

ЕФЕКТИ МУТАНТНИХ АЛЕЛІВ ГЕНІВ *PPD-1* ЗА ДАТОЮ КОЛОСІННЯ В УМОВАХ ПРИРОДНОГО ТА СКОРОЧЕНОГО ДНЯ

О. О. ПОГРЕБНЮК, В. І. ФАЙТ, І. А. БАЛАШОВА, А. Ф. СТЕЛЬМАХ

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення,
Овідіопольська дорога 3, Одеса, 65036
e-mail: faygen@ukr.net

Метою даної роботи було ідентифікувати рекомбінантно-інбредні лінії комбінації схрещування *Orenburgskaya 48 // Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring* та оцінити ефекти рецесивних алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-A1*, а також їхньої взаємодії з домінантним алелем гена *Ppd-B1c* за тривалістю періоду до колосіння (ТПК) в умовах природного та скороченого дня. Дослідження провадили на популяції з 64 рекомбінантно-інбредних ліній та двох батьківських генотипів комбінації схрещування *Orenburgskaya 48 // Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring*. П'ятидобові проростки кожного генотипу піддавали яровизації на протязі 50 діб та вирощували на вегетаційному майданчику при природній і штучно скороченій до 10 годин тривалості дня. На протязі вегетації реєстрували дату колосіння індивідуальних рослин при появі верхівки головного колосу з піхви прапорцевого листа. Для ідентифікації носіїв алелів *Ppd-D1c*, *Ppd-D1d*, *Ppd-A1b* і *Ppd-A1b_del303* застосовували відомі алель-специфічні молекулярні маркери. Показано, що мутантні рецесивні алелі генів *Ppd-A1* та *Ppd-D1* при попарному порівнянні істотно не впливають на час колосіння рослин озимої м'якої пшениці в умовах природного та скороченого дня. Домінантний алель *Ppd-B1c* незалежно від наявності тих або інших рецесивних алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-A1* сприяє прискоренню розвитку (скороченню ТПК) рослин при різній тривалості дня порівняно з такими носіями алеля *Ppd-B1b*. Наявність в генотипі лінії мутантного рецесивного алеля *Ppd-A1b_del303* призводить до зменшення ефекту домінантного алеля *Ppd-B1c* щодо прискорення колосіння. Більш ефективна на скороченому дні взаємодія домінантного алеля *Ppd-B1c* по скороченню ТПК з генами *Ppd-A1b* і *Ppd-D1d*, а на природному фотоперіоді спостерігається з *Ppd-A1b* і *Ppd-D1c*, а найменш ефективна вона в обох варіантах дослідження для комбінації алелів *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d*. Алельні відмінності трьох генів *Ppd-1* визначають 52,1 % різноманіття РІЛ за ТПК в умовах природного та 59,9 % - скороченого дня, це обумовлено більшою мірою за рахунок алельних відмінностей гена *Ppd-B1*.

Ключові слова: озима пшениця м'яка, алель-специфічна ПЛР, фотоперіод, генотип, дата колосіння

Вступ. Тривалість світлового дня є важливим фактором розвитку рослин, необхідним для регуляції багатьох процесів пов'язаних з сезонними змінами (Song et al., 2015). Пшениця (*Triticum aestivum* L.) відноситься до рослин подовженого дня. Зменшення тривалості дня з 24 до 8 годин уповільнює темпи розвитку рослин пшениці, особливо в межах 10-16 годин. Сучасні комерційні сорти пшениці мають різний ступінь чутливості до фотоперіоду. У генотипів чутливих до фотоперіоду, скорочений день викликає пролонгацію вегетативної фази та затримує перехід до репродуктивного розвитку, в той же час, як подовжений день зменшує тривалість періоду до цвітіння. Основними регуляторами фотоперіодичного відгуку у злакових, в тому числі пшениці, є гени *Ppd-1* (*Ppd-A1*, *Ppd-B1* і *Ppd-D1*), розташовані на коротких плечах хромосом другої групи 2A, 2B і 2D (Scarth, Law, 1984). Домінантні алелі генів сімейства ортологічної серії *Ppd-1* знижують чутливість рослин до тривалості дня, обумовлюючи раннє колосіння в умовах як скороченого, так і подовженого дня. Більшість

ідентифікованих домінантних алелів генів *Ppd-1* пшениці характеризуються делеціями або інсерціями в промоторній ділянці гену, що призводить до значного посилення експресії генів *Ppd-1* (Nishida et al., 2013).

Єдиний поліморфізм у D геномі, що асоційований з нечутливістю до тривалості дня (алель *Ppd-D1a*) – делеція розміром 2089 п.н. у промоторній ділянці гена *Ppd-D1* (Beales et al., 2007). Для даного гена описано декілька рецесивних алелів, для яких характерні наявність делецій та інсерцій мобільних елементів (Guo et al, 2010; Chen et al, 2013; Zhang et al., 2015). Зокрема делеція 5. п.н. в екзоні 7 гена *Ppd-D1* (алель *Ppd-D1d*), що зумовлює утворення нефункціонального білка, та інсерції транспозона типу Mariner, в інтроні 1 (алель *Ppd-D1c*). Такий алель характеризується найнижчим рівнем експресії, та може утворювати не функціональний білок (Shaw et.al, 2013).

Наявність делеції у промоторі розміром 1085 п.н. є маркером присутності домінантного алеля *Ppd-A1a.1* в генотипі сортів м'якої пшениці. Даний алель є досить рідкісним (Nishida et al.,

2013) і в сортів м'якої пшениці превалює рецесивний алель гена *Ppd-A1*. Загалом у гена *Ppd-A1* виявлено значну кількість мутацій (Takenaka, Kawahara, 2013). Скоріш за все, більшість з них є нейтральними, однак деякі призводять до суттєвих порушень, зокрема, делеція 303 п.н., що охоплює зону інтрону 5 і екзонів 5, 6 та делеція 2 п.н. у екзоні 7, позначені нами як алелі *Ppd-A1_del303* та *Ppd-A1_del2ex7*, є причиною зсуву рамки зчитування та подальшого синтезу дефектних регуляторних білків, які неспроможні індукувати експресію локусу *FT* (*Vrn-3*).

Нечутливі до фотоперіоду алелі гена *Ppd-B1* відрізняються мутаціями (різна кількість копій або інсерція), нехарактерними для інших генів *Ppd-1*. Вперше мутація (інсерція 308 п.н. в промоторній ділянці) у гена *Ppd-B1a.1*, що обумовлює нечутливий до фотоперіоду фенотип, була описана Nishida et al. (2013). В основному, доміантний стан *Ppd-B1* обумовлений спв-мутаціями, які призводять до збільшення числа копій гена. Показано, що даний ген може мати дві (алель *Ppd-B1d*), три (алель *Ppd-B1a*) та чотири (алель *Ppd-B1c*) копії (Diaz et al, 2012). Рецесивний алель *Ppd-B1b* копій не має.

На сьогодні визначені ефекти доміантних алелів, головним чином алеля *Ppd-D1a* та в значно меншій мірі доміантних алелів гена *Ppd-B1* та *Ppd-A1* щодо головної ознаки «дата колосіння» та асоційованих з нею інших господарчих ознак (Worland et al., 1998; Cane et al., 2013; Grogan et al., 2016; Achilli et al., 2020), а також визначені закономірності їх поширення у різних регіонах світу (Kiss et al., 2014; Langer et al.; Whittall et al., 2018). В той же час лише в окремих публікаціях досліджено поширення різних рецесивних алелів генів *Ppd-A1* і *Ppd-D1* (Shaw et al, 2013; Rojo et al., 2020) та оцінені ефекти на тривалість періоду до колосіння (Ma et al., 2022; Mizuno et al., 2022).

Генофонд ярої та озимої пшениці України також ідентифікований за доміантними алелями генів *Ppd-1*. В ярих сортів значно більша, ніж у озимих, у кілька разів, частка сортів носіїв рецесивних алелів генів *Ppd-1*, а у вибірці озимих сортів навпаки – доміантних алелів (Файт, Балашова, 2022). Відмічена досить висока частота алеля *Ppd-D1a* в генофонді сортів озимої пшениці України (Chebotar G et al., 2019; Fait, Balashova, 2022). Частоти доміантних алелів генів *Ppd-B1c* та *Ppd-B1a* досить низькі, а сортів носіїв доміантного алеля *Ppd-A1a.1* не виявлено. Доведено, що алельні відмінності за геном *Ppd-D1* (Bakuma et al. 2018) та *Ppd-B1* (Файт и др. 2017) є одними з важливіших

факторів, які визначають відмінності озимої пшениці за адаптивністю та продуктивністю в Україні. В той же час інформація щодо поширення в Україні різних рецесивних алелів локусів *Ppd-D1* і *Ppd-A1* практично відсутня, а їхній вплив на темпи розвитку до колосіння до теперішнього часу не оцінено.

Метою роботи є ідентифікація рекомбінантно-інбредних ліній комбінації схрещування Orenburgskaya 48 // Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring, оцінка ефектів рецесивних алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-A1* та їхньої взаємодії з доміантним алелем гена *Ppd-B1c* за часом колосіння в умовах природного та скороченого дня.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були 64 рекомбінантно-інбредні лінії (РІЛ) F_{2:9} від схрещування сорту Orenburgskaya 48 та рекомбінантно-заміщеної по 2В хромосомі лінії Capelle Desprez / 2B Chinese Spring. Сорт Orenburgskaya 48 і лінія Capelle Desprez / 2B Chinese Spring розрізнялись в польових умовах за висотою рослин, датою колосіння, кількістю колосків головного колоса, опушенням колоскових лусок та інше (Стельмах та ін., 2009).

Для оцінки рівня фотоперіодичної чутливості насіння 64 РІЛ, сортів Orenburgskaya 48 і лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring пророщували при кімнатній температурі. П'ятидобові проростки піддавали 50-добовій яровизації в камері КНТ-1 при 20°C і освітленні 12 годин інтенсивністю 3000 люкс. Після завершення яровизації проростки висаджували 26 квітня в 5л судини по десять рослин у кожній, і вирощували на вегетаційному майданчику в умовах природного (ПД; від 14 год. 20 хв. до 15 год. 46 хв.) і в умовах штучно скороченого до 10 годин дня (СД). Для визначення тривалості періоду до колосіння (ТПК) реєстрували дату колосіння індивідуальних рослин при появі верхівки головного колосу з піхви прапорцевого листа. В якості критерію оцінки ступеню фотоперіодичної чутливості (ФПЧ) використовували різницю між ТПК конкретного зразка в умовах СД і ПД.

Статистичну обробку даних здійснювали за загальноприйнятими методиками з використанням пакету програм Microsoft Excel (2007). Для оцінки значущості фактору «генотип» на варіювання ознаки «тривалість періоду до колосіння» при порівнянні двох або більше вибірок використовували F-критерій Фішера, що являє собою частку від поділу двох дисперсій факторної та залишкової.

Необхідно зазначити, що сім ліній та батьківський сорт Orenburgskaya 48 не колосилися до закінчення експерименту (25

липня або 90 діб). Тому, при наступних розрахунках середнього значення ознаки ТПК та її похибки, у таких ліній за дату колосіння рослин, що не колосилися, використовували дату закінчення експерименту (25 липня або 90 діб). Такий підхід певною мірою дозволяє оцінити реакцію ліній на скорочення тривалості дня.

Для ідентифікації генотипів сорту Orenburgskaya 48 і заміщеної лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring та створених на їхній основі 64 РІЛ за алелями генів *Ppd-A1* і *Ppd-D1* використовували ПЛР (табл. 1), розроблену з урахуванням поліморфізму генів *Ppd-1*.

Маркером наявності делеції 2089 п.н. і, відповідно, алеля *Ppd-D1a* слугує фрагмент ДНК розміром 288 п.н., інтактний стан промотору – алель *Ppd-D1b* визначає фрагмент 414 п.н. Визначення наявності делеції у екзоні 7 гена *Ppd-D1* проводилось за використанням ПЛР-тесту де фрагмент 184 п.н. визначає інтактний стан екзону, фрагмент 179 п.н. вказує на наявність делеції – алель *Ppd-D1d*. Використання мультиплексної ПЛР (Shaw et.al, 2013) призводить до детекції фрагменту 727 п.н. у випадку мутації в інтрон 1 – алель *Ppd-D1c*.

Таблица 1.

Праймери для здійснення ПЛР-аналізу і розмір фрагментів ампліфікації для маркування алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-A1*

Table 1.

Primers for conducting PCR analysis and the size of amplification fragments for marking alleles of the *Ppd-D1* and *Ppd-A1* genes

Алель	Праймер	Послідовність праймерів	Розмір фрагменту, п.н.
<i>Ppd-D1a/Ppd-D1b</i>	Ppd-D1_F	acgcctcccactacactg	288 п.н./414 п.н. (Beales et al., 2007)
	Ppd-D1_R1	cactggtgtagctgagatt	
	Ppd-D1_R2	tgttggtcaaacagagagc	
<i>Ppd-D1d</i>	Ppd_7L	gtgtcctttgcgaatcctt	179 п.н./184 п.н. (Chen et.al, 2013)
	Ppd_7R	ttggagccttgcctcatct	
<i>Ppd-D1c</i>	2D_Mar_F1	acggactactcctccatcg	727 п.н. (Shaw et.al., 2013)
	2D_Mar_F2	ggcaccatttgacaggcag	
	2D_Mar_R1	cgggaggaagatttggac	
<i>PpdA1b</i>	durum_Ag5del_F2	tgtcacccatgcactctgtt	452 п.н. (Wilhelm et.al., 2009)
	durum_Ag5del_R2	ctggctccaagaggaaacac	
<i>Ppd-A1_del303</i>	303 bp_del_F2	cttacatctgtgagaagtatctgcatc	220 п.н. (Takenaka, Kawahara, 2012)
	303 bp_del_R3	cagatcagcagctcgaacaattac	

Для маркування *Ppd-A1* також використовують ПЛР-тест, який визначає відсутність мутацій в промоторі, що характерно для рецесивного стану. Маркером є фрагмент 452 п.н. Для виявлення наявності делеції 303 п.н. у екзонах 5, 6 гена *Ppd-A1* використано ПЛР-тест, рекомендований Takenaka, Kawahara (2012). Наявність алеля, що нами позначено, як *Ppd-A1_del303* детектує фрагмент 220 п.н. і в даному випадку контролем слугував сорт Capelle-Desprez, у якого така мутація присутня.

Екстракцію ДНК провадили з паростків або зерен методом СТАВ (Сиволап и др., 1998) Ампліфікацію здійснювали на приладі Терцик – («ДНК-технологія», Росія). Параметри проведення ПЛР: денатурація – 94°C – 2 хв, далі – 20 с; гібридизація праймерів – 60°C – 30 с; синтез – 72°C – 50 с. 35 циклів; остання елонгація – 72°C – 3 хв.

Реакційний буфер для проведення тестування

будь-якого із зазначених алелів методом ПЛР містив: 50 mM KCl; 20 mM Трис-НCl, pH 8,4; 2,0 mM MgCl₂; 0,01 % Tween-20; 0,15 mM кожного dNTP; 5 пМ кожного праймера, 20 нг ДНК і 1 од. Таq-полімерази. Об'єм реакційної суміші складав 20 мкл.

Для тестування продуктів ампліфікації застосовували 2,0 % агарозний гель та 10% ПААГ. Агарозні гелі з ПЛР-продуктами забарвлювали бромистим етидієм і фотографували в УФ-світлі. Візуалізацію продуктів ампліфікації в ПААГ проводили шляхом їх забарвлення в 0,012 М AgNO₃. Маркером молекулярної ваги слугував pUC19/MspI.

Результати та їх обговорення. Батьківські генотипи РІЛ Orenburgskaya 48 // Capelle Desprez / 2B Chinese Spring суттєво різнилися за ТПК в умовах СД і ПД та рівнем ФПЧ. Так, колосіння сорту Orenburgskaya 48 при вирощуванні в

умовах ПД відмічали на $59,6 \pm 0,81$ добу (табл. 2), а лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring – на $47,8 \pm 1,56$ добу. Різниця між генотипами складала $11,8 \pm 1,76$ діб. Скорочення тривалості дня до 10 годин сприяло збільшенню ТПК лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring до $61,7 \pm 0,73$ діб, а рослини сорту Orenburgskaya 48 до закінчення експерименту (90 діб) знаходилися у фазі

кущіння. В той же час ФПЧ лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring складала $13,9 \pm 1,72$, а сорту Orenburgskaya 48 – більш ніж 30,4 діб. Отже, сорт Orenburgskaya 48 може бути охарактеризований як сильно чутливий до фотоперіоду генотип, а хромосомно заміщена лінія Capelle Desprez / 2B Chinese Spring є слабо чутливою до зміни тривалості дня.

Таблиця 2.

Тривалість періоду до колосіння батьківських генотипів та популяції РІЛ Orenburgskaya 48 // Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring в умовах природного (ПД) і скороченого (СД) днів, діб

Table 2.

Duration of the period to heading of parental genotypes and the population of RILs Orenburgskaya 48 // Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring under natural (ND) and shortened (SD) days environment, days

Тривалість дня	Or. ²	CD ²	РІЛ		
			$\bar{x} \pm S_x$	min	max
ПД ¹	$59,6 \pm 0,81$	$47,8 \pm 1,56$	$53,6 \pm 0,62$	45,2	64,0
СД ¹	н/к ³	$61,7 \pm 0,73$	$78,4 \pm 0,91$	61,6	н/к ³
$d_{\text{СД-ПД}}^1$	$30,4 \pm 0,81$	$13,9 \pm 1,72$	$24,8 \pm 0,46$	15,6	33,1

Примітки: СД¹ – скорочений день; ПД¹ – природний день; $d_{\text{СД-ПД}}^1$ – фотоперіодична чутливість (різниця за тривалістю періоду до колосіння між варіантами СД і ПД); Or.² – Orenburgskaya 48, CD² – Capelle Desprez / 2B Chinese Spring; н/к³ – рослини в цьому варіанті не колосилися.

Note: SD¹ – shortened day; ND¹ – natural day; $d_{\text{SD-PD}}^1$ – photoperiodic sensitivity (difference in the duration of the period to heading between variants of SD and PD); Or.² – Orenburgskaya 48, CD² – Capelle Desprez / 2B Chinese Spring; n/k³ – plants in this version did not head.

РІЛ Orenburgskaya 48 // Capelle Desprez / 2B Chinese Spring суттєво різнилися за ТПК в умовах ПД від $45,2 \pm 0,20$ до $64,0 \pm 0,95$ діб. Розмах варіювання РІЛ в даному варіанті досліду складав 18,8 діб та значно перевищував такий між батьками. Колосіння більш скоростиглих РІЛ в умовах СД спостерігали на $61,6 \pm 1,08$, а більш пізніх – на $90,0 \pm 1,26$ добу. Колосіння рослин у сьомі РІЛ не спостерігали до закінчення експерименту (90 діб). Розмах варіювання в умовах СД складав більш ніж 28,4 діб. Реакція на скорочення тривалості освітлення окремих РІЛ варіювала від $15,6 \pm 1,08$ до $33,1 \pm 1,24$ діб, тобто знаходяться в межах значень ознаки батьківських генотипів.

Для ідентифікації алельних відмінностей батьків та створених на їх основі рекомбінантно-інбредних ліній за генами фотоперіодичної чутливості *Ppd-A1* та *Ppd-D1* використовували алель специфічні молекулярні маркери. При використанні праймерів *Ppd-D1_F1* і *Ppd-D1_R1* у сорту Orenburgskaya 48 та лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring виявили повну ідентичність спектрів ДНК. В обох генотипів присутній фрагмент ампліфікації довжиною 414 п.н., тобто вони обидва є носіями

рецесивного алеля гена *Ppd-D1*. Разом з тим у заміщеної лінії Cappelle Desprez / 2B Chinese Spring внаслідок інсерції транспозона типу Mariner у інтрон 1 виявлений алель *Ppd-D1c* (фрагмент ампліфікації 727 п.н.). У сорту Orenburgskaya 48 за ДНК-маркером визначено присутність алеля *Ppd-D1d*, що обумовлено наявністю делеції 5 п.н. в екзоні 7. Відповідно у 23 РІЛ визначено за ДНК-маркером наявність алеля *Ppd-D1d*, а в 41 РІЛ – алеля *Ppd-D1c* (рис. 1).

Застосування ПЛР-тесту на наявність мутантного рецесивного алеля, який кодує нефункціональний білок, що обумовлено порушенням структури інтрону 5 та екзонів 5, 6 гена *Ppd-A1*, позначеного нами як *Ppd-A1_del303*, дозволило ідентифікувати вказаний алель у заміщеної лінії Capelle Desprez / 2B Chinese Spring. Сорт Orenburgskaya 48 є носієм "класичного" рецесивного алеля *Ppd-A1b*. У 15 РІЛ, як і у сорту Orenburgskaya 48, був виявлений алель *Ppd-A1b*. Інші 49 ліній, як і інша батьківська форма, заміщена лінія Capelle Desprez / 2B Chinese Spring, є носіями алеля *Ppd-A1_del303* (рис. 2).

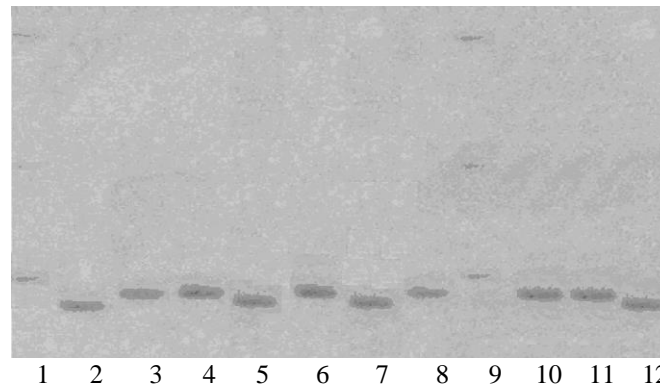


Рис. 1 Детекція інтактного та мутантного стану екзону 7 за наявності/відсутності делеції 5 п.н. у РІЛ: лінії – носії алеля *Ppd-D1d*; лінії мають інтактний стан екзону 7; 11 – *Cappelle Desprez/2B Chinese Spring*; 12 – *Orenburgskaya 48*; 1, 9 – маркер молекулярної ваги *pUC19/MspI*

Fig. 1 Detection of the intact and mutant state of exon 7 according to the presence/absence of a 5 bp deletion in RIL: lines – carriers of the *Ppd-D1d* allele; lines have an intact state of exon 7; 11 – *Cappelle Desprez/2B Chinese Spring*; 12 – *Orenburgskaya 48*; 1, 9 – molecular weight marker *pUC19/MspI*

У середньому лінії-носії алеля *Ppd-A1_del303* колосилися на $53,9 \pm 0,72$ і $78,3 \pm 0,96$ добу в умовах ПД і СД, відповідно (табл.3). Колосіння ліній *Ppd-A1b* генотипу відмічали на $52,5 \pm 1,23$ і $79,1 \pm 2,05$ добу, відповідно. Різниця за ТПК між групами ліній в умовах ПД складала $1,4 \pm 1,43$, а СД – $0,8 \pm 2,28$ діб та виявилася в обох випадках неістотною. Не розрізнялися між собою вказані групи ліній і за ступенем ФПЧ – $24,4 \pm 0,46$ і $26,6 \pm 0,95$ діб для генотипів *Ppd-A1_del303* і *Ppd-A1b*, відповідно. Відсутність впливу алеля *Ppd-A1_del303* на дату колосіння озимої м'якої

пшениці незалежно від тривалості дня відмічали і раніше (Bentley et al., 2013). В той же час Shaw et al. (2013) вказували на різницю за датою колосіння між *Ppd-A1_del303* і *Ppd-A1b* генотипами на 1-4 доби при вирощуванні ярої пшениці м'якої в умовах штучного клімату на природному та при подовженому до 18 годин дні. Більш пізнє колосіння сортів твердої пшениці з алелем *Ppd-A1_del303* на 2-4 доби спостерігали в польових умовах Іспанії порівняно з такими носіями алеля *Ppd-A1b* (Royo et al., 2020).

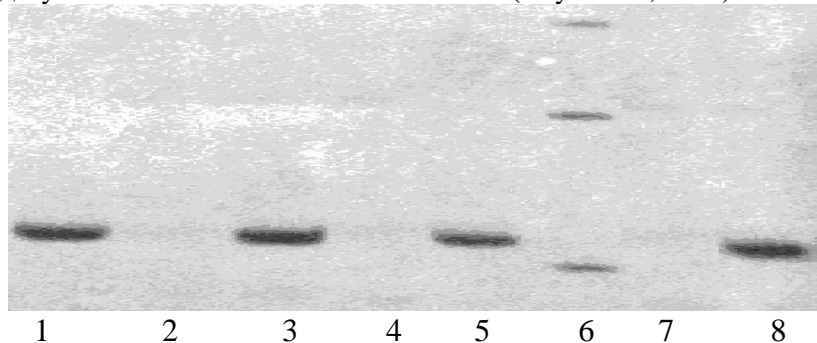


Рис. 2 Детекція алеля *Ppd-A1_del303* у РІЛ: 1, 3, 5 – наявність мутації у екзонах 5, 6; 2, 4, 7 – відсутність мутації; 8 – сорт *Capelle Desprez*; 6 – маркер молекулярної ваги *pUC19/MspI*

Fig. 2 Detection of the *Ppd-A1_del303* allele in RIL: 1, 3, 5 – the presence of a mutation in exons 5, 6; 2, 4, 7 – absence of mutation; – *pUC19/MspI* molecular weight marker

Лінії-носії різних рецесивних алелів гена *Ppd-D1* також суттєво не різнилися між собою за датою колосіння. Відмічали лише тенденцію до скорочення ТПК у ліній-носіїв алеля *Ppd-D1c*, як в умовах СД ($77,8 \pm 1,08$), так і ПД ($52,9 \pm 0,74$) порівняно з такими носіями алеля *Ppd-D1d* ($79,8 \pm 1,45$ і $54,8 \pm 1,09$ діб, відповідно). За рівнем ФПЧ генотипи *Ppd-D1c* та *Ppd-D1d* також не розрізнялися ($25,1 \pm 0,56$ і $25,0 \pm 0,68$ діб, відповідно). Доведена відсутність ефекту алелів *Ppd-D1c* та/або *Ppd-D1d* на дату колосіння озимої м'якої пшениці порівняно з алелем *Ppd-*

D1b в умовах сходу США (Ma et al., 2022) та у Великобританії (Bentley et al., 2013), а також ярої пшениці м'якої в умовах штучного клімату на природному та при подовженому до 18 годин дні (Shaw et al., 2013).

Попередньо нами був проведений маркерний аналіз батьківських генотипів та 64 РІЛ за алелями гена *Ppd-B1* (Файт и др., 2017). Присутність мутантного алеля *Ppd-B1c* виявлено в заміщеної лінії *Capelle-Desprez / 2B Chinese Spring* і 39 РІЛ, відповідно в сорту *Orenburgskaya 48* і 22 РІЛ детектовано рецесивний алель *Ppd-*

B1b, три лінії були поліморфними за алелями гена *Ppd-B1*. Присутність в генотипі РІЛ алеля *Ppd-B1c* сприяло колосінню на $51,5 \pm 0,70$ і $75,2 \pm 0,82$ добу в умовах ПД і СД, відповідно. Колосіння рецесивних за *Ppd-B1b* ліній відмічали на $57,1 \pm 0,72$ і $84,7 \pm 1,01$ добу, відповідно. Різниця за ТПК між групами ліній носіїв гену *Ppd-B1c* або *Ppd-B1b* в умовах ПД складала $5,6 \pm 0,99$ з $18,8$ діб відмінностей за даною ознакою в популяції РІЛ. В умовах СД ця різниця дорівнювала вже $9,5 \pm 1,30$ діб при більш ніж $28,4$ діб відмінностей популяції РІЛ у даному варіанті дослідження. Разом з тим фотоперіодична чутливість у ліній з чотирьохкопійним алелем *Ppd-B1c* складала в середньому $23,7 \pm 1,08$ діб, у той час як у носіїв

однокопійного *Ppd-B1b* – $27,6 \pm 0,73$ діб.

За результатами ідентифікації алелів трьох генів *Ppd-1* генотип сорту Orenburgskaya 48 може бути позначений як *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d*, а заміщеної лінії Capelle-Desprez / 2B Chinese Spring – *Ppd-A1_del303 Ppd-B1c Ppd-D1c*. У популяції РІЛ виявили всі вісім теоретично можливих генотипів з різними поєднаннями алелів батьківських компонентів, які можна отримати при випадковій рекомбінації алелів трьох локусів *Ppd-1*. Для найбільшої кількості РІЛ, а саме 17 ліній, притаманний *Ppd*-генотип ідентичний такому батьківської заміщеної лінії Capelle-Desprez/2B Chinese Spring.

Таблиця 3.

Тривалість періоду до колосіння в умовах природного (ПД) і скороченого (СД) фотоперіодів у РІЛ Orenburgskaya 48 // Capalle Desprez / 2B Chinese Spring носіїв альтернативних алелів по кожному з генів *Ppd-1* та РІЛ з різними поєднаннями алелів трьох генів *Ppd-1*, діб

Table 3

Duration of the period to heading at the environment of natural (ND) and reduced (RD) photoperiods in RIL Orenburgskaya 48 // Capalle Desprez/2B Chinese Spring carriers of alternative alleles for each of the *Ppd-1* genes and RIL with different combinations of alleles of three *Ppd-1* genes, days

Генотип	n	СД	ПД	Фоточутливість
<i>Ppd-A1b</i>	15	$79,1 \pm 2,05$	$52,5 \pm 1,23$	$26,6 \pm 0,95$
<i>Ppd-A1b_del303</i>	49	$78,3 \pm 0,95$	$53,9 \pm 0,72$	$24,4 \pm 0,46$
$F_{\text{розрахункове}}^1 F_{\text{calculated}}^1$		0,33	0,93	2,32
<i>Ppd-D1c</i>	41	$77,8 \pm 1,08$	$52,9 \pm 0,74$	$25,1 \pm 0,56$
<i>Ppd-D1d</i>	23	$79,8 \pm 1,45$	$54,8 \pm 1,09$	$25,0 \pm 0,68$
$F_{\text{розрахункове}}^1 F_{\text{calculated}}^1$		1,23	2,15	0,03
<i>Ppd-B1c</i>	39	$75,2 \pm 0,82$	$51,5 \pm 0,70$	$23,7 \pm 1,08$
<i>Ppd-B1b</i>	22	$84,7 \pm 1,01$	$57,1 \pm 0,72$	$27,6 \pm 0,73$
$F_{\text{розрахункове}}^2 F_{\text{calculated}}^2$		7,28	5,77	7,22
<i>Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d</i>	2	$89,0 \pm 1,00$	$59,1 \pm 0,10$	$29,9 \pm 0,90$
<i>Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1c</i>	4	$86,8 \pm 4,37$	$56,7 \pm 2,52$	$30,1 \pm 2,14$
<i>Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1d</i>	2	$72,0 \pm 0,00$	$50,3 \pm 0,50$	$21,7 \pm 0,50$
<i>Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1c</i>	7	$73,9 \pm 1,14$	$49,3 \pm 0,68$	$24,6 \pm 0,52$
<i>Ppd-A1_del303 Ppd-B1b Ppd-D1d</i>	6	$85,4 \pm 2,06$	$58,5 \pm 1,87$	$26,9 \pm 1,38$
<i>Ppd-A1_del303 Ppd-B1b Ppd-D1c</i>	10	$82,6 \pm 1,44$	$56,1 \pm 0,88$	$26,6 \pm 1,17$
<i>Ppd-A1_del303 Ppd-B1c Ppd-D1d</i>	13	$77,1 \pm 1,51$	$53,1 \pm 1,38$	$24,0 \pm 0,66$
<i>Ppd-A1_del303 Ppd-B1c Ppd-D1c</i>	17	$74,7 \pm 1,32$	$51,5 \pm 1,10$	$23,2 \pm 0,56$
$F_{\text{розрахункове}}^3 F_{\text{calculated}}^3$		8,44	3,81	5,28

Примітка: ¹ $F_{\text{таблицне}} = 3,99$ при $P \leq 0,05$ для $df_1 = 1$ і $df_2 = 62$; ² $F_{\text{таблицне}} = 4,00$ при $P \leq 0,05$ для $df_1 = 1$ і $df_2 = 59$; ³ $F_{\text{таблицне}} = 2,19$ при $P \leq 0,05$ для $df_1 = 7$ і $df_2 = 53$

Note: ¹ $F_{\text{table}} = 3.99$ at $P \leq 0.05$ for $df_1 = 1$ and $df_2 = 62$; ² $F_{\text{table}} = 4.00$ at $P \leq 0.05$ for $df_1 = 1$ and $df_2 = 59$; ³ $F_{\text{table}} = 2.19$ at $P \leq 0.05$ for $df_1 = 7$ and $df_2 = 53$

Кількість ліній генотипу *Ppd-A1_del303 Ppd-B1c Ppd-D1d* та *Ppd-A1_del303 Ppd-B1b Ppd-D1c* виявлено менше, 13 та 10, відповідно. Поєднання

алелів *Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1c*, *Ppd-A1_del303 Ppd-B1b Ppd-D1d*, *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1c* притаманні семи, шести та чотирьом РІЛ,

відповідно. Для останніх двох груп, по дві лінії в кожній, характерне поєднання алелів *Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1d* і *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d*. Останній генотип притаманний і батьківському сорту Orenburgskaya 48. Такі поєднання дозволяють оцінити ефект взаємодії домінантних і рецесивних алелів генів ортологічної серії *Ppd-1* за ТПК при різній тривалості дня.

При вирощуванні рослин на вегетаційному майданчику в умовах як СД, так і ПД після попередньої 50-добової яровизації генотипи з присутністю алеля *Ppd-D1c*, незалежно від наявності того або іншого алеля генів *Ppd-A1* та *Ppd-B1*, у більшості випадків, колосилися раніше в обох варіантах досліду порівняно з *Ppd-D1d* на 1,0-2,8 діб (табл. 3). Єдине виключення спостерігали в умовах СД, коли генотип *Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1c* колосився, хоча і неістотно, але пізніше генотипу *Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1d* на 2,1 діб.

Ген *Ppd-A1b* при взаємодії з рецесивним алелем *Ppd-B1b*, в залежності від наявності алелів *Ppd-D1d* або *Ppd-D1c*, сприяв в умовах СД затримці розвитку (збільшенню ТПК) на 3,6 і 4,2 діб, відповідно, а з домінантним алелем *Ppd-B1c* навпаки – прискоренню розвитку (скороченню ТПК) на 5,1 і 0,8 діб, відповідно, порівняно з алелем *Ppd-A1_del303*. В умовах ПД даний ефект виражений менш наглядно.

Генотипи-носії алеля *Ppd-B1c*, незалежно від наявності тих або інших рецесивних алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-A1*, колосилися завжди раніше, таких з алелем *Ppd-B1b*. Цей ефект виражений більш суттєво в умовах СД і менше – в умовах ПД. При цьому наявність в генотипі лінії алеля *Ppd-A1_del303* на фоні присутності алеля *Ppd-D1d*, і більшою мірою *Ppd-D1c*, призводила до зменшення ефекту домінантного алеля *Ppd-B1c* по прискоренню колосіння з 12,9-17,0 до 7,9-8,3 діб в умовах СД і з 7,4-8,8 до 4,6-5,4 діб в умовах ПД. Аналогічну картину, щодо затримки колосіння алелем *Ppd-A1b_del303*, при взаємодії з домінантним алелем *Ppd-B1c*, відмічали раніше у твердої пшениці (Roayo et al., 2020).

Внаслідок відміченої вище взаємодії більш раннє колосіння в умовах ПД притаманне генотипу *Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1c* (49,3 діб), а СД – *Ppd-A1b Ppd-B1c Ppd-D1d* (72,0 діб). Більш пізнє колосіння в обох варіантах досліду відмічали в генотипу *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d* (на 59,1 і 89,0 добу, відповідно в умовах ПД і СД). Тобто алельні відмінності за трьома генами *Ppd-1* визначають 9,8 (або 52,1 %) із 18,8 діб в умовах ПД та 17,0 (або 59,9 %) із 28,4 діб відмінностей РІЛ за тривалістю періоду до колосіння в умовах СД. При цьому лівова частка відмінностей РІЛ за тривалістю періоду до

колосіння обумовлена наявними алельними відмінностями гена *Ppd-B1* (29,8 і 33,5 % в умовах ПД і СД, відповідно).

Висновки. Отже, за результатами проведених нами досліджень не виявлено істотного впливу мутантних рецесивних алелів генів *Ppd-A1* та *Ppd-D1* на дату колосіння рослин озимої пшениці м'якої в умовах природного та скороченого дня. Домінантний алель *Ppd-B1c* незалежно від наявності тих або інших рецесивних алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-A1* сприяє прискоренню розвитку (скороченню ТПК) рослин при різній тривалості дня порівняно з такими носіями алеля *Ppd-B1b*. Наявність в генотипі лінії мутантного рецесивного алеля *Ppd-A1b_del303* призводить до зменшення ефекту домінантного алеля *Ppd-B1c* щодо прискорення колосіння. Більш ефективна на скороченому дні взаємодія домінантного алеля *Ppd-B1c* по скороченню ТПК з генами *Ppd-A1b* і *Ppd-D1d*, на природному – з *Ppd-A1b* і *Ppd-D1c*, а найменш ефективна в обох варіантах досліду – комбінація алелів *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d*. Алельні відмінності трьох генів *Ppd-1* визначають 52,1 % різноманіття РІЛ за тривалістю періоду до колосіння в умовах природного та 59,9 % – скороченого дня, більшою мірою за рахунок алельних відмінностей гена *Ppd-B1*.

Список літератури:

1. Achilli A.L., Roncallo P.F., Larsen A.O., et al. Population structure, allelic variation at *Rht-B1* and *Ppd-A1* loci and its effects on agronomic traits in Argentinian durum wheat. *Sci Rep.* 2022. Vol. 12, 9629. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13563-w>
2. Bakuma A.O., Popovych Yu.A., Motsnyy I.I., et al. Effects of the *Ppd-D1a* allele on growth rates and agronomical traits in wheat detected by the application of analogous lines. *Cytology and Genetics.* 2018. Vol. 52(5). P. 343–352. <https://doi.org/10.3103/S009545271805002X>
3. 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. P. 721–733. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0603-4>
4. Bentley A.R., Horsnell R., Werner C.P., et al. Short, natural, and extended photoperiod response in BC2F4 lines of bread wheat with different Photoperiod-1 (*Ppd-1*) alleles. *J Exp Bot.* 2013. Vol. 64(7). P. 1783–1793. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert038>
5. Cane K., Eagles H.A., Laurie D.A., et al. *Ppd-B1* and *Ppd-D1* and their effects in southern Australian wheat. *Crop and Pasture Science.* 2013. Vol. 64 (2). P. 100–114. <https://doi.org/10.1071/CP13086>
6. 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. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology.* 2019. Vol. 80. P.

- 82–89. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2019.80.10>
7. Chen F., Gao M., Zhang J., et al. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China. *BMC Plant Biol.* 2013. Vol. 13. P. 199. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-199>
8. Diaz 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(3). P. 33-34. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033234>
9. Fait V.I., Balashova I.A. Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-D1a*, *Ppd-B1a* and *Ppd-B1c* in winter common wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) of various origin. *Cytology and Genetics.* 2022. Vol. 56(2). P. 109–117. <https://doi.org/10.3103/S0095452722020049>
10. Grogan S.M., Brown-Guedira G., Haley S.D., et al. Allelic variation in developmental genes and effects on winter wheat heading date in the US Great Plains. *PloS One.* 2016. Vol. 11(4): e0152852. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152852>
11. Guo Z.A., Song Y.X., Zhou R., et al. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytol.* 2010. Vol. 185. P. 841–851. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03099.x>
12. Kiss T., Balla K., Veisz O., et al. Allele frequencies in the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *VRN-D1* vernalization response and *PPD-B1* and *PPD-D1* photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breeding.* 2014. Vol. 34(2). P. 297–310. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0034-2>
13. Langer S.M., Longin C.F.H., Würschum T. Flowering time control in European winter wheat. *Plant Sci.* 2014. Vol. 5. P. 537-562. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00537>
14. Ma F., Brown-Guedira G., Kang M., Baik B-K. Allelic Variations in phenology genes of Eastern U.S. soft winter and Korean winter wheat and their associations with heading date. *Plants.* 2022. Vol. 11(22). P. 3116. <https://doi.org/10.3390/plants11223116>
15. Mizuno N., Matsunaka H., Yanaka M., et al. Allelic variations of *Vrn-1* and *Ppd-1* genes in Japanese wheat varieties reveal the genotype-environment interaction for heading time. *Breeding Science.* 2022. Vol. 72(5). P. 343-354. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.22017>
16. 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(1). P. 27-37. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9765-0>
17. Royo C., Dreisigacker S., Soriano J.M., et al. Allelic variation at the vernalization response (*Vrn-1*) and photoperiod sensitivity (*Ppd-1*) genes and their association with the development of durum wheat landraces and modern cultivars. *Front. Plant Sci.* 2020. Vol. 11:838. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00838>
18. Scarth R., Law C.N. The control of the day-length response in wheat by the genes 2 chromosomes. *Z. - Pflanzenzucht.* 1984. Vol. 9(2). P. 140-150.
19. Shaw L.M., Turner A.S., Herry L., et al. Mutant alleles of Photoperiod-1 in wheat (*Triticum aestivum* L.) that confer a late flowering phenotype in long days. *PLoS ONE.* 2013. Vol. 8. e79459
20. Song Y. H., Shim J. S., Kinmonth-Schultz H. A., Takato I. Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves. *Annual Review of Plant Biology.* 2015. Vol. 66. P. 441-464. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-115555>
21. Takenaka S., Kawahara T. Evolution and dispersal of emmer wheat (*Triticum* sp.) from novel haplotypes of *Ppd-1* (photoperiod response) genes and their surrounding DNA sequences. *Theor Appl Genet.* 2012. Vol. 125 (5). P. 999-1014. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1890-y>
22. Takenaka S., Kawahara T. Evolution of tetraploid wheat based on variations in 5' UTR regions of *Ppd-A1*: evidence of gene flow between emmer and timopheevi wheat. *Genet Resour Crop.* 2013. Vol. 60(7). P. 2143–2155.
23. Whittall A., Kaviani M., Graf R., Humphreys G., Navabi A. Allelic variation of vernalization and photoperiod response genes in a diverse set of North American high latitude winter wheat genotype. *PLoS One.* 2018. Vol. 13(8): e0203068. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203068>
24. Wilhelm E.P., Turner A.S., Laurie D.A. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.). *Theor Appl Genet.* 2009. Vol. 118(2). P. 285-294. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0898-9>
25. Worland A.J., Börner A., Korzun V., et al. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats. *Euphytica.* 1998. Vol. 100(1). P. 385-394. <https://doi.org/10.1023/A:1018327700985>
26. Zhang X., Gao M., Wang S., Chen F., Cui D. Allelic variation at the vernalization and photoperiod sensitivity loci in Chinese winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Front. Plant Sci.* 2015. Vol. 6:470. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00470>
27. Сиволап Ю.М., Календарь Р.Н., Вербицкая Т.Г. та ін. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Науч. - метод. руководство. / Под ред. Сиволапа Ю.М. – К.: Аграрна наука, 1998. 156 с.
28. Стельмах А. Ф., Файт В. І., Погребнюк О. О. Створення наборів рекомбінантно-інбредних ліній у озимій м'якої пшениці. Збірник наукових праць СГІ – НЦНС. Одеса, 2009. Вип. 14 (54). С. 9–18.
29. Файт В., Балашова І. Різноманіття *Ppd-1* генотипів сортів ярої та озимой м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) України. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2022. Вип. 87. С. 32–44. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2022.87.03>
30. Файт В.И., Погребнюк Е.А., Балашова И.А., Стельмах А.Ф. Идентификация и эффекты аллелей

гена *Ppd-B1* по хозяйственно-ценным признакам рекомбинантно – инбредных линий пшеницы. Фізіологія рослин і генетика. 2017. Т. 49, №1. С. 36-46. <https://doi.org/10.15407/frg2017.01.036>

References:

- Achilli AL., Roncallo PF., Larsen AO., et al. Population structure, allelic variation at *Rht-B1* and *Ppd-A1* loci and its effects on agronomic traits in Argentinian durum wheat. *Sci Rep.* 2022; 12: 9629. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13563-w>
- Bakuma AO, Popovych YuA, Motsnyy II, Chebotar GO, Chebotar SV. Effects of the *Ppd-D1a* allele on growth rates and agronomical traits in wheat detected by the application of analogous lines. *Cytology and Genetics.* 2018; 52 (5): 343–352. <https://doi.org/10.3103/S009545271805002X>
- Beales J., Turner A., Griffiths S., et al. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 2007; 115: 721–733. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0603-4>
- Bentley A.R., Horsnell R., Werner C.P., et al. Short, natural, and extended photoperiod response in BC2F4 lines of bread wheat with different Photoperiod-1 (*Ppd-1*) alleles. *J Exp Bot.* 2013; 64(7): 1783–1793. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert038>
- Cane K., Eagles H.A., Laurie D.A., et al. *Ppd-B1* and *Ppd-D1* and their effects in southern Australian wheat. *Crop and Pasture Science.* 2013; 64 (2): 100-114. <https://doi.org/10.1071/CP13086>
- 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. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology.* 2019; 80: 82–89. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2019.80.10>
- Chen F, Gao M, Zhang J, Zuo A, et al. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the Yellow and Huai Valley of China. *BMC Plant Biol.* 2013; 13: 199. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-199>
- Diaz 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; 7(3): 33-34. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033234>
- Fait V.I., Balashova I.A. Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-D1a*, *Ppd-B1a* and *Ppd-B1c* in winter common wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) of various origin. *Cytology and Genetics.* 2022; 56(2): 109–117. <https://doi.org/10.3103/S0095452722020049>
- Grogan S.M., Brown-Guedira G., Haley S.D., et al. Allelic variation in developmental genes and effects on winter wheat heading date in the US Great Plains. *PloS One.* 2016; 11(4): e0152852. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152852>
- Guo Z.A., Song Y.X., Zhou R., et al. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytol.* 2010; 185: 841–851. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03099.x>
- Kiss T., Balla K., Veisz O., et al. Allele frequencies in the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *VRN-D1* vernalization response and *PPD-B1* and *PPD-D1* photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breeding.* 2014; 34(2): 297–310. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0034-2>
- Langer S.M., Longin C.F.H., Würschum T. Flowering time control in European winter wheat. *Plant Sci.* 2014; 5: 537-562. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00537>
- Ma F., Brown-Guedira G., Kang M., Baik B-K. Allelic Variations in phenology genes of Eastern U.S. soft winter and Korean winter wheat and their associations with heading date. *Plants.* 2022; 11(22): 3116. <https://doi.org/10.3390/plants11223116>
- Mizuno N., Matsunaka H., Yanaka M., et al. Allelic variations of *Vrn-1* and *Ppd-1* genes in Japanese wheat varieties reveal the genotype-environment interaction for heading time. *Breeding Science.* 2022; 72(5): 343-354. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.22017>
- 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; 31(1): 27-37. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9765-0>
- Royo C., Dreisigacker S., Soriano J.M., et al. Allelic variation at the vernalization response (*Vrn-1*) and photoperiod sensitivity (*Ppd-1*) genes and their association with the development of durum wheat landraces and modern cultivars. *Front. Plant Sci.* 2020; 11: 838. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00838>
- Scarth R., Law C.N. The control of the day-length response in wheat by the genes 2 chromosomes. *Z. Pflanzenzucht.* 1984; 9(2): 140-150.
- Shaw L.M., Turner A.S., Herry L., et al. Mutant alleles of Photoperiod-1 in wheat (*Triticum aestivum* L.) that confer a late flowering phenotype in long days. *PLoS ONE.* 2013; 8: e79459
- Song Y.H., Shim J.S., Kinmonth-Schultz H.A., Takato I. Photoperiodic flowering: time measurement mechanisms in leaves. *Annual Review of Plant Biology.* 2015; 66: 441-464. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-115555>
- Takenaka S., Kawahara T. Evolution and dispersal of emmer wheat (*Triticum* sp.) from novel haplotypes of *Ppd-1* (photoperiod response) genes and their surrounding DNA sequences. *Theor Appl Genet.* 2012; 125 (5): 999-1014. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1890-y>
- Takenaka S, Kawahara T. Evolution of tetraploid wheat based on variations in 5' UTR regions of *Ppd-A1*: evidence of gene flow between emmer and timopheevi wheat. *Genet Resour Crop.* 2013; 60(7): 2143–2155.
- Whittall A., Kaviani M., Graf R., Humphreys G., Navabi A. Allelic variation of vernalization and photoperiod response genes in a diverse set of North American high latitude winter wheat genotype. *PLoS One.* 2018; 13(8): e0203068.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203068>
24. Wilhelm E.P., Turner A.S., Laurie D.A. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.). *Theor Appl Genet.* 2009;118(2): 285-294. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0898-9>
 25. Worland A.J., Börner A., Korzun V., et al. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats. *Euphytica.* 1998; 100(1): 385-394. <https://doi.org/10.1023/A:1018327700985>
 26. 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; 6: 470. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00470>
 27. Sivolap Ju.M., Kalendar' R.N., Verbickaja T.G., et al. Ispol'zovanie PCR-analiza v genetiko-selekcionnyh issledovaniyah: Nauch. - metod. rukovodstvo. / Pod red. Sivolapa JuM – K.: Agrarna nauka, 1998. 156 s.
 28. Stelmakh A.F., Fait V.I., Pohrebniuk O.O. Stvorennia naboriv rekombinantno-inbrednykh linii u ozymoi m'iakoi pshenytsi. - *Zbirnyk naukovykh prats SHI – NTsNS.* 2009; 14 (54): 9–18. [In Ukrainian]
 29. Fait V., Balashova I. Diversity of *Ppd-1* genotypes of spring and winter bread wheat (*Triticum aestivum* L.) of Ukraine. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology.* 2022; 87: 32–44. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2022.87.03> [In Ukrainian]
 30. Fayt V.I., Pogrebnyuk E.A., Balashova I.A., Stelmakh A.F. Identification and effects of alleles of *Ppd-B1* gene on agronomically valuable traits in recombinant-inbred lines of wheat. *Phiziol. Rast. genet.* 2017; 49: 36–46. <https://doi.org/10.15407/frg2017.01.036>

EFFECTS OF MUTANT ALLELES OF THE *PPD-1* GENE ON THE DATE TO HEADING UNDER NATURAL AND SHORTENED DAYLENGTH CONDITIONS

E. A. Pogrebnyuk, V. I. Fait, I. A. Balashova, A. F. Stelmakh

*Plant Breeding and Genetics Institute - National Center of Seed and Cultivar Investigation
Ovidiopolskaya dor., 3, Odesa, 65036, Ukraine
faygen@ukr.net*

*The purpose of this work was to identify recombinant inbred lines from the hybrid of Orenburgskaya 48 //Cappelle Desprez/2B Chinese Spring and to evaluate the effects of recessive alleles of the *Ppd-D1* and *Ppd-A1* genes, as well as their interaction with the dominant allele of the *Ppd-B1c* gene, on heading dates under environment of natural and shortened photoperiods. The study was conducted on a population of 64 recombinant inbred lines and two parental genotypes. Five-days-old seedlings of each genotype were subjected to vernalization for 50 days and grown on the vegetation site under natural and artificially shortened to 10 hours photoperiods. During the growing season, the dates to heading (DH) of individual plants were recorded when the main spike appeared from the sheath of the flag leaf. Known allele-specific molecular markers were used for identifying carriers of *Ppd-D1c*, *Ppd-D1d*, *Ppd-A1b* and *Ppd-A1b-del303* alleles. It was shown that mutant recessive alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-D1* genes do not affect significantly the DH in winter bread wheat plants under environment of natural and reduced photoperiods. The dominant *Ppd-B1c* allele, regardless of the presence of certain recessive alleles of the *Ppd-D1* and *Ppd-A1* genes, contributes to the acceleration of the development (acceleration of DH) of plants at different day lengths compared to such carriers of the *Ppd-B1b* allele. The presence of the mutant recessive allele *Ppd-A1b-del303* in the genotype of the line leads to a decrease in the effect of the dominant allele of the *Ppd-B1c* allele on the acceleration of heading. The interaction of the dominant allele *Ppd-B1c* in shortening the DH with the genes *Ppd-A1b* and *Ppd-D1d* revealed more effective on the reduced photoperiod, and with *Ppd-A1b* and *Ppd-D1c* on the natural day, and it was the least effective in both variants of the experiment for the combination of alleles *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1d*. Allelic differences of the three *Ppd-1* genes determined 54.2% of the diversity of RIL in terms of the DH under natural environment and 59.9% - at shortened days, it was to a greater extent observed due to allelic differences of the *Ppd-B1* gene.*

Keywords: winter bread wheat, allele-specific PCR, photoperiod, genotype, heading date

Отримано редколегією 21.09.2023 р.