-білків, структура і функція. Вперше REC-домен був виявлений у бактеріальних *RR*-протеїнах як приймач сигналу від сенсо-

рних патернів двокомпонентної системи (Pao, Saier, 1995). Згодом цей домен був ідентифікований і в протеїнах еукаріотів – ETR1 (*Arabidopsis thaliana*), де він також виконує функцію приймача сигналу (Hua, Meyerowitz, 1998).

Сімейство послідовностей REC належить до надсімейства CheY-like (CheY-подібних доменів), представники якого, разом з такими домеданами як OmpR, NtrC, NtrL та ін., входять до складу регуляторів відповіді двокомпонентних систем прокаріотних організмів (Galperin, 2006). «Регулятор відповіді» (RR) – це білок, найчастіше фактор транскрипції, назва якого узгоджується з його основною функцією – регуляцією відповідної реакції на дію сигналу, отриманого від патерну сенсорів і переданого через двокомпонентну систему на інші молекули та структури за дії на неї чинників навколишнього середовища.

У структурі типового REC-домена виділяють чотири функціональні сайти: сайт активації, сайт фосфорилування, сайт міжмолекулярної взаємодії та сайт димеризації. Саме у такій послідовності ці сайти розташовані в структурі REC-домена від N до C кінця (Sola et al., 1999).

Що стосується поширеності REC-домену в природі, то він є одним із найбільш таксономічно універсальних та функціонально важливих структур, що зустрічаються у всіх представників живої природи від архей і вірусів до людини. У міжнародному банку протеїнових сиквенсів на сьогоднішній день нараховується більше 62 тис. протеїнів, що містять у своїй структурі REC-домен. При цьому, кількість таких білків у представників прокаріотів (включаючи лише 5 видів вірусів та 50 видів архей) нараховується в 30 разів більше, ніж у рослин та тварин разом узятих. Слід зазначити, що REC-домен витримав тривалий природний добір, і за час еволюції понад три мільярди років зумів зберегти консервативну будову деяких своїх послідовностей. Так, наприклад, REC-домен PRR-білків м'якої пшениці на 39 % ідентичний REC-домену гомологічного фактора транскрипції сімейства Fis у бактерії *Desulfuromonas acetoxidans*.

ССТ домен RR-білків, структура і функція.

Дану послідовність виявлено в структурі С-термінальних ділянок білків, здійснюючих трансдукцію світлового сигналу у багатьох рослинних організмів (понад 700 зазначених протеїнів у більш ніж 70 видів рослин - від одноклітинних, наприклад, *Chlamydomonas*, до вищих форм). При цьому слід зазначити, що до сьогодні цей домен в протеїнах тварин або дріжджів виявити не вдалося. У структурі мотиву домінують лужні амінокислоти.

Сама назва «ССТ» походить від назв сімейств відомих факторів транскрипції типу CONSTANS

(CO), CONSTANS-like (CO-like) та TOC1 (timing of CAB expression), представники яких містять гомологічні ділянки у С-термінальній області (Mizuno, Nakamichi, 2005). Протяжність ССТ-домену у складі RR-білків складає 42-45 амінокислотних залишків. ССТ-мотив містить сигнал ядерної локалізації, про який вже згадувалося. ССТ-домен виявлено також в асоціаціях з іншими домеданами, наприклад, з В-боксовими “цинковими пальцями”, послідовностями GATA-, ZIM- та RRC-типів, які, ймовірно, також приймають участь і в білок-білкових взаємодіях (Strayer et al., 2000).

“Цинкові пальці” являють собою випетлювання поліпептидних ланцюгів у тетраедричній структурі, що утворюються за рахунок координаційних зв'язків іонів цинку з лігандами протеїну (залишками гістидину та цистеїну, розташованими в певному порядку). Вони є характерною особливістю багатьох факторів транскрипції, оскільки ефективно взаємодіють з молекулою ДНК (цинкові пальці протеїну укладаються в борозни ДНК).

Асоціація В-боксових цинкових пальців з ССТ-доменом спостерігається у випадку багатьох ССТ-домен-вміщуючих протеїнів (наприклад, факторів транскрипції CO-типу). І хоч роль В-боксу, локалізованого в області ССТ-домену, остаточно ще не з'ясована, функціональна значущість цієї структури очевидна, оскільки відсутність В-боксу викликає втрату функціональної активності CO і TOC1 протеїнів арабідопсису (Robson et al., 2001), VRN2 пшениці (Yan et al., 2004) та білка гена *PPD-H1* ячменю (Turner et al., 2005).

Таким чином, білки, що містять у своїй структурі ССТ-домен, залучені в такі важливі процеси, як відповідна реакція пшениці на яровизацію (Yan et al., 2004), фотоперіодична чутливість рису (Yano et al., 2000), ячменю (Turner et al., 2005), пшениці (Beales et al., 2007), а також багатьох інших видів рослин (Liu et al., 2001). У будь-якому випадку, ґрунтуючись на численних спостереженнях та експериментах, слід зазначити, що білки, яким властивий ефекторний ССТ-домен, певним способом приймають участь у регуляції циркадних ритмів та відповідних реакцій рослинного організму на дію чинників зовнішнього середовища, таких, як світло, температура та інші.

Регуляція фотоперіодичної реакції рослин.

Центральний осцилятор циркадних ритмів арабідопсису формують наступні гени транскрипційних факторів: *CCA1* (circadian clock associated 1), *LHY* (late elongated hypocotyl) та *TOC1/PRR1* (timing of CAB expression 1/pseudo-response regulator 1). Регуляція експресії цих ге-

нів основана на принципах негативного зворотного зв'язку. Це означає, що продукти генів *LHY* і *CCA1* пригнічують експресію *TOC1* шляхом зв'язування з сигнальними мотивами промотору цього гена. Проте, така репресія транскрипції гена *TOC1* є неповною і продукти його експресії все ж поступово накопичуються, досягаючи максимальної концентрації наприкінці світлового дня. Далі, згідно принципу зворотного зв'язку, продукти *TOC1* безпосередньо або опосередковано регулюють експресію *CCA1* і *LHY* (Alabadí et al., 2001).

Регуляція термінів колосіння і цвітіння у пшениці може бути з'ясована по аналогії з фото-періодичною регуляцією цвітіння арабідопсису, у якого експресія сімейства генів, факторів транскрипції, типу *CONSTANS* регулюється циркадним годинником, освітленням та температурою.

Родина білків регуляторів відповіді у арабідопсису відповідає наступним генетичним гомологам послідовностей ДНК: *PRR9*, *PRR7*, *PRR5*, *PRR3* та *PRR1* (*TOC1*) (Matsushika et al., 2000). *PRR* - гени діють паралельно та антагоністично щодо генів *LHY* і *CCA1*. Гени *LHY* і *CCA1* пригнічують експресію *CO*, в той час як *PRR*-гени, навпаки, активують транскрипцію генів *CO* шляхом пригнічення функції ДНК-зв'язуючого репресора транскрипції *CDF1* (cycling dof factor1) (Nakamichi et al., 2007).

Інформаційні РНК *CO*-фактора досягають максимальної концентрації наприкінці довгого дня, або в нічний період короткоденних діб (Suarez-Lopez et al., 2001). Фактори транскрипції типу *CONSTANS* стабілізуються дією сигналів від фоторецепторів фітохромів та криптохромів (Takato, 2010). Таким чином, *CO*-фактори є максимально стабільними тільки за умов освітлення, а, отже, активними будуть лише ті із них, які накопичуються за довгоденної доби. Стабілізовані *CO*-фактори, зв'язуючись із специфічними сигнальними мотивами в геномі, викликають активацію промотору локусу *FT* (Flowering locus T) (Valverde et al., 2004), продукти якого і активують процес цвітіння (Kardailsky et al., 1999) (рис. 2).

Цікаво, що значно більша кореляція спостерігається між рівнем експресії локусу *FT* та часом цвітіння, ніж між останнім та рівнем експресії *CO*-фактора, або між експресією *CO* і *FT*. Особливу увагу також привертає той факт, що для рослин, які зацвітають при довгому дні, спостерігається кореляція між експресією *CO* і *FT*, тоді як у „короткоденних” рослин кореляція між *CO* та *FT* незначна (нижча більш ніж у 20 разів). Такі дані вказують на те, що регуляція експресії локусу *FT* може здійснюватися різними шляхами. Відомо,

що експресія локусу *FT* може регулюватися незалежно як активатором транскрипції *CO*, так і продуктами генів *PRR* (Niinuma et al., 2008).

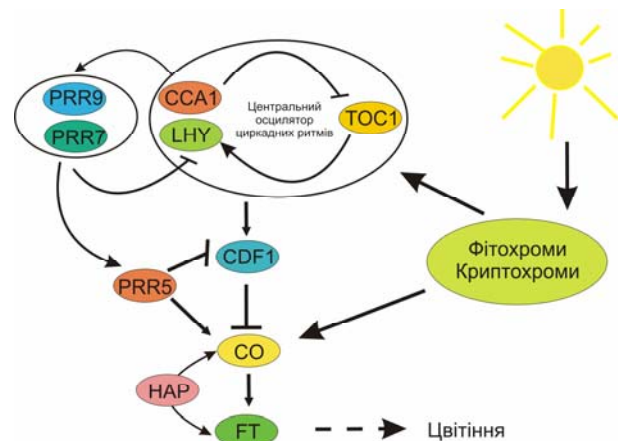


Рис.2. Неповна схема регуляції цвітіння у арабідопсису. Пояснення у тексті статті.

Доведено існування функціональних і структурних взаємодій між ССТ-доменом *CO*-фактора та ДНК-зв'язуючими факторами транскрипції сімейства *HAP* (Heme Activator Protein). *HAP*-фактори зв'язуються з *CCAAT* сигнальними мотивами, які представлені у більш ніж 25 % еукаріотних промоторів. Показана медіаторна роль білків *HAP*-комплексу за впливу *CO* на час зацвітання рослин. Ефективність експресії *HAP*-білків впливає на термін зацвітання арабідопсису; цей ефект асоційований із зниженням *CO*-залежної активності локусу *FT*, продукти трансляції якого і індують процес цвітіння. У зв'язку з тим, що ССТ-домен містить консервативну ділянку, відповідну гомологічній послідовності фактора *HAP2*, безпосередньо взаємодіючого з ДНК, вважається, що білки, які містять ССТ-домен, по своїй структурно-функціональній ролі замінюють субодиницю *At HAP2*, формуючи таким чином трьохкомпонентний комплекс *CO/At HAP3/At HAP5*, який і бере безпосередню участь у процесі регуляції генетичної експресії локусу *FT* (Wenkel et al., 2006).

***PRR* гени і фотоперіодична нечутливість м'якої пшениці.** Оскільки було відомо, що продукти експресії *PRR* генів містять ССТ-домен у С-термінальній ділянці, методом блот-гібридації за Саузерном був проведений скринінг клонів *BAC* (Bacterial Artificial Chromosome), що містили послідовності ДНК з пшеничними генами сімейства *Ppd* (Beales et al., 2007). В якості молекулярного зонда використовували нуклеотидну послідовність ССТ-домену ячмінного гена *Ppd-H1*. В результаті були виявлені послідовності нуклеотидів, що індивідуально характеризують *PRR*-гени хромосом 2A, 2B і 2D м'якої пшениці (Beales et al., 2007).

Згідно з результатами аналізу експресії генів *FT*, *PRR* та *CO* м'якої пшениці, часові параметри експресії *CO* не змінюються у нечутливих до фотоперіоду генотипів. Водночас втрачається кореляція між експресією *CO*-фактора та експресією локусу *FT*. У зв'язку з цим передбачається, що активація локусів *FT* і *CO* у нечутливих до фотоперіоду генотипів здійснюється за допомогою альтернативних факторів транскрипції.

Альтернативним варіантом модуляції реакцій м'якої пшениці на фотоперіод є регуляція експресії локусу *FT*, індукція транскрипції якого здійснюється за участю *PRR*-білків (Beales et al., 2007).

За порівняння нуклеотидних послідовностей *PRR-2D* локусу сортів і ліній м'якої пшениці, альтернативних за алейним станом локусу *Ppd-D1*, у нечутливих до фотоперіоду рослин (домінантний ген *Ppd-D1a*) на початку кодуєчої області гена *PRR-2D* виявлена делеція протяжністю 2089 п.н. На перший погляд, зниження фотоперіодичної чутливості у таких генотипів можна пов'язати з інактивацією *PRR-2D* гена у зв'язку з делецією промотору або сайтів його активації, у відсутність яких процес транскрипції гена стає неможливим. Проте, як з'ясувалося, експресія гена *PRR-2D* у цих рослин все ж таки здійснюється, можливо, з альтернативного промотору. При цьому змінюються часові характеристики цієї експресії, що свідчить про можливі зміни в часі експресії локусу *FT*. В даному випадку весь цикл чергування піків максимальної концентрації продуктів *PRR-2D* і *FT* генів зсувається на півперіод. Відповідно *PRR*-протеїни тепер накопичуються протягом всього дня і ночі, досягаючи максимальної концентрації в кінці темного періоду доби. На початку світлового дня високий вміст в клітині цих протеїнів індукуює експресію локусу *FT*, концентрація продуктів якого досягає максимуму всередині дня, а потім відбувається її поступовий спад. В міру того, як активність *FT* знижується, концентрація *PRR*-протеїну зростає, досягаючи максимуму в кінці темної фази, де і замикає цикл. Можливо, вірним поясненням фотоперіодичної нечутливості рослин з генотипом *Ppd-D1a* є те, що делеція в промоторній зоні їх *PRR-2D* гена викликає зміну в регуляції експресії останнього, що призводить до інактивації фотоперіодичної чутливості рослин. Суть цієї інактивації полягає в індукції експресії локусу *FT* як при довгому, так і при короткому дні. Таким чином, основна відмінність нечутливих до фотоперіоду (моногенно домінантних за *Ppd-D1*) рослин м'якої пшениці полягає в наявності у них делеції в промоторній області гена *PRR-2D*, яка спричиняє вилучення сигнальних сайтів зв'язування з регуляторними білками (Beales et al., 2007).

Аналогічним чином можна пояснити зниження чутливості до фотоперіоду *Ppd-A1a* генотипів твердої пшениці (Edward et al., 2009). При зіставленні секвенованих послідовностей ДНК, прилеглих до гена *PRR-2A* тетраплоїдних пшеничних ліній з альтернативними алейними варіантами гена *Ppd-A1*, також виявлені делеції в районі промотору. Довжина делетованої ділянки для одних ліній складала 1027 п.н., а для інших - 1117 п.н. Лінії, що містять делетований промотор, виявилися менш чутливими до тривалості світлового дня, тобто несли ознаки властивості генотипу *Ppd-A1a*, тоді як лінії з інтактними послідовностями ДНК виявляли чутливість до фотоперіоду і відповідали *Ppd-A1b* генотипу. Аналіз експресії ушкодженого *PRR-2A* гена у ліній пшениці з *Ppd-A1a* генотипом показав наявність у клітині продуктів його транскрипції, в зв'язку з чим і виникло припущення, що транскрипція гена *PRR-2A* може здійснюватися з альтернативного промотору. При цьому активація транскрипції з цього промотору ніяк не пов'язана з тривалістю світлового періоду доби, а експресія *CO*-фактора в цьому випадку не корелює з експресією локусу *FT*. У той же час виявляється чітка кореляція між експресією *FT* та експресією гена *PRR-2A*, внаслідок чого індукція транскрипції з локусу *FT* відбувається незалежно від тривалості світлового дня (Edward et al., 2009).

В результаті порівняльного аналізу секвенованих послідовностей локусу *PRR-2B* і прилеглих до нього ділянок ДНК у сортів і ліній м'якої пшениці з альтернативним по відношенню до фотоперіоду фенотипом, тобто чутливих і нечутливих до фотоперіоду, поліморфізму по локусу *PRR-2B* не виявлено. За дослідження продуктів транскрипції гена *PRR-2B* встановлено наявність явища альтернативного сплайсингу, в результаті якого можливе утворення восьми типів іРНК, з яких більша частина транскриптів є функціонально активною. Фізіологічна роль згаданого альтернативного сплайсингу не встановлена, кореляції між фотоперіодичною чутливістю та присутністю тих або інших типів іРНК гена *PRR-2B* у клітині не спостерігається (Zhi-Ai et al., 2009). Виходячи з даних молекулярно-генетичного аналізу висловлено припущення, що геномна локалізація генетичної детермінанти фотоперіодичної чутливості генотипів *Ppd-B1* розташована в області хромосомного сегмента 2BS, який фланкується мікросателітними локусами *Xgwm429* та *Xgwm257* (Lukman, 2003).

Слід зазначити, що дослідження генів *PRR* м'якої пшениці на сьогодні проведено лише на обмеженій вибірці сортів і ліній, тому в даний час у різних селекційних центрах активно проводять роботу з пошуку та тестуванню маркерів до

альтернативних варіантів *PRR* - генів пшениці на місцевих лініях і сортах.

Широкий спектр отриманих даних про молекулярно-генетичну детермінацію фотоперіодичної чутливості рослин і їх адаптивних реакцій має важливе значення для вирішення прикладних завдань селекції і генетики. Маркування алельних генів *PRR* - локусів забезпечить можливість їх детекції у сортів різних географічних зон, що дозволить максимально ефективно створювати сорти з оптимальним рівнем фоточутливості, адаптованих до умов навколишнього середовища конкретного регіону.

Список літератури.

1. Скрипчинский В.В. Фотопериодизм – его происхождение и эволюция. – Л.: Наука, 1975. – 287 с.
2. Удачин Р.А. Биологические особенности озимой мягкой пшеницы в связи с селекцией на скороспелость и продуктивность // Рекомбинационная селекция в Сибири. – 1989. – С. 44 – 54.
3. Alabadi D., Oyama T., Yanovsky M., Harmon F., Mas P., Kay S. Reciprocal regulation between TOC1 and LHY/CCA1 within the Arabidopsis circadian clock // Science. – 2001. – Vol. 293. – P. 880–883.
4. Beales J, Turner A, Griffiths S, Snape JW, Laurie D.A. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive Ppd-D1a mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor Appl Genet. – 2007. – Vol. 115. – P. 721-733.
5. Börner A., Korzun V., Worland A. Comparative genetic mapping of loci affecting plant height and development in cereals // Euphytica. – 1998. – Vol. 100. – P. 245–248.
6. D'Agostino I., Deruere J., Kieber J. Characterization of the response of the Arabidopsis response regulator gene family to cytokinin // Plant Physiology. – 2000. – Vol. 124. – P. 1706–1717.
7. Edward P., Adrian S., David A. Laurie Photoperiod insensitive Ppd-A1a mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.) // Theor Appl Genet. – 2009. – Vol. 118(2). – P. 285-94.
8. Ferreira F., Kieber J. Cytokinin signaling // Current Opinion in Plant Biology. – 2005. – Vol. 8. – P. 518–525.
9. Galperin M. Structural classification of bacterial response regulators: diversity of output domains and domain combinations // Bacteriol. – 2006. – Vol. 188. – P. 4169-4182.
10. Hua J., Meyerowitz E. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana* // Cell. – 1998. – Vol. 94. – P. 261–271.
11. Imamura A., Yoshino Y., Mizuno T. Cellular localization of the signaling components of Arabidopsis His-to-Asp phosphorelay // Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. – 2001. – Vol. 65. – P. 2113–2117.
12. Kardailsky I., Shukla V., Ahn J., Dagenais N., Christensen S., Nguyen J., Chory J., Harrison M., Weigel D. Activation tagging of the floral inducer FT // Science. – 1999. – Vol. 286. – P. 1962–1965.
13. Kato K, Yokoyama H. Geographical variation in heading characters among wheat landraces, *Triticum aestivum* L, and its implication for their adaptability // Theor. Appl. Genet. – 1992. – Vol. 84. – P. 259–265.
14. Liu J, Yu J., McIntosh L., Kende H., Zeevaert J. Isolation of a CONSTANS ortholog from *Pharbitis nil* and its role in flowering // Plant Physiol. – 2001. – Vol. 125. – P. 1821–1830.
15. Lukman R. Molecular mapping of major genes influencing flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.). Diss.: München, Techn University, 2003. – 102 p.
16. Makino S., Kiba T., Imamura A., Hanaki N., Nakamura A., Suzuki T., Taniguchi M., Ueguchi C., Sugiyama T., Mizuno T. Genes encoding pseudo-response regulators: insight into His-to-Asp phosphorelay and circadian rhythm in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Physiology. – 2000. – Vol. 41. – P. 791–803.
17. Matsushika A., Makino S., Kojima M., Mizuno T. Circadian waves of expression of the APRR1/TOC1 family of pseudo-response regulators in *Arabidopsis thaliana*: Insight into the plant circadian clock // Plant Cell Physiol. – 2000. – Vol. 41. – P. 1002–1012.
18. Mizuno T., Nakamichi N. Pseudo-response regulators (PRRs) or true oscillator components (TOCs) // Plant Cell Physiol. – 2005. – Vol. 46. – P. 677–685.
19. Nakamichi N., Kita M., Niinuma K., Ito S., Yamashino T., Mizoguchi T., Mizuno T. Arabidopsis clock-associated pseudo-response regulators PRR9, PRR7 and PRR5 coordinately and positively regulate flowering time through the canonical CONSTANS-dependent photoperiodic pathway // Plant Cell Physiol. – 2007. – Vol. 48(6). – P. 822-832.
20. Niinuma K., Nakamichi N., Miyata K., Mizuno T., Kamada H., Mizoguchi T. Roles of Arabidopsis PSEUDO-RESPONSE REGULATOR (PRR) genes in the opposite controls of flowering time and organ elongation under long-day and continuous light conditions // Plant Biotechnology. – 2008. – Vol. 25. – P. 165–172.
21. Pao G., Saier M. Response regulators of bacterial signal transduction systems: selective domain shuffling during evolution // Mol Evol. – 1995. – Vol. 40. – P. 136-154.
22. Robson F., Costa M.R., Hepworth S.R., Vizir I., Pineiro M., Reeves P.H., Putterill J., Coupland G. Functional importance of conserved domains in the flowering-time gene CONSTANS demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants // Plant. – 2001. – Vol. 28. – P. 619-631.
23. Salome P., To J., Kieber, J., McClung C. Arabidopsis response regulators ARR3 and ARR4 play cytokinin-independent roles in the control of circadian period // Plant Cell. – 2006. – Vol. 18. – P. 55–69.
24. Sola M., Gomis-Ruth F., Serrano L., Gonzalez A., Coll M. Three-dimensional crystal structure of the transcription factor PhoB receiver domain // Mol Biol. – 1999. – Vol. 15. – P. 675-687.
25. Strayer C., Oyama T., Schultz T., Raman R., Somers D., Mas P., Panda S., Kreps J., Kay S.A. Cloning of the Arabidopsis clock gene TOC1, an autoregulatory response regulator homolog // Science. – 2000. – Vol. 289. – P. 768-771.
26. Suarez-Lopez P., Wheatley K., Robson F., Onouchi H., Valverde F., Coupland G. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis // Nature. – 2001. – Vol. 410. – P. 1116–1120.

27. Takato I. Arabidopsis circadian clock and photoperiodism: time to think about location // *Plant Biol.* – 2010. – Vol. 13(1). – P. 83–96.
28. Turner A., Beales J., Faure S., Dunford R., Laurie D. The pseudo-response regulator *Ppd-H1* provides adaptation to photoperiod in barley // *Science.* – 2005. – Vol. 310. – P. 1031–1034.
29. Valverde F., Mouradov A., Soppe W., Ravenscroft D., Samach A., Coupland G. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering // *Science.* – 2004. – Vol. 303. – P. 1003–1006.
30. McIntosh R., Dubcovsky J., Rogers W., Morris C., Appels R., Xia X. Catalogue of gene symbols for wheat: 2009 supplement / The 11-th International Wheat Genetics Symposium. Режим доступу: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgen/supplement2009.pdf>
31. Wenkel S., Turck F., Singer K., Gissot L., Le J., Gourrierc A., Samach G. Couplanda CONSTANS and the CCAAT Box Binding Complex Share a Functionally Important Domain and Interact to Regulate Flowering of Arabidopsis // *The Plant Cell.* – 2006. – Vol. 18. – P. 2971–2984.
32. West A., Stock A. Histidine kinases and response regulator proteins in two-component signaling systems // *Trends in Biochemical Sciences.* – 2001. – Vol. 26. – P. 369–376.
33. Yan L., Loukoianov A., Blechl A., Tranquilli G., Ramakrishna W., SanMiguel P., Bennetzen J.L., Echenique V., Dubcovsky J. The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization // *Science.* – 2004. – Vol. 303. – P. 1640–1644.
34. Yano M., Katayose Y., Ashikari M., Yamanouchi U., Monna L., Fuse T., Baba T., Yamamoto K., Umehara Y., Nagamura Y., Sasaki T. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene CONSTANS // *Plant Cell.* – 2000. – Vol. 12. – P. 2473–2483.
35. Zhi-Ai G., Guang-Yao Z., Zheng-Long R., Ji-Zeng J. Alternative Splicing of Photoperiod Response Gene *Ppd-B1* in Wheat // *Acta agronomica sinica.* – 2009. – Vol. 35. – P. 1764–1770.

GENETIC MECHANISM OF PHOTOPERIODISM DETERMINATION OF WHEAT

Totsky V.N.¹, Muterko A.F.¹, Balashova I.A.², Diachenko L.F.¹

¹*The I. I. Mechnikov Odessa National University,*

Department of Genetics and Molecular Biology;

Ukraine, Odessa, 65058, Shampansky str. 2, muterko@gmail.com, diachenkolff@mail.ru

²*South Plant Biotechnology Center Ukrainian National Academy of Agrarian Science;*

Ukraine, Odessa, 65036, Ovidiopolska str., 3, genome2006@mail.ru

In the present review of recent publications the molecular mechanisms of photoperiodic response of plants and in particular of wheat are described. The functional role of newly discovered genes *RR* (Response Regulator), molecular organization of these genes and their encoded proteins are depicted. Molecular mechanisms that determine dependence of flowering of wheat on the characteristics of photoperiodic response were reviewed. Molecular mechanisms of the response of wheat to changes in the length of daylight and participation of *PRR* genes in this process are discussed. It was shown, that the *PRR*-proteins are involved in the regulation of circadian rhythms in plants and corresponding reactions of the organism in response to the action of environmental factors, such as lighting and temperature.

Keywords: photoperiodism, *RR*-genes, wheat

Одержано редколегією 04.03.2011