

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І. І. МЕЧНИКОВА

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ
ТА ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

БАКУМА АЛЛА ОЛЕКСІВНА

УДК 633.11:577.2:631:581.14

ДИСЕРТАЦІЯ
ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ПО ЛОКУСАХ *Ppd* ТА
ФОТОПЕРІОДИЧНА ЧУТЛИВІСТЬ СУЧАСНИХ УКРАЇНСЬКИХ
СОРТІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ

03.00.22 – молекулярна генетика

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ А. О. Бакума

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент
НААН України Чеботар Сабіна Віталіївна

Одеса - 2020

АНОТАЦІЯ

Бакума А. О. Генетичний поліморфізм по локусах *Ppd* та фотоперіодична чутливість сучасних українських сортів м'якої пшениці. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика. – Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2020.

Пшениця є однією з основних продовольчих культур у світі. До найбільших виробників пшениці відносяться Європейський Союз, Китай, Індія, Росія, США, Канада, Пакистан, Австралія, Україна і Аргентина. Різноманітність середовищ вирощування пшениці з мінливістю клімату, біотичними та абіотичними стресами вимагає створення сортів, адаптованих до цих умов. Поліпшення адаптивних властивостей сорту можливо досягти шляхом зміни фенології рослин пшениці і пов'язаних з нею ознак. Для цього важливо розуміти принципи генетичного регулювання цієї варіації.

Однією з найважливіших господарсько-цінних ознак, яка визначає адаптивність культури до навколишнього середовища, є чутливість до фотоперіоду. Спадкова мінливість пшениці в період індивідуального розвитку значною мірою обумовлена особливістю експресії генів *Ppd*, які впливають на фотоперіодичну реакцію рослин. Добір ефективніших *Ppd*-генотипів у тих або інших агроекологічних умовах, цілеспрямоване використання у селекційних програмах домінантних та рецесивних алелів генів *Ppd* стримується складністю визначення генотипів за фенотиповим проявом зазначеної ознаки. У зв'язку з цим виникає необхідність використовувати молекулярно-генетичні методи визначення алелів генів *Ppd*, що має сприяти створенню сортів із запрограмованим ритмом розвитку, зокрема в нашій країні, та є дуже актуальним й невідкладним.

Дисертація присвячена вивченню алельного стану генів фотоперіодичної чутливості *Ppd-1* в генотипах сучасних сортів пшениці м'якої озимої, створених у різних селекційних центрах України та з'ясуванню безпосереднього впливу алелів гена *Ppd-D1* на темпи вегетації та агрономічні ознаки рослин пшениці.

Вперше за допомогою ПЛР аналізу з алель-специфічними праймерами було визначено алельний стан генів систем *Ppd-1* та гаплотипний склад за геном *Ppd-D1* у 94 сучасних сортів пшениці м'якої озимої селекції установ України, розташованих на території Полісся і Лісостепу (Миронівського Інституту пшениці імені В.М. Ремесла, Полтавської державної аграрної академії, Білоцерківської дослідно-селекційної станції, Носівської селекційно-дослідної станції), Південного (Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення, Інституту зрошуваного землеробства НААН України) та Північного Степу України (Луганського інституту селекції і технологій, Донецького інституту агропромислового виробництва НААН України, Дніпровського державного аграрно-економічного університету). За результатами молекулярно-генетичного аналізу проведено географічний розподіл носіїв алелів та гаплотипів гену *Ppd-D1* за агрокліматичними зонам України та створено базу даних алельних характеристик досліджених сортів пшениці за генами *Ppd-1*. В усіх природних зонах України генотипи з домінантним алелем *Ppd-D1a* значно переважали над рецесивними генотипами. Але алель *Ppd-D1a* був більш розповсюджений у Полісько-Лісостеповій та Степовій зонах у порівнянні з Лісостепою, де співвідношення алелів *Ppd-D1a* та *Ppd-D1b* становило 91% та 9%, відповідно. В генотипах сортів пшениці м'якої озимої Лісостепу України, який виявився найбільш поліморфним за гаплотипним складом гену *Ppd-D1*, зустрічались гаплотипи VII (91 %), III (5 %), IV (3 %) та II (1 %).

У роботі вперше для виявлення "чистого" впливу алелів гену *Ppd-D1* застосовано спеціально створений провідним науковим співробітником

відділу загальної і молекулярної генетики СГІ – НЦНС к.б.н. І. І. Моцним генетичний матеріал: майже-ізогенні лінії пшениці ВС7 Кооператорка та Кооператорка рання та лінії-аналоги ВС7 Степняк 1 та Степняк 1 ранній.

За допомогою молекулярно-генетичних методів визначено рівень ізогенності ліній м'якої пшениці, для оцінки якого нами запропоновано спосіб визначення рівня ізогенності на основі використання мікросателітного та RAPD-аналізу. Спосіб надає можливість підрахувати відсоток відновлення рекурентного генофону в геномі майже-ізогенної лінії, або лінії-аналога. За результатами досліджень виявлено, що лінії Кооператорка та Кооператорка рання поліморфні за одним локусом *Xgwm160* з 71 протестованого, ступінь відновлення генофону рекурентної батьківської форми у лінії Кооператорка рання становила 98,6 %. Лінії Степняк 1 та Степняк 1 ранній неpolіморфні за 65 локусами. Ступінь відновлення генофону рекурентної батьківської форми у лінії Степняк 1 ранній за даними молекулярно-генетичного аналізу становила 98,5 %. Проте у цих ліній виявлено поліморфізм за локусом *Xgwm261* (2D) У лінії Степняк 1 визначено алель *Rht8a*, а у лінії Степняк 1 ранній алель *Rht8c*. Отже, досліджені лінії Кооператорка і Кооператорка рання відрізняються лише алелями гена *Ppd-D1*, а лінії Степняк 1 та Степняк 1 ранній – алелями гена *Ppd-D1* та зчепленого з ним гена *Rht8*.

У попередніх опублікованих роботах використовували рекомбінантно-інбредні лінії, які значною мірою поступаються майже ізогенним лініям, тому що в рекомбінантно-інбредних лініях значний вплив на агрономічні ознаки можуть надавати інші гени, або гени зчеплені з цільовими. Тому матеріал (зокрема майже-ізогенні лінії) є значно більш досконалим, та таким, що дозволяє здійснити прецизійне оцінювання впливу алелів гену *Ppd-D1*. Використані в роботі майже-ізогенні лінії створені на основі добре адаптованих до умов півдня України сорту степового екотипу Кооператорка та лінії-аналоги – на основі сорту Степняк, тому є унікальним генетичним матеріалом, який дозволив оцінити вплив алелів на агрономічно важливі ознаки.

У дисертаційній роботі визначено вплив алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на 11 агрономічно важливих ознак пшениці в умовах Південного степу України та на фотоперіодичну чутливість в умовах Лісостепу України на майже-ізогенних лініях та лініях-аналогах пшениці м'якої озимої. При комбінації алелів *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b* та *Ppd-D1a* у порівняння з рослинами з рецесивними алелями зазначених генів відбувається суттєве прискорення росту та розвитку пшениці в умовах Південного степу України. Такі рослини за висотою рослин одразу після цвітіння перевершують свої аналоги з рецесивним алелем, та в подальшому зупиняються в рості та більше не збільшують зелену масу. Що свідчить про менший вплив на них несприятливих умов навколишнього середовища, наприклад посух, які досить часто спостерігаються в кінці травня та на початку червня на півдні України. Встановлено, що наявність алеля *Ppd-D1a* в генотипі призводить до зменшення тривалості періоду до колосіння, зменшення висоти рослин, та збільшення врожайності. Беручи до уваги зміни клімату, зокрема потепління, за нашою теорією більш скоростиглі генотипи пшениці будуть краще пристосованими для вирощування в умовах всієї території України.

Висвітлена в дисертації інформація про алельний стан генів системи *Ppd-1* пшениці м'якої озимої, їх вплив на агрономічні ознаки сприятиме ефективній селекційній роботі науково-дослідних інститутів, зокрема вибору вихідного селекційного матеріалу, підбору пар для гібридизації та відбору заздалегідь прогнозованих комбінацій алелів генів, що дадуть можливість одержувати максимально високі врожаї в певних агроєкологічних умовах. Отримані данні заповняють інформаційну прогалину щодо алельної характеристики за генами фотоперіодичної чутливості вітчизняних сортів пшениці, поповнюють інформацію щодо генетичних ресурсів пшениці в країні, будуть сприяти залученню маркерної селекції в селекційний процес, що призведе до виходу на новий технологічний рівень.

Ключові слова: пшениця м'яка озима, *Triticum aestivum* L., гени *Ppd*, чутливість до фотоперіоду, генетичний поліморфізм, маркерний ПЛР-аналіз.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті:

1. Бакума А. О., Чеботар Г. О., Ткачук А. В., Чеботар С. В., Москалець Т. З., Москалець В. В. Алельний стан *Ppd-1* генів, що контролюють чутливість до фотоперіоду, у низки генотипів пшениці м'якої озимої. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2020. Т. 16, №3. С. 253–262. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.3.2020.214926> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).
2. Бакума А. О., Чеботар Г. О., Лавриненко Ю. О., Чеботар С. В. Алельний стан генів системи *Ppd-1* та *Vrn-1* у сортів озимої м'якої пшениці Інституту зрошуваного землеробства НААН України. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2019. Т. 24, вип.1 (44). С. 49–64. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.1\(44\).168799](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.1(44).168799) (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).
3. Chebotar G., Bakuma A., Filimonov V., Chebotar S. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2019. Вип. 80. С. 82–89. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2019.80> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних).
4. Bakuma A. O., Popovych Yu. A., Motsnyi I. I., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Effects of the *Ppd-D1a* Allele on Growth Rates and Agronomical Traits in Wheat Detected by the Application of Analogous Lines, *Cytol Genet.*, 2018, vol. 52, no. 5, pp. 343–352. <https://doi.org/10.3103/S009545271805002X>

(Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).

5. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А., Бурденюк-Тарасевич Л. А., Чеботарь С. В. ПЦР-анализ генов фотопериодической чувствительности у сортов мягкой озимой пшеницы селекции Белоцерковской опытно-селекционной станции. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2018. Т 16, № 2. С. 217–226. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vutgis_2018_16_2_12 (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних).

6. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Топораш М. К., Бакума А. О., Тищенко В. М. Характеристика сортів пшениці селекції Полтавської державної аграрної академії за допомогою маркерів до генів, що визначають важливі господарсько-агрономічні ознаки. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2017. Т. 15, № 2. С. 187–195. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vutgis_2017_15_2_11 (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, аналіз експериментальних даних).

7. Бакума А. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Генотипи сучасних миронівських сортів озимої м'якої пшениці за *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* генами та їх чутливість до фотоперіоду. *Вісник Одеського Національного Університету. Біологія*. 2016. Т. 21, вип. 1 (38). С. 75–88. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.1\(38\).68012](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.1(38).68012) (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).

Тези:

1. Bakuma A. O., Bulavka N. V., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Photoperiodic sensitivity and genetic polymorphism of *Ppd-1* genes in Ukrainian wheat varieties and lines. *Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія*. 2019. Т. 24, Вип. 2. С. 173–174. DOI: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vonu_biol_2019_24_2_31.

2. Bakuma A. O., Motsnyi I. I., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Effects of the *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* alleles on agronomical traits of winter wheat in south Ukraine steppe region. Proceedings of the 17th International EWAC. EUCARPIA Int. Conf. Bucharest (Romania), 3–8 June 2018, pp. 77–82.

3. Бакума А.О., Чеботар Г.О., Лавриненко Ю.О., Чеботар С.В. Поліморфізм за генами фотоперодичної чутливості у сортів пшениці Інституту зрошуваного землеробства. Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти. Матеріали IV Міжнародної наукової конференції. Х. : ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2018. С. 17–18.

4. Бакума А. О., Чеботар Г.О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Ідентифікація *Ppd-1* генотипів, копій гена *Ppd-B1* та гаплотипного складу за геном *Ppd-D1* у сортів м'якої пшениці селекції Миронівського інституту пшениці ім. В.М.Ремесла. Біотехнологія – інноваційний шлях селекції рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса «Астропринт», 2018. С. 44–45.

5. Бакума А. О., Булавка Н. В. Чеботар С. В. Вплив поліморфізму за геном *Ppd-D1b* на строки колосіння низки сортів пшениці м'якої озимої МПП. Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів. Миронівка, 2017. С. 9–10.

6. Бакума А. О., Попович Ю. А., Моцний І. І., Чеботар Г. О., Чеботар С. В. Створення майже ізогенних ліній пшениці, що різняться алелем *Ppd-D1a* – нечутливості до фотоперіоду. Новітні агротехнології: теорія та практика. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 95-річчю ІБКіЦБ НААН. Київ, 2017. С. 176–177.

7. Бакума А. О., Попович Ю. А., Моцний І. І., Чеботар Г. О., Чеботар С. В. Вплив алелю *Ppd-D1a* на швидкість вегетації та агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням ранньостиглих ліній-аналогів. Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса, 2017. С. 17–19.

8. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А., Бурденюк-Тарасевич Л. А., Чеботарь С. В. Гены фотопериодической чувствительности в сортах мягкой озимой пшеницы селекции Белоцерковской опытно-селекционной станции. Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса, 2017. С.73–74.

9. Чеботар С. В., Галаєва М. В., Булавка Н. В., Бакума А. О. Молекулярно-генетичний аналіз сортів м'якої пшениці Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. Реалізація потенціалу сортів зернових культур – шлях вирішення продовольчої безпеки. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 110-річчю від дня народження академіка-селекціонера В. М. Ремесла. Центральне, 2017. С.74–76.

10. Alla Bakuma, Galyna Chebotar, Vadim Filimonov, Tetyana Kyrylyuk and Sabina Chebotar Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. Poster presentations on 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding. Budapest, Hungary, 2017. P. 35–36.

11. Булавка Н. В., Бакума А. О., Юрченко Т. В., Чеботар С. В. Фотоперіодична чутливість та яровизаційна потреба сортів озимі м'якої пшениці миронівської селекції. Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці. Матеріали науково-практичної конференції. Вінниця, 2016. С. 62–63.

12. Бакума А. О., Моцний І. І., Чеботар С. В. Вплив алеля *Ppd-D1a* на агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням ліній-аналогів. Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції. Херсон, 2016. С. 16–17.

13. Бакума А. О., Жарікова Д. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Генетичний поліморфізм за генами *Ppd* сучасних сортів пшениці м'якої озимі Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. Селекція, генетика і технології вирощування сільськогосподарських культур.

Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених.
Миронівка, 2015. С. 6.

14. Бакума А. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Вплив алелів генів *Ppd* на темпи розвитку озимої м'якої пшениці. Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція. Матеріали VII Міжнародної конференції молодих вчених, аспірантів, студентів. Одеса, 2015. С.4–5.

SUMMARY

Bakuma A. O. Genetic polymorphism of *Ppd* loci and photoperiodic sensitivity of modern Ukrainian bread wheat varieties. – Manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences, specialty 03.00.22 – molecular genetics. – Odesa I.I. Mechnikov National University. – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv, 2020.

Wheat is one of the main food crops in the world. The largest wheat producers are European Union, China, India, Russia, the United States, Canada, Pakistan, Australia, Ukraine and Argentina. The diversity of growing environments of wheat with climate variability, biotic and abiotic stresses demands creation of varieties, which are adapted for these conditions. Improvement of adaptive properties of the variety can be achieved by changes in the phenology of wheat plants and its related traits. It is important to understand the principles of genetic regulation of this variation.

One of the most important economically valuable traits, which determines culture adaptability to the environment, is photoperiodic sensitivity. Wheat genetic variability during individual development period is largely determined by expression features of *Ppd* genes, which influence plant response to photoperiod. Selection of more effective *Ppd*-genotypes in certain agro-ecological conditions, purposeful use of dominant and recessive alleles of *Ppd* genes in breeding programs is restrained by the difficulty of defining genotypes by the phenotypic manifestation of this trait. In this regard, there is a necessity of using molecular genetic methods of *Ppd* allele identification, which should promote the creation of varieties with a programmed development rhythm, particularly in our country, and is very relevant and urgent.

The presented work is dedicated: to the studying of allelic diversity of photoperiod sensitivity genes *Ppd-1* in the genotypes of modern bread winter wheat varieties, created in different breeding centers of Ukraine and to the investigation of the effects of alleles of *Ppd-D1* gene on vegetation rates and agronomic traits of wheat plants.

For the first time by means of PCR analysis with allele-specific primers the alleles of *Ppd-1* genes and haplotype composition of the *Ppd-D1* gene in 94 modern bread winter wheat varieties that have been created in different institutions and breeding centers of Ukraine, located in Polesie and Forest steppe (The V. M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, Poltava State Agrarian Academy, Bilotserkivska Experimental Breeding Station, Nosivska Breeding and Research Satation), Southern (Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations, Institute of Irrigate Agriculture of NAAS of Ukraine) and Northern Steppe of Ukraine (Luhansk Institute of Breeding and Technology, Donetsk Institute of Agricultural Production of NAAS of Ukraine, Dnipro State Agrarian and Economic University) was determined.

Based on results of molecular genetic analysis geographic distribution of allele carriers and haplotypes of *Ppd-D1* gene by agroclimatic zones of Ukraine was conducted and data base of allelic characteristics of *Ppd-1* genes of studied wheat varieties was created. In all terrestrial ecosystem of Ukraine genotypes with dominant *Ppd-D1a* allele exceeded recessive genotypes. However, *Ppd-D1a* allele was more common in Polesie Forest steppe and Steppe regions compared to Forest steppe, where the ratios of *Ppd-D1a* and *Ppd-D1b* alleles were 91% and 9%, respectively. In genotypes of bread winter wheat varieties of Forest steppe of Ukraine, that turned out to be the most polymorphic by haplotype composition of *Ppd-D1* gene, were detected haplotypes VII (91 %), III (5 %), IV (3 %) та II (1 %).

In this work for the first time for detection of “clear” effect of *Ppd-D1* gene alleles specially created by leading researcher of the Department of General and Molecular Genetics of PBGI – NCSCI Dr. I. I. Motsnyi genetic material was applied: near-isogenic lines of wheat BC7 Kooperatorka and Kooperatorka rannia

and analogue-lines Spenyak 1 and Stepnyak 1 ranniy. By means of molecular genetic methods, the level of isogenicity of bread wheat lines was determined, for evaluation of which we have proposed a method for determining the level of isogenicity based on the use of microsatellite and RAPD analysis. The method makes it possible to calculate the percentage of recurrent cultivar background recovery in genotype of near-isogenic or analogue line. According to the results of research it was revealed that Kooperatorka and Kooperatorka rannia lines are polymorphic by one locus Xgwm160 from 71 tested, the level of cultivar background recovery of recurrent parent in Kooperatorka rannia line was 98,6 %. Stepnyak 1 and Stepnyak 1 ranniy lines are not polymorphic in 65 loci. The level of recurrent cultivar background recovery of parental form of Stepnyak 1 ranniy line according to molecular genetic analysis data was 98,5 %. However, there was a polymorphism in Xgwm261 (2D) locus in these lines. We have revealed that line Stepnyak 1 has *Rht8a* allele and Stepnyak 1 ranniy line has *Rht8c* allele. Thus, studied lines Kooperatorka and Kooperatorka rannia differ only in *Ppd-D1* gene alleles, whereas Stepnyak 1 and Stepnyak 1 ranniy – in alleles of *Ppd-D1* gene and linked to it *Rht8*.

In previous publications recombinant inbred lines were used, which are largely inferior to near-isogenic lines, because in recombinant inbred lines other genes, or genes linked to target genes, can have a significant effect on agronomic traits. Therefore the material (in particular near-isogenic lines) is much more complete and is such that allows a precise assessment of the effect *Ppd-D1* of gene alleles. The near-isogenic lines used in the study are created on genetic background of a well adapted to the conditions of South Ukraine steppe ecotype variety Kooperatorka and analogue lines – on the genetic background of Stepnyak variety, therefore it is a unique genetic material, which enabled the evaluation of the allele effect on the agronomically important traits.

In the dissertation paper The effects of *Ppd-D1a* and *Ppd-D1b* alleles on 11 agronomically important wheat traits in conditions of South steppe of Ukraine and photoperiodic sensitivity in conditions of Forrest steppe were revealed on bread

winter wheat near-isogenic lines and analogue-lines. For the first time a model for predicting the stages of development of wheat plants in the conditions of the South of Ukraine was developed. The combination of alleles *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b* and *Ppd-D1a* in comparison with plants with recessive alleles of these genes has a significant acceleration of growth and development of wheat in the South steppe of Ukraine. Such plants outgrow their analogues with recessive allele in height just after flowering, later stop growing, and no longer increase the green mass. This indicates smaller influence of unfavorable environmental conditions on them, which are quite common in the end of May and the beginning of June in the South of Ukraine. It was determined that the presence of *Ppd-D1a* allele in the genotype leads to decrease in duration of the period before heading, height decrease and yield increase. Considering climate change, in particular warming, according to our theory, more precocious wheat genotypes will be better adapted for growing in the whole territory of Ukraine.

The information covered in the dissertation about the alleles diversity of *Ppd-1* system genes of bread winter wheat and their effect on agronomic traits will promote effective selection work of research institutes, in particular, selection of source breeding material, assortment of pairs for hybridization and selection previously predicted combinations of gene alleles, which will make it possible to receive the highest yields in certain agroclimatic conditions. The obtained data fill the information gap on allelic characteristics of photoperiodic sensitivity genes of domestic wheat varieties, enrich information on wheat genetic resources in the country, and contribute to the involvement of marker selection in the breeding process, which will lead to a new technological level.

Key words: bread winter wheat, *Triticum aestivum* L., *Ppd-1* genes, photoperiod sensitivity, genetic polymorphism, PCR-analysis.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1. ГЕНИ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ ЧУТЛИВОСТІ ТА ЇХ РОЛЬ В АДАПТИВНОСТІ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ (огляд літератури)	27
1.1. Фотоперіодична чутливість та генетична регуляція тривалості періоду «сходи-колосіння» у м'якої пшениці	27
1.2. Молекулярна структура генів <i>Ppd</i>	35
1.2.1. Ген <i>Ppd-D1</i> та його гаплотипний склад	35
1.2.3. Ген <i>Ppd-A1</i>	39
1.2.3. Алельна різноманітність гена <i>Ppd-B1</i>	43
1.3. Географічне поширення генів <i>Ppd</i>	48
1.4. Гени <i>Ppd</i> в генетичній системі адаптивності пшениці	53
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	59
2.1 Рослинний матеріал	59
2.1.1. Сорти та лінії пшениці м'якої озимої	59
2.1.2. Майже-ізогенні лінії та лінії-аналоги пшениці м'якої озимої	61
2.2. Методи дослідження	61
2.2.1. Виділення ДНК з етиольованих паростків пшениці	61
2.2.2. Визначення концентрації виділеної ДНК	62
2.2.3. ПЛР-аналіз алелів генів <i>Ppd</i>	62
2.2.4. Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі	63
2.2.5. Електрофорез продуктів ампліфікації у поліакриламідному гелі	65
2.2.6. Візуалізація продуктів ампліфікації в поліакриламідному гелі за допомогою фарбування з використанням AgNO_3	65
2.2.7. Визначення ступеня відновлення генофону рекурентної	66

батьківської форми у майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів	
2.2.8. Методика вивчення фотоперіодичної чутливості сортів та ліній пшениці	67
2.2.9. Методика та умови проведення польових дослідів щодо визначення початку періодів колосіння та цвітіння рослин пшениці на базі НСДСМП і Білоцерківського національного аграрного університету МОН України	69
2.2.10. Методика та умови проведення фенологічних спостережень щодо визначення початку періодів колосіння та цвітіння рослин пшениці на базі Інституту зрошуваного землеробства НААН України	70
2.2.11. Визначення агрономічних ознак майже ізогенних ліній та ліній-аналогів пшениці м'якої озимої для проведення структурного аналізу	71
2.2.12. Статистична обробка даних	73
РОЗДІЛ 3. ПОЛІМОРФІЗМ ЗА ГЕНАМИ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ ЧУТЛИВОСТІ СУЧАСНИХ УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ ТА ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ	75
3.1. <i>Ppd-1</i> генотипи та фотоперіодична чутливість сортів Лісостепу України	75
3.2. Алелі генів системи <i>Ppd-1</i> у сортів пшениці м'якої озимої Степової зони України	88
3.3. Алелі генів системи <i>Ppd-1</i> у сортів та ліній пшениці м'якої озимої Полісько-Лісостепової агрокліматичної зони	95
3.4. Розподіл алелів генів системи <i>Ppd-1</i> сучасних сортів пшениці м'якої озимої по агрокліматичним зонам України	105
РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ АЛЕЛЯ <i>Ppd-D1a</i> НА ТЕМПИ РОЗВИТКУ ТА АГРОНОМІЧНІ ОЗНАКИ ПШЕНИЦІ, ВИЗНАЧЕНИЙ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МАЙЖЕ-ІЗОГЕННИХ ЛІНІЙ ТА ЛІНІЙ-	

	17
АНАЛОГІВ	111
4.1. Визначення алелів генів системи <i>Ppd-1</i> у майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів м'якої пшениці	111
4.2. Перевірка ступеня відновлення генофону рекурентної батьківської форми майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів	112
4.3. Результати трьохфакторного дисперсійного аналізу варіації ознак майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів	115
4.4. Результати оцінки ролі ознак в дискримінації різних <i>Ppd-D1</i> генотипів на різних генетичних фонах	124
4.5. Визначення фотоперіодичної чутливості майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів пшениці	129
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	132
ВИСНОВКИ	140
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	142
ДОДАТОК А	164
ДОДАТОК Б	169
ДОДАТОК В	170
ДОДАТОК Г	171
ДОДАТОК Д	172
ДОДАТОК Е	173
ДОДАТОК Є	174
ДОДАТОК Ж	175
ДОДАТОК З	184
ДОДАТОК И	185

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

CCA – circadian clock associated

CNV – copy number variation

SNP – single nucleotide polymorphism

CO – constans

СТАВ – цетилтриетиламмоній бромід

FD – flowering locus D

FT – flowering locus T

MADS – MCM1, agamous, deficiens, SRF

MITE – miniature inverted-repeat transposable element

Ppd – гени фотоперіодичної чутливості

PRR – pseudo-response regulator

pUC19/MspI – маркер молекулярної маси

ladder mix – маркер молекулярної маси

TBE – Трис-борат - ЕДТА буфер

TEMED – N,N,N'N'-тетраметилетилендіамін

VRN – vernalization

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ЕДТА – етилендіамінтетраоцтова кислота

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

п. н. – пара нуклеотидів

сМ – сантиморган

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. М'яка пшениця – (*Triticum aestivum* L.) – стратегічна, найцінніша зернова культура України, яка слугує джерелом продуктів харчування для людей і тварин, завжди є ліквідною і становить основу продовольчої бази та безпеки держави. Сучасні сорти пшениці озимої мають досить високий генетичний потенціал продуктивності та якості. Про це свідчать результати досліджень, одержані в Інституті фізіології рослин і генетики НАНУ, науково-дослідних установах Національної академії аграрних наук України, закладах державної системи експертизи сортів рослин та багатьох агрофірмах і фермерських господарствах [176].

На сьогодні у Державному реєстрі сортів рослин, допущених до застосування в Україні, нараховується більше 400 сортів пшениц [145].

Урожайність пшениці значною мірою залежить від агрокліматичних умов, особливо від режиму освітлення, тепло- і вологозабезпеченості. Для вирощування пшениці м'якої озимої агрокліматичні умови в цілому задовільні на всій території України, проте протягом кожного періоду вегетаційного циклу рослини пшениці мають різну потребу у світлі, теплі та волозі, що зумовлено особливостями їх росту і розвитку. Кожна фаза розвитку пшениці має власний внесок в урожайність культури, а її тривалість генетично обумовлена і також залежить від умов середовища [125]. Різноманітні сорти пшениці можуть демонструвати контрастні відповіді на умови оточуючого середовища як наслідок взаємодії генотип × середовище [63,100]. Тому оцінка відносного вкладу сорту, оточуючого середовища і їх узгодження з умовами вирощування важливі для визначення адаптації рослин пшениці, яка виражається здатністю сорту повністю реалізовувати свій потенціал урожайності в конкретному середовищі, незважаючи на вплив несприятливих погодних факторів [74, 1, 129].

Потенціал вітчизняних сучасних сортів пшениці м'якої озимої знаходиться в межах 8-12 т/га, проте середня врожайність озимої пшениці за 2013-2018 роки становила приблизно 4 т/га [164], що може свідчити не тільки про агротехнологічні упущення у сучасному зерновиробництві, але й про знижену адаптивну здатність сортів. З одного боку активна селекція сортів інтенсивного типу призвела до втрати адаптогенів, у першу чергу до абіотичних чинників. А з іншого – глобальні зміни клімату зумовили нестабільність гідротермічного режиму у період вегетації рослин і збільшення ризиків для їх оптимального розвитку. Частішими стали також метеорологічні катастрофи. Метеорологічні чинники складно піддаються прогнозуванню та напрацюванню застережних засобів. До того ж селекція має певну інерційність, оскільки на створення нового сорту йде більше 8 років, а тому явище певного відставання селекції від потреб сьогодення є об'єктивним [130]. Саме тому надзвичайно актуальною є подальша розробка наукових засад і вдосконалення методів створення адаптованих до несприятливих біотичних і абіотичних факторів високопродуктивних і цінних за якістю зерна сортів озимої пшениці.

Несприятливими факторами під час вирощування пшениці в Україні є складні умови зимівлі, дія посухи, ураження рослин фітопатогенами, надмірна спека або вологість у період наливу та дозрівання зерна, що спричиняє запалення, вилягання, проростання зерна в колосі, осипання зерна у разі перестою зрілих хлібів тощо.

Виходячи з наведеного вище, необхідно відзначити, що місцеві сорти озимої пшениці різного географічного походження протягом тривалого періоду адаптувались до специфічних умов температури та довжини дня, залучаються селекціонерами до схрещування з сортами інших еколого-кліматичних зон.

Однією з найважливіших господарсько-цінних ознак, яка визначає адаптивність культури до навколишнього середовища, є чутливість до фотоперіоду. Спадкова мінливість пшениці в період індивідуального

розвитку значною мірою обумовлена особливістю експресії генів *Ppd*, які і відповідають за фотоперіодичну чутливість.

У зв'язку з тим, що основним завданням селекції є підвищення урожайності культурних рослин, успіх роботи у даному напрямку має зв'язок з результативністю відбору, який спрямований на оптимальний рівень тривалості онтогенезу, отже і на добір ефективніших *Ppd*-генотипів. Цілеспрямоване використання у селекційних програмах домінантних та рецесивних генів *Ppd* стримується складністю визначення генотипів за фенотиповим проявом зазначених ознак. У зв'язку з цим виникає необхідність, поряд із традиційними методами генетичного аналізу використовувати методи визначення молекулярно-генетичного поліморфізму ДНК рослин. Аналіз поліморфізму ДНК м'якої пшениці сприяє розв'язанню завдань селекції та генетики, у тому числі і виявленню ділянок ДНК, які тісно зчеплені з генами, що мають важливе господарське значення [126].

На теперішній час не проведено визначення алелів генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1* в генотипах сучасних сортів пшениці, створених у провідних селекційних центрах, які розташовані в різних агрокліматичних зонах України – на території Полісся і Лісостепу (Миронівського Інституту пшениці імені В.М. Ремесла, Полтавської державної аграрної академії, Білоцерківської дослідно-селекційної станції, Інституту землеробства НААН України, Носівської селекційно-дослідної станції), Південного (Інституту зрошуваного землеробства НААН України) та Північного Степу України (Луганського інституту селекції і технологій, Донецького інституту агропромислового виробництва НААН України, Дніпровського державного аграрно-економічного університету) з використанням молекулярних маркерів до алелів зазначених генів, а також до поліморфізмів в нуклеотидних послідовностях алелів, що визначають гаплотипи. Більшою мірою вивчені сорти Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення [127, 182, 183].

Тому вважаємо вкрай необхідним дослідити алелі генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1* та склад гаплотипів в генотипах українських сортів пшениці. Отримані данні заповнять інформаційну прогалину щодо алельної характеристики за генами фотоперіодичної чутливості вітчизняних сортів пшениці. Ця система генів дуже важлива, тому що має вплив на строки проходження певних етапів розвитку рослин пшениці в різних еколого-кліматичних регіонах країни та пов'язана із скоростиглістю, стійкістю до посух та врожайністю.

Співставлення комбінацій алелів за генами *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1*, що будуть визначені в роботі, в генотипах сортів пшениці з різних регіонів країни, зі строками колосіння та цвітіння в польових умовах, а також статистична оцінка зв'язку алейного стану та строків проходження окремих фаз розвитку пшениці надасть змогу прогнозувати ефективність розвитку рослин в певних умовах в залежності від генотипу за *Ppd* генами.

Визначені генотипи сортів м'якої пшениці за системою генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1* будуть слугувати для селекціонерів країни відправною точкою при постановці схрещувань для отримання нових сортів з прогнозованими темпами розвитку. Отримані данні значною мірою поповнять інформацію щодо генетичних ресурсів пшениці в країні, будуть сприяти підвищенню технологічного рівня у селекційному процесі та дозволять охарактеризувати вітчизняну зародкову плазму озимої м'якої пшениці на сучасному науковому рівні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі генетики та молекулярної біології біологічного факультету Одеського національного університету імені І. І. Мечникова в рамках науково-дослідної теми «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці і сої та залежність їх продуктивності від алельного складу локусів за даними ПЛР-аналізу» (№ ДР 0117U001114, 2017-2019 рр.).

Мета та завдання дослідження. Метою роботи був аналіз генетичного поліморфізму та визначення алелів за генами *Ppd-1* у сучасних сортів та ліній м'якої пшениці, оцінка ефектів алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на темпи розвитку та агрономічні ознаки м'якої пшениці.

Для досягнення поставленої мети вирішували такі завдання:

1. Визначити алелі генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1* в генотипах сортів м'якої пшениці, створених в провідних селекційних центрах країни та адаптованих до умов вирощування в різних агро-кліматичних умовах;
2. Проаналізувати поліморфізм та ідентифікувати гаплотипний склад за геном *Ppd-D1* в генотипах сучасних українських сортів м'якої пшениці;
3. Проаналізувати залежність фотоперіодичної чутливості сортів в умовах Лісостепу України від алельного стану генів *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1*;
4. Порівняти рівень поліморфізму за генами *Ppd-1* в зонах Полісся, Лісостепу і Степу України;
5. Визначити рівень ізогенності та алелі генів *Ppd-1* у ліній пшениці м'якої озимої та їх ранньостиглих аналогів;
6. З'ясувати вплив алелів гена *Ppd-D1* на агрономічні ознаки й тривалість періоду «сходи-колосіння» у майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів пшениці.

Об'єкт дослідження: гени фотоперіодичної чутливості *Triticum aestivum* L. та їхні ефекти на агрономічні ознаки.

Предмет дослідження: нуклеотидні послідовності генів фотоперіодичної чутливості (алелі та гаплотипи) в генотипах сортів і ліній м'якої пшениці та їхній вплив на агрономічні ознаки і темпи розвитку пшениці м'якої озимої.

Методи дослідження: молекулярно-генетичні (екстракція геномної ДНК, алель-специфічна та вкладена ПЛР, мікросателітний аналіз, IPBS- та RAPD-аналіз, електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному та поліакриламідному гелі) статистичні (дисперсійний і дискримінантний аналіз

для опрацювання даних щодо темпів виколошування сортів та ліній пшениці м'якої озимої та структурного аналізу урожаю, метод t-критерію Ст'юдента для опрацювання даних фотоперіодичної чутливості сортів МПП), агрономічні (структурний аналіз урожаю).

Наукова новизна одержаних результатів. За допомогою ПЛР аналізу з алель-специфічними праймерами було визначено алелі генів системи *Ppd-1* та гаплотипний склад за геном *Ppd-D1* у 94 сучасних сортів пшениці м'якої озимої з різних селекційних установ розташованих на території Полісся, Лісостепу, Південного та Північного Степу України. Проведено географічний розподіл сортів – носіїв певних алелів та гаплотипів гену *Ppd-D1* по агрокліматичним зонам України та створено базу даних досліджених сортів пшениці за алелями генів *Ppd-1*.

Вперше на спеціально створеному генетичному матеріалі – майже-ізогенних лініях пшениці ВС₇ Кооператорка та Кооператорка рання та лініях-аналогах ВС₇ Степняк 1 та Степняк 1 ранній оцінено вплив алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на агрономічні ознаки та темпи розвитку пшениці, статистично доведено ефекти алелів на 11 агрономічно важливих ознак пшениці в умовах Південного степу України та на фотоперіодичну чутливість в умовах Лісостепу.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами дисертаційної роботи створено базу даних сучасних сортів пшениці різних селекційних установ України за алелями генів фотоперіодичної чутливості *Ppd-1*. Ця інформація може бути використана селекціонерами у схрещуваннях для отримання нових сортів з прогнозованими темпами розвитку.

Доведено ізогенність ліній Кооператорка та Кооператорка рання, які запропоновано використовувати в дослідженнях для оцінки впливу алелів гену *Ppd-D1* на стійкість пшениці до абіотичних стресів (обидві пари ліній створено на основі сортів степового еко типу, які добре адаптовані до умов Півдня України). Одержані у дисертаційній роботі дані впроваджені у

дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції і насінництва пшениці озимої Миронівського інститута пшениці імені В. М. Ремесла та Інститута зрошувального землеробства НААН України. Акти впровадження додаються.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом разом з науковим керівником доктором біологічних наук, професором С. В. Чеботар складено план досліджень, сформульовані основні положення та висновки дисертаційної роботи. Здобувачем особисто проведено аналіз літературних джерел за темою дисертації, виконано експериментальну частину роботи, здійснено статистичну обробку отриманих результатів та написання дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені на III та V Міжнародних науково-практичних конференціях молодих вчених і спеціалістів «Селекція, генетика і технології вирощування сільськогосподарських культур» (Миронівка, 2015, 2017), на VII Міжнародній конференції молодих вчених, аспірантів, студентів «Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція.» (Одеса, 2015), на науково-практичній конференції «Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці» (Одеса, 2016), на Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату» (Херсон, 2016), на Міжнародній науково-практичній конференції «Новітні агротехнології: теорія та практика» (Київ, 2017), на Міжнародній науковій конференції «Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин» (Одеса, 2017), на Міжнародній науково-практичній конференції «Реалізація потенціалу сортів зернових культур – шлях вирішення продовольчої безпеки» (Миронівка, 2017), на X з'їзді Українського товариства генетиків і селекціонерів імені М. І. Вавилова та XII Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (Умань, 2017), на 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding (Budapest, Hungary, 2017), на 17th EWAC EUCARPIA International Conference (Bucharest, Romania, 2018), на Міжнародній науковій конференції

«Сьогодення біологічної науки» (Суми, 2018), на IV Міжнародній науковій конференції молодих вчених «Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти» (Харків, 2018), на Міжнародній науковій конференції «Біотехнологія – інноваційний шлях селекції рослин» (Одеса, 2018). Результати експериментальних досліджень були представлені на наукових семінарах кафедри генетики та молекулярної біології та щорічних звітних конференціях біологічного факультету Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 21 наукову працю, з яких 7 статей у фахових виданнях та 14 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та 10 додатків. Дисертацію викладено на 185 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 19 рисунками та 18 таблицями. Список використаних джерел складає 198 найменувань.

Подяки. Автор висловлює щире подяку науковому керівникові професору, член-кореспонденту НААН України, д.б.н. Чеботар С. В. за керівництво роботою, допомогу у плануванні експериментів та в інтерпретації результатів, за допомогу у підготовці публікацій та рукопису дисертації. Також автор висловлює подяку провідному науковому співробітнику відділу загальної і молекулярної генетики СГІ – НЦНС к.б.н. Моцному І. І. за створення та надання для досліджень майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів пшениці та за допомогу у підготовці публікації, к.б.н. Булавкі Н. В., с.н.с. Інституту садівництва НААН України, д.с.-г.н. Москальцу В. В., г.н.с. відділу селекції Інституту зрошуваного землеробства НААН України, д.с.-г.н., професору Лавриненку Ю. О. за надання даних щодо фотоперіодичної чутливості та темпів розвитку сортів пшениці м'якої озимої, що вивчалися в роботі.

РОЗДІЛ 1
ГЕНИ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ ЧУТЛИВОСТІ ТА ЇХ РОЛЬ В
АДАПТИВНОСТІ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ
(огляд літератури)

1.1 Фотоперіодична чутливість та генетична регуляція тривалості періоду «сходи-колосіння» у м'якої пшениці

Однією з найважливіших біологічних характеристик, що визначає придатність сортів зернових культур для вирощування в тій чи іншій кліматичній зоні, є тривалість і структура вегетаційного періоду рослин [151]. Впродовж вегетаційного періоду на життєві процеси, що відбуваються в рослині впливає середовище існування й рослина прагне пристосуватися до цього середовища і засвоїти усе потрібне для свого розвитку [134].

Посуха є одним з основних стресових факторів, який обмежує виробництво пшениці в усьому світі і зменшує урожай. У 2012 році загальне світове виробництво пшениці скоротилося на 1,4 %, головним чином через сильну посуху в Сполучених Штатах Америки, Європі та Центральній Азії [24]. Очікується, що вплив майбутніх епізодів посухи на виробництво пшениці зросте внаслідок впливу зміни клімату на температуру і опади. Відмічається, що підвищення температури на 1 °С, яке відбулося протягом останніх 29 років, призвело до зниження врожайності пшениці на 6 % в порівнянні з очікуваною врожайністю без наслідків глобального потепління [58, 24]. Негативні наслідки посухи можуть бути зведені до мінімуму шляхом забезпечення того, щоб найбільш чутливі стадії розвитку не проходили під час стресових періодів. Отже, рекомендується «тонка настройка» колосіння, цвітіння і тривалості фаз розвитку для кращої адаптації пшениці в умовах стресу [17, 24]. Зміни в характері опадів в поєднанні з підвищенням температури вже сьогодні впливають на виробництво основних сільськогосподарських культур в світі, а виробництво пшениці під таким

впливом може скоротитися на 23,2–27,2 % до 2050 року, якщо не буде вжито захисні заходи для обмеження глобального потепління й розроблені нові сорти пшениці з відповідними адаптивними властивостями [24].

Час колосіння, який тісно корелює з часом цвітіння, є важливою ознакою для селекції пшениці (*T. aestivum* L.), тому що служить ключовим компонентом адаптації і, отже, впливає на потенціал врожайності сорту. На сьогоднішній день пшениця вирощується в усьому світі завдяки своїй високій адаптивності до широкого діапазону умов навколишнього середовища. Розуміння принципів генетичного контролю, що лежать в основі адаптивних механізмів пшениці, важливе для створення перспективних генотипів пшениці для різних регіонів із різними кліматичними умовами [113].

Більшість досліджень з генетики вегетаційного періоду у пшениці пов'язана з вивченням тривалості періоду «сходи-колосіння» [151, 180, 171]. Генетичний та екологічний контроль цього періоду вегетаційного розвитку є важливими регуляторними факторами, що впливають на кількість і якість зерна і, отже, на врожайність [30]. Розуміння генетичних механізмів, що детермінують тривалість періоду «сходи-колосіння», набуває все більшого значення у зв'язку з тим, що вже в найближчому майбутньому очікується почастішання екстремальних погодних умов [6]. Пристосування темпів виходу з снігу і цвітіння пшениці до місцевих кліматичних умов дозволяє уникнути негативного впливу високих температур і посухи в процесі вегетації і наливу зерна [7, 8]. Таким чином, прогнозування часу колосіння і цвітіння грає ключову роль в селекції, кінцевою метою якої буде поширення перспективних генотипів в регіонах із різними кліматичними умовами [51].

Як зазначає академік НААН України А. Ф. Стельмах зі співавторами [170], основний Переднеазіатський центр походження більшості видів пшениць, що включає Малу Азію, Іран, частково Закавказзя і гірську Туркменію, характеризується низьким зволоженням, тривалим посушливим періодом, високою температурою з дуже рідкісними заморозками. Тому в цій

зоні були поширені ярі відносно скоростиглі генотипи, основними показниками адаптивності яких були наявність періоду спокою, скоростиглість, жаро- і посухостійкість, а близькість до екватора забезпечувала перевагу слабкій фотоперіодичної чутливості внаслідок короткого дня в період вегетації [170].

Розширення ареалу цих видів пшениці в більш північні зони помірних широт виявилось можливим лише внаслідок накопичення мутацій, які змінюють темпи початкового розвитку після проростання і сприяють адаптації до змінених умов нових агрокліматичних зон. Ними виявилися мутації, що призводять до виникнення яровизаційної потреби для гальмування початкового розвитку перед настанням холодів, а також мутації, що сприяють прискоренню подальшого розвитку в умовах подовженого фотоперіоду. Накопичення подібних мутацій привело до природної появи озимих пшениць та їх успішного просування в помірні широти [170].

Науковці з провідного світового міжнародного наукового центру з генетики рослин (John Innes Centre, Велика Британія) А. Worland зі співавторами [108] вважають, що час виголошування у пшениці детермінується трьома генетичними системами:

- 1) генами фотоперіодичної чутливості *Ppd-1*;
- 2) генами *Vrn*, які контролюють реакцію рослин на яровизаційні температури;
- 3) генами *Eps – earlines perse*, що контролюють час цвітіння, і незалежні від факторів зовнішнього середовища.

Фотоперіодична реакція – це здатність рослин реагувати на довжину дня. Вона властива рослинам самих різних таксономічних груп і життєвих форм [144]. 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 [167].

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 [174].

Фотоперіодична реакція – це функція еволюційно сформованого комплексу генів, робота яких забезпечує пристосування до певного фоторежиму та пов’язана з темпами розвитку рослин, скоростиглістю, морозо-зимостійкістю і, в цілому, ступенем екологічної пластичності [29, 97, 65, 195].

Різноманітність чутливості до фотоперіоду у пшениці м’якої (*Triticum aestivum* L.) контролюється трьома генетичними локусами – *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1*, які локалізовані на хромосомах другої гомеологічної групи 2A, 2B і 2D, відповідно [62]. При цьому домінантні і рецесивні алелі генів *Ppd* відповідно позначаються *Ppd-X1a* і *Ppd-X1b*, де X – A, B або D геном. Зниження чутливості до тривалості дня обумовлено домінантними алелями генів *Ppd*, а сильна реакція на фотоперіод характерна для генотипів з наявністю тільки рецесивних алелів усіх трьох генів [143]. Гени *Ppd-1* є членами сімейства генів *PRR* (*pseudo-response regulator*), ортологічних генам *Ppd-H1* ячменю *Hordeum vulgare*, (2n = 14; HH). *Ppd-H1* має домен CCT, що демонструє високу схожість з *Arabidopsis PRR7* геном [102, 5], з відомою функцією циркадних ритмів [69].

Ефект дії генів фотоперіодичної реакції полягає у контролі тривалості проходження II–V етапів органогенезу, а саме: диференціації основи конуса наростання на зачаткові вузли, міжвузля і стеблове листя; диференціації головної осі зачаткового суцвіття, утворення конуса наростання другого порядку, початку утворення та диференціації квіток [95, 17, 195].

Вплив генів *Ppd* у озимих сортів пшениці виявляється через 7 діб після завершення яровизації і закінчується за 2–3 тижні до колосіння залежно від

наявності в генотипі того чи іншого домінантного гена *Ppd*. У чутливих до фотоперіоду сортів затримка розвитку на II і III етапах органогенезу призводить до посиленого кущення, підвищення кількості листя, формування більшого числа зародкових колосків і більшого колосу, проте знижується маса тисячі зерен і число зерен з колосу через зростаючу кількість стерильних квіток [29, 195].

За силою впливу на чутливість до фотоперіоду *Ppd-1* гени знаходяться в такому порядку: *Ppd-D1* > *Ppd-B1* > *Ppd-A1*, хоча в окремих випадках ефект алеля *Ppd-B1* можна зіставити з *Ppd-D1* [110].

Яровизація – це тривала експозиція на холоді, яка необхідна для переходу рослин озимої пшениці від вегетативної до репродуктивної стадії розвитку [172]. Відповідь на яровизацію залежить від інтенсивності низької температури і тривалості її впливу [78]. Генетичні відмінності у вимогах до яровизації в основному викликані алельними варіаціями в локусах *Vrn-1*, *Vrn-2*, *Vrn-3* і *Vrn-4*. Гени серії *Vrn-1* складаються з трьох ортологічних аналогів *Vrn-A1*, *Vrn-B1* і *Vrn-D1*, розташованих на хромосомах 5A, 5B і 5D відповідно [77, 54, 27, 33]. З системи *Vrn-2* були охарактеризовані гени *Vrn-A2* і *Vrn-B2* в диплоїдній і тетраплоїдній пшениці [23, 114]. При цьому ген *Vrn-B2* зазвичай є функціональним, а ген *Vrn-A2* – нефункціональним в тетраплоїдній пшениці. Серія *Vrn-3* включає локуси *Vrn-A3*, *Vrn-B3* і *Vrn-D3* в гексаплоїдній пшениці [118], розташовані на хромосомах 7A, 7B і 7D відповідно [114, 11]. Що стосується системи *Vrn-4*, то на даний час описаний тільки ген *Vrn-D4* на хромосомі 5D [118]. Виявлено, що ген *VRN-1* кодує MADS-бок транскрипційний фактор. Локус *VRN-2* містить 2 тандемно дуплікованих гени, що кодують фактор *ZCCT*, який пригнічує цвітіння, а *VRN-3* кодує білок, схожий з інгібіторами Raf-кіназ [114, 115, 116].

Як прийнято вважати, сорти пшениці м'якої озимої є носіями рецесивних алелів генів *vrn*, але в публікаціях низки дослідників показано, що навіть у озимих сортів м'якої пшениці можуть бути присутніми домінантні алелі *Vrn*-генів, які здійснюють вплив на строки як колосіння і

зацвітання, так і дозрівання пшениці [119, 48, 103]. Так, згідно з дослідженням Kiss et al. [48], домінантні алелі були визначені у 7 % з 683 сортів озимої пшениці з різних континентів світу. При цьому присутність тільки одного домінантного алеля гена *Vrn-A1* забезпечує повну нечутливість рослини до яровизації, а домінантні алелі генів *Vrn-B1* и *Vrn-D1* лише частково знижують потребу в ній [77]. При аналізі 205 китайських сортів озимої пшениці авторами Zhang et al. [119] виявлено, що домінантні алелі генів *Vrn-I* несли в своєму генотипі за локусом A1 – 3,5 % сортів, за локусом B1 – 16 %, за локусом D1 – 41,5 %. В роботі Whittal et al. [103] серед досліджених 203 канадських сортів саме озимої пшениці у 9 % виявлений домінантний алель *Vrn-A1*, і тільки у одного сорту (0,5 %) знайдені алелі *Vrn-B1* і *Vrn-D1*, що призводять до нечутливості до яровизації.

Академік А. Ф. Стельмах із співавторами [96, 184] вважають, що сорти озимої пшениці є носіями тільки рецесивних алелів всіх трьох генів ортологічної серії *vrn-1* і *vrn-4*, які визначають наявність потреби в яровизації для переходу до генеративного розвитку. При цьому озимі сорти м'якої пшениці значно розрізняються між собою за тривалістю яровизації – від 15 до 60 діб і більше [180]. Відмінності ж за тривалістю яровизації у сортів озимої пшениці контролюються іншою системою генів, для позначення яких був запропонований символ *Vrd* (*vernalization requirement duration*) [28, 98]. Показано участь в контролі даної ознаки як мінімум двох неалельних генів з неоднаковою експресивністю домінантних алелів [98, 131, 180], які позначені *Vrd1* і *Vrd2* відповідно. Домінантний алель гена *Vrd1* сприяє скороченню тривалості яровизації до 20–35 діб, а гена *Vrd2* – до 40 і 45 діб [177]. Передбачається наявність ще одного, третього гена *Vrd3*, що скорочує тривалість яровизації та не є алельним двом першим [178]. Ген *Vrd1* локалізований на хромосомі 4A, *Vrd2* – на хромосомі 5D, ген *Vrd3* може бути розташований на одній з хромосом – 1A, 6A або 4B [184]. Основний ефект домінантних алелів генів *Vrd* полягає в контролі відмінностей по тривалості II етапу органогенезу, коли відбувається диференціація конуса наростання на

вузли, міжвузля та стеблові листя, і зазначені гени можуть впливати на зимо-морозостійкість, тривалість періоду до колосіння і інші ознаки [186].

Навіть після повного задоволення комплексу вимог до фотоперіоду та яровизації зберігаються зміни в часі виколошування [92], які контролюються генами скоростиглості *per se* – *Eps*. Гени фотоперіодичної чутливості та яровизації контролюють час цвітіння пшениці у відповідь на конкретну довжину і температуру дня, тоді як гени *eps* впливають на час цвітіння незалежно від екологічних подразників [108]. Однак, гени *eps* надають відносно менший вплив на час цвітіння, ніж гени яровизації або фотоперіодичної реакції, і зазвичай відображаються як локуси кількісної ознаки (*QTL*), а не як основні гени [44, 45]. З моменту виявлення першого гена *eps* на довгому плечі хромосоми 2B Scarth і Law [86] було визначено, що майже всі хромосоми пшениці несуть гени *Eps* / *QTL*. Вони найбільш часто зустрічаються на хромосомах 3A [40], 5A [44, 45, 36, 7], 2B [86, 94, 90, 59], 5B, 7B і 4D [40, 50, 57].

Крім викладеного вище, Wilhelm із співавторами [105], був виявлений значний ефект гена короткостебловості *Rht-B1* на час виколошування, що свідчить про те, що гени, які контролюють ріст рослин, також можуть впливати на темпи колосіння та цвітіння.

На підставі експериментальних даних [120, 43, 56, 89, 55], отриманих на озимій формі гексаплоїдної пшениці *T. Aestivum* L. і ярої формі диплоїдної пшениці *T. Monococcum* L., І. Л. Степаненком зі співавторами [172] реконструйована генна мережа регуляції часу цвітіння в залежності від тривалої дії холоду і довжини дня (рис. 1.1).

MADS-box транскрипційний фактор озимої пшениці *VRT2* (VEGETATIVE TO REPRODUCTIVE TRANSITION 2) пов'язаний з процесом яровизації, він діє як репресор гена *VRN1* [43]. При довгому дні у неяровізованих рослин експресія *VRT2* посилюється, яровизація пригнічує *VRT2*. Експресія *VRN3 FT* посилюється на довгому дні. Білок *VRN3* названий флоригеном рухається з листя в апікальну меристему і прискорює цвітіння у

різних видів рослин [20]. У пшениці білок VRN3 в меристемі взаємодіє з bZIP-білком FDL2 FDlike, який безпосередньо пов'язується з промотором гена *VRN1*, активуючи його транскрипцію [56]. Експресія *VRN3* призводить до подальшого збільшення рівня транскрипції *VRN1*, таким чином, утворюється петля з позитивним зворотним зв'язком, що підсилює транскрипцію *VRN1* до рівня, необхідного для ініціації цвітіння [23]. Ген *VRN3* функціонує як інтегратор сигнальних шляхів у відповідь на яровизацію і фотоперіод у злакових [114, 39].

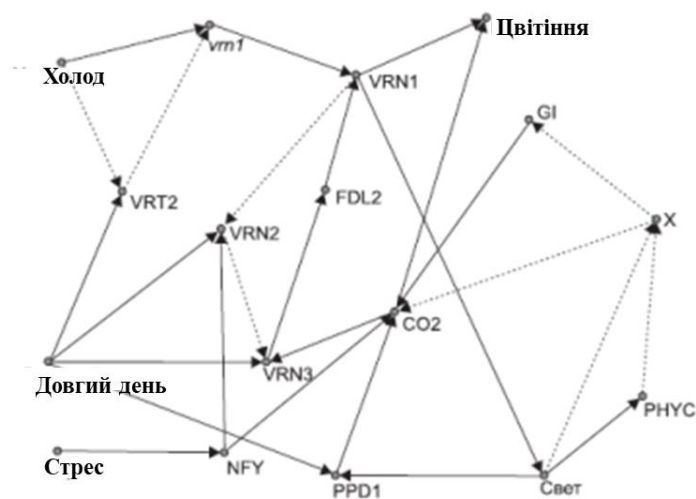


Рис.1.1. Генна мережа регулювання часу цвітіння пшениці залежно від яровизації, фотоперіоду, стресу і циркадного ритма [172]. Суцільні стрілки позначають активацію, пунктирні – інгібування гена. *VRN* – VERNALIZATION; *vrn1* – рецесивний алель гена *VRN1*; *VRT2* – VEGETATIVE TO REPRODUCTIVE TRANSITION 2; *FDL2* – FD-like 2, *PPD1* – PHOTOPERIOD 1; *PHYC* – PHYTOCHROME C; *NF-Y* – NUCLEAR FACTORY; *CO2* – CONSTANS 2; *GI* – GIGANTEA; *X* – гіпотетичний білок.

Консервативне сімейство білків *NF-Y* індукується у відповідь на посуху і осмотичний стрес [99]. Взаємодія між білками, що мають SST домени *CO*, *CO-like* and *TIMING OF CAB1 EXPRESSION1*, і транскрипційними

факторами NF-Y / NAF NUCLEAR FACTOR-Y грає важливу роль в інтеграції шляхів передачі сигналів при яровизації і зміні довжини дня [55]. CCT-білками являються ZCCT1 і ZCCT2, гени яких розташовані в локусі VRN2, і CO2, які взаємодіють з однією родиною NF-Y-білків. Гени *Ppd-1* і *CO2*, які беруть участь у відповіді на фотоперіод, підсилюють експресію *VRN3* при довгому дні, тоді як *VRN2* є репресором цвітіння [102]. Регуляція цвітіння відбувається в результаті конкуренції репресора цвітіння *VRN2* *ZCCT1* і активатора *CO2* за взаємодію з NF-Y комплексом [55].

За даними більшості авторів [2] переважаючий вплив на темпи вегетації мають системи генів *Ppd-1* та *Vrn*. Академік А. Ф. Стельмах [168,169, 151] дійшов до висновку, що 70 % генетично зумовленого варіювання тривалості періоду «сходи-колосіння» детерміновано генами *Vrn*, 25 % – генами *Ppd* і тільки 5 % – іншими генами.

На думку Н. І. Вавілова, не повинно бути сумнівів в тому, що при застосуванні фотоперіодизму та інших факторів вдасться з'ясувати по новому процес розщеплення при схрещуванні сортів, що розрізняються по вегетаційному періоду. При цьому питання про вегетаційний період є капітальним розділом селекції, тому що він нерозривно пов'язаний з багатьма ознаками [135]. Вивчення алельних варіантів генів *Ppd* і їх зв'язку з фенологією рослин пшениці допоможе визначити, які комбінації алелів найбільш корисні в конкретному регіоні вирощування, і буде сприяти оптимізації фенології рослин для мінливого клімату [103].

1.2. Молекулярна структура генів *Ppd*

1.2.1. Ген *Ppd-D1* та його гаплотипний склад

Домінантний алель *Ppd-D1a* є ключовим в регулюванні періоду «сходи-колосіння» у м'якої пшениці і викликає нечутливість до фотоперіоду. Передбачається, що алель *Ppd-D1a* був впроваджений в європейські сорти на

початку XX століття від донорного японського сорту «Акакомугі» [107]. Згодом Beales зі співавторами [5] в генотипі цього сорту, поряд з іншими сортами, що рано виколошувалися, виявили делецію 2089 п. н. – поліморфізм, пов'язаний з нечутливістю до фотоперіоду, який викликає міс експресію гена 2D *PRR*, внаслідок чого у рослин пшениці настає раннє цвітіння в умовах короткого і тривалого дня. Ділянка хромосоми пшениці 2D, на якому розташований локус *Ppd-D1*, подібна до ділянки хромосоми ячменю 2HS, який містить ген фотоперіодичною чутливості *Ppd-H1* [53, 12].

За гіпотезою Guo зі співавторами [37], на місці делеції 2089 п. н. у минулому був сайт зв'язування з транскрипційним фактором – негативним регулятором, втрата цього сайту (або втрата можливості його впізнавати) спричиняє підвищення експресії алеля *Ppd-D1a*. Цей алель, скоріше за все, з'явився завдяки мутації в нуклеотидній послідовності алеля дикого типу *Ppd-D1b*, найбільше він розповсюджений в Азії, що свідчить на користь східного походження *Ppd-D1a* [37].

Крім делеції 2089 п. н. в промоторній області гена *Ppd-D1*, що викликає нейтральну реакцію на зміну тривалості світлового дня, було виявлено ще чотири мутації в нуклеотидній послідовності цього гена [5]. Так, в нітроні 1 може бути присутня вставка транспозона типу *MLE* (*mariner-like transposable element*). Наступним поліморфізмом є делеція 5 п. н. у сьомому екзоні, яка створює зсув рамки зчитування і призводить до синтезу нефункціонального білка. Крім того, в сьомому екзоні виявлено однонуклеотидний поліморфізм (SNP), що викликає зміну аланіну на треонін в ССТ-домені. Також в деяких сортах пшениці зустрічається делеція 16 п. н. у восьмому екзоні, яка викликає заміщення останньої амінокислоти ССТ домену з гліцину на лейцин, в результаті чого утворюється новий амінокислотний залишок COOH в синтезованому білку [5].

Внаслідок з'єднання цих поліморфізмів в послідовності гена *Ppd-D1* було виділено десять функціонально відмінних гаплотипів (рис. 1.2), які

контролюють різний рівень експресії гену і по різному впливають на тривалість періоду «сходи-колосіння» [37, 16, 119].

Гаплотип I відрізняється від гаплотипу II присутністю делеції 2089 п. н. в області промотора. Гаплотип III в порівнянні з гаплотипом IV характеризується наявністю TE інсерції в інтроні 1 і відсутністю делеції 5 п. н. в сьомому екзоні. У гаплотипі V і VI описується присутність інтактною інсерції 16 п. н. у восьмому екзоні, при цьому в гаплотип VI, на відміну від гаплотипу V, також включається інсерція 24 п. н. плюс 15 п. н. в області промотора, яка розташована на 2 тис. п. н. вище сайту ініціації транскрипції [37]. Використовуючи метод ПЛР в реальному часі, був визначений рівень експресії кожного з гаплотипів *Ppd-D1*. Найвищий рівень був у гаплотипу I. Потім в порядку зниження були розташовані гаплотипи IV, V, II і III. При цьому рівень експресії гаплотипу I був значно вище ($P < 0,01$), а гаплотипу IV вище ($P < 0,05$), ніж гаплотипів II і III [37]. Ці результати були співвіднесені з результатами польового дослідження і показано, що тривалість періоду до колосіння була найменшою у рослин, які відносилися до гаплотипу I, найбільшою у гаплотипу III, проміжною у гаплотипів II, IV і V [37].

Пізніше дослідження китайських сортів озимої пшениці на наявність вищевказаних мутацій, дозволило виявити ще чотири комбінації поліморфізмів. Так, обидва гаплотипи VII і VIII характеризувалися делецією 2089 п. н. в області промотора, при цьому на відміну від гаплотипу VII, в гаплотипі VIII була відсутня TE інсерція в інтроні 1, але була виявлена делеція 5 п. н. у сьомому екзоні. До гаплотипу VII і VIII були віднесені 4 і 2 китайських сортів з 173 досліджених, відповідно [16]. У гаплотипі IX і X поєднувалися TE інсерція в інтроні 1, делеція 5 п. н. у сьомому екзоні, делеція 16 п. н. у восьмому екзоні, була відсутня інсерція 24 п. н. плюс 15 п. н. в області промотора, при цьому відрізнялися наявністю делеції 2089 п. н. в області промотора [119].

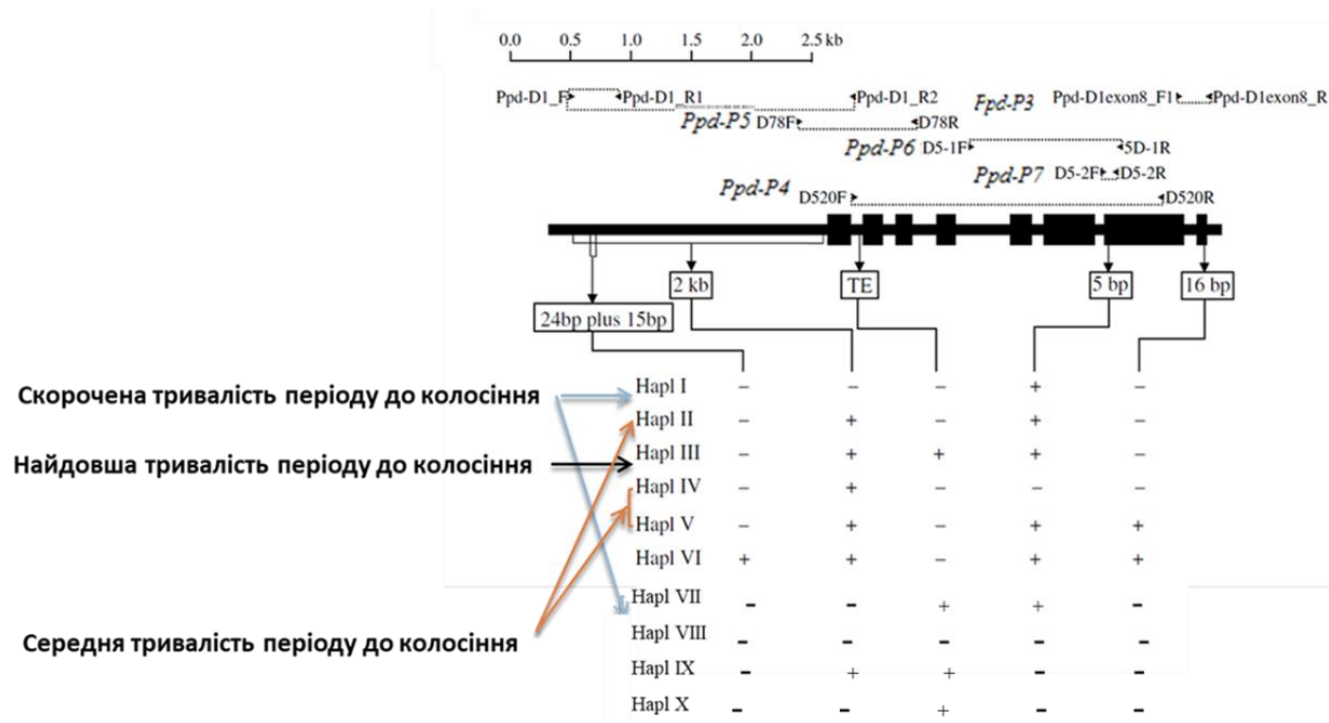


Рис. 1.2. Гаплотипи за геном *Ppd-D1*. Серії молекулярних маркерів, які базуються на основі п'яти поліморфізмів та були використані для ідентифікації генних гаплотипів. Високі прямокутники представляють екзони, низькі прямокутники - інтрони, та 5' - 3' - кінці ДНК. Інсерції і делеції позначені «+» і «-», відповідно [37, 16, 119]

1.2.2. Ген *Ppd-A1*

Існування локусу, який контролює чутливість до фотоперіоду, на хромосомі 2A було постульовано за результатами спостереження за лініями з заміщеною хромосомою [54, 85], але при картуванні популяцій генетичний локус не був визначений. В роботі Beales et al. [5] було з'ясовано, що ген *PRR*, гомологічний *Ppd-H1*, присутній на хромосомі 2A, однак у його послідовності не було виявлено жодної мутації, яка може викликати нечутливість до фотоперіоду [5]. Крім того, аналіз лінії "Mercia" з однією заміщеною хромосомою, що вважалася такою, що несе алель, який викликає нечутливість до фотоперіоду, на хромосомі 2A від "C591", фактично мала алель *Ppd-B1a* [64].

Що стосується тетраплоїдної пшениці з АВ геномом, то у її рослин була виявлена слабка реакція на фотоперіод [67], але її генетична основа на той момент була недостатньо вивчена в порівнянні з гексаплоїдною пшеницею. Однак трохи пізніше на хромосомі 2A тетраплоїдної пшениці був картований один з локусів кількісних ознак (*QTL*), який міг бути кандидатом на локус *Ppd* [59, 106].

Вперше мутації в геномі А тетраплоїдної пшениці, з якими була асоційована нечутливість до фотоперіоду, були виявлені при порівнянні пари майже ізогенних ліній твердої пшениці, що різняться реакцією на фотоперіод [106]. Були зіставлені секвеновані послідовності ДНК, прилеглі до гена *PRR* 2A, ліній з альтернативними алельними варіантами гена *Ppd-A1*. В результаті були виявлені делеції в районі промотору нуклеотидної послідовності ДНК гена *Ppd-A1* ліній, які проявили ознаку нечутливості до тривалості світлового дня, тобто несли властивості генотипу *Ppd-A1a*. Довжина делетованої ділянки для одних ліній складала 1027 п. н., а для інших – 1117 п. н. При цьому лінії з інтактними послідовностями ДНК виявляли чутливість до фотоперіоду і відповідали *Ppd-A1b* генотипу [106]. Аналіз транскрипта *PRR* 2A показав, що лінії, чутливі до фотоперіоду, досягали піку експресії через 6

годин з подальшим падінням до дуже низького рівня в темний час доби. Нечутливі до фотоперіоду лінії, навпаки, показали зниження експресії гена *Ppd-A1* днем і зростання вночі і рано вранці [106]. Аналіз експресії ушкодженого *PRR 2A* гена у ліній пшениці з *Ppd-A1a* генотипом показав наявність у клітині продуктів його транскрипції, у 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 [106, 174].

У гексаплоїдній пшениці алель, який контролює нечутливість до фотоперіоду, вперше був виявлений Nishida зі співавторами [70] в японському сорті озимої пшениці Chihokukomugi. Вказані автори при секвенуванні послідовності гена *Ppd-A1* виявили делецію 1085 п. н. в промоторному регіоні. Порівняння геномної послідовності *Ppd-A1* показало, що алелі *Ppd-A1a.1* (Chihokukomugi) і *Ppd-A1b.2* (Winter-Abukumawase) були ідентичні з початку трансляції кодону до 3`-нетрансльованої області. В обох послідовностях відсутня інсерція транспозона (близько 1,2 кб) в шостому інтроні [70]. Делеція 1085 п. н., яка була виявлена в 5`-регіоні між нуклеотидами -1420 і -336, фланкована короткими послідовностями в 4 п. н. (GATT), що повторюються, тому є думка, що домінантний алель *Ppd-A1a* утворився в результаті негомологічної репарації після двухланцюгового розриву [17]. Делеції 1117 п. н. і 1027 п. н., які були виявлені у *Triticum durum* L., розташовані в тій же області. Усі три делеції мають загальний регіон 900 п. н. з делецією 2089 п. н., що утворює алель *Ppd-D1a*. За номенклатурою делеція 1085 п. н. утворює алель *Ppd-A1a.1*, 1027 п. н. – *Ppd-A1a.2*, 1117 п. н. – *Ppd-A1a.3* [70]. Усі три делеції пов'язані з надмірною

експресією *FT1* на короткому дні і раннім цвітінням. Однак вплив цих делецій на час цвітіння відрізняється [68].

Пізніше Muterko із співавторами [68] в зразках гексаплоїдної пшениці *T. Compactum* L. був виявлений новий алель, пов'язаний зі слабкою чутливістю до фотоперіоду, позначений як *Ppd-A1a.4*. Для його ідентифікації був розроблений новий праймер *Ppd-A1proF*, який гібридується на 47 п. н. вище праймера *TaPpdA1prodelF1*, запропонованого Nishida et al. [70]. Пара праймерів *Ppd-A1proF* / *durum_Ag5del_R2* була оптимізована для проведення ПЛР, в ході якої фрагменти розміром 405, 463 і 372 п. н. детектували алелі *Ppd-A1a.1*, *PpdA1a.2* і *Ppd-A1a.3*, відповідно [68]. Однак, в зразках *T. compactum* з цією парою праймерів були виявлені фрагменти ампліфікації, довжиною 806 п. н. Дані фрагменти були клоновані і секвеновані, а потім в ході аналізу первинної структури був ідентифікований новий алель гена *Ppd-A1*, який містить делецію розміром 684 п. н. на ділянці промотора в позиції -302. В ході проведення польових спостережень було відзначено, що рослини *T. compactum* з новим домінантним алелем *Ppd-A1a.4*, вирощені на довгому дні, виголошується на 18 днів раніше, ніж на короткому, що вказує на їх слабку чутливість до фотоперіоду [68]. Делеція 684 п. н., ідентифікована в алелі *Ppd-A1a.4*, повністю захоплює високо консервативну область (100 п. н.) і більшу частину ділянки, розміром ~ 900 п. н. в області промотора генів *Ppd-1*, позначену як критична для регуляції їх експресії Wilhelm et al. [106], за винятком 207 п. н. з 5'-кінця (рис. 1.3). Крім того, дана делеція повністю перекривається делецією 1027 п. н. в алелі *Ppd-A1a.2*. Однак на відміну від останньої, делеція в алелі *Ppd-A1a.4* фланкована дінуклеотидним повтором (GC). Дана обставина вказує на те, що делеція в промоторі *Ppd-A1a.4*, ймовірно, сталася в результаті негомологічної репарації двухланцюгового розриву ДНК із з'єднанням кінців, що супроводжується одноланцюговим відпалом [76, 68].

Таким чином в А геномі пшениці виявлено на даний час чотири домінантних алеля, асоційованих з нейтральною реакцією на фотоперіод.

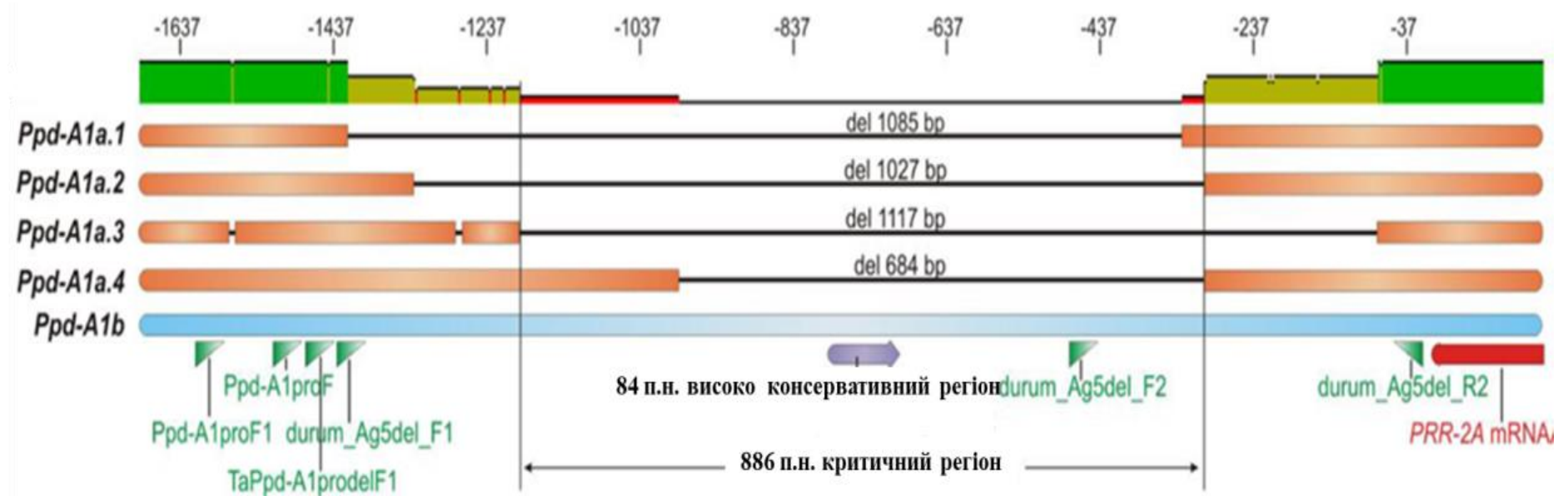


Рис. 1.3. Нуклеотидні послідовності області промотора доміантних алелів *Ppd-A1a* і алелю дикого типу *Ppd-A1b*. Вказані розміри делецій, локалізація сайтів відпалу праймерів і критичного регіону [68]

1.2.3. Алельна різноманітність гена *Ppd-B1*

Вперше мутації (п'ять однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) та інсерція ретротранспозону) гена *Ppd-B1* в зразках гексаплоїдної пшениці виявлено Beales із співавторами [5]. Однак, критичної мутації, що асоційована з реакцією на фотоперіод та викликає алельну різноманітність в гені *Ppd-B1*, у сортів пшениці Chinese Spring, Sonora64 і Récital зі слабкою фотоперіодичною чутливістю знайдено не було.

Пізніше така мутація була детектована в дослідженні Nishida із співавторами [70] в ДНК сорту Winter-Abukumawase, який мав у своєму генотипі домінантні алелі *Ppd-B1a* і *Ppd-D1a*, пов'язані зі слабкою чутливістю до тривалості світлового дня. Вона представляла собою інсерцію 308 п.н. в промоторному регіоні гена *Ppd-B1*, в якій присутній сайт цільової дуплікації (TTA) і термінальні інвертовані повтори, протяжністю 21 п. н. з обох кінців. У зв'язку з цим дану інсерцію можна розглядати як мініатюрний транспозон з інвертованими повторами (MITE). Інсерція 308 п. н. розриває регуляторну послідовність, розміром 95 п. н., яка знаходиться в області промотора, і це є критичною причиною для зміни фотоперіодичною чутливості. За результатами Seki із співавторами [88] інсерція 308 п. н., що зумовлює алель *Ppd-B1a*, рідко зустрічалася в японських сортах пшениці і була знайдена лише в 10 сортах або лініях, що мають загального предка Shiroboro 21. Крім того, дана інсерція не була знайдена в сорті Chinese Spring, хоча в його генотипі присутній нечутливий до фотоперіоду алель *Ppd-B1* [54, 86] і на підставі цього Seki із співавторами [88] припустили, що Chinese Spring несе інший тип домінантного алеля *Ppd-B1*.

Потім в роботі Díaz et al. [21] було показано, що слабка чутливість до фотоперіоду у рослин з домінантним алелем *Ppd-B1* була пов'язана зі збільшенням числа копій генів, а не з поліморфізмами специфічних послідовностей. Варіація числа копій (CNV; copy number variation) – це тип мутації, який широко вивчався в генетиці людини [19, 87] і добре відомий в

дослідженнях на рівні всього генома рослин [26, 82]. Геномні регіони з CNV являють собою ділянки, в яких присутні значні по довжині дуплікації (подвоєння) і делеції фрагментів ДНК, розмір яких зазвичай перевищує 1 kb [121, 41]. Ці фрагменти можуть включати в себе окремі гени, в цьому випадку при дуплікації з'являється зайва копія якогось гена, а при делеції, навпаки, однією копією гена стає менше. Вони також можуть вбудовуватися в нуклеотидну послідовність гена або випадати з неї, викликаючи розрив. Протяжність таких ділянок може бути досить значною, наприклад, за оцінкою Redon et al. [80], вона становить до 12 % всього геному людини, тобто внесок CNV в варіабельність геномних послідовностей може бути порівняний з внеском одонуклеотидних поліморфізмів або навіть перевищувати його [141]. Так, в дослідженнях генів *CBF* ячменю, пов'язаних з абіотичним стресом [49], і дослідженнях Díaz et al. [21] показано, що фенотипічні варіації злакових культур пов'язані з незалежними алелями CNV, що вказує на те, що CNV можуть бути причиною важливих адаптивних змін. Так, Francia et al. [32] повідомили про збільшення кількості копій генів, що кодують фактор зв'язування С-повтору (*HvCBF4* і *HvCBF2*) у ячменю, що призвело до збільшення морозостійкості. Інше дослідження ячменю показало, що більша кількість копій *HvFT1* (гомолог *FLOWERING LOCUS T* в ячмені) також може прискорити час цвітіння [71].

Поліморфізм на рівні послідовності ДНК – не єдиний фактор, що впливає на експресію генів. Епігенетичні модифікації, включаючи метилювання ДНК і модифікації гістонів, грають важливу роль і можуть привести до значних змін у фенотипі [41]. Метилювання ДНК зазвичай пов'язане з більш низькою експресією і сайленсінгом генів [10]. Проте Sun et al. [101] спостерігали більш високий рівень метилювання гена *Ppd-B1*, який був пов'язаний зі збільшенням числа копій гена. Автори припустили, що більш високий рівень метилювання ДНК призводить до збільшення рівня експресії *Ppd-B1* і, отже, до більш раннього колосіння. Цей ефект може

пояснюватися зниженням зв'язування передбачуваного репресора з промоторним регіоном, що призводить до підвищеної експресії гена [41].

Díaz із співавторами [21] на основі чутливого до фотоперіоду сорту гексаплоїдної ярої пшениці 'Paragon' були створені лінії, що містять домінантні алелі генів системи *Ppd-1* з сортів Chinese Spring, Sonora 64 і Récital. Кожна пара ліній була вирощена на скороченому фотоперіоді (10 год природного світла). Рослини з алелем *Ppd-B1a* з сорту Sonora 64 виколошувалися раніше, ніж з алелями з Chinese Spring і Récital. При цьому у всіх ліній з домінантним алелем *Ppd-B1a* колосіння наступало пізніше, ніж у ліній з *Ppd-A1a* і *Ppd-D1a* в генотипі, що підтверджує, що домінантні алелі локусу *B1* мають більш слабкий фенотипічний прояв.

Раніше було показано, що Chinese Spring має усічений ген *Ppd-B1* на додаток до інтактної версії [5]. Сорт Chinese Spring відрізнявся від інших сортів наявністю однонуклеотидного поліморфізму в третьому екзоні, що призводило до заміни Asp на Asn в домені псевдоодержувача і наявністю другої копії гена *PRR*, який був усічений на початку сьомого екзону. Послідовність, що примикає до усіченої, була у високому ступені гомологічною послідовностям ретротранспозонів пшениці. Усічений та інтактний ген знаходяться в безпосередній близькості, тому що обидва присутні на окремих клонах ВАС [5]. Díaz із співавторами [21] для точного визначення кількості копій був розроблений специфічний кількісний аналіз TaqMan® для *Ppd-B1* з використанням області, яка присутня в інтактних та усічених копіях. Частина гена пшениці *CONSTANS2* (*TaCO2*, також званий *TaHd1*) з хромосом 6 групи використовували в якості внутрішнього контролю. Нулісомно-тетрасомні лінії Chinese Spring підтвердили правильність аналізу [21].

За допомогою секвенування ВАС-клонів генома *B* було показано, що алель *Ppd-B1a* Chinese Spring містить одну усічену копію і три непошкоджених копії гена *Ppd-B1* (рис. 1.4), усі в однакової орієнтації, в межах області 185 т. п. н., точку розриву між копіями та однонуклеотидний

поліморфізм в третьому екзоні. На думку Díaz et al. [21] поломка і подальша репарація утворили хромосому з двома копіями, а потім нерівний кросинговер згенерував три і чотири копії гена *Ppd-B1*, а часткове видалення однієї копії на проміжному або заключному етапі дало таку структуру.

У той час як у Chinese Spring було чотири копії *Ppd-B1a*, генотипи *Ppd-B1b* мали одну копію на 2В хромосомі. Крім того, інші генотипи з домінантним алелем *Ppd-B1a* також мали підвищену кількість копій; дві в Récital і три в Sonora 64, Timstein і C591. Лінія з одною заміщеною хромосомою Mercia (Chinese Spring 2В), в якій хромосому 2В Mercia замінили на хромосому 2В Chinese Spring (з *Ppd-B1a*), містила таке ж збільшене число копій, що і Chinese Spring. І навпаки, лінія, в якій хромосомою 2В з чутливого до фотоперіоду сорту Marquis (*Ppd-B1b*) замінили хромосому 2В в Chinese Spring, характеризувалася низьким числом копій, що показало, що всі додаткові копії генів були на хромосомі 2В. Ці дані підтверджують, що різна кількість копій *Ppd-B1a* може бути основою алельної різноманітності гена *Ppd-B1* [21].

Також Díaz et al. [21] із використанням ПЛР в реальному часі була проаналізована експресія гена *Ppd-B1* на парі ліній Mercia з одною заміщеною хромосомою (Chinese Spring 2В). Експресія алеля *Ppd-B1b* «Mercia» була аналогічною експресії алелів *Ppd-1b* в попередніх дослідженнях [5, 106] з дуже низькою експресією на світанку і піком експресії через 3–6 год після світанку. Алель *Ppd-B1a* ліній Mercia з хромосомою 2В з Chinese Spring мав значно вищі рівні на світанку, більш високий пік експресії і підвищену експресію протягом темного періоду доби.

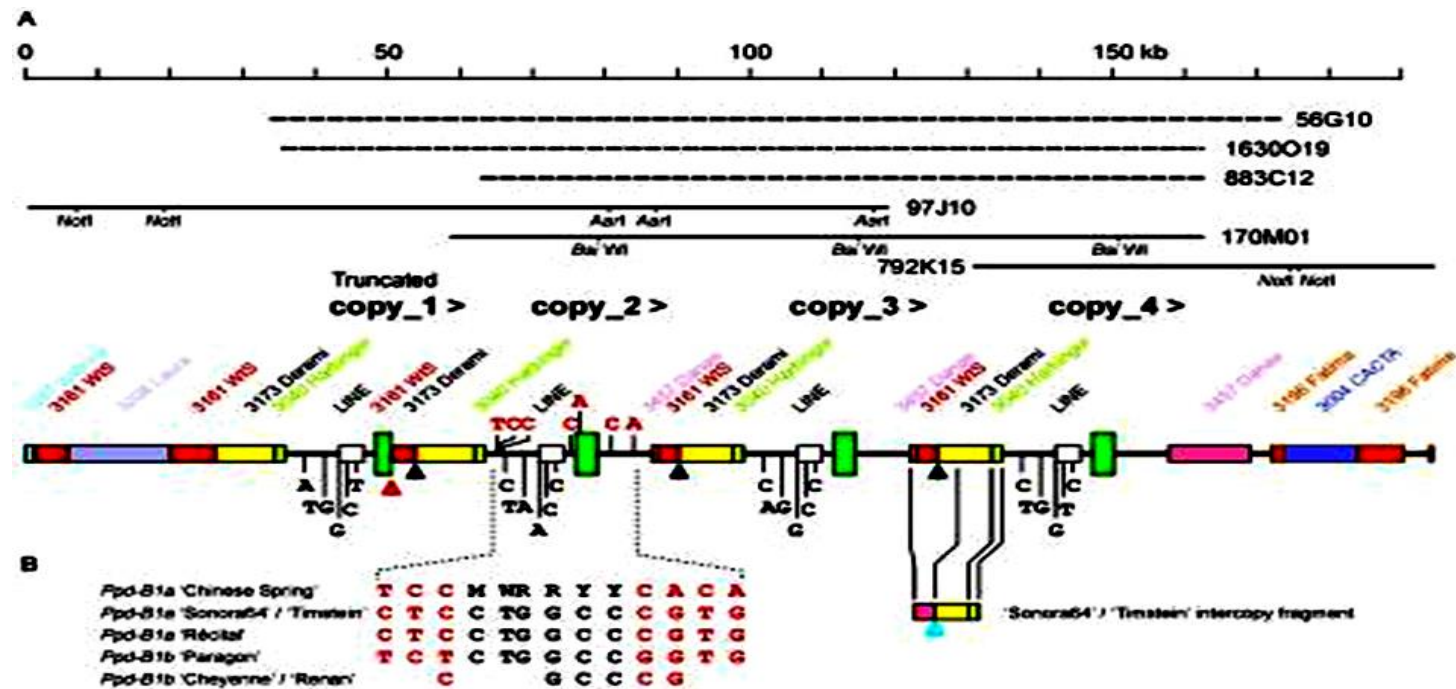


Рис.1.4. Структура алеля *Ppd-B1a* Chinese Spring згідно [21]. Копії генів *Ppd-B1*, екзони та інтрони представлені високими зеленими прямокутниками. Невеликі кольорові прямокутники позначають різні транспозони назви наведені вище відповідним кольором. Вертикальні стрілки вказують на стики між інтактними копіями чорні стрілки або між транспозоном і усіченої копією у разі алеля Chinese Spring червона стрілка, блакитна стрілка вказує на міжкопійний стик у алеля сортів Sonora 64, Timstein. Нижче представлені гаплотипи *Ppd-B1* генів у різних сортів

Така зміна експресії була характерною для алелів *Ppd-A1a* і *Ppd-D1a* з делеціями промоторної області [5, 106], але була менш вираженою, що відповідало більш слабкому фенотипічному прояву алеля *Ppd-B1a* Chinese Spring. При цьому не виявлено поліморфізму послідовностей серед експресованих регіонів інтактних копій гена *Ppd-B1*, тому не представлялося можливим визначити, чи всі копії були експресовані. Крім того Díaz із співавторами [21] порівнювали експресію *Ppd-B1* в інтрогресивних лініях з різними алелями *Ppd-B1a* (2-х, 3-х і 4-х копійних): Paragon (*Ppd-B1b*), Paragon (Chinese Spring *Ppd-B1a*), Paragon (Sonora64 *Ppd-B1a*) і Paragon (Récital *Ppd-B1a*). Було виявлено, що збільшення кількості копій *Ppd-B1* завжди було пов'язано зі значно підвищеною експресією гена, особливо на світанку, коли експресія в дикому типі була дуже низькою [21].

1.3. Географічне поширення алелів генів *Ppd*

До недавнього часу геногеографія генів ортологічної серії *Ppd-1* практично не вивчалася, що було пов'язано з трудомісткістю генетичних методів аналізу, відсутністю генетично ідентифікованого вихідного матеріалу, специфічністю умов проведення досліджень – укорочений день, попередня 60-добова яровизація, а отже, з обмеженням можливості масової ідентифікації генотипів *Ppd-1* класичними методами [182]. В результаті досліджень, пов'язаних з вивченням молекулярної структури генів системи *Ppd-1*, були розроблені алель-специфічні молекулярні маркери [5, 70, 88], що дозволили детектувати *Ppd*-генотипи в сортах озимої м'якої пшениці різних селекційних центрів світу і визначати частоти поширення алелів генів *Ppd* в різних географічних областях.

Guo із співавторами [37] було досліджено алельний склад гену *Ppd-D1* та гаплотипний склад за цим геном у 492 сортів м'якої пшениці з шести континентів Земної кулі та за отриманими результатами проведено роботу

щодо географічного розподілу алелів та гаплотипів гену *Ppd-D1*. Алель *Ppd-D1a* детектовано у 55,2 % сортів Північної Америки, 33,3 % сортів Південної Америки, в Європі алель *Ppd-D1a* частіше зустрічався на півдні (45,5 %), ніж на півночі і заході (8,0 %). В сортах Азії *Ppd-D1a* генотипи ідентифіковані в 56,7% випадків. Подібні результати були отримані при визначенні алельного стану за системою *Ppd-1* в 683 генотипах, відібраних авторами з всесвітньої колекції пшениці Генбанка (Угорщина): алель *Ppd-D1a* був виявлений у 57 % сортів і був найбільш поширеним серед азіатських (79 %) та європейських (58 %) сортів. При цьому він частіше зустрічався в східних, південних і південно-східних регіонах Європи, в той час як у Західній Європі переважав рецесивний алель. У Центральній Європі обидва алелі гена *Ppd-D1* зустрічалися з однаковою частотою [48]. А в китайських сортах озимої пшениці частота даного алеля була 57,4 % [37], що перекликається з даними Yang із співавторами [117], згідно з якими середня частота алеля *Ppd-D1a* в досліджених китайських сортах озимої пшениці становила 66 %.

Крім того, згідно з даними, отриманими Guo із співавторами [37], можна констатувати наступні дані географічного розподілу гаплотипів *Ppd-D1*: у Південній, Східній та Західній Азії найчастіше зустрічаються гаплотипи I та II. Гаплотип III майже не зустрічається в країнах Азії за виключенням декількох послідовностей, детектованих в сортах Китаю. Гаплотипи I та IV зустрічаються в Океанії з частотою 53,6 % та 35,7 %, відповідно. В Північній Америці, завдяки послідовностям детектованим у мексиканських сортах, домінує гаплотип I – 55,2 %, що значно перевищує показники за гаплотипами II, III, IV. Гаплотип III знайдено в сортах США, Канади. У Південній Америці гаплотипи I, II, IV зустрічаються з частотою у 33,3 %, 25,6 %, 28,2 %, відповідно [37].

Для Європи, та особливо для Африки, частота гаплотипу I нижче, ніж в більшості інших регіонів світу. В Європі розподіл гаплотипів відбувається з Півдня на Північ наступним чином: гаплотип I частіше зустрічається на

Півдні – 45,5 % ніж на Півночі – 8 %, де домінує гаплотип III – 52 %. В Африці домінує гаплотип IV – 72,7 % [37].

Таким чином, гаплотип I найбільш поширений в Азії, Океанії та Мексиці, гаплотип II найбільш розповсюджений в Європі та Північній Америці, але відсутній в Океанії, Африці та інших регіонах Азії, окрім Китаю. Гаплотип IV представлений майже на всіх континентах, окрім Азії (рис. 1.5) [37].

Також алельний стан гена *Ppd-D1* було визначено в японських сортах пшениці Seki із співавторами [88]: домінантний алель *Ppd-D1a* був виявлений в генотипах 97,5 % досліджених сортів, за винятком регіону Хоккайдо, де носіями алеля *Ppd-D1a* були лише 41,2 % сортів.

Сучасним сортам озимої м'якої пшениці півдня України притаманна слабка фотоперіодична чутливість та скорочена потреба в яровизації [170]. Слабка чутливість до скорочення тривалості дня більшості сортів СГІ – НЦНС зумовлена присутністю в їх генотипах домінантного алеля *Ppd-D1a* [182]. У той же час домінантний алель *Ppd-A1a* не був виявлений у генофонді озимої пшениці України [128], а домінантні алелі гена *Ppd-B1* ідентифіковані у поодиноких сортів ярої пшениці (Елегія миронівська, Струна миронівська, Ажурна, Етюд) [127]. Подібне співвідношення частот генів ортологічної серії *Ppd1* відзначене і у виборці сортів озимої пшениці Європи [51].

В Україні робота з ідентифікації *Ppd-D1* генотипів проводилася В.І. Файтом зі співавторами [182]. У загальному наборі 129 озимих сортів, який включав сорти з окремих регіонів України і Росії частота алеля *Ppd-D1a* – 77,5 % значно перевищувала частоту *Ppd-D1b* – 22,5 %. При цьому частота генотипу *Ppd-D1a* була вище частоти генотипу *Ppd-D1b* на півдні і півночі України і становила 93,7 % і 85,7 %, відповідно. Серед сортів сходу України частота альтернативних алелів гена *Ppd-D1* була приблизно однаковою.

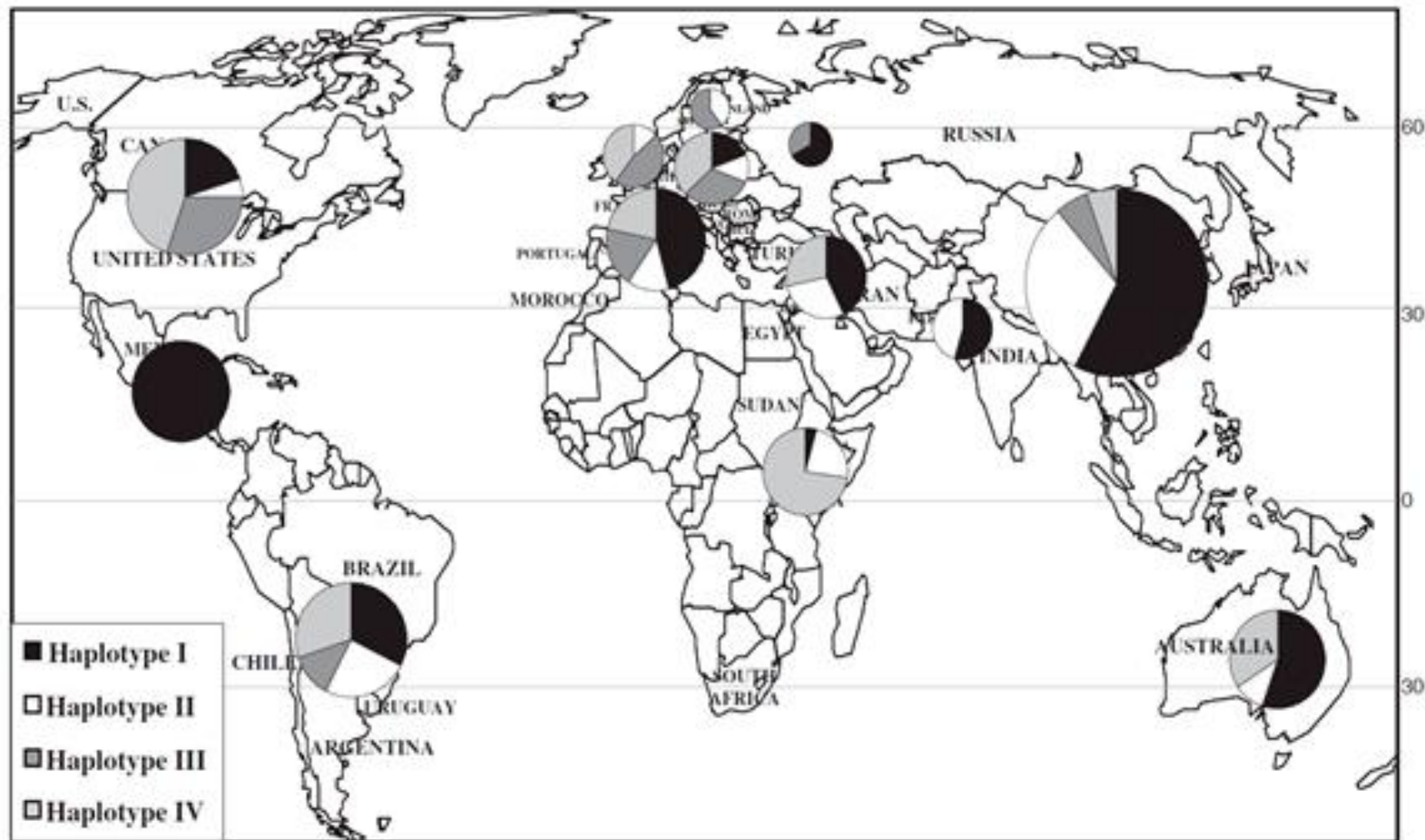


Рис. 1.5. Розподіл гаплотипів I-VI гену *Ppd-D1*. Чорні, білі, темно- та світло-сірі сегменти діаграм відображають пропорційність гаплотипів I, II, III та IV, відповідно [37]

Також досліджували сорти російської селекції з двох регіонів: серед 15 сортів Північного Кавказу усі несли в своєму генотипі алель *Ppd-D1a*, у сортів Західного Сибіру частота домінантного алеля становила 71,4 %, рецесивного – 28,6 % [182].

У аргентинських сортів пшениці 1994-2007 років *Ppd* генотипи були визначені за всіма трьома локусами [35]. Так, серед 32 досліджених сортів за локусом *Ppd-D1* співвідношення домінантного алеля *a* і рецесивного *b* становило 1:1, по локусу *Ppd-B1* переважали сорти з алелем *Ppd-B1b*, сім сортів несли в своєму генотипі домінантний алель *Ppd-B1a*, за локусом *Ppd-A1* автори не виявили поліморфізму, у всіх сортів діагностований рецесивний алель *b*, що викликає чутливість до фотоперіоду.

Šír із співавторами [91] вивчали алельний стан гена *Ppd-D1* в 76 сортах, зареєстрованих в Чехії і Словаччині за період з 1976 по 2007 роки. Серед них 28 сортів несли в своєму генотипі алель *Ppd-D1a*.

Нещодавно за системою *Ppd-1* була охарактеризована колекція канадських генотипів озимої пшениці, розроблених для вирощування в більш високих широтних регіонах Північної Америки [103]. Маркерний аналіз виявив високу поширеність рецесивних алелів, які контролюють чутливість до фотоперіоду за локусами *Ppd-D1* (62,5 %), *Ppd-A1* (84 %) і *Ppd-B1* (100 %). Висока частота алеля *Ppd-D1b* в канадських і американських сортах пшениці також була описана Guo et al. [37]. Крім того частота *Ppd-D1b* в канадських сортах аналогічна частоті цього алеля (63 %) в сортах озимої пшениці з Америки [48].

Щодо гена *Ppd-B1*, то відносно нього набагато менше інформації про розподіл його алелів у сортів пшениці різного географічного походження. У дослідженні [48] домінантний алель був виявлений у 22 % генотипів з Азії, Америки та Європи в порядку убутання частот. При цьому в європейських сортах він був присутній виключно в генотипах з центральних і південно-східних регіонів. З огляду на те, що для гена *Ppd-B1* збільшення числа його копій призводить до його підвищеної експресії і, отже, до слабкої реакції на

фотоперіод [21], досліджувані сорти були розподілені в залежності від кількості копій гена *Ppd-B1*. Співвідношення дво- і трьохкопійних варіантів нечутливого алелю були однаковими (близько 1/3 всіх нечутливих генотипів, відповідно), а чотири копії *Ppd-B1* були присутні у 25 % нечутливих генотипів. Переважна більшість генотипів *Ppd-B1* з чотирма копіями була європейського походження [48].

В роботі Würschum et al. [113] також досліджували географічний розподіл 1110 сортів пшениці з усього світу, але з упором на європейські сорти, в залежності від варіацій числа копій (CNV) гена *Ppd-B1*, що впливають на чутливість до фотоперіоду. Більшість вивчених сортів мали одну копію (90,6%), і лише у небагатьох було дві (5,1%) або три копії (4,1%) *Ppd-B1*. У європейських і американських сортах пшениці в основному переважають однокопійні *Ppd-B1* генотипи, чутливі до фотоперіоду, але в Європі спостерігається чітка тенденція в бік ослаблення фотоперіодичної чутливості з півночі на південь. Так, в країнах Північної і Центральної Європи тільки дуже небагато сортів мають більшу кількість копій, а в скандинавських країнах Швеції і Данії зустрічається тільки однокопійний *Ppd-B1*. У Франції виявлено ще декілька сортів з двома копіями, а три копії *Ppd-B1*, що викликають слабку фотоперіодичну чутливість, в основному присутні в італійських сортах і в сортах балканського регіону. Навпаки, більше половини китайських і австралійських сортів мають більше ніж одну копію *Ppd-B1*, а в Китаї варіант з трьома копіями *Ppd-B1* в генотипі найбільш часто зустрічається (56,5%) [113].

1.4. Гени *Ppd* в генетичній системі адаптивності пшениці

Сорти з адаптивним потенціалом характеризуються стійкістю до біотичного і абіотичного стресу з широким спектром вимог до екологічної пластичності і достатньою врожайністю в широкому діапазоні коливань погодних умов [197]. Продуктивність сорту пшениці, яка вимірюється його

адаптивним потенціалом в конкретних умовах вирощування, залежить від генетичних факторів і факторів навколишнього середовища, а також від взаємодії цих факторів [93].

На формування врожаю зерна значно впливає тривалість стадій розвитку рослин пшениці в конкретному середовищі, що робить фенологію культур дуже важливим компонентом для формування врожаю. Тонка настройка генотипу для кращої адаптації в існуючому середовищі можлива шляхом об'єднання найбільш підходящих алелів генів, що контролюють фенологію [24].

Такі етапи розвитку м'якої пшениці як колосіння і цвітіння дуже важливі для репродуктивного успіху, який гарантується здатністю рослини ефективно використовувати ряд доступних ресурсів, включаючи воду, поживні речовини, температуру, тривалість дня, променисту енергію і відповідні ендогенні сигнали, щоб максимізувати свій потенційний урожай і уникнути стресових умов під час росту і розвитку [93, 53]. Відкриття генів, які контролюють час колосіння і цвітіння пшениці, було однією з ключових цілей досліджень протягом десятиліть і набуває все більшого значення у зв'язку з впливом прогнозованої зміни клімату [51].

Пристосування рослин озимої пшениці до умов вирощування в основному визначається генетичним поліморфізмом систем генів *Ppd*, *Vrn*, *Vrd* і *Eps*, які здійснюють контроль реакції генотипів на температурні і світлові фактори середовища, а саме на інтенсивність і тривалість освітлення (фотоперіод), на вплив низьких позитивних температур (яровизацію). Рівень адаптації рослин пшениці до конкретних умов вирощування може бути значно підвищений шляхом маніпулювання генами зазначених систем після ретельного вивчення їх ефектів на спеціально створеному і генетично детектованому матеріалі. Тому є актуальним створення такого матеріалу, дослідження алельного стану генів, що контролюють реакцію на фотоперіод та на яровизацію, визначення ефектів цих генів за рядом агрономічних ознак.

Це дозволить в подальшому розробити шляхи цілеспрямованого маніпулювання конкретними генами і впровадити їх в селекцію [181].

Реакція рослини озимої пшениці на фотоперіод та тривалість яровізаційної потреби значно характеризують рівень його адаптації до певних умов вирощування. Відмінності між генотипами проявляються вже на початкових етапах розвитку. У рослин з сильною чутливістю до фотоперіоду і тривалою яровізацією сповільнюється розвиток зачатків репродуктивних органів осінню і збільшується ступінь стійкості генотипу до стресових факторів середовища в зимовий період. У слабчутливих до фотоперіоду і з короткою тривалістю яровізації рослин, навпаки, прискорюється розвиток, проте посіви при цьому можуть загинути при низьких температурах взимку, але відрізняються більш раннім відновленням вегетації навесні, що дозволяє уникнути пошкоджень від посухи [197]. Чим сильніше у рослини озимої пшениці реакція на фотоперіод та яровізаційна потреба, тим більше сповільнюється розвиток на початкових стадіях і пізніше спостерігається перехід до формування диференційованої точки зростання і зачатків репродуктивних органів, що сприяє оптимально сприятливій відповіді на низькотемпературний стрес і підвищенню рівня морозостійкості, прикладом є сорти Одеська 16, Миронівська 808 [197, 193]. Ослаблення реакції на довжину світлового дня сприяє збільшенню темпів ранневесняного відростання і підвищенню темпів врожайності, але може разом з тим вплинути на часткове зменшення яровізаційного періоду, що негативно відіб'ється на параметрах адаптації до вищевказаних умов. Значна частина сучасних сортів пшениці м'якої озимої характеризується слабкою або середньої фотоперіодичною чутливістю і нетривалою яровізацією 30-40 діб, що сприяє зниженню їх морозостійкості в порівнянні з більш давніми сортами [197].

Нечутливість до фотоперіоду корисна для культур, що вирощуються в короткі вегетаційні періоди з високими літніми температурами, щоб уникнути теплового стресу на стадіях наповнення зерна [9, 46, 5]. Більш

раннє цвітіння, властиве нечутливому до фотоперіоду *Ppd-D1a* аллелю, розширило адаптацію сортів в різних середовищах і збільшило потенціал врожайності у поліпшених сортів в регіонах Південної Європи, Азії, Середземномор'я та Північної Африки [108, 109, 72].

В степу Причорномор'я слабка фотоперіодична чутливість сприяє більш повному використанню весняних запасів вологи, інтенсивному накопиченню біологічного врожаю, його більш повної реалізації [159]. В умовах Лісостепу України слабчутливі сорти, на відміну від сільночутливих, уникають впливу посухи в період наливу зерна і пошкодження жуком кузькою [175]. Разом з тим слабка фотоперіодична чутливість призводить до зниження адаптивного потенціалу генотипа до умов осінньо-зимового періоду, що виражається в зниженні морозостійкості сортів такого типу в усіх зонах України [155,183], а в зоні Лісостепу, крім того, збільшується ймовірність ураження кореневими гнилями [173]. Зазначені факти свідчать про важливу роль чутливості до тривалості освітлення у визначенні відмінностей по адаптивності та продуктивності в різних регіонах вирощування пшениці [183].

Дослідженнями Н.В. Мокану і В.І. Файта показано, що гени *Ppd* визначають темпи початкового розвитку, тривалість окремих етапів органогенезу і перехід до репродуктивної фази розвитку, а також роблять достовірний вплив на відмінності по урожаю зерна і по ряду інших агрономічних ознак [153].

При дослідженні ліній, рекомбінантно-заміщених по хромосомі 2D та 2B визначено, що домінантні алелі генів *Ppd* сприяють скороченню періоду до колосіння на 2,1-7,4 доби. Крім того гени *Ppd-B1a* і *Ppd-D1a* сприяють зниженню кількості колосків і зерен головного колосу, збільшенню фертильності колосків, особливо у підгонів, маси зерна рослини, а також маси 1000 зерен [187, 179].

Урожай зерна різних *Ppd* генотипів в роки з суворими умовами зимівлі визначається рівнем зимостійкості конкретного генотипу. Менший ефект по зниженню зимостійкості і морозостійкості рослин, особливо у кінці зими,

оказує алель *Ppd-Ala*, дещо більший, – *Ppd-B1a* і значний – *Ppd-D1a*. У роки з м'якими зимами домінантні алелі генів *Ppd* значно збільшують урожай, головним чином за рахунок формування більш ваговитого колосу, в порівнянні з альтернативними алелями генів [187].

Вплив вказаних алелів на висоту рослин залежить від генотипу. У високорослих генотипів алелі *Ppd-Ala* і *Ppd-B1a* знижують висоту рослин, а у середньорослих генотипів алель *Ppd-D1a*, навпаки, сприяє її збільшенню. Значний ефект по урожаю зерна характерний для алелів *Ppd-B1a* і, особливо, *Ppd-D1a* [187].

Крім того, була вивчена можлива участь генів *Ppd* в детермінації вуглеводного і азотного обміну, а також калюсо- і морфогенезу пшениці *in vitro*. Вивчення добової динаміки змісту різних форм вуглеводів в листі ізогенних по генах *Ppd* ліній пшениці показало, що під впливом короткого дня їх накопичення знижується. Проте у лінії *Ppd-B1a*, яка уповільнено розвивається в цих умовах, вуглеводів накопичується менше, ніж у ліній *Ppd-D1a* і *Ppd-Ala*, що швидко розвиваються [3]. Активність амілаз і інвертази в листях лінії з домінантним алелем *Ppd-B1a* при вирощуванні на короткому дні вище, ніж у ліній з домінантними алелями *Ppd-D1a* і *Ppd-Ala*. Також при дослідженні в умовах *in vitro* встановлено, що ізогенні лінії пшениці *Ppd-B1a*, що повільно розвиваються, незалежно від типу експланта зрілі зародки, апікальні ділянки коренів, первинне листя, ефективніше вводяться в культуру *in vitro*, характеризуються більш високим потенціалом первинного калюсогенезу, більшою швидкістю зростання калюсних тканин, накопиченням сирої біомаси [3]. Ізогенні лінії з алелями *Ppd-D1a*, *Ppd-Ala*, що швидко розвиваються, характеризуються більш високими показниками прояву різних форм морфогенного потенціалу – гомогенезу, геморизогенезу і соматичного ембріодогенезу, а також максимальним показником синтетичної активності калюсної тканини – більш високим вмістом фракції легкокорозчинного білку [3]. Викладене дозволяє припустити, що ефекти цих

генів на зростання і розвиток рослин реалізуються за допомогою їх участі в регуляції фізіолого-біохімічних процесів [147].

У сучасних умовах зміни клімату, що супроводжується регулярними посухами і екстремально високими температурами [154], видається актуальним дослідження впливу генів *Ppd* на міру засухо- і жаростійкості озимої пшениці. Встановлено, що коренева система має більшу посухостійкість, а надземна частина характеризується підвищеною жаростійкістю. Стійкішими є генотипи *Ppd-Ala* і *Ppd-D1a*, а максимальну чутливість до стресових чинників проявляє генотип *Ppd-B1a*. Таким чином, рослини, що характеризуються слабкою фоточутливістю проявляють більш високу міру засухо- і жаростійкості в порівнянні з рослинами з сильною фоточутливістю [142].

Нещодавні дослідження показали, що зміна кількості копій фенологічних генів також відіграє життєво важливу роль в адаптації рослин. Так, збільшена кількість копій *Ppd-B1* забезпечує більш раннє цвітіння [24]. У роботі Файта із співавторами [183] показано, що наявність чотирьох копій гена *Ppd-B1* в генотипі рекомбінантно-інбредних ліній із заміщеною хромосомою 2В сприяло скороченню тривалості періоду до колосіння на 5,6 діб в умовах подовженого дня, на 11,1 діб в умовах скороченого дня, на 2,7 діб в польових умовах, підвищенню коефіцієнта господарського використання, морозостійкості в січні та березні, збільшенню маси зерна з колоса, маси тисячі зерен і врожаю зерна в порівнянні з лініями з рецесивним алелем *Ppd-B1* в генотипі. При цьому алельний стан гена *Ppd-B1* у досліджених ліній не впливав на висоту рослин, продуктивну кущистість, кількість зерен з колоса, кількість продуктивних стебел та зимостійкість [183].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Рослинний матеріал

2.1.1. Сорти та лінії пшениці м'якої озимої

Матеріалом для дослідження слугували сучасні сорти та лінії пшениці м'якої озимої різних селекційних центрів України, які занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні у період з 1998 по 2018 роки [145]:

1) Миронівського інституту пшениці ім. В. М. Ремесла НААН України: Горлиця миронівська (2016), Економка (2008), Крижинка (2002), Легенда миронівська (2012), Миронівська 65 (2000), Миронівська ранньостигла (2002), Оберіг миронівський (2014), Пам'яті Ремесла (2009), Світанок миронівський (2014), Ювіляр миронівський (2009), Деметра (2005), Мадярка (2008), Подолянка (2003), МІП Вишиванка (2017), МІП Княжна (2017), Естафета миронівська (2018), Вежа миронівська (2018), МІП Дніпрянка (2018), Грація миронівська (2018), Зимоярка (2007) – дворучка, Берегиня миронівська (2016), Миронівська сторічна (2009), Миронівська золотоверха (на сортовипробуваннях), Миронівська 61 (1987), МІП Ассоль (2018), Балада миронівська (2018), Трудівниця миронівська (2017), МІП Валенсія (2017), Миронівська слава (2017);

2) Білоцерківської дослідно-селекційної станції: Білоцерківська напівкарликова (1999), Лісова пісня (2008), Олеся (2001), Романтика (2009), Перлина лісостепу (2001), Відрада (2010), Елегія (2003), Щедра нива (2011), Ясочка (2006), Чародійка білоцерківська (2011), Либідь (2006), Водограй білоцерківський (2014), Царівна (2008), Дріада-1 (2004), Легенда білоцерківська (2017), Русса (2000);

- 3) Полтавської державної аграрної академії: Вільшана (2010), Говтва, Оржиця (2013), Кармелюк (2015), Диканька (2005), Левада (2005), Сагайдак (2010), Сидор Ковпак, Коломак 3, Коломак 5, Українка полтавська, Царичанка (2013), Лютенська, Соната, Аріївка (2017);
- 4) Носівської селекційно-дослідної станції: Зоряна носівська (1998), Ювівата 60 (2013), лінія КС1 (1995), лінія КС22-04 (2004), лінія Л59-95 (1995), лінія КС14 (2005), лінія Л41/95 (1995);
- 5) Інституту зрошуваного землеробства НААН України: Анатолія (2015), Благо (2011), Леда (2016), Марія (2013), Бургунка (2015), Овідій (2009), Конка (2014), Росинка (2007), Кохана (2009), Соборна (2019), Кошова (2017), Херсонська безоста (2002), Херсонська 99 (2005);
- 6) ТОВ «Дріада, Лтд», м. Херсон: Клариса (2014) дворучка;
- 7) Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення, м.Одеса: Епоха одеська (2010), Антонівка (2008), Ужинок (2010), Годувальниця одеська (2009);
- 8) Одеського інституту агропромислового виробництва НААН України: Кнопа (2008);
- 9) Луганського інституту селекції і технологій: Паляниця (2008), Металіст (2014);
- 10) Донецького інституту агропромислового виробництва НААН України, Донецької с/х дослідної станції НААН України: Краплина (2008), Білосніжка (2006);
- 11) Дніпровського державного аграрно-економічного університету: Комерційна (2011), Співанка (2005);
- 12) Синельниківській селекційно-дослідної станції Інституту зернового господарства НААН України, Інституту зернового господарства НААН України: Зіра (2005);
- 13) Національного наукового центру «Інститут землеробства» НААН України, Київська обл.: Співанка поліська (2018), Водограй (2018);

14) науково-виробничої агрофірми ТОВ "Землеробець", Миколаївська обл.: Кольчуга (2007);

15) агрофірми ТОВ «Сади України», м. Харків: Тулуза (2014) ,Турі (2015), Верден (2014).

Також, в якості контролю досліджували сорт пшениці Донська напівкарликова (1983) Всеросійського науково-дослідного інституту зернових культур імені І. Г. Каліненко.

2.1.2. Майже-ізогенні лінії та лінії-аналоги пшениці м'якої озимої

В якості матеріалу для дослідження використовували майже-ізогенні лінії (BC₇) пшениці Кооператорка та Кооператорка рання і лінії-аналоги (BC₇) Степняк 1 та Степняк 1 ранній, що створені в СГІ – НЦНС провідним науковим співробітником відділу загальної і молекулярної генетики к.б.н. І. І. Моцним зі співавторами внаслідок схрещування ліній Кооператорка (добір з сорту Кооператорка) та Степняк 1 (добір з сорту Степняк) з дослідженими раніше короткостебловими аналогами [47, 14], відповідно – Кооператорка К-90 Кооператорка х Кооператорка К-90 та Степняк 2К Степняк 1 х Степняк 2К. В процесі створення ліній відбирали індивідуальні рослини, що рано виколошувалися.

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Виділення ДНК з етиольованих паростків пшениці

Виділення ДНК з етиольованих паростків проводили згідно поширеної методики з використанням СТАВ-лізуючого буферу [25]. Паростки заливали лізуючим буфером: 1,4 М NaCl, 20 мМ Na₃ЕДТА, 100 мМ трис-НСl рН 8,0 при 25 °С, 2 % СТАВ та гомогенізували в мікропробірці. Лізат інкубували 40 хвилин при температурі 65 °С. Після інкубації лізат обробляли рівним об'ємом суміші хлороформу : ізоамілового спирту 24:1 за об'ємом,

перемішували на вортексі до утворення білої емульсії. Отриману суміш протягом 5 хвилин центрифугували при 14000 об./хв на Centrifuge minispin 5452 (Eppendorf, Німеччина), потім водну фазу переносили в чисті мікропробірки. До водної фази додавали 0,6 об'єму ізопропілового спирту. Нуклеїнові кислоти, які сформували осад, осаджували центрифугуванням при 14000 об./хв протягом 5 хвилин. Осад тричі промивали 70 % етанолом, потім підсушували при кімнатній температурі і розчиняли у 200 мкл H₂O.

2.2.2. Визначення концентрації виділеної ДНК

Концентрацію виділеної ДНК визначали на мікроспектрофотометрі NanoPhotometer Pearl UV/Vis (Implen, Німеччина). Для цього 1 мкл розчину ДНК наносили на панель детектора, після цього включали вимірювання концентрації ДНК і знімали показання. Показання прилад надавав у вигляді концентрації мг/мл і у вигляді таблиці спектрофотометричних характеристик при довжинах хвиль 230 нм, 260 нм, 280 нм, 320 нм, а також характеристик при відношенні довжин хвиль 260/280, 260/230. Крім того, прилад надавав графік абсорбції вимірюваного розчину ДНК при перелічених вище довжинах хвиль. ДНК належної якості використовували як матрицю у ПЛР.

2.2.3. ПЛР-аналіз алелів генів *Ppd*

ПЛР-аналіз проводили на ампліфікаторі FlexCycler (Analytik Jena, Німеччина) за допомогою маркерів, що представлені у таблиці 2.1 [5, 21, 37, 70].

Реакційна суміш для проведення ПЛР об'ємом 20 мкл за рекомендаціями [5] містила: 2 мкл 10 x ПЛР – буферу (50 мМ KCl, 20 мМ трис-HCl рН 8,4 (25 °C), 0,01 % Tween 20), 200 μМ кожного dATФ, dГТФ, dЦТФ, dТТФ, 1,5 мМ MgCl₂, 250 нМ лівого та правого праймеру, 100 нг ДНК і 1 одиницю

активності DreamTag-полімерази (Thermo Fisher Scientific). У кожен пробірку поверх реакційної суміші додавали 20 мкл мінеральної олії.

Ампліфікацію для визначення алелів генів *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* проводили в умовах: початкова денатурація 94 °С – 2 хв; 35 циклів, які включали: денатурацію 94 °С – 40 с, відпал праймерів при температурі від 54 °С до 64 °С – 30 с, елонгацію при 72 °С – 1 хв; заключна елонгація: при 72° С – 7 хв [5, 70].

ПЛР для детекції мутацій, які є складовими гаплотипів за геном *Ppd-D1*, та для визначення кількості копій (CNV) гену *Ppd-B1* проводили в умовах: початкова денатурація 94 °С – 5 хв; 35 циклів (денатурація 94 °С – 40 с, відпал праймерів від 50 °С до 65 °С – 40 с, елонгація при 72 °С – 1,5 хв); заключна елонгація: при 72 °С – 10 хв [5, 16, 21, 37].

2.2.4. Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі

Продукти, отримані під час реакції ампліфікації ДНК з маркерами до алелів генів *Ppd-A1a*, *Ppd-A1b*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1b*, *Ppd-D1a*, *Ppd-D1b* та з маркерами для детекції мутацій, які є складовими гаплотипів за геном *Ppd-D1* (*Ppd-P4* та *Ppd-P5*) фракціонували методом горизонтального електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням бромистого етидію до кінцевої концентрації 0,01 мкг/мл в 1 х ТБЕ-буфері (50 мМ трис-Н₃ВО₃, 2 мМ ЕДТА рН 8,0) [83]. Для цього використовували прилад розмірами 125 x 80 x 5 мм (Helicon, Російська Федерація). В лунки гелю наносили по 7 мкл реакційної суміші з додаванням 3 мкл буферу для нанесення (0,25 % бромфенолового синього, 40 % (вага / об'єм) сахарози). Розміри фрагментів ампліфікації розраховували, використовуючи маркери молекулярної маси pUC19/ Msp I (26 – 501 п. н) та ladder mix (100 – 10000 п. н) (Thermo Fisher Scientific). Електрофорез проводили протягом 1 години при напрузі 120 В.

Таблиця 2.1

Маркери для детекції поліморфізму за генами *Ppd-1**

Алелі генів <i>Ppd-1</i> та мутації гена <i>Ppd-D1</i>	Нуклеотидна послідовність маркерів	Розмір фрагментів ампліфікації, п. н.
<i>Ppd-D1b</i> <i>Ppd-D1a</i>	F: 5`-acgcctcccactacactg-3` R1: 5`-gttggttcaaacagagagc-3` R2: 5`-cactggtagctgagatt-3`	414 288
<i>Ppd-B1b</i> <i>Ppd-B1a</i>	F: 5`-acactagggctggtcgaaga-3` R: 5`-ccgagccagtgcaaattaac-3`	1292 1600
<i>Ppd-A1b</i> <i>Ppd-A1a</i>	F: 5`-cgtactccctccgtttcttt-3` R1: 5`-gttggggtcgtttggtggtg-3` R2: 5`-aatttacggggaccaataacc-3`	299 338
Ppd-P3 (інсерція 16 п. н. у екзоні 8)	F: 5`-gatgaacatgaaacggg-3` R: 5`-gtctaaatagtaggtactagg-3`	320 336
Ppd-P4 (TE інсерція в інтроні 1)	F: 5`-aggtccttactcactcaatctca-3` R: 5`-ctcccattgttggtgttgta-3`	2612
Ppd-P5 (TE інсерція в інтроні 1)	F: 5`-ccattcgaggagacgattcat-3` R: 5`-ctgagaaagaacagagtcaa-3`	1005
Ppd-P6 (делеція 5 п. н. в екзоні 7)	F: 5`-gaatggcttctcctggtc-3` R: 5`-gatgggcgaaaccttatt-3`	1032 1027
Ppd-P7 (делеція 5 п. н. в екзоні 7)	F: 5`-gtgtcctttgcgaatcctt-3` R: 5`-ttggagccttgcttcatct-3`	184 179
Трьохкопійний <i>Ppd-B1</i> типу Sonora 64	F: 5`-ccaggcgagtgattacasa-3` R: 5`-gggcacgtaacacacctt-3`	223
Чотирьохкопійний <i>Ppd-B1</i> типу Chinese Spring	F: 5`-taactgctcctcacaagtgc-3` R: 5`-ccggaacctgaggatcatc-3`	425

*Маркери розроблені Beales et al. [5], Nishida et al. [70], Diaz et al. [21], Guo et al. [37]

2.2.5. Електрофорез продуктів ампліфікації в поліакриламідному гелі

Продукти, отримані під час реакції ампліфікації ДНК з маркерами для детекції мутацій, які є складовими гаплотипів за геном *Ppd-D1* (*Ppd-P3*, *Ppd-P6*, *Ppd-P7*), та для визначення кількості копій (CNV) гену *Ppd-B1* фракціонували методом вертикального електрофорезу в 7 % поліакриламідному гелі. Для цього використовували прилад розмірами 200 x 200 x 1 мм (Helicon, Російська Федерація). Для виготовлення гелю об'ємом 25 мл використовували: 3,625 г акріламиду, 0,125 г бісакриламиду, 2,75 мл 1 x TBE (50 mM трис- H_3BO_3 , 2 mM EDTA pH 8,0), 18,5 мл H_2O , 250 мкл 10 % персульфату амонію та 15 мкл TEMED [84]. В лунки гелю наносили по 7 мкл реакційної суміші з додаванням 3 мкл буферу для нанесення (0,25 % бромфенолового синього, 40 % (вага / об'єм) сахарози). Електрофорез проводили протягом 1,5 годин при напрузі 500 В 1 x TBE буфері.

2.2.6. Візуалізація продуктів ампліфікації в поліакриламідному гелі за допомогою фарбування з використанням AgNO_3

Продукти ПЛР, що фракціонували у поліакриламідному гелі, фарбували за допомогою AgNO_3 , згідно рекомендацій Bassam et al. [4].

1. Гелі протягом п'яти хвилин обробляли 10 % етанолом. Потім етанол зливали.
2. Гель обробляли протягом трьох хвилин 1 % азотною кислотою. Після експозиції в азотній кислоті кислоту зливали, а гель промивали 2 – 3 рази дистильованою водою.
3. Гель занурювали в 0,012 М AgNO_3 . Експозицію в азотнокислому сріблі проводили протягом двадцяти хвилин, після чого гель промивали тричі дистильованою водою.

4. Для проявлення смуг продуктів ампліфікації гелі заливали свіже приготованим відновлюючим розчином 0,2 М Na₂CO₃, 0,019 М формаamid. Після фарбування гель промивали дистильованою водою.

5. На заключному етапі гель обробляли 10 % оцтовою кислотою протягом двох хвилин та промивали дистильованою водою протягом двох хвилин.

Для визначення розмірів продуктів ампліфікації використовували маркери молекулярної маси *pUC19/Msp I* та ladder mix (Thermo Fisher Scientific) та комп'ютерну програму Gelanalyzer [34].

2.2.7. Визначення ступеня відновлення генофону рекурентної батьківської форми у майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів

На основі результатів МС-аналізу за локусами *Xgwm46* (7B), *Xgwm155* (3A), *Xgwm160* (4A), *Xgwm165* 4B, *Xgwm169* 6A, *Xgwm186* 5A, *Xgwm304* 5A, *Xgwm608* 2D і 4D [81] і *Xgwm261-F* (5'-ctccctgtacgcctaaggc-3') та *Xgwm261-R* (5'-ctcgcgctactagccattg-3') [111]; IPBS-аналізу з маркерами 2076, 2080, 2214 [42] та RAPD-аналізу з маркерами A02, A12, B02, B05, E12, E10 [4] розраховували ступінь відновлення генофону рекурентної батьківської форми у досліджених в роботі ліній.

Ступінь відновлення рекурентного генофону у ліній розраховували за формулою:

$$X = \frac{n}{N} \times 100, \quad (2.1)$$

де X – ступінь відновлення рекурентного генофону; n – кількість однакових локусів у двох ліній та N – загальна кількість локусів.

2.2.8. Методика вивчення фотоперіодичної чутливості сортів та ліній пшениці

Досліди щодо вивчення фотоперіодичної чутливості сортів та ліній пшениці м'якої озимої проводилися к.б.н. Булавкою Н. В. на базі Миронівського інституту пшениці ім. В. М. Ремесла НААН України за рекомендаціями Файта та ін. [185]. Проросле насіння штучно яровизували протягом 60 діб, після чого з середини квітня вирощували у вегетаційних посудинах на відкритому майданчику за природного (14 годин) та штучно скороченого (12 годин) фотоперіода. Для скорочення тривалості світлового дня посудини з рослинами пшениці закривали ящиком з темної плівки з 7-го по 75 день вирощування. Дату виколошування кожної рослини відмічали етикеткою.

Спостерігався значний вплив температурного режиму у період проведення вегетативного дослідів по визначенню фотоперіодичної чутливості сортів озимої пшениці МП у 2015, 2016 та 2018 роках на прояв вказаної ознаки (табл. 2.2).

Найбільш значним вплив температури повітря у період проведення вегетативного дослідів був на самому початку розвитку рослин. У 2016 році більш висока температура у II декаді квітня, безпосередньо після висаджування проростків, сприяла більш ранній появі сходів, а подальша більш прохолодна температура III декади квітня сприяла додатковій яровизації рослин, а відтак прискореному їх розвитку, як за природної, так і за скороченої тривалості дня, причому різниця поміж темпом розвитку рослин за різної тривалості дня теж скоротилась.

Кількість опадів не наводимо, оскільки здійснювався регулярний штучний полив рослин.

Таблиця 2.2

Показники температури повітря у період проведення вегетативного дослідів по визначенню фотоперіодичної чутливості на базі МП*

Рік	Місяць	Декада	Температура, °С		
			фактична	середня багаторічна	± до багаторічної
2015	Квітень	II	9,8	8,0	1,8
		III	12,8	10,7	2,1
	Травень	I	13,5	13,5	0,0
		II	15,4	15,5	-0,1
		III	19,8	16,0	3,8
	Червень	I	20,7	17,5	3,2
2016	Квітень	II	14,1	8,0	6,1
		III	11,2	10,7	0,5
	Травень	I	14,0	13,5	0,5
		II	13,9	15,5	-1,6
		III	17,8	13,0	1,8
	Червень	I	16,1	17,5	-1,4
2018	Квітень	II	13,6	9,4	4,2
		III	15,8	11,6	4,2
	Травень	I	20,6	13,7	6,9
		II	15,9	15,8	0,1
		III	18,3	16,8	1,5
	Червень	I	18,8	18,1	0,7
2019	Квітень	II	7,8	9,4	-1,6
		III	13,6	11,6	2
	Травень	I	12,8	13,7	-0,9
		II	18,9	15,8	3,1
		III	20,1	16,8	3,3
	Червень	I	21,9	18,1	3,8

Примітка: * дані щодо температури повітря надані Миронівською метеостанцією, середньобагаторічний показник визначений за 30 років.

2.2.9. Методика та умови проведення польових дослідів щодо визначення початку періодів колосіння та цвітіння рослин пшениці на базі НСДСМП і Білоцерківського національного аграрного університету МОН України

Дати настання колосіння та цвітіння сортів пшениці Носівської селекційно-дослідної станції, які були надані старшим науковим співробітником Інституту садівництва НААН України, д.с.-г.н. Москальцем В. В., відмічали в ході проведення польових дослідів на базі НСДСМП (перехідна зона Полісся-Лісостеп) і Білоцерківського національного аграрного університету МОН України (Лісостеп України) протягом семи років (2010-2017 рр.). Дослідне поле Носівської селекційно-дослідної станції розміщено в межах окремого екотону Дніпровської низовини, у сфері впливу двох фізико-географічних зон – Полісся та Лісостепу. Ґрунт дослідної ділянки – чорнозем вилугуваний малогумусний легкосуглинковий. Дослідне поле Білоцерківського НАУ розташовано в центральній частині Правобережного Лісостепу – в Бузько-Середньодніпровському окрузі Дністровсько-Дніпровської лісостепової провінції. Ґрунт – чорнозем типовий. Розміщення ділянок – рендомізоване, повторність дослідів 3-6-ти разова і в різних екологічних зонах змінювалася залежно від однорідності поля за ґрунтовими, рельєфними особливостями, попередника, якості підготовки площі під сівбу, обсягів насінневого матеріалу, загальна площа дослідної ділянки становила 12 м². Попередниками пшениці м'якої озимої були однорічні зернові та зернобобові, технологія вирощування загальноприйнята для умов Лісостепу [165]. Для визначення початку періодів колосіння й цвітіння спостерігали за ділянкою конкретного генотипу пшениці і за виколошування та зацвітання приблизно 50 % рослин відмічали відповідні дати згідно із загальноприйнятою методикою [152, 150].

Клімат перехідної Полісько-Лісостепової та Лісостепової зон – помірно континентальний, теплий, м'який, з достатнім зволоженням, умови вирощування протягом 2010-2017 років були різноманітними. Підвищена температура у травні (що зазначена за період 2010-2014 рр., порівняно з багаторічною нормою) і червні (2010-2013 рр.) не дозволяла рослинам пшениці максимально вигідно використовувати свій потенціал для проходження фенофаз колосіння та цвітіння рослин (накопичувати необхідну кількість асимілянтів) та зумовила термальну посуху, яка може негативно впливати на формування зерна і, як наслідок, на врожайність. Надзвичайно посушливим був жовтень 2013 та 2014 рр., протягом яких у Лісостепу випало лише 6-15 мм, у Поліссі –Лісостепу – 6-24 мм опадів. У 2017 р. кількість опадів за вегетацію була нижчою за середньобагаторічні показники. За квітень, травень і червень випало всього 56 мм опадів.

2.2.10. Методика та умови проведення фенологічних спостережень щодо визначення початку періодів колосіння та цвітіння рослин пшениці на базі Інституту зрошуваного землеробства НААН України

Дані щодо фенологічних спостережень за сортами пшениці Інституту зрошуваного землеробства НААН України були надані головним науковим співробітником відділу селекції Інституту зрошуваного землеробства НААН України, доктором с.-х. наук, професором Лавриненком Ю. О.

Дати колосіння та цвітіння досліджуваних сортів відмічали впродовж 2016-2018 років в ході польових спостережень, які були проведені на базі Інституті зрошуваного землеробства НААН України у розсаднику екологічного випробування з використанням штучного зрошення відповідно до загальноприйнятих методик [146, 139]. Поливи проводились з використанням дощувальної установки ДДА 100МА. Рівень перед поливної вологості ґрунту становив 75 % НВ у шарі 50 см. Дослідні ділянки розташовувались на Інгулецькому зрошувальному масиві.

2.2.11. Визначення агрономічних ознак майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів пшениці м'якої озимої для проведення структурного аналізу

Агрономічні ознаки оцінювали в ході польового дослідження, який проводився на базі СГІ – НЦНС 30°44' п.д., 46°28' п.ш. у 2015-2016, 2017-2018, 2018-2019 сільськогосподарських роках. Матеріал висівали в середині жовтня однорядковими ділянками, довжиною 110 см, відстань між рядками 30 см, відстань між рослинами всередині рядка 5 см, у трьох повторностях, блоками. Агротехніка типова для Півдня України. Попередник – чорний пар. Ранньовесняне підживлення рослин здійснювали аміачною селітрою N30 кг/га.

Кліматичні умови в період проведення досліджень в цілому були сприятливими для зростання і розвитку озимої пшениці.

В осінній період погода 2015–2018 років була приблизно однакова. У зв'язку з пізнім посівом озима пшениця розвивалася повільно, стан посівів був гарний. Однак у грудні 2017 року середня температура повітря була на 5 °С вище торішніх значень, в зв'язку з чим вегетація озимих культур припинилася тільки 18 грудня, що на 22-26 днів пізніше середніх багаторічних дат і на 9 днів пізніше, ніж у 2015 році.

Аномально тепла погода у лютому 2016 року (середньомісячна + 4,4 °С, максимальна +20 °С) сприяла відновленню вегетації на 23-24 дні раніше середніх багаторічних дат на відміну від 2018 року, коли вегетація відновилася лише у другій декаді березня, а потім у зв'язку з сильним похолоданням, морозною погодою вже 18-19 березня припинилася. Також відмічено, що внаслідок підвищення температурного режиму наприкінці третьої декади січня 2019 року (середньодобові температури повітря досягали позитивних значень і перевищували норму на 6-10 °С), на початку лютого у південних районах відмічалось тимчасове відновлення вегетації

озимої пшениці (з'явилися масові сходи, 3-й лист, утворилися вузлові корені), але наприкінці першої декади лютого за температурними показниками вегетація озимих культур припинилась і рослини знов увійшли у стан зимового спокою. У березні 2019 року по території Одеської області спостерігалось інтенсивне наростання ефективного тепла (4-5 березня відбувся перехід середньодобової температури повітря через $+5^{\circ}\text{C}$ у бік підвищення), внаслідок чого відбулося відновлення вегетації озимої пшениці. У першій декаді березня відмічалось утворення вузлових коренів, на частині площ почалося кушіння.

У квітні 2016 року запаси продуктивної вологи в метровому шарі ґрунту становили 108-147 мм, що було достатнім для нормального розвитку рослин (продовження росту стебла і формування колоса), що істотно відрізнялося від незадовільних показників 2018 (39-70 мм) та 2019 (64-80 мм) роках.

У травні 2016 року середня по області кількість опадів становила 159 % місячної норми, а в 2018 році – 86 %, тому запаси продуктивної вологи на 18 травня в метровому шарі ґрунту становили 19-55 мм і не забезпечували повноцінне формування врожаю озимих хлібів. Сумарна кількість опадів у травні 2019 року на переважній частині території області становила 21-49 мм або 48-111 % від місячної норми, але запаси вологи в метровому шарі ґрунту знаходилися в межах 45-95 мм та оцінювалися як задовільні і достатні для даного етапу розвитку озимої пшениці, стан посівів був добрий.

Погодні умови червня 2016 року в основному були сприятливі для завершення вегетації озимої пшениці: середня температура повітря становила $21-22^{\circ}\text{C}$, загальна кількість опадів становила 159 %. У 2018 році спостерігалось зменшення запасів продуктивної вологи в метровому шарі ґрунту до 8-26 мм, що могло вплинути на зниження абсолютної ваги зерна. У червні 2019 року через відсутність тривалий час ефективних опадів та недостатнього вологозабезпечення посівів спостерігалось погіршення стану озимої пшениці: у рослин відбулось передчасне пожовтіння листків нижнього ярусу, усихання недорозвиненого зерна, пустоколосиця. В цілому

стан озимих хлібів був добрий та задовільний, але на частині площ відмічалася щуплість зерна. У озимої пшениці майже повсюдно 2-6 червня настала молочна стиглість зерна, що у більшості районів на 7-14 днів раніше середніх багаторічних дат. Для проведення структурного аналізу під час вегетації, збирання та обмолоту рослин визначали наступні ознаки: тривалість періоду до колосіння колосіння ДК (діб), висота рослин ВР (см), продуктивне кушіння ПК (шт.), кількість зерен з підгонів ЗП (шт.), маса зерен з підгонів МЗП (г), маса тисячі зерен з підгонів МТЗП (г), довжина колоса l (см), довжина стебла h (см), відношення l/h , кількість колосків у колосі ККК (шт.), кількість фертильних колосків у колосі КФК (шт.), кількість стерильних колосків у колосі КСК (шт.), кількість зерен у колосі ЗК (шт.), маса зерна у колосі МЗК (г), маса тисячі зерен у колосі МТЗК (г), кількість зерен з рослини ЗР (шт.), маса зерен з рослини МЗР (г), маса тисячі зерен з рослини МТЗР (г), озерненість колосу ОК, щільність колосу D.

2.2.12. Статистична обробка даних

Статистичну обробку даних структурного аналізу майже-ізогенних ліній і ліній-аналогів пшениці м'якої озимої та даних щодо темпов виколошування сортів та ліній пшениці м'якої озимої проводили методом однофакторного та двохфакторного дисперсійного аналізу ANOVA з використанням програмного забезпечення Statistica 10 [61]. В ході аналізу було сформовано матрицю даних з середніми значеннями для кожної повторності. Достовірність різниці між лініями за кожною ознакою визначали згідно F-критерію Фішера та НІР відповідного рівня значущості для відповідного фактора або взаємодії факторів [162].

Для визначення відмінностей між лініями-аналогами за комплексом ознак застосовували також лінійний дискримінантний аналіз із покроковим включенням Forward stepwise [190]. Приймали до уваги: часткову λ Уїлкса – як оцінку внеску ознаки у дискримінацію ліній чим λ менша – тим внесок

ознаки більший; F-критерій Фішера, – як оцінку інформативності ознаки для розрізнення ліній; R^2 – коефіцієнт детермінації частка дисперсії ознаки, що пояснена сукупною варіацією інших ознак, корені дискримінантної функції, D^2_M – квадрат відстані Махаланобіса між центроїдами комплексів агрономічних ознак досліджених ліній.

Статистичне опрацювання даних фотоперіодичної чутливості сортів Миронівського інституту пшениці проводили методом t-критерію Ст'юдента.

РОЗДІЛ 3

ПОЛІМОРФІЗМ ЗА ГЕНАМИ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ ЧУТЛИВОСТІ СУЧАСНИХ УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ ТА ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ

3.1. *Ppd-1* генотипи та фотоперіодична чутливість сортів Лісостепу України

Лісостеп займає близько третини території країни та демонструє найвищі врожаї по Україні. Поєднання родючого чорнозему із достатнім рівнем опадів та їх адекватним часовим розподілом (50-600 мм на рік), а також сприятливі температури забезпечують оптимальні умови для вирощування пшениці. До зони гарантованого насінництва віднесено більшу частину Центрального і Правобережного Лісостепу (Вінницька, Київська, Черкаська області). Тут найбільша вірогідність отримання високоврожайного насіння і найменша – формування його з низьким потенціалом урожайності – від 7 до 20 % випадків, або раз у 5-14 років. Зона стійкого насінництва включає Лівобережний Лісостеп (Сумська, Полтавська, Харківська області). Вірогідність випадків отримання низьковрожайного насіння в цій зоні коливається від 17 до 25 %, тобто раз у 4-6 років [140].

У нашому дослідженні детектовано алелі генів *Ppd-1* в генотипах сортів, створених в селекційних установах, розташованих в зоні Лісостепу України: Миронівському інституті пшениці ім. В. М. Ремесла НААН України (29 сортів), Білоцерківській дослідно-селекційній станції (16 сортів), Полтавській державній аграрній академії (15 сортів), Національному науковому центрі «Інститут землеробства» НААН України (2 сорти) та агрофірмі ТОВ «Сади України» (3 сорти).

У результаті електрофоретичного розподілу фрагментів ампліфікації, отриманих за допомогою алель-специфічної ПЛР, визначено наявність алеля

Ppd-A1b, тобто делеція 1085 п. н. у промоторному регіоні в генотипах цих сортів відсутня (рис. 3. 1 а).

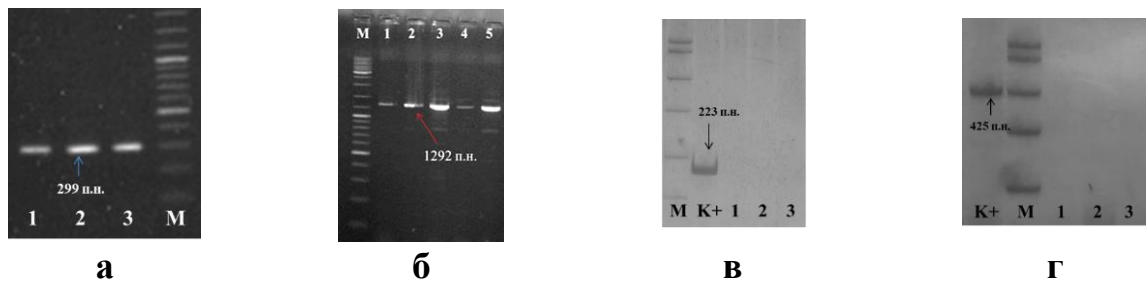


Рис. 3.1. Електрофореграми продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з маркерами: **а)** до алелю *Ppd-A1b*: 1 – Ювіляр миронівський; 2 – Миронівська 65; 3 – Економка; **б)** до алелю *Ppd-B1b*: 1 – Ювіляр миронівський; 2 – Миронівська 65; 3 – Економка; 4 – Крижинка; 5 – Пам’яті Ремесла; М – маркер молекулярної маси ladder mix; **в)** до трьохкопійного *Ppd-B1* типу Sonora 64: 1 – Ювіляр миронівський; 2 – Миронівська 65; 3 – Економка; К⁺ – Елегія миронівська; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*, **г)** до чотирьохкопійного *Ppd-B1* типу Chinese Spring: 1 – Ювіляр миронівський; 2 – Миронівська 65; 3 – Економка; К⁺ – Струна миронівська; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*

Також у всіх досліджених сортів та ліній детектовано рецесивний алель *Ppd-B1b*, продукт ПЛР розміром 1292 п. н. (рис. 3.1 б), тобто інсерція 308 п. н. в області промотора відсутня [70]. Не виявлено фрагментів 223 п. н. та 425 п. н. (рис. 3.1 в, 3.1 г), які детекуються при наявності у генотипі трьох або чотирьох копій гену *Ppd-B1*, відповідно [21].

У сортів створених в зоні Лісостепу України визначено поліморфізм тільки за локусом *Ppd-D1*: сорти Берегиня миронівська, Зимоярка, Миронівська золотобрава, Миронівська сторічна, Миронівська слава та Легенда білоцерківська мали в генотипі рецесивний алель *Ppd-D1b*, інші сорти були носіями домінантного алелю *Ppd-D1a*, наявність якого в генотипі

призводить до суттєвого зменшення чутливості до фотоперіоду (рис. 3.2 а, 3.2 б).

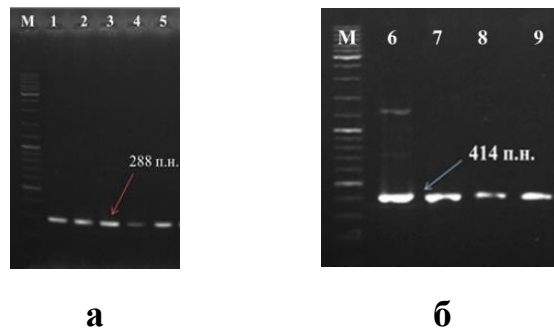


Рис. 3.2. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР з ДНК сортів з алель-специфічними маркерами до алелів: **а)** *Ppd-D1a*: 1 – Ювіляр миронівський; 2 – Миронівська 65; 3 – Економка; 4 – Крижинка; 5 – Пам’яті Ремесла; **б)** *Ppd-D1b*: 6 – Зимоярка; 7 – Берегиня миронівська; 8 – Миронівська сторічна; 9 – Миронівська золотоверха; М – маркер молекулярної маси ladder mix

Таким чином, найбільш поліморфними за геном *Ppd-D1* виявились сорти МПП. Це може бути по’язано з тим, що до їх створення було залучено значне різноманіття вихідних форм. Виявлено, що в їх родоводах присутня геноплазма 56 сортів із 17 країн світу, серед яких найбільше – українських (Миронівська 808, Миронівська ювілейна, Миронівська 27, Прибій, Альбатрос одеський, Берегиня, Одеська 130 та ін.), 9 сортів із Росії (Безостая 4, Донская интенсивная, Донская полукарликовая, Дон 85, Краснодарская 57, Московская 60 та ін.), 5 – з Болгарії (Sadovo super, Преслав, Плиска, Русалка, Янтър), по 4 сорти з Німеччини (Hadmersleben 6508-74, Hadmersleben 20581-84, Лютесценс 6075, ПЖГ к-43822), Польщі (Пліске, Nike, Veneda, Gama) та Чехії (KM-66-10-1-29, BU-22, SK-2542, BR18-488), 3 – з Угорщини (Bancuti, Sakwa, MV-103), 2 – з Мексики (Jarl 66,

Siete Cerros 66) та по 1 сорту із Італії, Сербії, Югославії, Тунісу, Колумбії, Франції, Румунії, США та СІММУТ [149].

У родоводі білоцерківських сортів одним з батьків обов'язково є географічно віддалені форми, або сорти степового, західноєвропейського, північнокавказького чи поволзького екотипів. При цьому другим компонентом схрещування є оригінальний районований сорт інтенсивного типу або кращий селекційний номер конкурсного сортовипробування, створений і адаптований в умовах Лісостепу України [133]. Так, сорт пшениці Легенда білоцерківська з рецесивним генотипом *Ppd-1* створено шляхом гібридизації сортів, які належать до різних екотипів: Одеська 51 / Киянка // Миронівська 33.

Наявність *Ppd-D1a* алелю в генотипах полтавських сортів можна пояснити використанням в схрещуваннях при їх створенні сортів СГІ – НЦНС, зокрема сортів Прибій, Леля, Чайка, Южная заря, в родоводі яких був присутній сорт Безоста I, який має у генотипі алель *Ppd-D1a*.

Враховуючи, що у сортів МПП поліморфним виявився тільки локус *Ppd-D1*, проводили співставлення даних молекулярно-генетичного аналізу з результатами дослідів по вивченню фотоперіодичної чутливості низки з досліджених сортів пшениці МПП, що дозволило оцінити ступінь впливу алеля *Ppd-D1a* на чутливість рослин пшениці до фотоперіоду (табл. 3.1, табл. 3.2). У ході дослідів фотоперіодичну чутливість оцінювали за різницею в строках виколошування при вирощуванні на природному (14 год.) та штучно скороченому (12 год.) фотоперіодах. Встановлено, що у сортів з домінантним алелем *Ppd-D1a* в генотипі затримка виколошування при вирощуванні за скороченого фотоперіоду становила від 3 – у сорту Горлиця миронівська – до 8,6 діб – у сорту Економка, тобто ці сорти виявили слабку та середню чутливість до фотоперіоду. Сорти з рецесивним генотипом *Ppd-D1b*, *Ppd-B1b*, *Ppd-A1b* мали сильну реакцію на скорочення довжини дня – від 12,8 діб затримки виколошування – у сорту Миронівська сторічна – до 23,4 діб – у сорту Зимоярка.

Таблиця 3.1

Фотоперіодична чутливість сортів озимої м'якої пшениці Миронівського інституту пшениці

Сорт пшениці МІП	2015				2016				2018			
	Кількість діб до колосіння		Затримка колосіння, діб	t	Кількість діб до колосіння		Затримка колосіння, діб	t	Кількість діб до колосіння		Затримка колосіння, діб	t
	ПФ	СФ			ПФ	СФ			ПФ	СФ		
Горлиця миронівська	71,3	72,4	1,1	1,87	49,6	51,4	1,8**	3,54	53,0	59,0	6,0**	7,44
Оберіг миронівський	90,1	94,0	3,9**	7,01	50,1	57,0	6,9**	5,07	53,1	60,9	7,7**	3,98
Світанок миронівський	85,0	91,0	6,0**	3,48	51,7	56,9	5,2**	4,38	63,6	68,4	4,8	1,12
Крижинка	82,1	90,1	8,0**	5,43	50,7	53,6	2,9**	3,15	59,6	68,2	8,6**	5,34
Легенда миронівська	77,8	86,3	8,5**	5,94	51,0	57,8	6,8**	4,17	60,9	70,9	10,0**	3,69
Миронівська 65	65,5	77,7	12,2**	6,48	56,3	59,8	3,5	1,51	64,3	68,5	4,2	0,76
Економка	75,7	92,6	16,9**	8,72	55,3	61,3	6,0**	4,30	69,2	72,3	3,0	1,08
Деметра	79,8	93,2	13,5**	6,97	53,3	61,0	7,7**	4,55	69,2	70,0	0,8	0,17
Миронівська сторічна	87,0	107,0	20,0**	18,22	55,1	69,2	14,1**	10,30	73,6	78,0	4,4	2,05
Зимоярка	59,2	96,0	36,8**	33,89	49,9	63,8	13,9**	29,71	56,7	76,1	19,4**	9,65
Берегиня миронівська	81,7	107,0	25,3**	13,30	50,6	62,1	11,5**	8,13	63,4	75,3	11,9**	5,30
Миронівська золотоверха	70,3	91,4	21,1**	10,90	51,1	65,1	14,0**	13,65	68,6	74,7	6,1**	3,34

Примітка: ПФ – природний фотоперіод; СФ – скорочений фотоперіод; t – критерій Ст'юдента; ** – рівень значимості різниць = 0,01

Таблиця 3.2

Генотипова характеристика за алелем гену *Ppd-D1* і фотоперіодична чутливість сортів озимої м'якої пшениці Миронівського інституту пшениці

Сорт пшениці МПП	Алельний стан гену <i>Ppd-D1</i>	Затримка колосіння, діб*	Чутливість до фотоперіоду
Горлиця миронівська	<i>a</i>	3,0	Слабка
Оберіг миронівський	<i>a</i>	6,2	Середня
Світанок миронівський	<i>a</i>	5,3	Середня
Крижинка	<i>a</i>	6,5	Середня
Легенда миронівська	<i>a</i>	8,4	Середня
Миронівська 65	<i>a</i>	6,6	Середня
Економка	<i>a</i>	8,6	Середня
Деметра	<i>a</i>	7,3	Середня
Миронівська сторічна	<i>b</i>	12,8	Сильна
Зимоярка	<i>b</i>	23,4	Сильна
Берегиня миронівська	<i>b</i>	16,2	Сильна
Миронівська золотоверха	<i>b</i>	15,7	Сильна

Примітка: * - середня затримка колосіння при вирощуванні на скорочуваному фотоперіоді за 2015, 2016, 2018 рр.

Особливо сильну чутливість до фотоперіоду виявив останній сорт, який є дворучкою [137], тобто виколошується за весняного посіву без яровизації, а отже здатність його до перезимівлі зумовлена саме затримкою розвитку за короткої тривалості дня восени.

Різниця між групами сортів з доміантним та рецесивним алелями гену *Ppd-D1* в генотипі в середньому за три роки досліджень становила 2,6 діб при

вирощуванні на природному фотоперіоді та значно збільшувалася – до 8 діб – при вирощуванні на скороченому фотоперіоді (рис. 3.3). 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 в значній мірі впливають ще й інші генетичні системи, зокрема, вірогідно, й ті, що зумовлюють її яровизаційну потребу.

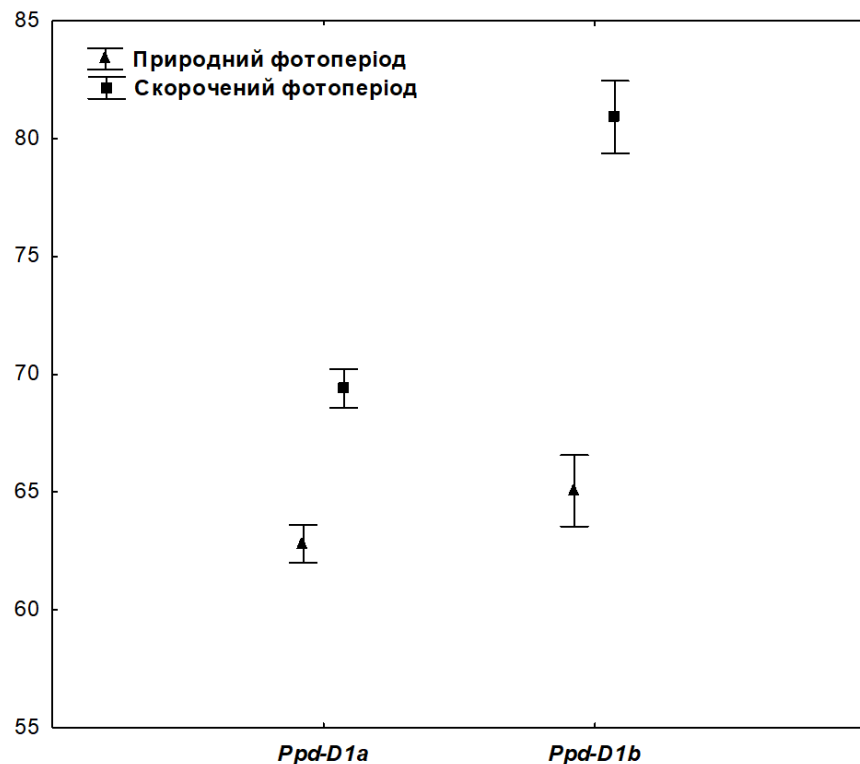


Рис. 3.3. Вплив алелів гену *Ppd-D1* на тривалість періоду сходо-колосіння сортів МПП на природному та скороченому фотоперіоді

Також було проаналізовано різницю за тривалістю періоду до колосіння між окремими сортами у середині груп з домінантним та рецесивним за геном *Ppd-D1* генотипом при вирощуванні на природному та скороченому фотоперіодах. У групі сортів – носіїв домінантного алеля *Ppd-D1a* при вирощуванні на природному фотоперіоді (табл. 3.3) найбільше відрізнялись від інших сорти Горлиця миронівська з найкоротшою тривалістю періоду

«сходи – колосіння» (57,9 діб), а також сорт Економка, у якого середня за три роки досліджень тривалість періоду «сходи – колосіння» була найдовшою (66,7 діб). Ці сорти мають яровизаційну потребу тривалістю 30 діб та 50 діб, відповідно, що вочевидь зумовлює прискорений розвиток у сорту Горлиця миронівська та уповільнений у сорту Економка у порівнянні з іншими сортами [132]. При вирощуванні на короткому фотоперіоді сорти з алелем *Ppd-D1a* в генотипі мали загалом меншу різницю за тривалістю періоду від сходів до колосіння. Достовірні відмінності у порівнянні з іншими сортами цієї групи спостерігались лише у сорту Горлиця миронівська, який майже не відреагував на штучне скорочення фотоперіоду. Різниця варіювала від мінімальної 1 доба між сортами Деметра та Економка до максимальної 14,4 доби (Горлиця миронівська та Економка).

Сорти пшениці МП з рецесивним генотипом *Ppd-D1b*, *Ppd-B1b*, *Ppd-A1b* мали достовірні попарні відмінності за датою колосіння на природному фотоперіоді, причому мінімальна різниця 6,7 діб відмічена для Миронівської сторічної та Берегині миронівської, максимальна ж різниця спостерігалася між Миронівською сторічною та Зимояркою – 16,6 діб (табл. 3.4). 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. Так, сорт Зимоярка, який є «дворучкою», може виколошуватись без впливу яровизаційних температур і виколошується за таких умов вирощування першим, Миронівська золотOVERХА, яка має яровизаційну потребу тривалістю 30 діб – другою, Берегиня миронівська (яровизаційна потреба 40 діб) – третьою, а Миронівська сторічна (яровизаційна потреба 50 діб) – останньою [132]. 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.

Таблиця 3.3

Відмінності між сортами МП з домінантним алелем *Ppd-D1a* в генотипі за тривалістю періода «сходи-колосіння»

Сорти	Горлиця	Оберіг миронівський	Світанок миронівський	Крижинка	Легенда	Миرونівська 65	Економка	Деметра
Горлиця	0	6,4	8,8**	6,1	5,2	7,9**	8,7**	9,4**
Оберіг миронівський	9,7	0	5,9	5	6,8	14**	11,9**	9,8**
Світанок миронівський	11,1**	3,5	0	2,6	3,5	8,3	6,2**	4,2
Крижинка	9,7**	4,8**	1,5	0	2	9	6,9**	4,9
Легенда миронівська	10,7**	6,2	2,7	3,6	0	7	4,9	4,2
Миرونівська 65	7,8**	8,9	5,4	6,3	4,3	0	5,4	7,4
Економка	14,4**	5,5	3,2	4,7	3,6	6,7	0	2
Деметра	13,8**	4,6	2,6	4,1	3,6	6,1	1	0

Примітка: над діагоналлю – різниця (добы) між сортами МП з домінантним алелем *Ppd-D1a* в генотипі за тривалістю періода «сходи-колосіння» на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця (добы) між сортами МП з домінантним алелем *Ppd-D1a* в генотипі за тривалістю періода «сходи-колосіння» на короткому фотоперіоді ** – рівень значимості різниць = 0,01

Таблиця 3.4

Відмінності між сортами МП з рецесивним генотипом *Ppd-1* за тривалістю періода «сходи-колосіння»

Сорти	Миронівська сторічна	Миронівська золотоверха	Берегиня миронівська	Зимоярка
Миронівська сторічна	0	8,6	6,7**	16,6**
Миронівська золотоверха	7,7**	0	5,7	8
Берегиня миронівська	3,6	6,7	0	9,9
Зимоярка	6,2	2,3	4,9	0

Примітка: над діагоналлю – різниця (добі) між сортами МП з рецесивним генотипом *Ppd-1* за тривалістю періода «сходи-колосіння» на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця (добі) між сортами МП з рецесивним генотипом *Ppd-1* за тривалістю періода «сходи-колосіння» на короткому фотоперіоді; ** – рівень значимості різниць = 0,01

Максимальною та вирогідною була різниця лише між Миронівською золотоверхою та Миронівською сторічною і становила в середньому 7,7 діб.

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.

Таким чином, затримка генеративного розвитку рослин пшениці м'якої озимої зумовлена, як впливом алелів генів *Ppd-1*, що контролюють чутливість до фотоперіоду, так і генетичними системами, що зумовлюють тривалість яровизаційної потреби. При вирощуванні озимої пшениці у зоні Лісостепу яровизаційна потреба тривалістю 40 діб забезпечує достатню

активність розвитку рослин навесні, не знижуючи їх адаптивний потенціал [132], і може бути поєднана як з рецесивними, так і з домінантними алелями генів чутливості до фотоперіоду. Для рослин з довготривалою яровизаційною потребою є оптимальним, коли вона компенсується слабкою чутливістю до фотоперіоду (сорті Оберіг Миронівський, Світанок миронівський, Економка), це прискорює розвиток рослин навесні.

Тривалість яровизаційної потреби до 30 діб, навпаки, для збереження достатнього рівня зимостійкості може компенсувати вищий рівень чутливості до фотоперіоду (сорт Миронівська золотоверха). Поєднання ж високої тривалості яровизаційної потреби з сильною фотоперіодичною чутливістю забезпечує високу адаптивність до жорстких природних умов, але не дозволяє досягти рівня продуктивності, характерного для сучасних сортів інтенсивного типу [132]. Для сортів нечутливих до фотоперіоду та з короткотривалою яровизаційною потребою виникає необхідність перенесення строків сівби на більш пізній термін, оскільки рослини таких сортів за ранньої сівби можуть восени до настання морозів та припинення осінньої вегетації завершити яровизацію та перейти до генеративного розвитку, що може зробити їх уразливими до пошкоджуючої дії низької температури.

Крім того ми припустили, що наявність достовірної різниці між строками колосіння, визначеними для цих сортів, може бути викликана тим, що ці сорти відносяться до різних гаплотипів у межах детектованих алелів генів *Ppd-D1*. Так, Guo із співавторами [37] було показано, що відповідний гаплотипний склад мутацій в нуклеотидній послідовності гену *Ppd-D1* по різному впливає на час колосіння. Так, у сортів, які були віднесені до гаплотипу I та мають делецію розміром 2089 п. н. перед кодуючою ділянкою, середня тривалість періоду до колосіння була найменшою. Наявність TE-інсерції в першому інтроні нуклеотидної послідовності алелю *Ppd-D1b* (гаплотип III) знижує його рівень експресії, завдяки чому такі сорти виколошуються найдовше. Сорти, віднесені до гаплотипу II (делеція

2089 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 [37]. У зв'язку з вищевикладеним, ми перевірили сорти МПП на наявність зазначених мутацій.

За допомогою молекулярних маркерів у генотипах досліджених рослин детектовано наявність мутацій в нуклеотидній послідовності гена *Ppd-D1*, а саме інсерції 24 п. н. і 15 п. н., розділені 105 п. н. перед кодуєчим регіоном, вставки транспозону типу MLE (mariner-like transposable element) в інтроні 1 (рис. 3.4 а), відсутність делеції 5 п. н. у сьомому екзоні (рис. 3.4 б) та делеція 16 п. н. у восьмому екзоні (рис. 3.4 в).

З маркерами *Ppd-P7* у сорта Миронівська слава виявлено фрагмент ампліфікації розміром 179 п. н., який детектує присутність делеції розміром 5 п. н. в сьомому екзоні. У інших сортів виявлено фрагмент ампліфікації розміром 184 п. н., наявність якого свідчить про відсутність делеції (рис. 3.4 б).

У всіх сортів з маркерами *Ppd-P3* виявлено фрагмент ампліфікації розміром 320 п. н., що вказує на відсутність інсерції розміром 16 п. н. у восьмому екзоні (рис. 3.4 в).

У сорта-двуручки Зимоярка та озимого сорту Миронівська слава з маркерами *Ppd-P5* виявлено фрагмент ампліфікації розміром 1005 п. н. (рис. 3.4 а), тільки у сорту Миронівська слава з маркерами *Ppd-P4* детектовано фрагмент ампліфікації розміром 2612 п. н., наявність яких, як стверджують Guo et al. [37] та Chen et al. [16], свідчить про відсутність TE-інсерції у 1 інтроні нуклеотидної послідовності алеля *Ppd-D1*. У інших сортів з рецесивним генотипом з цими маркерами не виявлено продуктів ампліфікації, тому вони мають TE-інсерцію, наявність якої знижує рівень експресії *Ppd-D1* [37]. За даними Пірич [161], отриманими в ході аналогічного дослідження щодо вивчення фотоперіодичної чутливості, тривалість періоду до колосіння на природному фотоперіоді сорту Миронівська слава

становить в середньому 54 доби, що згідно наших результатів майже на 10 діб менше, ніж у сортів Миронівська золотOVERXа та Березиня миронівська. При цьому тривалість яровизаційної потреби у цих сортів однакова – 30 – 40 діб [132, 161], що дозволяє припустити, що саме наявність TE-інсерції в генотипі сортів Миронівська золотOVERXа та Березиня миронівська впливає на затримку колосіння.

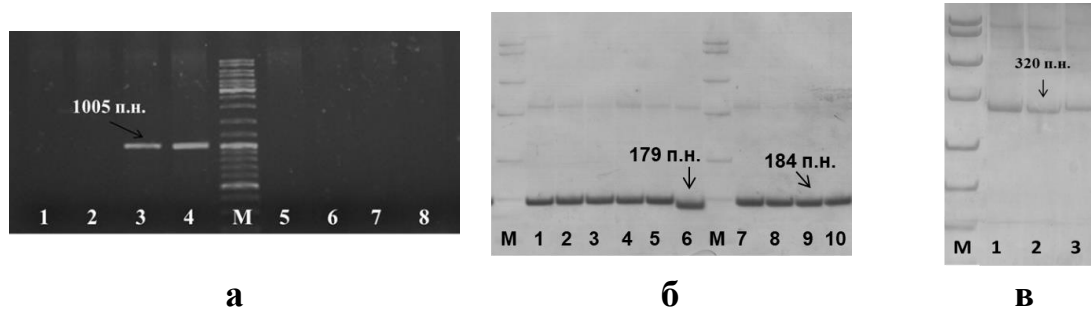


Рис. 3.4. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з маркерами, розробленими для визначення мутацій в послідовності гена *Ppd-D1*, згідно яких диференціюють гаплотипи: **а)** маркер Ppd-P5: 1 – Березиня миронівська; 2 – Миронівська золотOVERXа; 3 – Зимоярка; 4 – Миронівська слава; 5 – Миронівська сторічна; 6 – Деметра; 7 – МП Вишиванка; 8 – МП Княжна; М – маркер молекулярної маси ladder mix; **б)** маркер Ppd-P7: 1 – Грація миронівська; 2 – МП Ассоль; 3 – Балада миронівська; 4 – Трудівниця миронівська; 5 – МП Валенсія; 6 – Миронівська слава; 7 – Миронівська сторічна; 8 – Деметра; 9 – Зимоярка; 10 – Березиня миронівська; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*; **в)** маркер Ppd-P3: 1 – Грація миронівська; 2 – МП Ассоль; 3 – Балада миронівська; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*

Таким чином, серед сортів Лісостепової зони за гаплотипним складом гена *Ppd-D1*: більшість сортів (91 %) відноситься до гаплотипу VII, сорт Миронівська слава та Легенда білоцерківська – до гаплотипу IV. Сорти

Миронівська золотOVERXа, Берегиня миронівська, Миронівська сторічна відносяться до III гаплотипу, сорт Зимоярка до II.

3.2. Алелі генів системи *Ppd-1* у сортів пшениці м'якої озимої Степової зони України

Степова зона України – центр виробництва зерна пшениці м'якої озимої в нашій країні. Характерна кліматична особливість цього регіону – його посушливість, яка зумовлена недостатньою кількістю опадів, нерівномірним їх розподілом упродовж вегетації, що досить часто ускладнюється підвищеним температурним режимом [198]. В умовах Степу нашої країни високопродуктивні сорти пшениці м'якої озимої не завжди дають стабільні врожаї. Під впливом стресових чинників різко знижується продуктивність і якість зерна. Важливою ознакою сортів степового еко типу є скоростиглість. Скоростиглість – це еволюційно сформована ознака, яка забезпечує низку переваг: у роки з посушливою весною і літом сорти на 5–8 діб раніше починають використовувати ґрунтову вологу, накопчені в осінньо-зимовий період, уникаючи дії суховіїв, які частіше реєструються наприкінці вегетації [136].

Проблема адаптивності сортів пшениці озимої, їх здатності забезпечувати високу і стійку продуктивність за різних умов довкілля завжди була на першому плані у Степовій зоні України. Створення високопродуктивних сортів з слабо вираженою фотоперіодичною чутливістю і короткою стадією яровизації сприяє активному весняному відростанню рослин при скороченому дні, що в свою чергу забезпечує добре використання вологи і інтенсивне формування біологічного урожаю [124].

Так, для більшості сортів Південного Степу України пшениці м'якої озимої притаманна знижена, менше 15 діб, фотоперіодична чутливість (слабка або середньо слабка), та скорочена, не більше 45 діб, тривалість потреби в яровизації [188]. Час колосіння є одним з ключових компонентів

адаптації рослин пшениці (*Triticum aestivum* L.) до умов навколишнього середовища і, отже, впливає на потенціал сорту. Таким чином для вирощування сортів пшениці в умовах Степової зони України важливим є розуміння принципів генетичного контролю цієї ознаки.

Сорти пшениці м'якої озимої Півдня України, які ми вивчали в роботі, створені в Інституті зрошуваного землеробства НААН (ІЗЗ) та ТОВ «Дріада, Лтд» (м. Херсон), Селекційно-генетичному інституті – Національному центрі насіннєзнавства та сортовивчення (СГІ – НЦНС) та Одеському інституті агропромислового виробництва НААН України (м. Одеса), у науково-виробничій агрофірмі ТОВ "Землеробець" (Миколаївська обл.).

Також ми досліджували за системою генів *Ppd-1* низку сортів пшениці селекційних установ, розташованих у Північно-Східному Степу України.

Сорти ІЗЗ є найкраще адаптованими до умов зрошення та вважаються універсальними для різних екологічних зон. Універсальність сортів базується на здатності формувати високу врожайність при інтенсивних технологіях вирощування на зрошенні та на середніх і низьких агрофонах в неполивних умовах, а також на поєднанні високих рівнів продуктивного і адаптивного потенціалів та екологічній пластичності. Тому пріоритетним напрямом подальшої роботи селекціонерів ІЗЗ повинне бути підвищення адаптивного потенціалу генотипів без зниження досягнутого високого рівня продуктивності.

Сорти м'якої озимої пшениці СГІ – НЦНС різних періодів створення неодноразово вивчалися в штучних умовах за реакцією на фотоперіод. Для всіх сортів, створених в останні 3-4 десятиліття, характерна слабка фотоперіодична чутливість, що дає підставу припустити наявність в їх генотипах домінантних алелів одного або декількох генів *Ppd-1* [182].

Агрокліматичні ресурси Північно-Східного Степу України, в цілому, сприятливі для вирощування пшениці озимої, хоча й досить мінливі впродовж вегетаційного періоду. Нерівномірний, а іноді й аномальний прояв екстремальних погодних умов досить часто негативно впливає на ріст і

розвиток рослин пшениці озимої, на формування врожаю зерна. Тому, виявлення сортів, найбільш адаптованих до конкретних умов вирощування, є важливим завданням сьогодення [160].

Для визначення поліморфізму за генами *Ppd-1*, було проаналізовано 19 сортів пшениці м'якої озимої, один сорт альтернативного типу розвитку (дворучка), створених у вище зазначених селекційних центрах Півдня України та 7 сортів Північно-Східного регіону.

За локусом *Ppd-D1* детектовано фрагмент ампліфікації розміром 288 п. н., що свідчить про те, що всі досліджені сорти є носіями домінантного алелю *Ppd-D1a*. Сорт Співанка, створений селекціонерами Дніпровського державного аграрно-економічного університету, виявився гетерогенним за цим локусом (рис. 3.5 а, б).

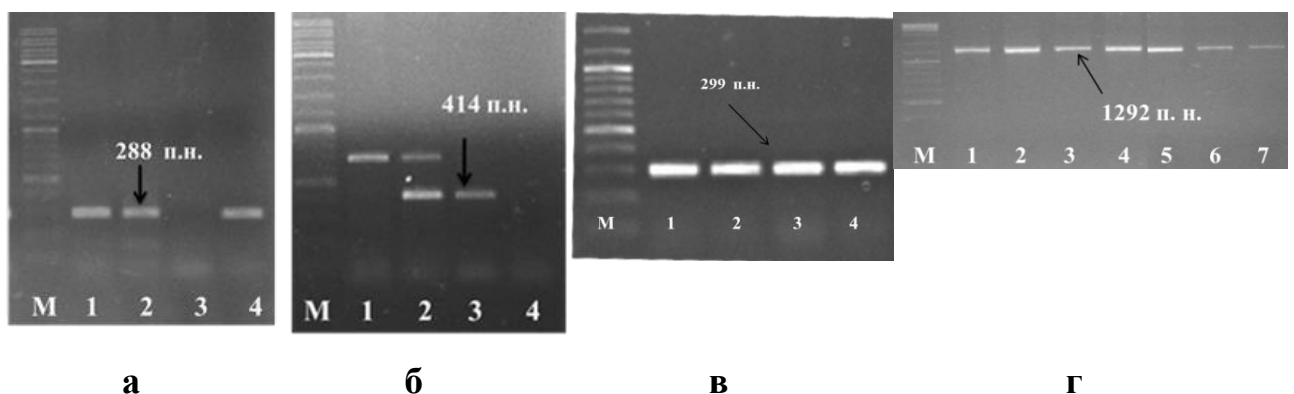


Рис. 3.5. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК сортів пшениці з алель-специфічними праймерами до алелів: **а)** *Ppd-D1a*: 1 – Комерційна, 2 – Співанка, 3 – Металіст, 4 – Зіра; **б)** *Ppd-D1b*: 1 – Комерційна, 2 – Співанка, 3 – Металіст, 4 – Зіра; **в)** *Ppd-A1b*: 1 – Комерційна, 2 – Співанка, 3 – Металіст, 4 – Зіра; **г)** *Ppd-B1b*: 1 – Комерційна, 2 – Співанка, 3 – Металіст, 4 – Зіра, 5 – Кохана, 6 – Росинка, 7 – Соборна; М – маркер молекулярної маси ladder mix.

Локуси *Ppd-A1* та *Ppd-B1* виявилися неполіморфними (ампліфіковані фрагменти 299 п. н. та 1292 п. н., відповідно). В генотипах наявні рецесивні алелі за цими локусами (рис. 3.5 в, г).

Таким чином, в досліджених нами за системою генів *Ppd-1* сортах Степу України, домінантний алель присутній тільки в локусі *Ppd-D1*. За даними Файта та ін., подібні результати були отримані при дослідженні сортів селекції СГІ – НЦНС – за допомогою гібридологічного аналізу відзначена висока частота домінантних лише за геном *Ppd-D1* генотипів – 79,6 % [182]. Частота домінантного алеля *Ppd-D1a* в наборі сортів СГІ становила $87,0 \pm 4,6$ %, частоти алелів *Ppd-A1a* і *Ppd-B1a* - відповідно $7,4 \pm 3,6$ і $5,6 \pm 3,1$ %. За даними Файта та ін. [182] така висока частота алеля *Ppd-D1a* в наборі сортів СГІ обумовлена використанням в селекційних програмах інституту в 60-70 роках минулого століття кількох груп генотипів – донорів різних генів карликовості, що слабо реагували на зміну тривалості дня. Перші слабочутливі до фотоперіоду середньо- і короткостебельні сорти СГІ (Одеська 51, Одеська напівкарликова та ін.) успадкували алель *Ppd-D1a* від російського сорту Безоста 1 і його мутанта Карлик 1 [182].

Крім того, у селекційних програмах на Півдні України було використано три різних групи донорів *Ppd-D1a*: сорт Безоста 4 та його похідні, ярі сорти приекваторіальних країн, озимі сорти колишньої Югославії [189]. Також зазначені автори діагностували наявність алеля *Ppd-D1a* за допомогою ПЛР з використанням молекулярних маркерів у сортів пшениці м'якої озимої Півдня України: частота генотипу *Ppd-D1a* на Півдні України становила 93,7 % [182]. Але дослідження щодо наявності домінантних алелів генів *Ppd-A1a* та *Ppd-B1a*, які зазначаються присутністю делеції 1085 п. н. та інсерції 308 п. н. в промоторному регіоні [70], відповідно, відносно зазначеної виборки, яка становила 64 сорти, авторами не проводилися. Слід відмітити, що серед досліджених зазначеними авторами сортів був присутній сорт ІЗЗ Херсонська безоста, в генотипі якого також детектовано домінантний алель *Ppd-D1a* [182].

Досліджені нами сорти СГІ – НЦНС Епоха одеська, Ужинок та Годувальниця одеська ймовірно успадкували алель *Ppd-D1a* від сортів Куяльник / Вікторія одеська [148], Спартак / Одеська напівкарликова та Одеська 267 / Бриз, відповідно, в родоводі яких цей алель було детектовано Файтом та ін. [182].

Для оцінки поліморфізму і визначення гаплотипного складу за геном *Ppd-D1* в сортах Степу України використовували молекулярні маркери Ppd-P3 – Ppd-P7. З маркерами Ppd-P3 детектовано фрагмент ампліфікації розміром 320 п. н., що свідчить про відсутність інсерції 16 п. н. у 8 екзоні. В результаті гніздової ПЛР з маркерами Ppd-P6 і Ppd-P7 у всіх сортів виявлений фрагмент ампліфікації 184 п. н., наявність якого свідчить про відсутність делеції 5 п. н. в 7 екзоні. З маркерами Ppd-P4 та Ppd-P5 не було визначено фрагментів 2612 п. н. та 1005 п. н., відповідно, що підтверджує наявність TE інсерції в генотипах досліджених сортів. За класифікацією, запропонованою Guo et al. [37] та Chen et al. [16], генотипи сортів Степової зони України за поєднанням мутацій в нуклеотидній послідовності гена *Ppd-D1* відносяться до гаплотипу VII. Гетерогенний за локусом *Ppd-D1* сорт Співанка має гаплотип III/VII.

З огляду на те, що за даними Diaz et al. [21] копійність гену *Ppd-B1* може впливати на фенотипічний прояв фотоперіодичної чутливості, нами було визначено кількість копій *Ppd-B1* в генотипах зазначених сортів. На сьогодні в Україні CNV-мутації *Ppd-B1* досліджувалися Балашовою зі співавторами [127], які позначили трьохкопійний *Ppd-B1* як алель *Ppd-B1a* (*Ppd-B1* типу Sonora 64) та чотирьохкопійний *Ppd-B1* як алель *Ppd-B1c* (*Ppd-B1* типу Chinese Spring). У загальній виборці озимих та ярих сортів закордонної та вітчизняної селекції (120) CNV-мутанти були виявлені авторами [127] у 29 сортів, причому носіями алелів *Ppd-B1a* та *Ppd-B1c* були 17 та 12 зразків, відповідно. При цьому серед українських сортів пшениці м'якої озимої домінантний алель *Ppd-B1c* визначено тільки у сорту Бригантіна. У генотипах сортів Степової природної зони України нами не було виявлено

фрагмента 425 п. н. (рис. 3.6 б), який визначає наявність в генотипі чотирьох копій *Ppd-B1*. При цьому у сорта Антонівка селекції СГІ – НЦНС було визначено фрагмент ампліфікації розміром 223 п. н., який визначає наявність в генотипі трьох копій *Ppd-B1* типу Sonora 64 (рис. 3.6 а).

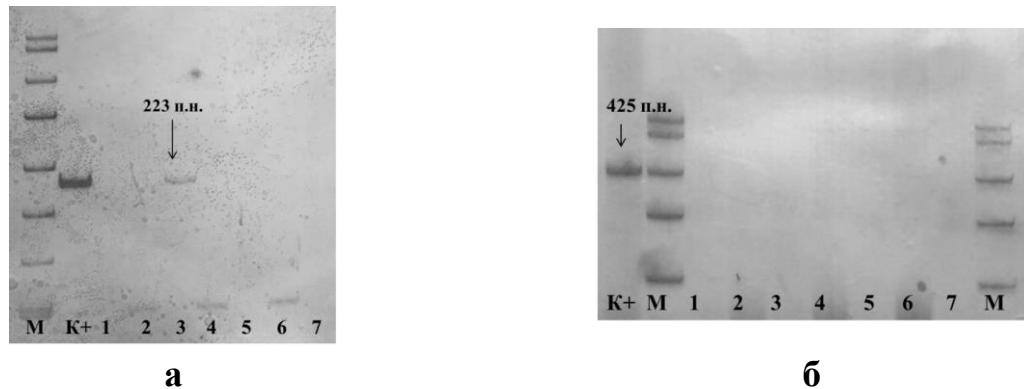


Рис. 3.6. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з алель-специфічними праймерами до CNV гена *Ppd-B1*: **а)** трьохкопійного *Ppd-B1* типу Sonora 64: 1 – Епоха одеська, 2 – Ужинок, 3 – Антонівка, 4 – Тулуза, 5 – Годувальниця, 6 – Верден, 7 – Турі, К+ – Ажурна; М – маркер молекулярної маси *pUC19/MspI*; **б)** чотирьохкопійного *Ppd-B1* типу Chinese Spring: 1 – Епоха одеська, 2 – Ужинок, 3 – Антонівка, 4 – Тулуза, 5 – Годувальниця, 6 – Верден, 7 – Турі, К+ – Струна миронівська; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*

В якості контрольних зразків для визначення алелів *Ppd-B1a* та *Ppd-B1c* використовували ДНК сортів Елегія миронівська та Струна миронівська, в генотипах яких зазначені мутації були раніше детектовані Балашовою зі співавторами [127].

Статистичний аналіз даних польових спостережень, в ході яких впродовж трьох років відмічали дати колосіння та цвітіння досліджених сортів ІЗЗ, показав, що усі сорти не мають достовірної різниці за цими показниками, тобто фенотиповий прояв чутливості до фотоперіоду загалом

узгоджується з результатами молекулярно-генетичного аналізу генотипів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

Характеристика сортів ІЗЗ за датами колосіння та цвітіння

Сорт	Середні значення за три роки (2016-2018 рр *)	
	Дата колосіння	Дата цвітіння
Анатолія	8,7	12
Бургунка	10	12,7
Конка	8,7	11,7
Кохана	8,7	12
Кошова	10,7	14,3
Ледя	13	16,3
Марія	10	13
Овідій	8,7	11,7
Росинка	9,7	12,7
Соборна	9,7	12,7
Херсонська безоста	11	14,3
Херсонська 99	8,3	11,3
НІР _{0,05}	-	-
Р**	7,8%	5,2%

Примітка: * – кількість днів до колосіння та цвітіння, починаючи відлік з першого травня; ** – показник точності дослідів

Таким чином, в зоні Степу України створення і впровадження у виробництво сортів пшениці з нейтральною фотоперіодичною чутливістю сприяє активному весняному відростанню рослин при скороченому дні, що своєю чергою забезпечує добре використання вологи, інтенсивне формування біологічного врожаю і зменшує втрату його внаслідок зараження

грибними хворобами в роки епіфітотій. Фотоперіодично-нейтральні, або форми з слабкою фотоперіодичною чутливістю у більшості випадків менше пошкоджуються посухою в період наливу зерна за рахунок скорочення тривалості вегетаційного періоду [124].

3.3. Алелі генів системи *Ppd-1* у сортів та ліній пшениці м'якої озимої Полісько-Лісостепової агрокліматичної зони

Селекційний матеріал пшениці м'якої озимої, який аналізувався в роботі, був створений на Носівській селекційно-дослідній станції, що знаходиться в умовах південного екотону Полісся, або перехідної зони Полісся–Лісостеп. Багаторічні польові дослідження дали змогу цей матеріал диференціювати на стабільні, вузько- та широкоадаптивні сорти / лінії. Остання група (Ювівата 60, Л4639/96, Л41/95 та ін.) характеризується широким діапазоном екологічної пластичності, сорти, віднесені до неї, мають високу масу 1000 зерен, крупнозерні, багатоквіткові. І варто зазначити, що використання в селекційному процесі багатоквіткових форм пшениці достовірно зумовлює збільшення показника кількості зерен з колоса в наступних гібридних популяціях [123, 191]. Саме вони якнайповніше реалізують свій генетичний потенціал у зазначеній зоні вирощування, на підставі чого виділені в полісько-лісостеповий екотип серед досліджуваних сортів і ліній пшениці.

Були визначені генотипи *Ppd-1* 7 сортів та ліній пшениці м'якої озимої НСДСМП (Ювівата 60, КС1, КС22-04, Л59-95, Зоряна носівська, КС14, Л41/95) і ПДАА (Арїївка) та контрольних сортів Донська напівкарликова, Миронівська 61. Родоводи досліджених ліній представлено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

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

Назва сорту/ лінії (номер національного каталогу, свідоцтва)	Родовід	Рік створення	Оригінатор
1	2	3	4
Аріївка (№ 171136)	Донська напівкарликова х К6477/91	2007	ПДАА [158]
лінія КС1 (38-95, UA0107961)	Донська напівкарликова х К6477/91	1995	НСДСМП [157]
лінія КС22-04 (UA0108019)	Зоряна Носівська х Миронівська 61	2004	НСДСМП [157]
лінія Л59-95 (UA0108016)	♀Донська напівкарликова х ♂ [♀(♀Maris Malder х ♂Pony) х ♂Донська н/к]	1995	НСДСМП [157]
Зоряна носівська (UA 0110603, № 521)	(Обрій х Maris Hunstman) х Maris Hunstman	1998	НСДСМП [156]
Донська напівкарликова	(Русалка х Северодонська)	1983	Всеросійський науково-дослідний інститут зернових культур ім. І. Г. Каліненко

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4
лінія КС14-05 (UA0123342, №1913)	♀ Maris Hunstman x ♂(Киянка x Pony)	2005	НСДСМП/Інститут садівництва НААН [157]
лінія Л41/95 (UA010803, №757)	Мирлебен x Поліська 92	1995	НСДСМП [157]
Ювівата 60 (лінія Л4639/96) (UA0108163, № 1102; сорт в Держреєстрі з 2014 р.)	(Поліська 90 x Мирлебен) x (Holger x ППГ296)	1996	НСДСМП [157]
Миронівська 61	внутрішньовидова гібридизація з подальшим індивідуальним добором із гібридної популяції Іллічівка x Hadmersleben 6508-74	1987	МП ім. В. М. Ремесла [138]

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

У всіх досліджених сортів детектовано рецесивні *Ppd-B1b* та *Ppd-A1b* алелі. За геном *Ppd-D1* рецесивний алель *b* визначено в генотипі сорту Ювівата 60. Лінія Л41/95 виявилась гетерогенною за цим локусом. В інших сортах та лініях пшениці м'якої детектовано домінантний алель *Ppd-D1a* (рис. 3.7).

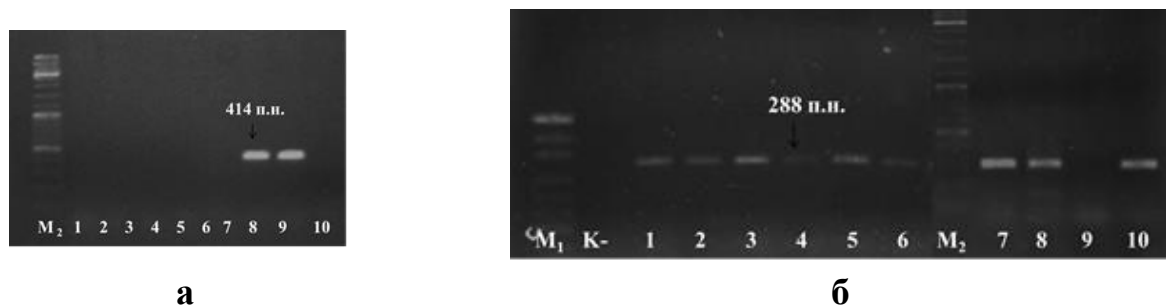


Рис. 3.7. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР з ДНК сортів/ліній з алель-специфічними праймерами до алелів: **а)** *Ppd-D1b*: 1 – Аріївка; 2 – лінія КС1; 3 – лінія КС22-04; 4 – лінія Л59-95; 5 – Зоряна носівська; 6 – сорт Донська напівкарликова; 7 – лінія КС14; 8 – лінія Л41/95; 9 – сорт Ювівата 60; 10 – сорт Миронівська 61; M₂ – маркер молекулярної маси ladder mix; **б)** *Ppd-D1a*: 1 – Аріївка, 2 – лінія КС1, 3 – лінія КС22-04, 4 – лінія Л59-95, 5 – Зоряна носівська, 6 – сорт Донська напівкарликова, 7 – лінія КС14, 8 – лінія Л41/95, 9 – сорт Ювівата 60, 10 – сорт Миронівська 61, M₁ – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*, M₂ – маркер молекулярної маси ladder mix

Алель *Ppd-D1b* у сорту Ювівата та у лінії Л41/95 був найімовірніше успадкований від донорного сорту Мірлебен, в генотипі якого цей алель був виявлено раніше [104]. Крім того другою батьківською формою сорту Ювівата є сорт Поліська 90, який є носієм алеля *Rht8b* гена короткостебловості [196], що дає змогу припустити, що цей сорт є рецесивним за геном *Ppd-D1*, оскільки домінантний алель *Ppd-D1a* зазвичай успадковується разом з алелем *Rht8c* гена короткостебловості. У родоводі сорту Аріївка, ліній КС1 та Л59-95 задіяний сорт Донська напівкарликова (його також досліджували у роботі), що має в генотипі алель *Ppd-D1a*, який обумовлює нейтральну реакцію на фотоперіод. Аналіз походження сорту Зоряна носівська дає змогу припустити, що *Ppd-D1a* алель успадкований від сорту Обрій [182].

Визначено, що генотип сорту Ювівата 60 відноситься до гаплотипу III за геном *Ppd-D1*, а генотип гетерогенної за локусом *Ppd-D1* лінії Л41/95 – до гаплотипів III і VII. Інші сорти та лінії віднесено до гаплотипу VII (рис. 3.8, табл. 3.7).

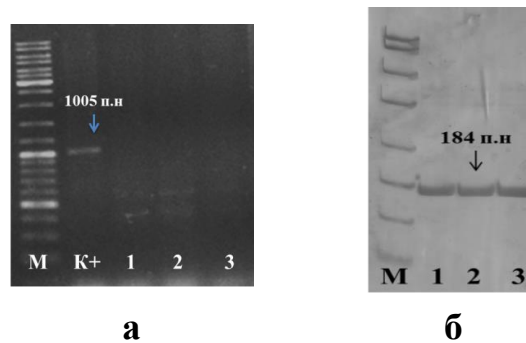


Рис. 3.8. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР ДНК з маркерами, розробленими для визначення мутацій в послідовності гена *Ppd-D1*, згідно яких диференціюють гаплотипи: **а)** маркер Ppd-P5: 1 – Аріївка; 2 – лінія КС1; 3 – лінія КС22-04; К+ – Зимоярка; М – маркер молекулярної маси ladder mix, **б)** маркер Ppd-P7: 1 – Аріївка; 2 – лінія КС1; 3 – лінія КС22-04; М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*

Таблиця 3.7

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

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

Згідно з даними Guo et al. [37], гаплотип III характеризується найнижчим рівнем експресії гена *Ppd-D1* порівняно з I – VI гаплотипами, що призводить до більш пізнього виколошування таких рослин і може бути перевагою за вирощування в північних широтах, оскільки дасть змогу рослинам уникнути дії низьких температур у разі цвітіння наприкінці весни – початку літа. Наразі дослідження рівня експресії VII гаплотипу гену *Ppd-D1* не проводили.

У результаті однофакторного дисперсійного аналізу даних польового дослідження щодо темпів колосіння та цвітіння виявлено достовірний вплив фактору «Лінія» ($P = 0,01$) на зазначені ознаки. Найраніше виколошування в умовах Лісостепу та Полісся-Лісостепу України було характерне для сорту Донська напівкарликова, найбільш пізніе – для сортів Ювівата 60, Миронівська 61 та лінії Л41/95 (табл. 3.8). Різниця між зазначеними групами була достовірною – в середньому 10 діб. Але за врожайністю досліджені лінії між собою різнилися в межах похибки. Серед сортів та ліній, у родоводі яких наявний сорт Донська напівкарликова, лише лінія Л59-95 достовірно не відрізнялася від материнського сорту за часом цвітіння, що може свідчити про наявність у генотипі цих зразків інших генів, що впливають на швидкість проходження фенофаз, які ми не тестуємо в цій роботі. Також цікавим є досить пізніе колосіння та цвітіння рослин сорту Миронівська 61 (для якого характерна наявність *Ppd-D1a* алеля), практично на рівні чутливих до фотоперіоду сорту Ювівата 60 та лінії Л41/95. Наявні відмінності можуть бути обумовлені іншими генетичними системами або епігенетичними чинниками. Загалом, зразки з рецесивним алелем гену *Ppd-D1* мали схильність до більш пізнього колосіння та цвітіння, ніж сорти та лінії з домінантним алелем.

За даними двохфакторного дисперсійного аналізу (табл. 3.9) фактори «Лінія» та «Зона вирощування» достовірно впливали на ДК та ДЦ, однак не на врожайність.

Таблиця 3.8

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

Назва сорту/ лінії	Середнє за 2010-2017 рр. (Лісостеп)			Середнє за 2010-2017 рр. (Полісся-Лісостеп)		
	ДК*	ДЦ**	Врожайність, г/м ²	ДК	ДЦ	Врожайність, г/м ²
Аріївка	23,13	27,13	637,5	25,13	30,25	687,09
лінія КС1	23,25	27,25	624,3	25,13	29,63	623,35
лінія КС22-04	21,50	26,38	590,6	23,88	28,25	632,68
лінія Л59-95	20,63	25,00	577,8	22,50	26,63	536,36
Зоряна Носівська	24,25	28,75	555,3	26,13	31,00	595,44
Ювівата 60	27,25	31,88	661,4	30,25	34,50	640,54
лінія КС14	22,63	26,75	578,6	24,13	29,75	556,00
лінія Л41/95	26,75	31,88	597,9	29,13	34,00	577,23
Донська напівкарликова	17,25	21,50	530,0	19,00	23,00	519,59
Миронівська 61	26,13	30,50	591,0	28,38	33,00	579,48
НР _{0,05}	3,92	3,74	-	3,82	3,36	-
НР _{0,01}	5,2	5,1		5,06	4,47	

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

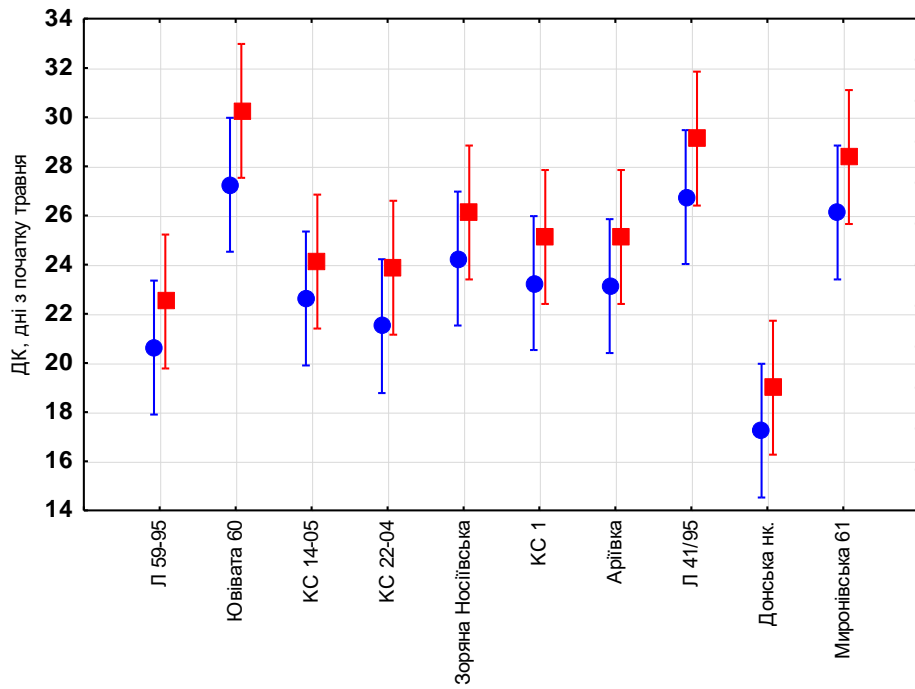
Таблиця 3.9

Вплив факторів «Лінія» та «Зона вирощування» на дату колосіння, дату цвітіння та врожайність

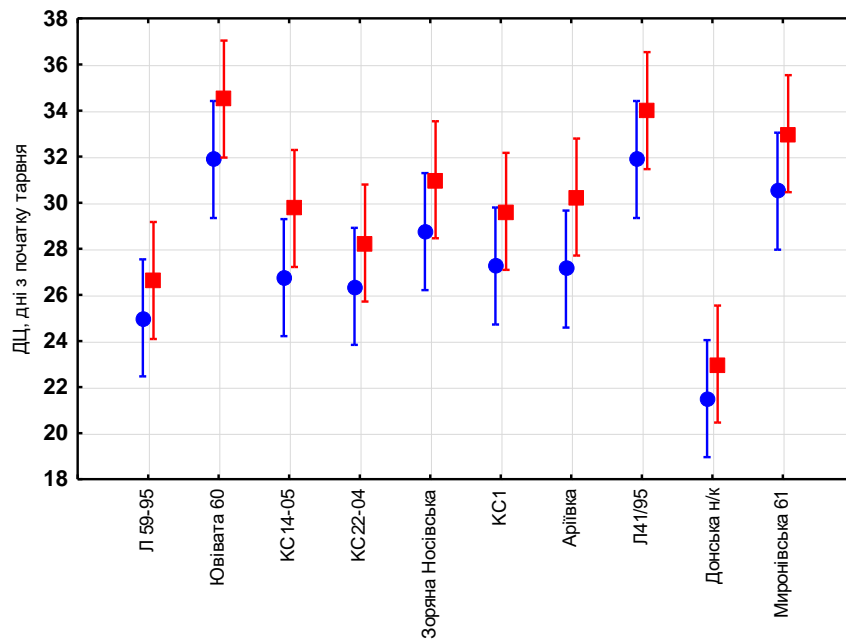
Ознаки	Джерело варіації, mS			
	«Лінія»	«Зона вирощування»	Взаємодія «Лінія» x «Зона вирощування»	Похибка
df	9	1	9	140
ДК	164,92***	174,31***	0,72	15,17
ДЦ	179,0***	211,6***	1,2	13,2
Врожайність	29222	5	4074	22268

Примітка: *** – достовірно за $p=0,001$

В умовах Лісостепу цвітіння та колосіння відбувалося в середньому на 2 доби раніше, ніж в умовах перехідної зони Полісся-Лісостеп (рис. 3.9).



а



б

Рис. 3.9. Час колосіння (а) та цвітіння (б) досліджених ліній в умовах Лісостепу (синій кружечок) та Полісся-Лісостепу (червоний квадрат), ■, ● – середнє значення, ⊥ – дисперсія

Лінії з наявністю (*Ppd-D1a*) та відсутністю делеції розміром 2089 п. н. перед кодуєчим регіоном (*Ppd-D1b*) незалежно від зони вирощування достовірно між собою не різнилися за врожайністю, що може пояснюватися селекційним добром, який спрямований на створення високоврожайних сортів. Також на відсутність відмінностей може впливати наявність лише по одному зразку з *Ppd-D1b* та *Ppd-D1a/b* у групах та досить висока дисперсія за ознакою врожайність (рис. 3.10).

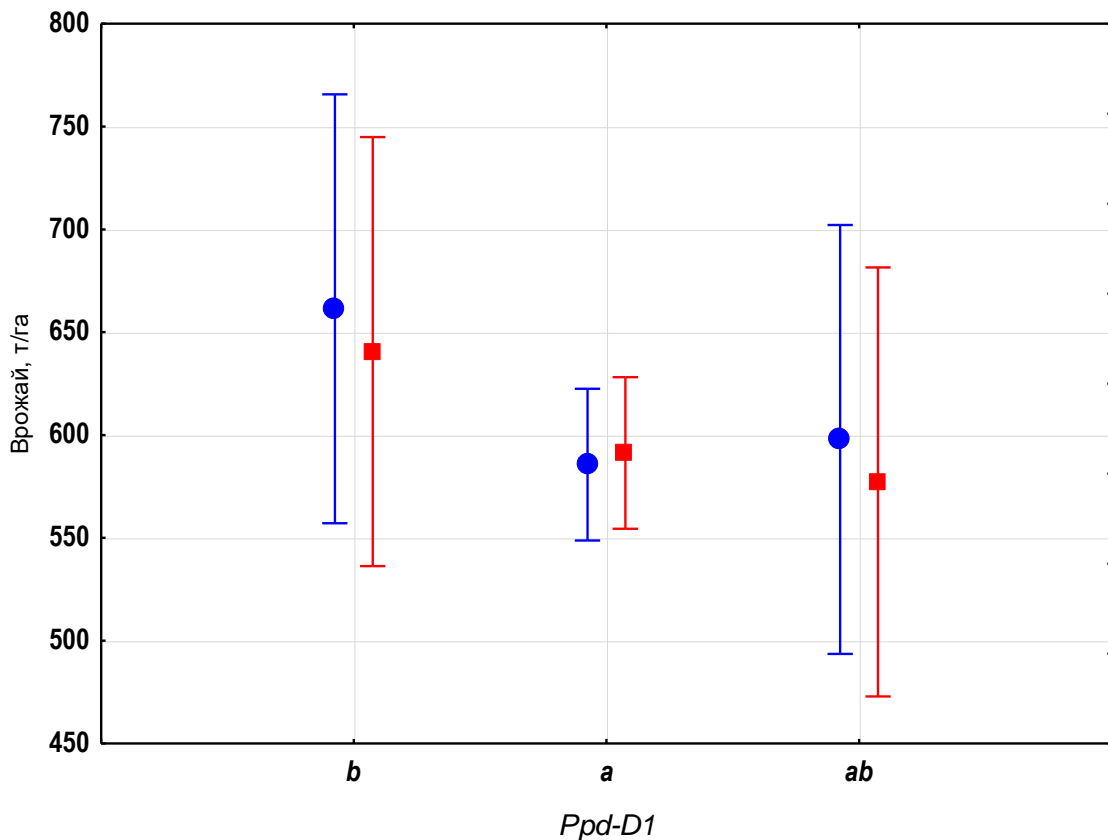


Рис. 3.10. Врожайність досліджених ліній в залежності від алельного стану гену *Ppd-D1* в умовах Лісостепу (синій кружечок) та Полісся-Лісостепу (червоний квадрат), ■, ● – середні значення, | – дисперсія

Таким чином, досліджені сорти та лінії характеризують напрямок селекції в Полісько-Лісостеповому та Лісостеповому ектопах. Вони поєднують високу адаптивність до несприятливих абіотичних чинників,

крупнозерність, багатоквітковість, високу регенераційну здатність. В зазначених екотипах, так само як і на території всієї України переважають сорти з *Ppd-D1a* алелем (VII гаплотип). При вирощуванні в зонах Лісостепу та Полісся-Лісостепу спостерігаються однакові тенденції щодо більш раннього колосіння та цвітіння сортів та ліній зі зменшеною чутливістю до фотоперіоду.

Цікавим залишається питання, який генетичний механізм дозволяє сорту Донська напівкарликова бути найбільш раннім серед досліджених сортів (навіть серед сортів з тим самим *Ppd-D1a* алелем). В той же час для Поліського та Полісько-Лісостепового екотопів немає необхідності створювати сорти з раннім колосінням, характерним для сорту Донська напівкарликова, оскільки для цієї екологічної ніші умови травня місяця, час від часу, супроводжуються низькими і від'ємними температурами повітря, що спричиняє повну або часткову білоколосицю, стерильність колоса, підвищення утворення підгонів і як наслідок нерівномірне дозрівання, зниження продуктивності посіву.

3.4. Розподіл алелів генів системи *Ppd-1* сучасних сортів пшениці м'якої озимої по агрокліматичним зонам України

За отриманими результатами проведено географічний розподілу алелів та гаплотипів гену *Ppd-D1* по агрокліматичним зонам України (рис. 3.11).

Аналіз отриманих даних свідчив про те, що в усіх природних зонах генотипи з домінантним алелем значно переважали над рецесивними генотипами. Але алель *Ppd-D1a* був більш розповсюджений у Полісько-Лісостеповій та Степовій зонах у порівнянні з Лісостеповою, де співвідношення алелів *Ppd-D1a* та *Ppd-D1b* становило 91% та 9%, відповідно.

Що стосується розподілу гаплотипів, то найбільш поліморфною за гаплотипним складом гену *Ppd-D1* виявилася Лісостепова зона. В

генетичному пулі сортів, створених в селекційних центрах зазначеної зони, зустрічаються гаплотипи VII (91 %), III (5 %), IV (3 %) та II (1 %).



Рис 3.11. Географічний розподіл алелів гену *Ppd-D1* в Україні

Слід відмітити, що як в Європі в цілому, так і в Україні зокрема спостерігається чітка тенденція в бік ослаблення фотоперіодичної чутливості з півночі на південь. Так, алель *Ppd-D1a*, який обумовлює нечутливість до фотоперіоду, є рідкістю у Великобританії, Данії, Німеччині, Швеції та Австрії. Навпаки, близько третини французьких сортів пшениці несуть цей алель, а в Східній Європі генотипи з алелем *Ppd-D1a* переважають [51].

Алель *Ppd-D1a* був введений в європейські сорти, які вирощувалися на низьких широтах (менше 48 градусів) на початку двадцятого століття з японських сортів [51]. Аналіз літератури показав, що генотипи зі слабкою чутливістю до фотоперіоду переважають в середовищі з кліматичними умовами, для яких характерне жарке й сухе літо (південні широти). Їх перевага в порівнянні з генотипами, рецесивними за генами *Ppd-1*, полягає в

тому, що вони відновлюють вегетацію до настання посухи і отже потенційно можуть давати в таких умовах значно більший урожай зерна. Генотипи сортів пшениці м'якої озимої, які мають алелі *Ppd-1*, що викликають сильну реакцію на фотоперіод, а значить більш тривалий період до колосіння, навпаки, зазвичай більш продуктивні в умовах Північної Європи, де літо прохолодне з великою кількістю опадів [48, 91]. При цьому низька частка алеля *Ppd-D1a* в сортах, що походять з північних частин Європи, обумовлена значно більш низьким потенціалом врожайності нечутливих до фотоперіоду генотипів в порівнянні з чутливими сортами в цих регіонах внаслідок укороченої вегетативної фази.

Результати досліджень, описані у Розділі 3, опубліковані в наступних статтях та тезах:

1. Бакума А. О., Чеботар Г. О., Ткачук А. В., Чеботар С. В., Москалець Т. З., Москалець В. В. Алельний стан *Ppd-1* генів, що контролюють чутливість до фотоперіоду, у низки генотипів пшениці м'якої озимої. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2020. Т. 16, №3. С. 253–262.
2. Бакума А. О., Чеботар Г. О., Лавриненко Ю. О., Чеботар С. В. Алельний стан генів системи *Ppd-1* та *Vrn-1* у сортів озимої м'якої пшениці Інституту зрошуваного землеробства НААН України. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2019. Т. 24, вип.1 (44). С. 49–64.
3. Chebotar G., Bakuma A., Filimonov V., Chebotar S. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2019. Вип. 80. С. 82–89.
4. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А., Бурденюк-Тарасевич Л. А., Чеботарь С. В. ПЦР-анализ генов фотопериодической чувствительности у сортов мягкой озимой пшеницы селекции

Белоцерковской опытно-селекционной станции. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2018. Т 16, № 2. С. 217–226.

5. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Топораш М. К., Бакума А. О., Тищенко В. М. Характеристика сортів пшениці селекції Полтавської державної аграрної академії за допомогою маркерів до генів, що визначають важливі господарсько-агрономічні ознаки. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2017. Т. 15, № 2. С. 187–195.

6. Бакума А. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Генотипи сучасних миронівських сортів озимої м'якої пшениці за *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* генами та їх чутливість до фотоперіоду. *Вісник Одеського Національного Університету. Біологія*. 2016. Т. 21, вип. 1 (38). С. 75–88.

7. Bakuma A. O., Bulavka N. V., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Photoperiodic sensitivity and genetic polymorphism of *Ppd-1* genes in Ukrainian wheat varieties and lines. *Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія*. 2019. Т. 24, Вип. 2. С. 173–174.

8. Бакума А.О., Чеботар Г.О., Лавриненко Ю.О., Чеботар С.В. Поліморфізм за генами фотоперодичної чутливості у сортів пшениці Інституту зрошуваного землеробства. Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти. Матеріали IV Міжнародної наукової конференції. Х. : ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2018. С. 17–18.

9. Бакума А. О., Чеботар Г.О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Ідентифікація *Ppd-1* генотипів, копій гена *Ppd-B1* та гаплотипного складу за геном *Ppd-D1* у сортів м'якої пшениці селекції Миронівського інституту пшениці ім. В.М.Ремесла. Біотехнологія – інноваційний шлях селекції рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса «Астропринт», 2018. С. 44–45.

10. Бакума А. О., Булавка Н. В. Чеботар С. В. Вплив поліморфізму за геном *Ppd-D1b* на строки колосіння низки сортів пшениці м'якої озимої МПП. Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських

культур. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів. Миронівка, 2017. С. 9–10.

11. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А., Бурденюк-Тарасевич Л. А., Чеботарь С. В. Гены фотопериодической чувствительности в сортах мягкой озимой пшеницы селекции Белоцерковской опытно-селекционной станции. Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса, 2017. С.73–74.

12. Чеботар С. В., Галаєва М. В., Булавка Н. В., Бакума А. О. Молекулярно-генетичний аналіз сортів м'якої пшениці Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. Реалізація потенціалу сортів зернових культур – шлях вирішення продовольчої безпеки. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 110-річчю від дня народження академіка-селекціонера В. М. Ремесла. Центральне, 2017. С.74–76.

13. Alla Bakuma, Galyna Chebotar, Vadim Filimonov, Tetyana Kyrylyuk and Sabina Chebotar Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. Poster presentations on 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding. Budapest, Hungary, 2017. P. 35–36.

14. Булавка Н. В., Бакума А. О., Юрченко Т. В., Чеботар С. В. Фотоперіодична чутливість та яровизаційна потреба сортів озимої м'якої пшениці миронівської селекції. Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці. Матеріали науково-практичної конференції. Вінниця, 2016. С. 62–63.

15. Бакума А. О., Жарікова Д. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Генетичний поліморфізм за генами *Ppd* сучасних сортів пшениці м'якої озимої Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. Селекція, генетика і технології вирощування сільськогосподарських культур. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених. Миронівка, 2015. С. 6.

16. Бакума А. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Вплив алелів генів *Rpd* на темпи розвитку озимої м'якої пшениці. Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція. Матеріали VII Міжнародної конференції молодих вчених, аспірантів, студентів. Одеса, 2015. С.4–5.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ АЛЕЛЯ *Ppd-D1a* НА ТЕМПИ РОЗВИТКУ ТА АГРОНОМІЧНІ ОЗНАКИ ПШЕНИЦІ, ВИЗНАЧЕНИЙ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МАЙЖЕ- ІЗОГЕННИХ ЛІНІЙ ТА ЛІНІЙ-АНАЛОГІВ

Для з'ясування впливу алеля *Ppd-D1a* на тривалість періоду «сходи – колосіння» та на агрономічні ознаки рослин пшениці незалежно від інших генетичних систем використовували спеціально створений генетичний матеріал – майже-ізогенні лінії Кооператорка та Кооператорка рання і лінії-аналоги Степняк 1 та Степняк 1 ранній. У ліній було детектовано алелі генів системи *Ppd-1*, перевірено рівень ізогенності та визначено ефекти алелю *Ppd-D1a* на агрономічні ознаки в умовах Південного Степу України.

4.1. Визначення алелів генів системи *Ppd-1* у майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів м'якої пшениці

За результатами ПЛР аналізу за локусом *Ppd-D1* у рекурентних ліній Кооператорка та Степняк 1 нами виявлено фрагмент ампліфікації, розміром 414 п. н., який визначає рецесивний алель *Ppd-D1b* (рис. 4.1 а). У їх ранньостиглих аналогів Кооператорка рання та Степняк 1 ранній детектовано фрагмент ампліфікації, розміром 288 п. н., який відповідає алелю *Ppd-D1a*, що обумовлює нечутливість до фотоперіоду (рис. 4.1 б). За локусом *Ppd-B1* для всіх досліджених ліній виявлено фрагмент ампліфікації розміром 1292 п. н. – лінії несуть рецесивний алель *Ppd-B1b* (рис. 4.1 в). За локусом *Ppd-A1* також не виявлено поліморфізму; у всіх ліній детектовано фрагмент ампліфікації розміром 299 п. н., який відповідає алелю *Ppd-A1b* (рис. 4.1 г). Також за результатами ПЛР аналізу досліджені нами лінії не мають в геномі трьох та чотирьохкопійного гена *Ppd-B1*. Щоб з'ясувати гаплотипний склад за геном *Ppd-D1*, визначали наявність інсерції транспозону типу MLE в інтроні 1, делецію 5 п. н. в сьомому екзоні та делецію 16 п. н. у восьмому

екзоні в ДНК досліджених ліній. В результаті поєднання детектованих мутацій ранньостиглі лінії віднесені до гаплотипу VII, лінії с рецесивним генотипом *Ppd-D1* – до гаплотипу III.

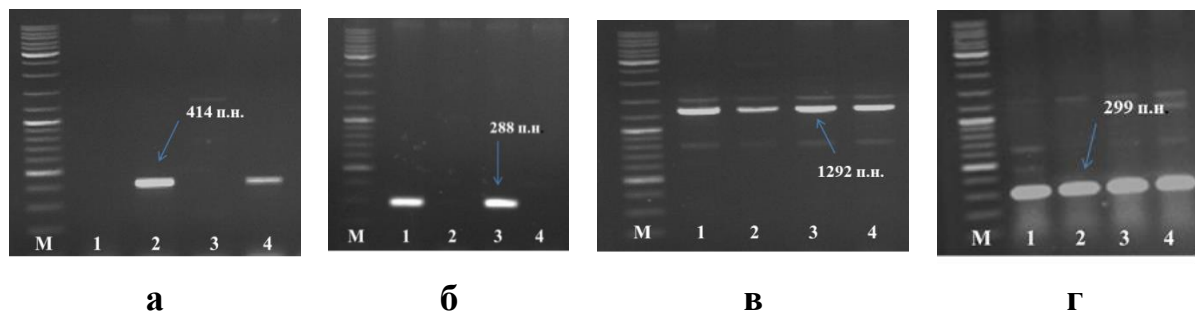


Рис. 4.1. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР з алель-специфічними праймерами до алелів *Ppd-D1b* (а), *Ppd-D1a* (б), *Ppd-B1b* (в), *Ppd-A1b* (г) ДНК ліній: 1 – Кооператорка рання; 2 – Кооператорка; 3 – Степняк 1 ранній; 4 – Степняк 1; М – маркер молекулярної маси ladder mix

Таким чином, нами визначено, що майже-ізогенні лінії Кооператорка та Кооператорка рання та лінії-аналоги Степняк 1 і Степняк 1 ранній відрізнялися алелями гену *Ppd-D1* та гаплотипами за геном *Ppd-D1*, при цьому відмінності в гаплотипному складі були обумовлені наявністю делеції 2089 п. н. (алель *Ppd-D1a*) в генотипах ліній Кооператорка рання та Степняк 1 ранній та, відповідно, її відсутністю у рекурентних ліній Кооператорка та Степняк 1. Інші мутації, які формували гаплотипний склад за геном *Ppd-D1*, були ідентичними у досліджених ліній.

4.2. Перевірка ступеня відновлення генофону рекурентної батьківської форми майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів

Для перевірки ступеня відновлення генофону рекурентної батьківської форми ліній-аналогів використовували RAPD-, IPBS- та мікросателітний

аналіз. RAPD- та IPBS-аналіз дозволяє швидко визначати велику кількість локусів, рандомно розташованих в геномі, а мікросателітний аналіз детектує кодомінантні, тандемні, варіабельні за кількістю повторів нуклеотидні послідовності, які є монолокусними та поліалельними [166].

За результатами RAPD-аналізу та IPBS-аналізу, лінії, створені на основі сорту Кооператорка, відрізнялися від ліній, створених на основі сорту Степняк 1, за 18 локусами з 79. Проте поліморфізму між лініями аналогами виявлено не було.

За результатами мікросателітного аналізу за локусом *Xgwm169* виявлено поліморфізм між групами ліній, створеними на основі сорту Кооператорка і на основі сорту Степняк, у яких відповідно детектовані фрагменти ампліфікації розміром 221 та 200 п. н. (рис. 4.2 а). Поліморфізму між батьківськими формами та лініями аналогами також не виявлено.

Лінії Кооператорка та Кооператорка рання визначені як поліморфні лише за одним локусом *Xgwm160* з 71 протестованого, при ПЛР-аналізі *Xgwm160* ампліфікувалися фрагменти розміром 190 та 178 п. н., відповідно (рис 4.2 б). Таким чином, ступінь відновлення генофону рекурентної батьківської форми у лінії Кооператорка рання становить 98,6 %. Особливо слід зазначити, що за результатами ПЛР-аналізу за локусом *Xgwm261* [111] у обох ліній Кооператорка та Кооператорка рання було виявлено фрагмент ампліфікації розміром 164 п. н., який відповідає *Rht8a* алелю дикого типу (рис. 4.2 в).

За результатами ПЛР-аналізу лінії Степняк 1 та Степняк 1 ранній виявилися не поліморфними за 65 локусами, але у цих ліній виявлено поліморфізм за локусом *Xgwm261* (2D) [111]. У лінії Степняк 1 виявлено фрагмент ампліфікації розміром 164 п. н., який визначає алель *Rht8a*, а у лінії Степняк 1 ранній присутній фрагмент ампліфікації розміром 192 п. н. (рис. 4.2 в), який маркує алель *Rht8c*. Цей алель, за нашою думкою, був успадкований разом з *Ppd-D1a* від донорної лінії Степняк 2К [14, 47]. Ступінь відновлення генофону рекурентної батьківської форми у лінії

Степняк 1 ранній за даними молекулярно-генетичного аналізу становить 98,5 %.

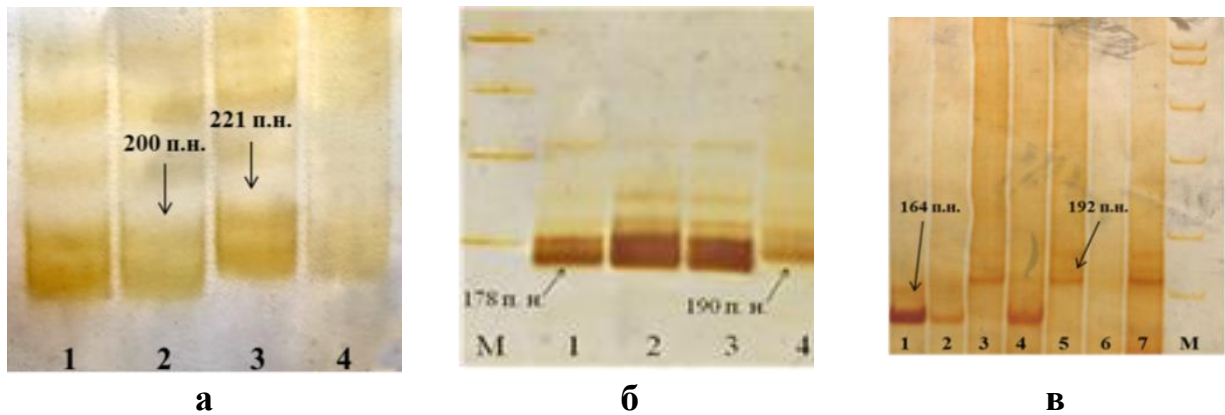


Рис. 4.2. Електрофореграма продуктів ампліфікації, отриманих за допомогою ПЛР з мікросателітними маркерами: **а)** *Xgwm169* ДНК ліній: 1 – Степняк 1 ранній; 2 – Степняк 1; 3 – Кооператорка рання; 4 – Кооператорка; **б)** *Xgwm160* ДНК ліній: 1 – Степняк 1 ранній; 2 – Степняк 1; 3 – Кооператорка рання; 4 – Кооператорка; **в)** *Xgwm261* ДНК ліній та сортів: 1 – Кооператорка; 2 – Кооператорка рання; 3 – Степняк 2К; 4 – Степняк 1; 5 – Степняк 1 ранній; 6 – негативний контроль ; 7 – Одеська напівкарликова; М – маркер молекулярної маси *pUC 19/Msp I*

Отже, досліджені лінії Кооператорка і Кооператорка рання відрізняються лише алелями гена *Ppd-D1*, а лінії Степняк 1 та Степняк 1 ранній – алелями гена *Ppd-D1* та зчепленого з ним гена *Rht8*, генетична відстань між локусами *Ppd-D1* та *Rht8* складає 21,95 сМ [194]. Таким чином, незважаючи на високий рівень відновлення рекурентного генофону у пари майже ізогенних ліній Степняк 1 та Степняк 1 ранній, в них виявлено поліморфізм за геном короткостебловості *Rht8a* vs *Rht8c*, який може впливати на агрономічні ознаки, що вивчають у цій роботі. У зв'язку з цим при визначенні плеiotропних ефектів алеля *Ppd-D1a* на лініях Степняк 1 і Степняк 1 ранній потрібно враховувати також вплив алеля *Rht8c*.

4.3. Результати трьохфакторного дисперсійного аналізу варіації ознак майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів

З метою оцінки ступіню впливу алеля *Ppd-D1a* на швидкість вегетації та агрономічні ознаки рослин пшениці в умовах Південного Степу України у 2016, 2018, 2019 роках проводили структурний аналіз урожаю досліджуваних пар ліній Кооператорка – Кооператорка рання, Степняк 1 – Степняк 1 ранній. Результати представлено у табл. 4.1. За результатами статистичного аналізу даних визначено достовірну різницю між показниками майже усіх агрономічних ознак, що вивчалися, у пар досліджуваних ліній з різними алелями гену *Ppd-D1*, крім ознак продуктивне кушіння та щільність колосу.

За допомогою трьохфакторного дисперсійного аналізу було показано, що взаємодія «генотип лінії за геном *Ppd-D1*» х «генофон» достовірно впливала на варіацію ознак МТЗК і МТЗР. При цьому фактор «генотип лінії» не впливав на загальну варіацію за ознаками ПК, *l*_h, КСК, ЗП, ЗР, а фактор «генофон» не впливав на ПК, *l*, ЗК, ЗП, ЗР (табл.4.2).

Достовірний вплив фактора «Рік» на значне число ознак обумовлено відмінністю кліматичних умов 2016, 2018 та 2019 сільськогосподарських років.

Так, навесні 2016 року в період вегетації рослин запаси продуктивної вологи в метровому шарі ґрунту становили 108-147 мм, що сприяло задовільному розвитку рослин (продовженню росту стебла і формуванню колоса).

Навпаки, в 2018 та 2019 році ці показники істотно відрізнялись та були недостатніми і незадовільними для формування повноцінного колоса (39-70 мм та 64-80 мм, відповідно), що, за нашою думкою, могло позначитися на врожаї зерна, викликати всихання недорозвиненого зерна і зниження абсолютного ваги. За даними літератури, високу врожайність зерна пшениця озима формує у роки, коли на початку весни запаси доступної вологи у шарі ґрунту 0-100 см становлять 150-200 мм, задовільний – при 130-140, низький –

при 100 мм і менше. Особливо низьку врожайність зерна недостатня кількість запасів вологи в ґрунті весною спричиняє на слаборозвинених з осені посівах, оскільки коренева система таких рослин невзможі повною мірою використати наявну вологу [163]. За нашими даними, маса зерен з рослини в 2016 році була достовірно в середньому вище, ніж в 2018 та 2019, на 7,5 г, кількість зерен з рослини – на 213 шт.

Лінії, створені на генетичному фоні сорту Степняк, при порівнянні з лініями, створеними на генофоні сорту Кооператорка, виколошувалися достовірно пізніше в середньому на 3,8 діб, були нижче на 19,2 см, мали меншу h на 19,2 см, більше l/h на 0,02, більшу КФК на 0,6 шт., меншу КСК на 0,7 шт., більшу ПК на 2,1 шт., більше ЗП та ЗР на 48,4 шт. та 48,9 шт., відповідно, більшу МТЗК на 2,8 г.

Такі істотні відмінності між агрономічними показниками ліній, створених на різних генофонах, пов'язані з різним алельним станом багатьох генів та QTL, що детермінують агрономічні ознаки, та, на нашу думку, можуть бути обумовлені різним походженням сортів Кооператорка та Степняк.

Сорт Кооператорка, створений індивідуальним добром із місцевих сортів-популяцій Кримок, є високорослим сортом екстенсивного типу, який характеризується низькою морозо-зимостійкістю.

Сорт Степняк селекції СГІ – НЦНС (автори Ф.Г. Кириченко та ін.), створений на базі сортів інтенсивного типу Безоста 1 та Одеська 16 з використанням індивідуального і масового добору, характеризується середньорослістю, пізньостиглістю, високою стійкістю до абіотичних (посуха та мороз) і біотичних (бура та жовта іржа, борошниста роса, тверда та пильна сажка) чинників середовища та певною пристосованістю до мінливих умов зони ризикованого землеробства [66].

Таблиця 4.1

**Характеристика майже-ізогенних ліній Кооператорка і Кооператорка рання та ліній-аналогів Степняк 1 і
Степняк1 ранній за агрономічними ознаками у 2016, 2018 та 2019 рр.**

Ознака	Середні значення																	
	2016						2018						2019					
	К	Кр	НІР _{0,05}	Ст1	Ст1р	НІР _{0,05}	К	Кр	НІР _{0,05}	Ст1	Ст1р	НІР _{0,05}	К	Кр	НІР _{0,05}	Ст1	Ст1р	НІР _{0,05}
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	19	17	18	19
ДК, діб*	15,2	5,9	0,7	17,6	9,4	1,4	12,7	9,8	1,9	19,3	13,7	3,4	26,7	21,4	0,6	30,0	25,6	1,0
ВР, см	152,0	131,9	3,7	127,1	117,2	4,2	121,2	95,5	11,6	97,2	79,5	-	108,9	96,9	8,1	95,1	74,7	11,1
ПК, шт.	11,2	10,1	-	9,6	10,9	-	7,8	5,3	-	2,2	4,2	-	6,5	8,7	-	5,2	5,1	-
l, см	12,5	11,6	0,6	12,6	11,2	0,3	11,2	9,1	1,3	10,0	8,8	-	9,6	9,8	-	10,9	10,1	-
h, см	139,5	120,3	3,4	114,5	106,0	4,3	110,0	86,4	10,7	87,2	70,7	-	99,3	87,1	8,05	84,2	64,6	11,1
l/h	0,089	0,097	0,004	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	0,1	0,2	-
ККК, шт.	21,8	19,6	0,7	23,2	20,5	0,9	21,5	18,7	0,9	18,5	18,2	-	19,1	19,5	-	20,4	18,9	1,0

Продовження таблиці 4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	19	17	18	19
ККК, шт.	0,7	0,6	-	0,5	0,1	-	0,9	1,6	-	0	0,9	0,3	1,8	1,0	0,4	0,7	0,3	-
КФК, шт.	21,1	19,0	0,7	22,6	20,3	1,0	20,6	17,1	1,5	18,5	17,3	-	17,3	18,5	-	19,7	18,6	-
ЗК, шт.	48,7	56,6	4,4	49,2	52,6	-	50,3	41,6	-	39,2	40,3	-	35,6	47,5	7,4	44,9	51,5	2,9
ЗП, шт.	318,6	371,5	-	320,3	406,9	-	257,4	152,4	-	43,2	92,5	-	128,4	226,3	50,7	142,6	158,5	-
ЗР, шт.	367,3	428,1	-	369,5	459,5	-	307,7	194,0	-	82,4	132,8	-	164,0	273,8	49,2	187,5	210	-
МЗК,г	1,5	2,2	0,3	2,2	2,3	-	1,8	1,7	-	1,3	1,6	-	1,0	1,8	0,3	1,7	1,9	-
МЗП, г	7,9	12,3	-	11,7	16,5	-	8,3	7,0	-	1,5	2,8	-	3,6	7,6	2,1	4,6	4,6	-
МЗР, г	9,4	14,5	-	13,9	18,8	3,2	10,1	8,7	-	2,8	4,4	-	4,6	9,4	2,1	6,3	6,5	-
МТЗК, г	30,0	39,5	4,1	43,8	42,6	-	35,3	41,6	3,1	32,6	38,6	-	29,9	37,2	2,7	37,0	36,1	-
МТЗП, г	24,1	33,2	2,7	37,0	39,9	0,5	32,3	43,5	6,6	17,6	31,4	-	27,7	33,8	2,8	31,6	29,4	-
МТЗР, г	25,3	34,1	2,8	37,9	40,7	1,1	32,9	43,5	5,3	31,1	33,1	-	28,0	34,5	2,5	32,9	31,1	-
D	16,8	16,0	-	17,7	17,3	-	18,4	19,5	-	17,6	19,4	-	18,8	19,1	-	17,9	17,8	-
ОК, шт./см	2,3	3,0	0,2	2,2	2,6	0,2	2,4	2,4	-	2,1	2,3	-	2,0	2,5	0,3	2,3	2,8	0,3

Примітка: * – кількість днів до колосіння, відлік з першого травня

Таблиця 4.2

Результати трьохфакторного дисперсійного аналізу варіації ознак майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів

Ознака	Джерело варіації, mS							
	«Генотип лінії за геном <i>Ppd-D1</i> » (df = 1)	«Генетичний фон» (df = 1)	«Рік» (df = 2)	Взаємодія «Генотип лінії за геном <i>Ppd-D1</i> » х «Генетичний фон» (df = 1)	Взаємодія «Рік» х «Генетичний фон» (df = 2)	Взаємодія «Генотип лінії за геном <i>Ppd-D1</i> » х «Рік» (df = 2)	Взаємодія «Генотип лінії за геном <i>Ppd-D1</i> » х «Генетичний фон» х «Рік» (df = 2)	Похибка (df = 24)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
ДК, діб*	300,4***	129,3***	658,5***	0,02	5,0*	19,8***	4,7*	1,2
ВР, см	2971,7***	3342,7***	5224,7***	24,2	3,7	38,7	77,6	51,3
ПК, шт	1,0	39,9***	96,6***	5,7	6,5	1,2	9,4*	2,7
<i>l</i> , см	9,1***	0	16,8***	0	1,8**	1,3*	0,7	0,3
<i>h</i> , см	2481,1***	3327,8***	4665,4***	26,5	0,5	30,4	69,2	49,8
<i>l/h</i>	0,001*	0,005***	0,002***	0	0,0006*	0	0	0
ККК, шт.	21,0***	0,1	15,1***	0	6,6***	2,9**	3,7**	0,4
КСК, шт.	0	4,1***	0,5**	0	0,2	1,4***	0,1	0,1

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
КФК, шт.	20,1***	3,0*	21,0***	0	5,2**	5,4**	4,2**	0,6
ЗК, шт.	122,6*	1,6	262,2***	0	128,6**	135,0**	55,0	16,2
ЗП, шт.	9765,0	21128,0*	169002,0***	2814,0	19219,0*	8426,0	10464,0	3353,0
ЗР, шт.	12077,0	21503,0*	182510,0***	2817,0	21086,0**	10534,0	11877,0*	3345,0
МЗК,г	1,0***	0,2	0,8***	0,2	0,5**	0,1	0,2	0,1
МЗП, г	44,2*	5,8	202,8***	0,2	67,9***	15,7	8,7	5,7
МЗР, г	58,7**	3,9	228,9***	0,8	78,3***	18,0	11,0	5,8
МТЗК, г	182,6**	73,6*	45,8	92,7*	95,6**	6,9	21,6	14,2
МТЗП, г	417,6**	15,1	28,8	34,9	407,6***	85,1	25,7	38,1
МТЗР, г	208,7***	18,1	43,1*	130,7**	186,2***	14,1	1,6	9,7
D	1,1	0,1	10,6***	0,2	3,9*	3,2*	0,2	0,9
ОК, шт./см	1,4***	0	0	0	0,2*	0,2*	0	0

Примітка. Достовірно при * $P = 0,05$, ** $P = 0,01$, *** $P = 0,001$; достовірність впливу фактора «генотип лінії за геном *Rpd-D1*» визначена за F-критерієм Фішера

За використання майже-ізогенних ліній Кооператорка та Кооператорка рання та ліній-аналогів Степняк 1 та Степняк 1 ранній визначено, що алель *Ppd-D1a* на генфоні сортів Кооператорка та Степняк в умовах Півдня України достовірно прискорює ДК, в середньому, на 5,8 діб (табл. 4.3).

Отримані нами результати дещо перевищують дані Файта та ін. [187], Мокану та ін. [153], згідно з якими на генетичному фоні рекомбінантно-заміщених по хромосомі 2D ліній сорту Сіано 67 та рекомбінантно-інбредних ліній F₅ Одеська 16/Безоста 1, які були вирощені в СГІ – НЦНС, алель *Ppd-D1a* обумовлював скорочення періоду до колосіння на 3 доби. При цьому ефект на ДК домінантного алеля *Ppd-D1a* в умовах Південного Степу України виявився меншим, ніж в умовах центрального і південно-західного регіонів Японії: так, за результатами Matsuyama et al. [60] близько ізогенні лінії з алелем *Ppd-D1a*, виколошувалися в середньому на 8 днів раніше, ніж лінії з рецесивним алелем *Ppd-D1b*.

Також виявлено, що домінантний алель *Ppd-D1a* скорочує ВР на 17,6 см (табл. 4.3). Наші спостереження підтверджуються даними літератури. Так, в дослідженнях Worland et al. [111] і Matsuyama et al., [60] показано, що ген *Ppd-D1a* зменшує висоту рослин на 10 см за рахунок скорочення вегетації на тиждень. Відповідно до результатів Чеботар та ін., [14] в умовах м. Одеси на генетичному фоні сортів Одеська 3 і Одеська 16 привнесення алеля *Ppd-D1a* від Безостої 1 знижувало ВР в середньому на 3,8 см, а згідно з даними Мокану та ін., [153], наявність алеля *Ppd-D1a* призводить до зниження висоти рослин на 4 см.

В процесі польових спостережень отримані дані щодо впливу алеля *Ppd-D1a* на темпи росту рослин. Так, одразу після цвітіння, висота рослин ліній з алелем *Ppd-D1a* Кооператорка рання та Степняк 1 ранній була достовірно вища на 19,9 і 16,5 см, відповідно, ніж їх рекурентних батьків з алелем *Ppd-D1b*.

Таблиця 4.3

**Ефекти алеля *Ppd-D1a* на агрономічні ознаки за 2016, 2018 та 2019 рр на генфоні сортів
Кооператорка і Степняк**

Ознака	Ефект алеля <i>Ppd-D1a</i>	Ознака	Ефект алеля <i>Ppd-D1a</i>
Тривалість періоду до колосіння, діб ¹	-5,8***	Кількість зерен з підгонів, шт	+33,0
Висота рослини, см	-17,6***	Кількість зерен з рослини, шт	+36,7
Продуктивне кущіння, шт	+0,4	Маса зерна у колосі, г	+0,3***
Довжина колоса, см	-1,0***	Маса зерен з підгонів, г	+2,2*
Довжина стебла, см	-16,6***	Маса зерен з рослини, г	+2,5**
Відношення довжина колоса до довжини стебла	0,01*	Маса тисячі зерен у колосі, г	+4,5**
Кількість колосків у колосі, шт.	-1,5***	Маса тисячі зерен з підгонів, г	+6,8**
Кількість стерильних колосків у колосі, шт.	0	Маса тисячі зерен з рослини, г	+4,8***
Кількість фертильних колосків у колосі, шт.	-1,5***	Щільність колоса	+0,4
Кількість зерен у колосі, шт	+3,7*	Озерненість колоса	+0,4***

Примітка. Достовірно при * P = 0,05, ** P = 0,01, ***P = 0,001; достовірність впливу фактора «генотип лінії за геном *Ppd-D1*» визначена за F-критерієм Фішера, ¹ – кількість днів до колосіння, починаючи відлік з першого травня

А під час збору врожаю висота рослин, в генотипі яких був присутній алель *Ppd-D1a*, була вже нижча в середньому на 20,1 см на генетичному фоні сорту Кооператорка та на 9,9 см на генетичному фоні сорту Степняк. Відмічено, що ріст ранньостиглих ліній майже зупинився після цвітіння, що свідчить про менший вплив на них несприятливих умов навколишнього середовища, наприклад посух, які досить часто спостерігаються в кінці травня та на початку червня на Півдні України.

Крім того, за результатами наших досліджень під впливом домінантного алеля *Ppd-D1a* зменшується *l* на 1 см, *h* на 16,6 см, зменшується ККК та КФК на 1,5 шт., збільшується ЗК на 3,7 шт., МЗК на 0,3 г, МЗП на 2,2 г, МЗР на 2,5 г, МТЗК на 4,5 г, МТЗП на 6,8 г, МТЗР на 4,8 г, збільшується ОК та D на 0,4 шт. Згідно з даними літератури, лінії пшениці, вирощені в умовах північно-східної частини Англії, що несуть у своєму генотипі ген *Ppd-D1a*, мали меншу ККК [109, 110] і, на відміну від наших результатів, МЗК [Foulkes, 2004], але більше ЗК [110, 31]. На думку Foulkes et al. [31], гени фотоперіодичної реакції нейтрально впливають на врожай зерна у вищевказаних умовах. Однак, в роботі Worland та Law [112] показано, що домінантні алелі генів *Ppd* зменшують урожай на 5-10 %; а Börner et al., [13] вважають, навпаки, що алелі, які контролюють нечутливість до фотоперіоду, підвищують урожай на 15-35 %. При цьому, як зазначено в роботі Файта та ін., [187] при вирощуванні в умовах Південного Степу України, алель *Ppd-D1a* у рекомбінантно-заміщених за хромосоною 2D лінії сорту Сіано 67 обумовлював зниження ККК на 0,7 шт., збільшення МЗР на 0,6 г, МТЗ на 1,9 г, відзначали тенденції до збільшення показників ознак ПК, ЗР, МЗК у лінії з *Ppd-D1a*, а до збільшення ЗК у лінії з *Ppd-D1b*. Отримані авторами дані відрізняються від наших показників і це може бути пов'язано з тим, що вплив генів фотоперіодичної чутливості на врожайність, ймовірно, різний, в залежності від місця або методу вирощування. Подібні висновки зробили Matsuyama et al. [60], які у своєму дослідженні використовували в якості матеріалу майже-ізогенні лінії, які були створені на генетичному фоні

японських скоростиглих сортів пшениці. Авторами було показано, що алель *Ppd-D1a* тільки незначною мірою зменшує вагу зерна.

Алель *Ppd-D1a* є зчепленим з алелем *Rht8c* і знаходиться на відстані 21,95 сМ [194]. Ці гени можуть епістатично взаємодіяти між собою, що призводить до модифікації їхніх ефектів [73]. За результатами трьохфакторного дисперсійного аналізу, ефекти алеля *Rht8c*, який присутній у генотипі лінії Степняк 1 ранній, могли проявитися тільки на тих агрономічних ознаках, на варіацію яких достовірно впливала взаємодія «генотип лінії за геном *Ppd-D1*» х «генофон». Такими ознаками є МТЗК і МТЗР і відносно них дія алеля *Rht8c* може спотворювати вплив алеля *Ppd-D1a*. Так, за даними Чеботар та ін., [14], наявність алелів *Ppd-D1a* та *Rht8c* в генотипі чистої лінії Степняк 3, яка була виділена за допомогою маркер-контрольованої селекції з гетерогенного за морфологічними ознаками сорту Степняк, сприяла вірогідному зниженню ВР на 6 см порівняно з лінією Степняк 1, яка є носієм алелів *Ppd-D1b* та *Rht8a*. Також у ліній, які одночасно відрізнялися алелями генів *Ppd-D1* та *Rht8*, комплекс алелів *Rht8c+Ppd-D1a* зменшував ВР в середньому на 16 % [14], збільшував МТЗ на 15 % [15]. Тому на даному етапі роботи у зв'язку з неможливістю розмежування ефектів алелів *Ppd-D1a* та *Rht8c* на лініях, створених на генетичному фоні сорту Степняк, ми змогли з'ясувати відокремлений вплив алеля *Ppd-D1a* на вказану вище низку ознак тільки на генофоні сорту Кооператорка: алель *Ppd-D1a* збільшує МТЗР на 8,7 г, а МТЗК на 7,7 г.

4.4. Результати оцінки ролі ознак в дискримінації різних *Ppd-D1* генотипів на різних генетичних фонах

Між ознаками, на які впливає алель *Ppd-D1a*, іноді існують небажані кореляції, які можуть проявлятися по різному [192], тому для визначення зв'язків між ознаками та характеристик, які найкраще всього розділяють генотипи між собою, застосовували дискримінантний аналіз. Переваги цього виду статистичного аналізу в тому, що він дозволяє виявляти об'єктивні

міжгрупові відмінності за рахунок штучної мінімізації внутрішньогрупової мінливості внаслідок скорочення вихідного комплексу ознак за рахунок виключення малоінформативних змінних. Через неможливість включення до дискримінантних комплексів варіювання похідних ознак, що обчислюються з інших як математичні лінійні функції, в аналіз були залучені лише 11 з 21 досліджених ознак (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Результати оцінки ролі ознак в дискримінації різних *Ppd-D1* генотипів на різних генетичних фонах у 2016 році

Генетичний фон	Ознака	Часткова λ Уїлкса	F	R ²	Корінь 1 дискримінантної функції b
Кооператорка	ДК	0,76	13,22***	0,29	-0,53
	ВР1	0,89	5,14*	0,61	0,17
	ВР2	0,52	38,13***	0,68	-0,26
	ПК	0,82	8,73**	0,93	-0,02
	<i>l</i>	0,95	1,93	0,65	-0,09
	ККК	0,79	11,08***	0,44	-0,21
	ЗК	0,96	1,75	0,62	0,12
	МЗК	0,97	1,29	0,53	0,21
	ЗП	0,92	3,46	0,98	0,03
	МЗП	0,99	0,3	0,96	0,09
Степняк	ДК	0,63	17,81***	0,27	-0,66
	ВР1	0,95	1,54	0,65	0,22
	ВР2	0,79	8,05**	0,54	-0,18
	<i>l</i>	0,7	13,25***	0,52	-0,228
	ККК	0,74	11,06**	0,6	0,078
	ККК	0,92	2,52	0,5	-0,1782

Примітка: достовірно при * P = 0,05, ** P = 0,01, ***P = 0,001; достовірність визначена за F-критерієм

На обох генетичних фонах чітко розрізнялися генотипи з алелями *Ppd-D1a* та *Ppd-D1b*. У моделюванні на генетичному фоні сорту Кооператорка

квадрат відстані Махаланобіса між центроїдами груп – генотипів був значним та складав 108,4. До моделі увійшли усі обрані ознаки, крім КФК, але статистично достовірний внесок мали лише ВР2, ДК, ККК, ПК та ВР1 (табл. 4.4), тобто алель *Ppd-D1a* на генофоні сорту Кооператорка прискорює строки колосіння, темпи росту до початку цвітіння, зменшує висоту рослин, продуктивне кушіння та кількість колосків у колосі (табл. 4.3). На генофоні сорту Степняк до моделі було включено 6 з 11 ознак, що сформували одну дискримінантну функцію. Значущий внесок мали ДК, ВР2, *l*, ККК (табл. 4.4). Квадрат відстані Махаланобіса між центроїдами кореляційних плеяд *Ppd-D1a* та *Ppd-D1b* склав 59,35.

Найбільш значний вплив на розділення різних *Ppd-D1* генотипів між собою мали ознаки ДК та ВР2 на обох генофонах, але цікаво, що на генофоні сорту Кооператорка більший внесок мала висота рослин, а на генофоні сорту Степняк – тривалість періоду до колосіння.

Також визначали групу ознак, які мають найбільш значний внесок при розділенні між собою усіх досліджуваних ліній-аналогів (табл. 4.5). У модель увійшли всі 11 ознак, що пов'язано з тим, що оцінювалась спорідненість ліній, які відрізнялися не тільки *Ppd-D1* генотипами, але й генофонами, лише дві з ознак *l* та МЗК не мали достовірного внеску.

Діаграма розсіяння в просторі двох дискримінантних функцій демонструє чіткий розділ ліній за чотирма згущеннями, що відповідають різним чотирьом генотипам ліній-аналогів (рис. 4.3) на двох різних генофонах. Корінь 1 розрізняє лінії з різними алелями гена *Ppd-D1*, а корінь 2 демонструє розділення у просторі ліній, створених на різних генофонах. Генотипи усіх ліній розрізняються достовірно, перекривань немає, тому якість дискримінації є високою. Найбільш інформативними для розрізнення ліній виявилися ознаки ВР та ДК (табл.4.5), що узгоджується з даними Langer et al., [51], згідно яким різний алельний стан гена *Ppd-D1* обумовлює до 58% фенотипового різноманіття за тривалістю періоду до колосіння в наборі сортів озимої пшениці Європи.

Таблиця 4.5

**Результати оцінки ролі ознак в дискримінації різних *Ppd-D1*
генотипів на різних генетичних фонах у 2016 році**

Ознака	Часткова λ Уїлкса	F	R^2	Корені дискримінантної функції	
				Корінь 1	Корінь 2
Тривалість періоду до колосіння	0,48	27,57***	0,32	0,69	0,23
Висота рослини 1	0,82	5,64***	0,65	-0,24	-0,29
Висота рослини 2	0,34	48,75***	0,60	0,25	-0,53
Продуктивне кущіння	0,88	3,41*	0,91	0,01	-0,01
Довжина колоса	0,91	2,34	0,54	0,15	-0,06
Кількість колосків у колосі	0,84	4,81**	0,89	0,24	0,11
Кількість фертильних колосків у колосі	0,82	5,66***	0,91	0,21	0,15
Кількість зерен у колосі	0,85	4,31**	0,74	-0,12	-0,05
Маса зерна у колосі	0,94	1,71	0,60	-0,14	0,17
Кількість зерен з підгонів	0,75	8,42***	0,98	-0,04	0,03
Маса зерен з підгонів	0,63	14,78***	0,96	-0,08	0,14

Примітка. Достовірно при * $P = 0,05$, ** $P = 0,01$, *** $P = 0,001$;
достовірність визначена за F-критерієм

Наступними ознаками, які дискримінують означені сукупності, є ЗП, МЗП, КФК та ККК, найменш інформативні – ЗК та ПК. Перша дискримінантна функція сформована, головним чином ознаками ДК, ВР2, ККК, КФК, що позитивно корелюють між собою, та ВР1, яка негативно корелює з ВР2, а до другої дискримінантної функції увійшли перш за все ВР2, ВР1 та ДК, причому ВР1 та ВР2 негативно корелюють з ДК.

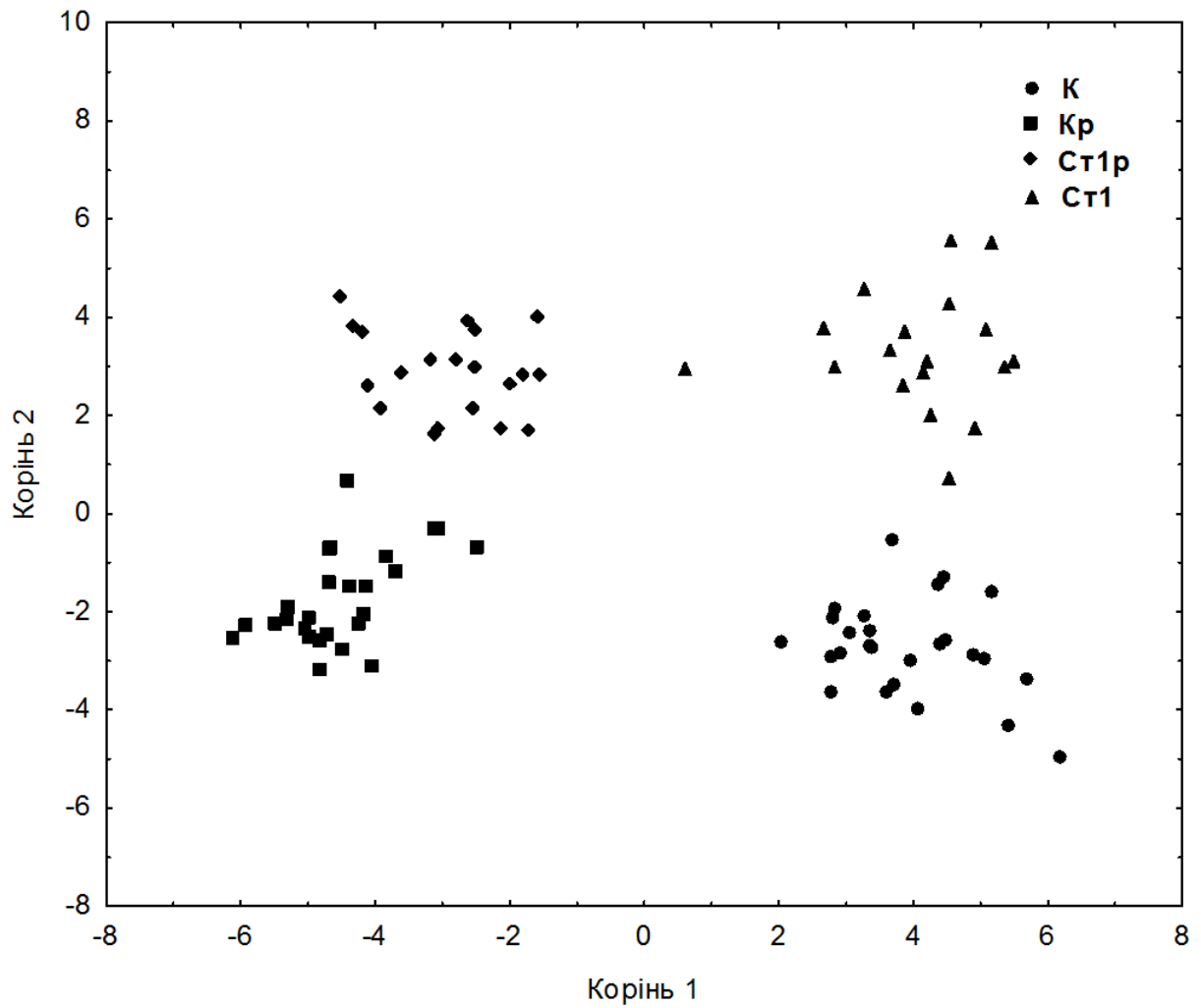


Рис. 4.3. Діаграма розсіяння в осях перших 2-х дискримінантних функцій генотипи окремих рослин майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів на генетичному фоні сортів Кооператорка і Степняк за алелями гена *Ppd-D1*; позначення: ● – Кооператорка, ■ – Кооператорка рання, ▲ – Степняк 1, ◆ – Степняк 1 ранній

Квадрат відстані Махаланобіса між центроїдами груп з різними *Ppd-D1* генотипами є більш значним, ніж між групами з однаковими алелями гена *Ppd-D1* (табл.4.6).

Таблиця 4.6

**Відстань між лініями, які різняться алелями
гена *Ppd-D1* на різних генетичних фонах**

Пара ліній	D ² Махаланобіса
Кооператорка – Кооператорка рання	72,8***
Степняк 1 – Степняк 1 ранній	50,1***
Кооператорка – Степняк 1	37,3***
Кооператорка рання – Степняк 1 ранній	25,2***

Примітка. Достовірно при ***P = 0,001

Таким чином, результати дисперсійного та дискримінантного аналізів підтверджують значний вплив алеля *Ppd-D1a* на агрономічно значущі ознаки м'якої пшениці, але у зв'язку з тим, що дисперсійний аналіз не враховує кореляції між ознаками, його висновки, на відміну від дискримінантного, є менш прецизійними. Тому відмінності між різними *Ppd-D1* генотипами за результатами дисперсійного аналізу були достовірними для більшої низки агрономічних ознак, ніж при використанні дискримінантних моделей.

4.5. Визначення фотоперіодичної чутливості майже-ізогенних ліній та ліній-аналогів пшениці

З метою оцінювання фотоперіодичної чутливості ліній-аналогів та майже ізогенних ліній на базі Миронівського інститут пшениці у 2019 році проведено дослід за загальноприйнятою методикою. Визначено, що різниця за тривалістю періода «сходи-колосіння» при вирощуванні на природному та скороченому фотоперіоді становила приблизно 5діб у ліній з домінантним алелем *Ppd-D1a*, та від 12 до 14 діб у ліній – носіїв рецесивного алелю *Ppd-D1b* (табл.4.7). Слід відмітити, що у ліній з рецесивними алелями при

вирощуванні на скороченому фотоперіоді спостерігали значну затримку вегетації: частка рослин залишалась в фазі вихода в трубку, а у лінії Кооператорка –навіть в фазі кушіння.

Таблиця 4.7

Фотоперіодична чутливість ліній-аналогів пшениці

Лінія	Алелі гену <i>Ppd-D1</i>	Кількість діб до колосіння		Затримка колосіння, діб	t	Чутливість до фотоперіоду
		ПФ	СФ			
Кооператорка	<i>b</i>	50,7	64,9	14,2**	6,5	Сильна
Кооператорка рання	<i>a</i>	47,7	52,3	4,6**	4,8	Слабка
Степняк 1	<i>b</i>	57,9	69,6	11,7**	10,5	Сильна
Степняк 1 ранній	<i>a</i>	55,8	61,6	5,8**	3,5	Слабка

Примітка: ПФ – природний фотоперіод; СФ – скорочений фотоперіод; t – критерій Стюдента; ** – рівень значимості різниць = 0,01

У аналогічному досліді стосовно сортів МПП, результати якого були викладені у роботі, затримка виголошування при вирощуванні за скороченого фотоперіоду становила від 3 до 8,6 діб у сортів з доміантним алелем *Ppd-D1a* та від 12,8 до 23,4 діб у сортів з рецесивним генотипом. Така значна різниця між сортами з однаковим *Ppd-1* генотипом обумовлена впливом інших генетичних систем, зокрема яровизаційною потребою тривалістю 30 діб та 50 діб [132] на фотоперіодичну чутливість.

Таким чином, фотоперіодична індукція штучно скороченим фотоперіодом (12 год) гальмує онтогенетичний розвиток рослин пшениці,

при цьому алель *Ppd-D1a* незалежно від генотипу детермінує нейтральну реакцію на фотоперіод.

Результати досліджень, описані у Розділі 4, опубліковані в наступних статтях та тезах:

1. Bakuma A. O., Popovych Yu. A., Motsnyi I. I., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Effects of the *Ppd-D1a* Allele on Growth Rates and Agronomical Traits in Wheat Detected by the Application of Analogous Lines, *Cytol Genet.*, 2018, vol. 52, no. 5, pp. 343–352.

2. Bakuma A. O., Motsnyi I. I., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Effects of the *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* alleles on agronomical traits of winter wheat in south Ukraine steppe region. Proceedings of the 17th International EWAC. EUCARPIA Int. Conf. Bucharest (Romania), 3–8 June 2018, pp. 77–82.

3. Бакума А. О., Попович Ю. А., Моцний І. І., Чеботар Г. О., Чеботар С. В. Створення майже ізогенних ліній пшениці, що різняться алелем *Ppd-D1a* – нечутливості до фотоперіоду. Новітні агротехнології: теорія та практика. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 95-річчю ІБКіЦБ НААН. Київ, 2017. С. 176–177.

4. Бакума А. О., Попович Ю. А., Моцний І. І., Чеботар Г. О., Чеботар С. В. Вплив алелю *Ppd-D1a* на швидкість вегетації та агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням ранньостиглих ліній-аналогів. Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса, 2017. С. 17–19.

5. Бакума А. О., Моцний І. І., Чеботар С. В. Вплив алеля *Ppd-D1a* на агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням ліній-аналогів. Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції. Херсон, 2016. С. 16–17.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

З використанням діагностичних молекулярних маркерів для визначення алелів локусів *Ppd-1* і гаплотипного складу за геном *Ppd-D1*, що впливають на фотоперіодичну реакцію пшениці м'якої озимої, ми охарактеризували набір генотипів озимої пшениці, створених для вирощування у Поліссі, Лісостепу та Степу України. Локуси *Ppd-A1* та *Ppd-B1* виявилися неполіморфними (ампліфіковані фрагменти 299 п. н. та 1292 п. н., відповідно). В генотипах досліджених сортів наявні рецесивні алелі за цими локусами.

Для визначення алельних характеристик за генами *Ppd-1* сортів пшениці м'якої озимої Лісостепу України вивчали сорти МІП – 29 шт., БДСС – 16 шт., ПДАА – 15 шт., ННЦ «Інститут землеробства» НААН України – 2 шт. та агрофірми ТОВ «Сади України» – 3 шт.. За нашими результатами в сортах пшениці м'якої озимої зазначеної зони співвідношення алелів *Ppd-D1a* та *Ppd-D1b* становило 91 % та 9 %, відповідно. Сорти Берегиня миронівська, Зимоярка, Миронівська золотоверха, Миронівська сторічна, Миронівська слава та Легенда білоцерківська мали в генотипі рецесивний алель *Ppd-D1b*, інші сорти були носіями домінантного алелю *Ppd-D1a*. При дослідженні сортів за гаплотипним складом гену *Ppd-D1* сорти створені в Лісостеповій зоні виявилися найбільш поліморфними. Серед сортів пшениці, створених у вище вказаних селекційних центрах, зустрічаються гаплотипи VII (91 %), III (5 %), IV (3 %) та II (1 %). Співставлення даних молекулярно-генетичного аналізу з результатами дослідження по вивченню фотоперіодичної чутливості низки сортів пшениці МІП показало, що сорти з домінантним алелем *Ppd-D1a* в генотипі виявляли слабку та середню чутливість до фотоперіоду: затримка виколошування при вирощуванні за штучно скороченого фотоперіоду (12 год) становила від 3 до 8,6 діб, а сорти з рецесивним генотипом мали сильну реакцію на скорочення довжини дня – від 12,8 діб

затримки виколошування – у сорту Миронівська сторічна – до 23,4 діб – у сорту Зимоярка.

Для визначення алелів генів *Ppd-1* у рослин пшениці Степової зони України було проаналізовано 19 сортів пшениці м'якої озимої, створених у селекційних центрах Півдня України (ІЗЗ та ТОВ «Дріада, Лтд» (м. Херсон), СГІ – НЦНС та Одеському інституті агропромислового виробництва НААН України (м. Одеса), у НВА «Землеробець» (Миколаївська обл.), один сорт альтернативного типу розвитку (дворучка) та 7 сортів Північно-Східного регіону з різних селекційних установ. Сорт Співанка, створений селекціонерами Дніпровського державного аграрно-економічного університету, був гетерогенним за геном *Ppd-D1*, тобто виявили алелі *Ppd-D1b* та *Ppd-D1a* у вибірці зерна цього сорту. Всі інші досліджені сорти зони Степу були носіями домінантного алелю *Ppd-D1a*. Згідно класифікації, запропонованої Guo et al. [37] та Chen et al. [16], досліджені сорти за поєднанням мутацій у нуклеотидній послідовності гена *Ppd-D1* нами віднесено до гаплотипу VII. Гетерогенний за локусом *Ppd-D1* сорт Співанка має гаплотип III/VII.

В генотипі сорту Антонівка (СГІ – НЦНС) визначено три копії гену *Ppd-V1* типу Sonora 64.

Статистичний аналіз даних польових спостережень, в ході яких впродовж трьох років відмічали дати колосіння та цвітіння досліджених сортів ІЗЗ, показав відсутність достовірної різниці за цими показниками між сортами, тобто фенотиповий прояв чутливості до фотоперіоду загалом узгоджується з результатами молекулярно-генетичного аналізу генотипів.

Селекційний матеріал пшениці м'якої озимої Полісько-Лісостепової зони України, який аналізувався в роботі, був представлений сортами та лініями, створеними в Носівській селекційно дослідній станції. Ці зразки відрізняються високою адаптивною здатністю до умов вирощування в перехідній зоні [157]. Визначено, що сорт Ювівата 60 має рецесивний генотип *Ppd-1* та належить до III гаплотипу за комбінацією мутацій у

структурі *Ppd-D1* гену. Лінія Л41/95 виявилася гетерогенною за алелями гена *Ppd-D1*, що відповідало наявності гаплотипів III і VII. Усі інші досліджені зразки характеризувалися алелями *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b* та *Ppd-D1a* та належали до гаплотипу VII.

Найбільш раннє виколошування в умовах Лісостепу та Полісся-Лісостепу України було характерне для сорту Донська напівкарликова, найбільш пізнє – для сортів Ювівата 60, Миронівська 61 та лінії Л 41/95. Різниця між зазначеними групами була достовірною – в середньому 10 діб. Але за врожайністю досліджені лінії між собою різнилися в межах похибки. В умовах Лісостепу цвітіння та колосіння відбувалося приблизно на 2 доби раніше, ніж в умовах перехідної зони Полісся-Лісостеп. За даними двохфакторного дисперсійного аналізу фактори «Лінія» та «Зона вирощування» достовірно впливали на ДК та ДЦ, однак не на врожайність.

В зазначених екотипах, так само як і на території всієї України переважають сорти з *Ppd-D1a* алелем. При вирощуванні в зонах Лісостепу та Полісся-Лісостепу спостерігаються однакові тенденції щодо більш раннього колосіння та цвітіння сортів та ліній зі зменшеною чутливістю до фотоперіоду.

Світові дослідження алельного стану генів системи *Ppd-1* показали, що сорти озимої пшениці, що вирощуються в північних регіонах, зазвичай несуть алелі, що детермінують чутливість до фотоперіоду, з більш високою частотою. Навпаки, в генотипах сортів, які створені на півдні, набагато частіше зустрічаються домінантні алелі, які обумовлюють слабку реакцію на зміну тривалості світлового дня [103].

У більшості регіонів вирощування пшениці близько 36 % річних коливань врожайності зерна можна пояснити змінами клімату [79]. За даними Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України середня річна температура з початку ХХ століття зросла більш ніж на 2 °С, в тому числі на 1,2°С – за останні 30 років [122]. У південних районах Херсонської, Миколаївської, Одеської та Запорізької областей (Степ України) з'явилася

термічна зона із сумою температур більше 3400-3700 °С. При цьому відмічається, що у період 2010-2019 років теплозабезпечення Вінницької, Полтавської, Харківської, Кіровоградської областей (Лісостеп) було таким самим, як Херсонської області в попереднє десятиріччя. Тобто, області Північного Степу і Південного Лісостепу України наразі вже мають умови Південного Степу [122].

У зв'язку з цим цілком закономірна настільки висока частота зустрічальності домінантного алеля *Ppd-D1a*, який в найбільш значній мірі, в порівнянні з домінантними алелями інших локусів, обумовлює ослаблення реакції на фотоперіод, в сучасних українських сортах озимої пшениці, та викликає раннє колосіння і цвітіння рослин пшениці, що дозволяє уникнути стресу посухи і тим самим мінімізувати втрати врожаю.

Результати наших досліджень показали, що підібрані вітчизняними селекціонерами комбінації алелів генів фотоперіодичної чутливості *Ppd-1* дозволили створити сорти пшениці з оптимальною для конкретної зони вирощування врожайністю і відкоригувати фенологію культури з урахуванням кліматичних змін.

На Півдні Європи, в Азії, і Північній Африці введення нечутливих до фотоперіоду алелів генів *Ppd-1* в сорти озимої пшениці привело до посилення адаптації та підвищення потенціалу врожайності [72]. Зокрема було показано, що у Південній Європі сорти з раннім колосінням забезпечували збільшення врожайності на 33 % у порівнянні з сортами, чутливими до фотоперіоду [108, 110]. Таким чином, час колосіння і цвітіння є одним з вирішальних чинників в адаптації пшениці до прогнозованих змін клімату. Варто відзначити, що майбутні потреби в адаптації слід прогнозувати заздалегідь, враховуючи значний часовий лаг в селекції при впровадженні нових сортів у виробництво. Hammer et al. [38] підраховали, що адаптаційні вимоги слід розглядати як мінімум за 10 років до впровадження сорту у виробництво.

Отже, використання визначених в роботі даних щодо алельного стану генів фотоперіодичної реакції *Ppd-1* в генотипах сучасних українських сортів пшениці м'якої озимої дозволить селекціонерам країни заздалегідь та раціонально проводити відбір батьківських форм для отримання нових сортів з прогнозованими темпами розвитку.

В процесі вивчення нами та вітчизняними дослідниками Балашовою і Файтом [126, 127, 128, 182, 189] алельного стану генів системи *Ppd-1* в генотипах сучасних українських сортів пшениці м'якої озимої визначено, що найбільш поліморфним серед трьох локусів, що контролюють реакцію на фотоперіод, виявився локус *Ppd-D1*. При цьому алель *Ppd-D1a* є найбільш поширеним в сучасних українських сортах та зустрічався з частотою більше 90 %. У зв'язку з цим в роботі вивчали вплив *Ppd-D1a* алеля на майже-ізогенних лініях пшениці ВС₇ Кооператорка та Кооператорка рання та лініях-аналогах ВС₇ Степняк 1 та Степняк 1 ранній, створених на основі добре адаптованих до умов Півдня України сортів степового екотипу Кооператорка та Степняк. Зокрема, здійснено аналіз ефектів алеля *Ppd-D1a* на тривалість розвитку і висоту рослин пшениці, на врожайність і компоненти врожаю пшениці в умовах Півдня України у трирічний період. Також оцінено взаємодію генотипу лінії, генофона і враховано умови року при вирощуванні ліній на полях СГІ – НЦНС та вивчено вплив алелів гена *Ppd-D1* на фотоперіодичну чутливість в умовах Лісостепової зони України.

За допомогою молекулярно-генетичного аналізу (RAPD, IPBS, SSR, алель-специфічної ПЛР) та з урахуванням схем схрещування та доборів доведено, що лінії Кооператорка – Кооператорка рання є майже-ізогенними, які відрізняються алелями *Ppd-D1b* та *Ppd-D1a*, а лінії Степняк 1 – Степняк 1 ранній – лініями-аналогами і відрізняються алелями *Ppd-D1b* / *Ppd-D1a* й *Rht8a* / *Rht8c*. Ранньостиглі лінії (Кооператорка рання та Степняк 1 ранній) віднесені до гаплотипу VII (алель *Ppd-D1a*), лінії Кооператорка та Степняк 1 з рецесивним генотипом *Ppd-D1* – до гаплотипу III.

За результатами RAPD-аналізу та IPBS-аналізу, лінії, створені на основі сорту Кооператорка, відрізнялися від ліній, створених на основі сорту Степняк, за 18 локусами з 79.

На матеріалі з двох пар ліній – майже-ізогенних Кооператорка та Кооператорка рання і ліній-аналогів Степняк 1 та Степняк 1 ранній – визначено, що наявність в генотипі алелю *Ppd-D1a* на генфоні сортів Кооператорка та Степняк в умовах Півдня України достовірно прискорює ДК, в середньому, на 5,8 діб та скорочує ВР на 17,6 см, Крім того, за результатами наших досліджень під впливом домінантного алеля *Ppd-D1a* зменшується І на 1 см, h на 16,6 см, зменшується ККК та КФК на 1,5 шт., збільшується ЗК на 3,7 шт., МЗК на 0,3 г, МЗП на 2,2 г, МЗР на 2,5 г, МТЗП на 6,8 г, збільшується ОК та D на 0,4 шт.

У зв'язку з тим, що в генотипі лінії Степняк 1 ранній визначено алель *Rht8c*, який є зчепленим з алелем *Ppd-D1a* і також може впливати на агрономічні ознаки [194], ми за результатами трьохфакторного дисперсійного аналізу визначали ознаки, на варіацію яких достовірно впливала взаємодія «генотип лінії за геном *Ppd-D1*» x «генотип» і на яких відповідно могли проявитися ефекти алеля *Rht8c*. Такими ознаками були МТЗК і МТЗР. На даному етапі роботи у зв'язку з недосяжністю розмежування ефектів алелів *Ppd-D1a* та *Rht8c* на лініях, створених на генетичному фоні сорту Степняк, ми змогли з'ясувати відокремлений вплив алеля *Ppd-D1a* на вказану вище низку ознак тільки на генфоні сорту Кооператорка: алель *Ppd-D1a* збільшує МТЗР на 8,7 г, а МТЗК на 7,7 г.

Дискримінантний аналіз дозволив виявити статистично доведені відмінності між показниками агрономічних ознак у ліній з домінантним та рецесивним генотипом за геном *Ppd-D1*. Визначено, що на обох генетичних фонах чітко розрізнялися генотипи з алелями *Ppd-D1a* та *Ppd-D1b*. Перша дискримінантна функція була сформована ознаками ДК, ВР, ККК, КФК, що позитивно корелювали між собою, а до другої дискримінантної функції увійшли перш за все ВР та ДК, причому ВР негативно корелювала з ДК. У

моделюванні на генетичному фоні сорту Кооператорка статистично достовірний внесок мали лише ВР2, ДК, ККК, ПК та ВР1, на генофоні сорту Степняк значущий внесок мали ДК, ВР2, *l* та ККК. При цьому на обох генофонах найбільш значний вплив на розділення різних *Ppd-D1* генотипів між собою мали ознаки дата колосіння та висота рослин.

Таким чином, результати дисперсійного та дискримінантного аналізів підтверджують значний вплив алеля *Ppd-D1a* на агрономічно значущі ознаки м'якої пшениці. Відмінності між різними *Ppd-D1* генотипами за результатами дисперсійного аналізу були достовірними для більшого числа агрономічних ознак, ніж при використанні дискримінантних моделей у зв'язку з тим, що дисперсійний аналіз не враховує кореляції між ознаками.

Оцінювання фотоперіодичної чутливості ліній-аналогів та майже-ізогенних ліній було здійснено в умовах Лісостепу України. Визначено, що різниця за тривалістю періода «сходи-колосіння» при вирощуванні на природному та скороченому фотоперіоді становила в середньому 5 діб у ліній з домінантним алелем *Ppd-D1a*, та від 12 до 14 діб у ліній – носіїв рецесивного алелю *Ppd-D1b*. При цьому в аналогічному досліді з використанням сортів Миронівського інституту пшениці затримка виколошування при вирощуванні за скороченого фотоперіоду становила від 3 до 8,6 діб у сортів з домінантним алелем *Ppd-D1a* та від 12,8 до 23,4 діб у сортів з рецесивним генотипом. Вважаємо, що збільшення різниці між сортами з однаковим *Ppd-1* генотипом обумовлено впливом інших генів, зокрема тих, що контролюють яровизаційну потребу, на тривалість періоду до колосіння.

Проведені дослідження наочно продемонстрували цінність використання різних алельних варіантів ключових фенологічних генів фотоперіодичної чутливості *Ppd-1* відчизняними та закордонними селекціонерами в маркерній генетично опосередкованій селекції, що може сприяти забезпеченню високого урожаю пшениці м'якої озимої з більшою стабільністю в контрастних умовах навколишнього середовища за рахунок

прогнозування темпів розвитку рослин пшениці. Також генотипи з алелем *Ppd-D1a* можна використовувати в якості батьківських форм для створення генотипів пшениці м'якої озимої з метою компенсації деякого негативного впливу загалом корисних для поліпшення агрономічних характеристик пшениці генів інших генетичних систем, що дозволить застосовувати ці гени в селекції.

Кліматичні зміни за самою своєю природою означатимуть більш значні коливання навколишнього середовища з року в рік, тому для отримання стабільного урожаю набуватиме ще більшого значення надання допомоги селекціонерам в створенні сортів пшениці, які максимізують продуктивність в різноманітних кліматичних умовах.

ВИСНОВКИ

В результаті молекулярно-генетичного аналізу визначено алельні характеристики за системою генів фотоперіодичної чутливості *Ppd-1* генотипів сучасних сортів та ліній *T. Aestivum* L., створених у провідних селекційних центрах України, та з'ясовано вплив алелів *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* на темпи вегетації та агрономічні ознаки рослин пшениці в умовах Півдня України, на період «сходи-колосіння» на довгому та на короткому дні в умовах Лісостепу України.

1. Визначено генотипи 94 сучасних сортів пшениці м'якої озимої за генами *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1*. За геном *Ppd-A1* не виявлено поліморфізму, усі досліджені сорти є носіями алелю *Ppd-A1b*, що детермінує чутливість до фотоперіоду. За локусом *Ppd-B1* всі досліджені сорти є носіями алелю *Ppd-B1b*, який визначається відсутністю інсерції 308 п. н. в промоторному регіоні, а у генотипі сорта Антонівка детектовано наявність трьох копій цього гена по типу Sonora 64. За геном *Ppd-D1* спостерігали поліморфізм: співвідношення генотипів з домінантним, рецесивним алелями і гетерогенних становило 90 %, 8 % і 2 %, відповідно.

2. Більшість досліджених сучасних українських сортів пшениці м'якої озимої (85) відноситься до гаплотипу VII за гаплотипним складом гена *Ppd-D1*. До гаплотипів II віднесено сорт Зимоярка, III – Миронівська сторічна, Миронівська золотоверха, Берегиня миронівська, Ювівата 60, IV – Миронівська слава та Легенда білоцерківська; III/VII – Співанка, лінія Л41/95.

3. Сорти пшениці м'якої озимої з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* проявляють сильну реакцію на скорочення довжини дня, затримка виколошування триває від 12,8 до 23,4 діб. У сортів з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1a* затримка виколошування при вирощуванні за скороченого фотоперіоду варіює від 3 до 8,6 діб, тобто ці сорти виявляють слабку та середню чутливість до фотоперіоду.

В зонах Полісся, Лісостепу і Степу України поширені сорти пшениці м'якої озимої з алелем *Ppd-D1a* (для них характерна наявність делеції 2089 п.н. перед кодуєчим регіоном), вони віднесені до VII гаплотипу. Саме такі сорти пшениці складають 91 % від усіх досліджених. Найбільш поліморфними за гаплотипним складом гену *Ppd-D1* виявились генотипи сортів Лісостепової зони: детектовано VII (91 %), III (5 %), IV (3 %) та II (1 %) гаплотипи.

4. Встановлено, що лінії Кооператорка - Кооператорка рання є майже-ізогенними і відрізняються алелями *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b*, лінії Степняк 1 та Степняк 1 ранній є лініями-аналогами та відрізняються алелями *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* та *Rht8c* / *Rht8a*.

5. На близько-ізогенних лініях Кооператорка - Кооператорка рання та лініях-аналогах Степняк 1 та Степняк 1 ранній показано, що в умовах Півдня України алель *Ppd-D1a*, незалежно від генофону, достовірно прискорює тривалість періоду до колосіння на 5,8 діб, скорочує висоту рослин на 17,6 см, зменшує довжину колоса на 1 см, збільшує кількість зерен у колосі на 3,7 шт., масу зерен з рослини на 2,5 г.

6. На генетичних фонах сортів Кооператорка та Степняк виявлено, що серед одинадцяти агрономічних ознак, які увійшли в дискримінантну модель варіювання, ознаки тривалість періоду до колосіння та висота рослин краще за все розмежовують *Ppd-D1* генотипи між собою.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Al-Otayk S. M. Performance of Yield and Stability of Wheat Genotypes under High Stress Environments of the Central Region of Saudi Arabia. *JKAU: Met., Env. & Arid Land Agric. Sci.* 2010. Vol. 21(1). P. 81–92.
2. Appendino M. L., Slafer G. A. *Earliness per se* and its dependence upon temperature in diploid wheat lines differing in the major gene *Eps-Am 1* alleles. *J. Agric. Sci.* 2003. Vol. 141. P. 149–154.
3. Avksentyeva O. A., Petrenko V. A., Tichenko A. A., Zhmurko V. V. Callus initiation and morphogenesis in vitro culture of isogenetic on gene type and rate of development in winter wheat lines. *Annual Wheat Newsletter.* 2008. Vol. 54. P. 50–152.
4. Bassam B. J., Gresshoff P. M. Silver staining DNA in polyacrylamide gels. *Nat. Protoc.* 2007. Vol. 2, No. 11. P. 2649–54
5. Beales J., Turner A., Griffiths S., Snape J. W., 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.
6. Beniston M., Stephenson D. B., Christensen O. B., Ferro C. A. T., Frei C., Goyette S. et al. *Clim. Change.* 2007. Vol. 81. P. 71–95.
7. Bennett D., Izanloo A., Edwards J., Kuchel H., Chalmers K., Tester M., et al. Identification of novel quantitative trait loci for days to ear emergence and flag leaf glaucousness in a bread wheat (*Triticum aestivum* L.) population adapted to southern Australian conditions. *Theor. Appl. Genet.* 2012. Vol. 124, P. 697–711.
8. Bentley A. R., Horsnell R., Werner C. P., Turner A. S., Rose G. A., Bedard C., et al. Short, natural, and extended photoperiod response in BC2F 4 lines of bread wheat with different Photoperiod-1 (*Ppd-1*) alleles. *J. Exp. Bot.* 2013. Vol. 64. P. 1783–1793.

9. Bentley A. R., Turner A. S., Gosman N., Leigh F. J., Maccaferri M., Dreisigacker S., et al. Frequency of photoperiod-insensitive *Ppd-Ala* alleles in tetraploid, hexaploid and synthetic hexaploid wheat germplasm. *Plant Breeding*. 2011. Vol. 130. P. 10–15.
10. Bird A. The essentials of DNA methylation. *Cell*. 1992. Vol. 70. P. 5–8.
11. Bonnin I., Rousset M., Madur D., Sourdille P., Dupuits C., Brunel D., et al. FT genome A and D polymorphisms are associated with the variation of earliness components in hexaploid wheat. *Theor Appl Genet*. 2008. Vol. 116. P. 383–394.
12. Börner A., Korzun V., Worland A. J. Comparative genetic mapping of loci affecting plant height and development in cereals. *Euphytica*. 1998. Vol. 100. P. 245–248.
13. Börner A., Worland A. J., Plaschke J., Schumann E., and Law C. N. Pleiotropic effects of genes for reduced height (*Rht*) and day-length insensitivity (*Ppd*) on yield and its components for wheat grown in middle Europe. *Plant Breed*. 1993. Vol. 111, No 3. P. 204–16.
14. Chebotar G. A., Chebotar S. V., Motsnyy I. I. Pleiotropic effects of gibberellin-sensitive and gibberellin-insensitive dwarfing genes in bread wheat of the southern step region of the Black Sea. *Cytol Genet*. 2016. Vol. 50, No 1, P. 20–27.
15. Chebotar G. A., Motsnyy I. I., Chebotar S. V., Sivolap Yu. M. Effects of dwarfing genes on the genetic background of wheat varieties in Southern Ukraine. *Cytol. Genet*. 2012. Vol. 46, No.6. P. 366–72.
16. 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.
17. Cockram J., Jones H., Leigh F., O'Sullivan D., Powell W., Laurie D., Greenland A. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity. *Journal of Experimental Botany*. 2007. Vol. 58, No 6. P. 1231–1244.

18. Cockram J., Mackay I. J., O'Sullivan D. M. The role of double-stranded break repair in the creation of phenotypic diversity at cereal *VRN1* loci. *Genetics*. 2007. Vol. 177. P. 2535–2539.
19. Conrad D. F., Pinto D., Redon R., Feuk L., Gokcumen O., Zhang Y., Aerts J., Andrews T. D., Barnes C., Campbell P., et al. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*. 2010. Vol. 464. P. 704–712.
20. Corbesier L., Vincent C., Jang S. H. et al. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. *Sci*. 2007. Vol. 316. P. 1030–1033.
21. Diaz A., Zikhali M., Turner A., Isaac P., Laurie D. 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, No 3. P. e33234.
22. Distelfeld A., Li C., Dubcovsky J. Regulation of flowering in temperate cereals. *Curr. Opin. Plant Biol*. 2009. Vol. 12. P. 178–184.
23. Distelfeld A., Tranqusli G., Li C., Yan L., Dubcovsky J. Genetic and molecular characterization of the *VRN2* loci in tetraploid wheat. *Plant physiol*. 2009. Vol. 149. P. 245–257.
24. Dowla M. A. N. N. U., Edwards I., O'Hara G., Islam S., Ma W. Developing wheat for improved yield and adaption under a changing climate: Optimization of a few keygenes. *Engineering*. 2018. Vol. 4, No 4. P. 514–522.
25. Doyle J. DNA Protocols for Plants. *Molecular Techniques in Taxonomy. NATO ASI Series (Series H: Cell Biology)* / in: Hewitt G. M., Johnston A. W. B., Young J. P. W. (eds). Vol 57. Springer, Berlin, Heidelberg, 1991.
26. Dubcovsky J., Dvorak J. Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. *Science*. 2007. Vol. 316. P. 1862–1866.

27. Dubcovsky J., Lijavetzky D., Appendino L., Tranquilli G., Dvorak J. D. Comparative RFLP mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement. *Theor Appl Genet.* 1998. Vol. 97. P. 968–975.
28. Fayt V. I., Stelmakh A. F. Congenic and isogenic lines on *Vrd* genes in winter bread wheat. *Genetic collections, isogenic and alloplasmic lines: Int. Conf. Novosibirsk*, 2001. P. 14–17.
29. Fedorova V. R. Differences in effects of photoperiod response genes in winter bread wheat: PhD thesis: 03.00.15.Plant breeding and genetic institute. Odessa, 2004. 19 p.
30. Fjellheim S., Boden S., Trevaskis B. The role of seasonal flowering responses in adaptation of grasses to temperate climates. *Frontiers in Plant Science.* 2014. Vol. 5. P. 431.
31. Foulkes M. J., Sylvester-Bradley R., Worland A. J., Snape J. W. Effects of a photoperiod-response gene *Ppd-D1* on yield potential and drought resistance in UK winter wheat. *Euphytica.* 2004. Vol. 135, No. 1. P. 63–73.
32. Francia E., Morcia C., Pasquariello M., Mazzamurro V., Milc J. A., Rizza F., et al. Copy number variation at the HvCBF4–HvCBF2 genomic segment is a major component of frost resistance in barley. *Plant Mol Biol. Springer Netherlands.* 2016. P. 161–175.
33. Fu D., Szűcs P., Yan L., Helguera M., Skinner J. S., Zitzewitz J., et al. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. *Mol Genet Genomics.* 2005. Vol. 273. P. 54–65.
34. Gelanalyzer software. <http://www.gelanalyzer.com/>
35. Gomez D., Vanzetti L., Helguera M., Lombardo L., Fraschina J., Miralles D. J. Effect of *Vrn-1*, *Ppd-1* genes and *earliness per se* on heading time in Argentinean bread wheat cultivars. *Field Crops Research.* 2014. Vol. 158. P. 73–81.
36. Griffiths S., Simmonds J., Leverington M., Wang Y., Fish L., Sayers L., et al. Meta-QTL analysis of the genetic control of ear emergence in elite European winter wheat germplasm. *Theor Appl Genet.* 2009. Vol. 119. P. 383–395.

37. Guo Z., Song Y., Zhou R., Ren Z. and Jia J. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytologist*. 2010. Vol. 185. P. 841–851.
38. Hammer G. L., McLean G., van Oosteron E., Chapman S., Zheng B., Wu A., Doherty A., Jordan D. Designing crops for adaptation to the drought and high-temperature risks anticipated in future climates. *Crop Science*. 2020. Vol. 60. P. 605– 621.
39. Hemming M. N., Peacock W. J., Dennis E. S., Trevaskis B. Low-temperature and daylength cues are integrated to regulate FLOWERING LOCUS T in barley. *Plant Physiol*. 2008. Vol. 147. P. 355–366.
40. Hoogendoorn J. A reciprocal F1 monosomic analysis of the genetic control of the time of ear emergence, number of leaves and number of spikelets in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 1985. Vol. 34. P. 545–558.
41. Ivaničova Z., Valarik M., Pankova K., Travníčková M., Dolezel J., Safař J., et al. Heritable heading time variation in wheat lines with the same number of *Ppd-B1* gene copies. *PLoS ONE*. 2017. Vol. 12, No 8. P. e0183745.
42. Kalendar R., Schulman A. H. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nat. Protoc*. 2006. Vol. 5, No. 1. P. 2478–84.
43. Kane N. A., Agharbaoui Z., Diallo A. O. et al. TaVRT2 represses transcription of the wheat vernalization gene *TaVRN1*. *Plant J*. 2007. Vol. 51. P. 670–680.
44. Kato K., Miura H., Sawada S. Detection of an earliness per se quantitative trait locus in the proximal region of wheat chromosome 5AL. *Plant Breeding*. 1999a. Vol. 118. P. 391–394.
45. Kato K., Miura H., Sawada S. *QTL* mapping of genes controlling ear emergence time and plant height on chromosome 5A of wheat. *Theor Appl Genet*. 1999b. Vol. 98. P. 472–477.
46. Kato K., Yokoyama H. Geographical variation in heading characters among wheat landraces, *Triticum aestivum* L. and its implication for their adaptability. *Theoretical & Applied Genetics*. 1992. Vol. 84. P. 259–265.

47. Khangil'din V. V. Creation of analogues of old breeding varieties as a method of conservation of adaptability genes for their use in breeding, in Mat. II soveshchaniya "Izogennye linii i geneticheskie kolleksii" (Proc. II Meeting "Isogenic Lines and Genetic Collections"), Novosibirsk: ITsiG SO RAN, 1993. 194 p.
48. Kiss T., Balla K., Veisz O., Láng L. 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.). *Molecular Breeding*. 2014. Vol. 34, No 2. P. 297–310.
49. Knox A. K., Dhillon T., Cheng H., Tondelli A., Pecchioni N., et al. CBF gene copy number variation at Frost Resistance-2 is associated with levels of freezing tolerance in temperate-climate cereals. *Theor Appl Genet*. 2010. Vol. 121. P. 21–35.
50. Kulwal P. L., Roy J. K., Balyan H. S. *QTL* mapping for growth and leaf characters in bread wheat. *Plant Sci*. 2003. Vol. 164. P. 267–277.
51. Langer S. M., Friedrich C., Longin H. Würschum T. Flowering time control in European winter wheat. *Front. Plant Sci*. 2014. Vol. 5. P. 537.
52. Laurie D. A. Comparative genetics of flowering time in cereals. *Plant Mol Biol*. 1997. Vol. 35. P. 167–177.
53. Laurie D. A., Griffiths S. Molecular markers for flowering time genes in crop species. In Jain S. M., Brar D. S., Ahloowalia B. S., editors. *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, Springer-Science; 2002. P. 239–263.
54. Law C. N., Sutka J., Worland A. J. A genetic study of day-length response in wheat. *Heredity*. 1978. Vol. 41. P. 185–191.
55. Li C., Distelfeld A., Comis A., Dubcovsky J. Wheat flowering repressor *VRN2* and promoter *CO2* compete for interactions with NUCLEAR FACTOR-Y complexes. *Plant J*. 2011. Vol. 67. P. 763–773.

56. Li C., Dubcovsky J. Wheat FT protein regulates *VRN1* transcription through interactions with FDL2. *Plant J.* 2008. Vol. 55. P. 543–554.
57. Lin F., Xue D. G., Tian C. J., Cao Y., Zhang Z. Z., Zhang Z. Q., et al. Mapping chromosomal regions affecting flowering time in a spring wheat RIL population. *Euphytica.* 2008. Vol. 164. P. 768–777.
58. Lobell D., Gourdji Sh. The Influence of Climate Change on Global Crop Productivity. *Plant Physiology.* 2012. Vol. 160, No 4. P. 1686–1697.
59. Maccaferri M., Sanguineti M. C., Corneti S., Ortega J. L. A., Salem M. B., Bort J., et al. Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) across a wide range of water availability. *Genetics.* 2008. Vol. 178. P. 489–511.
60. Matsuyama H., Fujita M., Seki M., Kojima H., Shimazaki Y., Matsunaka H., Chono M., Hatta K., Kubo K., Takayama T., Kiribuchi-Otobe C., Oda S., Watanabe Y., and Kato K. Growth and yield properties of near-isogenic wheat lines carrying different photoperiodic response genes. *Plant Production Science.* 2015. Vol. 18, No. 1. P. 57–68.
61. McDonald J. H. Handbook of Biological Statistics. 2nd ed. Baltimore, Maryland, USA: Sparky House Publishing, 2009. 317 p.
62. McIntosh R. A., Yamazaki Y., Devos K. M., Dubcovsky J., Rogers W. J., Appels A. Catalogue of gene symbols for wheat / Proc. 10th Inter. Wheat Genet. Symp. Paestum (Italy), 2003. 35 p.
63. Mohammadi M., Sharifi P., Karimizadeh R. Stability analysis of durum wheat genotypes by regression parameteres in dryland conditions. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.* 2014. Vol. 62(5). P. 1049–1056.
64. Mohler V., Lukman R., Ortiz-Islas S., William M., Worland A. J., van Beem J., Wenzel G. Genetic and physical mapping of photoperiod insensitive gene *Ppd-B1* in common wheat. *Euphytica.* 2004. Vol. 138, No 1. P. 33–40.
65. Mosaad M., Ortiz Ferrara G., Machalakshmi V., Rajaram S. Vernalisation and photoperiod response of adapted wheat from Mediterranean region. *J. Genet. and Breed.* 1995. Vol. 49, No 3. P. 229–235.

66. Motsnyi, I I., Chebotar, G A., Fayt, V I., Chebotar, S V., Pogrebnyuk, E A., and Kulbida, M P., Discrimination and characteristics on biological and agronomical traits of lines of Stepnyak bread wheat cultivar, *News Agrar. Sci.*, 2013, No. 5, P. 49–5321.
67. Motzo R. & Giunta F. The effect of breeding on the phenology of Italian durum wheats: from landraces to modern cultivars. *European Journal Agronomy*. 2007. Vol. 26. P. 462–470.
68. Muterko A., Kalendar R., Cockram J., Balashova I. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes and new alleles of the *Photoperiod-A1* gene in wheat. *Plant Mol Biol*. 2015. Vol. 88, No 2. P. 149–164.
69. Nakamichi N. Molecular mechanisms underlying the Arabidopsis circadian clock. *Plant Cell Physiol*. 2011. Vol. 52. P. 1709–1718.
70. Nishida H., Yoshida T., Kawakami K., Fujita M., Long B., Akashi Y., Laurie D. A., Kato K. 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, No 1. P. 27–37.
71. Nitcher R., Distelfeld A., Tan C., Yan L., Dubcovsky J. Increased copy number at the HvFT1 locus is associated with accelerated flowering time in barley. *Mol Genet Genomics*. 2013. Vol. 288. P. 261–275.
72. Ortiz Ferrara G., Mosaad M. G., Mahalakshmi V., Rajaram S. Photoperiod and vernalisation response of Mediterranean wheats, and implications for adaptation. *Euphytica*. 1998. Vol. 100. P. 377–384.
73. Pestsova E. G., Korzun V., Roder M. S. Pedigree analysis of wheat chromosome 2D. Proceedings of the 12th International EWAC Workshop 1–6 July 2002, Norwich, UK. P. 122–4.
74. Pireivatlou A. S., Masjedlou B. D., Aliyev R. T. Evaluation of yield potential and stress adaptive trait in wheat genotypes under post anthesis drought stress conditions. *Afr. J. Agric. Res*. 2010. Vol. 5(20). P. 2829–2836.

75. Potokina E. K., Koshkin V. A., Alekseeva E. A., Matvienko I. I., Bespalova L. A., Filobok V. A. Combinations of alleles of the *Ppd* and *Vrn* genes determine the heading time in common wheat varieties. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012. Vol. 16, No 1, P. 77–86.
76. Puchta H. The repair of double-strand breaks in plants: mechanisms and consequences for genome evolution. *J Exp Bot*. 2005. Vol. 56, No 9. P. 1–14.
77. Pugsley A. T. A genetic analysis of the spring–winter habit of growth in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1971. Vol. 22, No 1, P. 21–31.
78. Rawson H. M., Zajac M., Penrose L. D. J. Effect of seedling temperature and its duration on development of wheat cultivars differing in vernalizing response. *Field Crop Res*. 1998. Vol. 57. P. 289–300.
79. Ray D. K., Gerber J. S., MacDonald G. K., West P. C. Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nat Commun*. 2015. Vol. 6(1). P. 5989.
80. Redon R., Ishikawa S., Fitch K. R., Feuk L., Perry G. H., Andrews T. D., et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006. Vol. 444. P. 444–454.
81. Röder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M. H., Leroy P., Ganal M. W. Microsatellite Map of Wheat. *Genetics*. 1998. Vol. 149, No. 4. P. 2007–23.
82. Saintenac C., Jiang D., Akhunov E. D. Targeted analysis of nucleotide and copy number variation by exoncapture in allotetraploid wheat genome. *Genome Biol. BioMed Central Ltd*. 2011. Vol. 12. P. R88.
83. Sambrook J, Fritschi E. F., Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 1546 p.
84. Sambrook J., Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press., NY: 2001. 2100 p.

85. Scarth R., Law C. N. The control of day-length response in wheat by the group 2 chromosomes. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*. 1984. Vol. 92, No 2. P. 140–150.
86. Scarth R., Law C. N. The location of the photoperiodic gene, *Ppd2*, and an additional genetic factor for ear-emergence on chromosome 2B of wheat. *Heredity*. 1983. Vol. 51. P. 607–619.
87. Schrider D. R., Hahn M. W. Gene copy-number polymorphism in nature. *Proc R Soc B*. 2010. Vol. 277. P. 3213–3221.
88. Seki M., Chono M., Matsunaka H., Fujita M., Oda S., Kubo K., Kiribuchi-Otobe C., Kojima H., Nishida H., Kato K. Distribution of photoperiod-insensitive alleles *Ppd-B1a* and *Ppd-D1a* and their effect on heading time in Japanese wheat cultivars. *Breed Sci*. 2011. Vol. 61. P. 405–412.
89. Shimada S., Ogawa T., Kitagawa S. et al. A genetic network of flowering-time genes in wheat leaves, in which an APETALA1/FRUITFULL-like gene, *VRN1*, is upstream of FLOWERING LOCUS T. *Plant J*. 2009. Vol. 58. P. 668–681.
90. Shindo C., Sasakuma T., Tsujimoto H. Segregation analysis of heading traits in hexaploid wheat utilizing recombinant inbred lines. *Heredity*. 2003. Vol. 90. P. 56–63.
91. Šíp V., Chrpová J., Žojfajová A., Pánková K., Užík M., Snape J. W. Effects of specific *Rht* and *Ppd* alleles on agronomic traits in winter wheat cultivars grown in middle Europe. *Euphytica*. 2010. Vol. 172. P. 221–233.
92. Slafer G. A., Rawson H. M. Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: a reexamination of some assumptions made by physiologists and modellers. *Australian Journal of Plant Physiology*. 1994. Vol. 21. P. 393–426.
93. Snape J. W., Butterworth K., Whitechurch E., Worland A. J. Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica*. 2001. Vol. 119. P. 185–190.

94. Sourdille P., Cadalen T., Guyomarch H., Snape J. W., Perretant M. R., Charmet G., et al. An update of the Courtot-Chinese Spring intervarietal molecular marker linkage map for the *QTL* detection of agronomic traits in wheat. *Theor Appl Genet.* 2003. Vol. 106. P. 530–538.
95. Stelmach A. F., Martynyuk V. R. Influence of photoperiod response genes on the formation of a cone growth of winter wheat under autumn sowing. *Agroekology and Biotechnology.* 1998. No 2. P. 183–189.
96. Stelmakh A F. Growth habit in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Euphytica.* 1987. Vol. 36, No 2. P. 513–519
97. Stelmakh A. F. Genetic systems that regulate flowering response in wheat. Wheat: prospects for global improvement / Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1998. P. 491–501.
98. Stelmakh A., Zolotova N., Fayt V. Genetic analysis of winter bread wheat differences in vernalization requirement duration. *Cereal Res. Commun.* 2005. Vol. 33, No 4. P. 713–718.
99. Stephenson T. J., McIntyre C. L., Collet C. et al. Genome-wide identification and expression analysis of the NF-Y family of transcription factors in *Triticum aestivum*. *Plant Mol.Biol.* 2007. Vol. 65. P. 77–92.
100. Subiraa J., Álvaroa F., García del Moralb L. F., Royoa C. Breeding effects on the cultivar×environment interaction of durum wheat yield. *Europ. J. Agronomy.* 2015. Vol. 68. P. 78–88.
101. Sun H., Guo Z., Gao L., Zhao G., Zhang W., Zhou R., et al. DNA methylation pattern of *Photoperiod-B1* is associated with photoperiod insensitivity in wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytol.* 2014. P. 1–11.
102. Turner A, Beales J, Faure S, Dunford R. P., Laurie D. A. The pseudo-response regulator *Ppd-H1* provides adaptation to photoperiod in barley. *Science.* 2005. Vol. 310. P. 1031–1034.
103. Whittal 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 genotypes. *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13, No 8. P. e0203068.
104. Wilhelm E. P. Genetic analysis of the group in *Rht* loci in wheat. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy / University of East Anglia John Innes Centre. 2011. 319 p.
 105. Wilhelm E. P., Boulton M. I., Al-Kaff N., Balfourier F., Bordes J., Greenland A. J., et al. *Rht-1* and *Ppd-D1* associations with height, GA sensitivity, and days to heading in a worldwide bread wheat collection. *Theor. Appl. Genet.* 2013. Vol. 126. P. 2233–2243.
 106. 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, No 2. P. 285–294.
 107. Worland A. J. The importance of Italian wheats to worldwide varietal improvement. *J. Genet. Breed.* 1999. Vol. 53. P. 165–173.
 108. Worland A. J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica*. 1996. Vol. 89. P. 49–57.
 109. Worland A. J., Appendino M. L., Sayers E. J. The distribution, in European winter wheats, of genes that influence ecoclimatic adaptability whilst determining photoperiodic insensitivity and plant height. *Euphytica*. 1994. Vol. 80. P. 219–228.
 110. Worland A. J., Borner A., Korzun V., Li W. M., Petrovic S., Sayers E. J. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats. *Euphytica*. 1998. Vol. 100. P. 385–394.
 111. Worland A. J., Sayers E. J., Korzun V. Allelic variation at the dwarfing gene *Rht8* locus and its significance in international breeding programmes. *Euphytica*. 2001. Vol. 119, No 1–2. P. 157–61.
 112. Worland A. J., Law C. N. Genetic analysis of chromosome 2D of wheat. I. The location of genes affecting height, day-length insensitivity, hybrid dwarfism and yellow-rust resistance. *Z. Pflanzenzüchtung*. 2013. Vol. 96, No 4. P. 331–45.

113. Würschum T., Boeven P. H., Langer S. M., Longin C. F., Leiser W. L. Multiply to conquer: Copy number variations at *Ppd-B1* and *Vrn-A1* facilitate global adaptation in wheat. *BMC Genet.* 2015. Vol. 16. P. 96.
114. Yan L., Fu D., Li C., Blechl A. et al. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of FT. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. P. 19581–19586.
115. Yan L., Loukoianov A., Blechl A. et al. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Sci.* 2004. Vol. 303, No 5664. P. 1640–1644.
116. Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G. et al. Positional cloning of wheat vernalization gene *VRN*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. P. 6263–6268.
117. Yang F., Zhang X., Xia X., Laurie D. A., Yang W., He Zh. Distribution of photoperiod insensitive *Ppd-D1a* allele in Chinese wheat cultivars. *Euphytica.* 2009. Vol. 165. P. 445–452.
118. Yoshida T., Nishida H., Zhu J., Nitcher R., Distelfeld A., Akashi Y., et al. *Vrn-D4* is a vernalization gene located on the centromeric region of chromosome 5D in hexaploid wheat. *Theor Appl Genet.* 2010. Vol. 120. P. 543–552.
119. Zhang X. K., 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. P. 470.
120. Zhao X. Y., Liu M. S., Li J. R. et al. The wheat TaGI1, involved in photoperiodic flowering, encodes an Arabidopsis GI ortholog. *Plant Mol. Biol.* 2005. Vol. 58. P. 53–64.
121. Zmieńko A., Samela A., Kozłowski P., Figlerowicz M. Copy number polymorphism in plant genomes. *Theor Appl Genet.* 2014. Vol. 127. P. 1–18.
122. Адаменко Т. Зміна клімату та сільське господарство в Україні: що варто знати фермерам? Німецько-український агрополітичний діалог, 2019. 36 с.

123. Арбузова В. С., Добровольская О. Б., Мартинек П. и др. Наследование признака «многоцветковость» у мягкой пшеницы и оценка продуктивности колоса гибридов F₂. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016. Т. 20, № 3. С. 355–363.
124. Базалій В. В., Бойчук І. В., Базалій Г. Г., Ларченко О. В., Бабенко Д. В. Характер формування продуктивності у сортів пшениці різного типу розвитку за різних умов вирощування. *Таврійський науковий вісник*. 2016. Вип. 96. С. 3–9.
125. Балабух В. О., Однолеток Л. П., Кривошеїн О. О. Вплив зміни клімату на продуктивність озимої пшениці в Україні у періоди вегетаційного циклу. *Гідрологія, гідрохімія і гідроекологія*. 2017. № 3 (46). С. 72–85
126. Балашова И. А. Маркировка генов *Vrn* и *Ppd* мягкой пшеницы методами ПЦР-анализа. : Дис ... канд. наук: 03.00.26, 2002.
127. Балашова І. А., Файт В. І. Ідентифікація алелів генів *Ppd-D1* і *Ppd-B1* пшениці м'якої за молекулярними маркерами: методичні рекомендації. Одеса: СГІ-НЦНС, 2015. 16 с.
128. Балашова І. А., Файт В. І. Розробка ДНК-технологій ідентифікації генів ортологічної серії *Ppd-1* м'якої і твердої пшениць. *Сільськогосподарська біотехнологія: теоретичні розробки і впровадження в селекцію рослин*. Одеса: Астропринт, 2016. С. 9–19.
129. Білоусова З. В. Оцінка адаптивного потенціалу сортів пшениці озимої (*Triticum Aestivum* L.) в умовах Південного Степу України. *Наукові доповіді НУБіП України. Агронія*. 2018. № 3 (73). С. 1–11.
130. Бугайов В. Д., Васильківський С. П., Власенко В. А. та ін. Спеціальна селекція польових культур. Біла Церква, 2010. 368 с.
131. Булавка Н. В. Наследование длительности периода яровизации у различных сортов озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 1989. Т. 23, № 6. С. 37–40.
132. Булавка Н. В. Яровизационная потребность сортов озимой мягкой пшеницы в связи с их морозоустойчивостью. *Земледелие и селекция в*

Беларуси. Сб. научн. тр. – Мн. ИВЦ «Миинфина». 2014. Вып. 50. С. 383–392.

133. Бурденюк-Тарасевич Л. А. Принципи підбору пар для гібридизації в селекції озимої пшениці *T. aestivum* L. на адаптивність до умов довкілля. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2015. Т. 16. С. 92–96.
134. Буянкин Н. И. Роль светового фактора в повышении продуктивности полей. *Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта*. 2012. Вып. 7. С. 128–133.
135. Вавилов Н. И. Теоретические основы селекции. Москва: Наука, 1987. 387 с.
136. Василенко Т., Бондарева О., Коробова О. Селекція озимої пшениці в умовах Південно-Східного Степу України. *Вісник Львівського національного аграрного університету. Серія: Агронімія*. 2018. № 22 (1). С. 188–194.
137. Василюк П. М., Улич Л. І. Агробіологічні особливості сортів-дворучок пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.). *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2012. № 2. С. 4–7.
138. Власенко В. А., Кочмарський В. С., Колючий В. Т. та ін. Селекційна еволюція миронівських пшениць: наукове видання. Миронівка: Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААНУ, 2012. 326 с.
139. Вожегова Р. А., Малярчук М. П., Коковіхін С. В. та ін. Методика польових і лабораторних досліджень на зрошуваних землях. Херсон: Вид. Грінь Д. С., 2014. 286 с.
140. Волощук І. С. Вплив зміни клімату на вирощування насіння пшениці озимої в зоні Західного Лісостепу України. *Передгірне та гірське землеробство і тваринництво : міжвід. темат. наук. зб.* 2017. Вып. 62. С. 3–17.
141. Голимбет В. Е., Корень Е. В. Вариации числа копий в геноме – новая страница в генетических исследованиях в области психиатрии:

международный проект PsychCNVs. *Журнал неврологии и психиатрии им .С. С. Корсакова*. 2010. № 1. С. 107–109.

142. Головина И. В., Данилюк И. А. Анализ степени жаро- и засухоустойчивости изогенных по генам контроля темпов развития линий пшеницы. *Биология растений и биотехнологія: сборник тезисов*. Украина, Белая Церковь, 2011. 112 с.
143. Гончаров Н. П. Генетический контроль фотопериодической реакции у мягкой пшеницы (обзор). *С.-х. биология*. 1986. № 11. С. 84–90.
144. Горышина Т. К. Экология растений: учеб. пособие. Москва: Высш. школа, 1979. 368 с.
145. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2020 рік. Київ: Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України, 2020. 500 с.
146. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.:Колос, 1979. 416 с.
147. Жмурко В. В., Авксентьева О. А., Зубрич А. И., Южно Ю. Ю., Петренко В. А., Попова Ю. В., Самойлов А. М., Хань Бин Эффекты генов фотопериодической чувствительности (*Ppd*) и потребности в яровизации (*Vrn*) на физиолого-биохимические процессы у растений. *Fiziologia și Bi Biochimia Plantelor Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2011. № 3 (315). Р. 62–72.
148. Колесник О. О. Молекулярно-генетичний поліморфізм сортів пшениці м'якої озимої та асоціації алелів мікросателітних локусів і господарсько цінних ознак: автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.22. Київ, 2015. 23 с.
149. Коломієць Л. А. Використання світового генофонду пшениці м'якої озимої в нових сортах миронівської селекції *Миронівський вісник*. 2019. Вип. 8. С. 6–17.
150. Куликович С. Н., Куликович Е. Н. Диагностика стадий развития озимой пшеницы по шкале ВВСН. Минск: Наша Идея, 2014. 36 с.

151. Лихенко И. Е., Стасюк А. И., Щербань А. Б., Зырянова А. Ф., Лихенко Н. И., Салина Е. А. Изучение аллельного состава генов *Vrn-1* и *Ppd-1* у раннеспелых и среднеранних сортов яровой мягкой пшеницы Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014. Т. 18, № 4/1. С. 691–703.
152. Методика проведення експертизи сортів рослин групи зернових, круп'яних та зернобобових на придатність до поширення в Україні / за ред. С. О. Ткачик. Вінниця : Нілан-ЛТД, 2016. 82 с.
153. Мокану Н. В., Файт В. И. Различия эффектов аллелей генов *Vrd1* и *Ppd-D1* по зимо-морозостойкости и урожаю у озимой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2008. № 6. С. 26–33.
154. Моргун В. В., Киризий Д. А., Шадчина Т. М. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2010. Т. 42, № 1. С. 3–23.
155. Моргун В. В., Ляшок А. К., Григорюк І. П. Сучасний стан проблеми терморезистентності озимої пшениці у зв'язку з глобальними змінами клімату. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2003. Вып. 35, № 6. С. 463–493.
156. Москалець В. В., Москалець В. І., Москалець Т. З., Піка Ю. М. Агробіологічна характеристика екотипу пшениці м'якої озимої *Triticum aestivum* L. сорту Зоряна носівська. *Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області*. 2011. Вып. 11. С. 114–120.
157. Москалець В. І., Москалець В. В., Москалець Т. З. Характеристика вихідного матеріалу пшениці м'якої озимої Носівської селекційно-дослідної станції ІСГМіАПВ НААН України. *Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області*. 2014. Вып. 16. С. 146–163.
158. Москалець В. І., Тищенко В. М., Москалець Т. З. та ін. Екологічно пластичний, високопродуктивний сорт пшениці м'якої озимої «Аріївка». *Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області*. 2019. Вып. 26. С. 96–105.

159. Мусіч В. М., Пильнєв В. В., Нефьодов О. В. Фотоперіодична чутливість та адаптивність різних сортів озимої пшениці на півдні України. *Реалізація потенційних можливостей сортів та гібридів Селекційно–генетичного інституту в умовах України*. Одеса, 1996. С. 76–83.
160. Ноздріна Н. Л., Гасанова І. І. Особливості росту і розвитку рослин сучасних сортів пшениці озимої в умовах Північного Степу. *Таврійський науковий вісник. Серія: Сільськогосподарські науки*. 2017. № 98. С. 108–113.
161. Пірич А. В. Вихідний матеріал пшениці м'якої озимої в селекції на морозостійкість у Правобережному Лісостепу України: Дис. канд. с.-х. наук: 06.01.05 / Миронівський інститут пшениці імені В. М. Ремесла. Київ, 2019. 201 с.
162. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск: "Вышэйш. школа", 1973. 320 с.
163. Романенко О. Л., Конова С. Р., Солодушко М. М., Бальошенко С. В. Вплив агроєкологічних чинників на врожайність пшениці озимої в Степовій зоні України. *Агроєкологічний журнал*. 2015. № 1. С. 106–114.
164. Рослинництво України: статистичний збірник. Київ: Державна служба статистики України, 2019. 220 с.
165. Сайко В. Ф. Сучасні технології вирощування конкурентоспроможного зерна. *Збірник наукових праць Інституту землеробства УААН*. Спецвипуск. 2004. С. 26–31.
166. Сиволап Ю. М. Геном рослин і «молекулярна селекція». *Селекція і насінництво*. 2008. Вип. 96. С. 1–9.
167. Скрипчинский В. В. Фотопериодизм – его происхождение и эволюция. Л.: Наука, 1975. 287 с.
168. Стельмах А. Ф. Изучение генетики типа и скорости развития мягких пшениц во ВСГИ. *Генетико-цитологические аспекты селекции сельскохозяйственных растений*: сб. науч. тр. Одесса, 1984. С. 5–15.

169. Стельмах А. Ф. Роль генетических систем в онтогенетической адаптации мягкой пшеницы. *Экологическая генетика и эволюция*. Кишинев, 1987. С. 146–161.
170. Стельмах А. Ф., Файт В. И. Возможность улучшения адаптивности озимой пшеницы путем усиления фотопериодизма и потребности в яровизации. *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2016. Вип. 27 (67) С. 103–108.
171. Стельмах А. Ф., Файт В. І. Особливості темпів початкового розвитку нових європейських сортів озимої пшениці м'якої у зв'язку з системами генів *Rpd-1* та *Vrd*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2019. Т. 24. С. 166–171.
172. Степаненко И. Л., Смирнова О. Г., Титов И. И. Модель генной сети регуляции времени цветения у озимой пшеницы и ячменя. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012. Т. 16, № 1. С. 99–106.
173. Тищенко В. Н., Чекалин Н. М., Москаленко . И. Эколого-генетический подход к оценке зимостойкости озимой пшеницы в условиях Полтавщины. *Зерновые и кормовые культуры*. Зерноград, 2002. С. 253–255.
174. Тоцький В. М., Мутерко О. Ф., Балашова І. А., Дьяченко Л. Ф. Генетичні механізми детермінації фотоперіодичної реакції пшениці. *Біологічні системи. Науковий вісник Чернівецького університету*. 2011. Т. 3, Вип. 1. С. 19–25.
175. Удачин Р. А., Косов В. Ю. Биологические особенности озимой мягкой пшеницы в связи с селекцией на скороспелость и продуктивность. *Рекомбинационная селекция в Сибири*. Новосибирск, 1989. С. 44 – 54.
176. Уліч О. Л., Ткачик С. О. Господарсько-агробіологічна оцінка нових сортів пшениці м'якої озимої. *Агробіологія*. 2015. № 1. С. 107–112.
177. Файт В. И. Генетическая система контроля различий по продолжительности яровизации у озимой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2003. Т. 37, № 5. С. 69–76.

178. Файт В. И. Генетический контроль продолжительности яровизации сортов озимой пшеницы юга степи Украины. *Экол. генетика*. 2006. Т. 4, вып. 2. С. 29–36.
179. Файт В. И. Частоты *Ppd* и *Vrd* генотипов набора сортов озимой пшеницы. *Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти*. Матеріали II міжнародної наукової конференції. Харків, 2011. 208 с.
180. Файт В. И. Эффекты генов контроля продолжительности яровизации (*Vrd*) по агрономическим признакам у озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2007. Т. 41, № 5. С. 18–26.
181. Файт В. И., Балашова И. А., Галаева М. В. Маркирование генов качественных и количественных признаков адаптивности пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.). *Збірник наукових праць СГІ-НЦНС*. 2015. Вип. 25 (65). С. 19–34.
182. Файт В. И., Балашова И. А., Федорова В. Р., Бальвинская М. С. Идентификация генотипов *Ppd-1* сортов мягкой пшеницы методами генетического и STS-ПЦР анализа. *Физиология растений и генетика*. 2014. Т. 46, № 4. С. 325–336.
183. 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. *Физиология растений и генетика*. 2017. Т. 49, № 1. С. 36–46.
184. Файт В. И., Симоненко Л. К., Мокану Н. В., Попова Н. В. Хромосомная локализация генов *Vrd* сокращающих продолжительность яровизации озимой мягкой пшеницы. *Генетика*. 2007. 43, № 2. С. 202–208.
185. Файт В. И., Стельмах А. Ф., Фёдорова В. Р. Начало включения и продолжительность экспрессии генов фотопериодической реакции у озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2006. Т. 40, № 2. С. 12–19.

186. Файт В. И., Сухоносенко Н. В. Особенности органогенеза, морозостойкость и урожайность различных по генам *Vrd* линий озимой мягкой пшеницы. *Вісн. Укр. т-ва генетиків та селекціонерів*. 2005. Т. 3, № 1/2. С. 3–14.
187. Файт В. И., Федорова В. Р. Влияние различий генов *Rpd* на агрономические признаки озимой мягкой пшеницы. *Цитология и генетика*. 2007. Т. 41, № 6. С. 26–33.
188. Файт В. І, Саранча І. О, Стельмах А. Ф. Фотоперіодична чутливість і потреба в яровизації нетипового за темпами розвитку сорту пшениці Істра 1. *Аграрний вісник Причорномор'я*. 2013. Вип.70. С. 1–11
189. Файт В. І., Губич О. Ю., Балашова І. А. Фотоперіодична чутливість та *Rpd-1* генотипи сортів дворучок м'якої пшениці. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2018. Т. 23. С. 148–153
190. Фукунага К. Введение в статистическую теорию распознавания образов. М.: Наука, 1979. 376 с.
191. Цаценко Л. В., Савиченко Д. Л. Многоцветковые формы озимой мягкой пшеницы как модельный объект в изучении репродуктивного потенциала главного колоса. *Научный журнал КубГАУ*. 2018. № 140. doi: 10.21515/1990-4665-140-024
192. Чеботар Г. О., Моцний І. І., Кульбіда М. П., Чеботар С. В. Вплив генів короткостебловості на варіацію ознак ліній м'якої озимої пшениці. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія*. 2013. Вип. 17, № 1056. С. 95–102.
193. Чеботар Г. О., Нагуляк О. І., Чеботар С. В., Моцний І. І., Сиволап Ю. М. Зв'язок між генами короткостебловості та морозостійкістю озимої м'якої пшениці. *Физиология растений и генетика*. 2015. Т. 47, № 1. С. 36–46.
194. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Бабенко Д. О., Моцний І. І., Щербань А. Б., Сиволап Ю. М. Алелі гена *Rpd-D1* у зразках колекції *Aegilops tauschii* і м'якої пшениці. *Biopolymers and Cell*. 2012. Vol. 28, No 2. P. 149–155.

195. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Мощний І. І., Сиволап Ю. М. Уточнення ступеня зчеплення генів *Rht8* ТА *Ppd-D1* на хромосомі 2D озимої м'якої пшениці. *Цитологія і генетика*. 2013. Т. 47, № 2. С. 12–17.
196. Чеботарь С. В. Аллельная характеристика генов короткостебельности в генетическом пуле сортов озимой мягкой пшеницы Украины. *Генетичні ресурси рослин*. 2008. № 6. С. 96–103.
197. Чекалин Н. М., Тищенко В. Н., Баташова М. Е. Селекция и генетика отдельных культур. Полтава, 2009. 175 с.
198. Черенков А. В., Солодушко М. М. Кліматичні зміни та особливості вирощування пшениці озимої в умовах Північного Степу. *Вісник аграрної науки*. 2014. № 5. С. 16–20.

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті:

8. Бакума А. О., Чеботар Г. О., Ткачук А. В., Чеботар С. В., Москалець Т. З., Москалець В. В. Алельний стан *Ppd-1* генів, що контролюють чутливість до фотоперіоду, у низки генотипів пшениці м'якої озимої. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2020. Т. 16, №3. С. 253–261. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.3.2020.214926> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).
9. Бакума А. О., Чеботар Г. О., Лавриненко Ю. О., Чеботар С. В. Алельний стан генів системи *Ppd-1* та *Vrn-1* у сортів озимої м'якої пшениці Інституту зрошуваного землеробства НААН України. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2019. Т. 24, вип.1 (44). С. 49–64. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.1\(44\).168799](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.1(44).168799) (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).
10. Chebotar G., Bakuma A., Filimonov V., Chebotar S. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2019. Вип. 80. С. 82–89. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2019.80> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних).
11. Bakuma A. O., Popovych Yu. A., Motsnyi I. I., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Effects of the *Ppd-D1a* Allele on Growth Rates and Agronomical Traits in Wheat Detected by the Application of Analogous Lines, *Cytol Genet.*, 2018, vol. 52, no. 5, pp. 343–352. <https://doi.org/10.3103/S009545271805002X> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).

12. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А., Бурденюк-Тарасевич Л. А., Чеботарь С. В. ПЦР-анализ генов фотопериодической чувствительности у сортов мягкой озимой пшеницы селекции Белоцерковской опытно-селекционной станции. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2018. Т 16, № 2. С. 217–226. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vutgis_2018_16_2_12 (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних).

13. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Топораш М. К., Бакума А. О., Тищенко В. М. Характеристика сортів пшениці селекції Полтавської державної аграрної академії за допомогою маркерів до генів, що визначають важливі господарсько-агрономічні ознаки. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2017. Т. 15, № 2. С. 187–195. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vutgis_2017_15_2_11 (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, аналіз експериментальних даних).

14. Бакума А. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Генотипи сучасних миронівських сортів озимої м'якої пшениці за *Ppd-A1*, *Ppd-B1*, *Ppd-D1* генами та їх чутливість до фотоперіоду. *Вісник Одеського Національного Університету. Біологія*. 2016. Т. 21, вип. 1 (38). С. 75–88. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.1\(38\).68012](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2016.1(38).68012) (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання і аналіз експериментальних даних, написання статті).

Тези:

1. Bakuma A. O., Bulavka N. V., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Photoperiodic sensitivity and genetic polymorphism of *Ppd-1* genes in Ukrainian wheat varieties and lines. *Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія*. 2019. Т. 24, Вип. 2. С. 173–174. DOI: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vonu_biol_2019_24_2_31.

2. Bakuma A. O., Motsnyi I. I., Chebotar G. O., Chebotar S. V. Effects of the *Ppd-D1a* / *Ppd-D1b* alleles on agronomical traits of winter wheat in south

Ukraine steppe region. Proceedings of the 17th International EWAC. EUCARPIA Int. Conf. Bucharest (Romania), 3–8 June 2018, pp. 77–82.

3. Бакума А.О., Чеботар Г.О., Лавриненко Ю.О., Чеботар С.В. Поліморфізм за генами фотоперодичної чутливості у сортів пшениці Інституту зрошуваного землеробства. Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти. Матеріали IV Міжнародної наукової конференції. Х. : ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2018. С. 17–18.

4. Бакума А. О., Чеботар Г.О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Ідентифікація *Ppd-1* генотипів, копій гена *Ppd-B1* та гаплотипного складу за геном *Ppd-D1* у сортів м'якої пшениці селекції Миронівського інституту пшениці ім. В.М.Ремесла. Біотехнологія – інноваційний шлях селекції рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса «Астропринт», 2018. С. 44–45.

5. Бакума А. О., Булавка Н. В. Чеботар С. В. Вплив поліморфізму за геном *Ppd-D1b* на строки колосіння низки сортів пшениці м'якої озимої МПП. Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів. Миронівка, 2017. С. 9–10.

6. Бакума А. О., Попович Ю. А., Моцний І. І., Чеботар Г. О., Чеботар С. В. Створення майже ізогенних ліній пшениці, що різняться алелем *Ppd-D1a* – нечутливості до фотоперіоду. Новітні агротехнології: теорія та практика. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 95-річчю ІБКіЦБ НААН. Київ, 2017. С. 176–177.

7. Бакума А. О., Попович Ю. А., Моцний І. І., Чеботар Г. О., Чеботар С. В. Вплив алелю *Ppd-D1a* на швидкість вегетації та агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням ранньостиглих ліній-аналогів. Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса, 2017. С. 17–19.

8. Филимонов В. М., Бакума А. А., Чеботарь Г. А., Бурденюк-Тарасевич Л. А., Чеботарь С. В. Гены фотопериодической чувствительности

в сортах мягкой озимой пшеницы селекции Белоцерковской опытно-селекционной станции. Геноміка та біохімія сільськогосподарських рослин. Матеріали Міжнародної наукової конференції. Одеса, 2017. С.73–74.

9. Чеботар С. В., Галаєва М. В., Булавка Н. В., Бакума А. О. Молекулярно-генетичний аналіз сортів м'якої пшениці Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. Реалізація потенціалу сортів зернових культур – шлях вирішення продовольчої безпеки. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 110-річчю від дня народження академіка-селекціонера В. М. Ремесла. Центральне, 2017. С.74–76.

10. Alla Bakuma, Galyna Chebotar, Vadim Filimonov, Tetyana Kyrylyuk and Sabina Chebotar Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. Poster presentations on 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding. Budapest, Hungary, 2017. P. 35–36.

11. Булавка Н. В., Бакума А. О., Юрченко Т. В., Чеботар С. В. Фотоперіодична чутливість та яровизаційна потреба сортів озимої м'якої пшениці миронівської селекції. Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці. Матеріали науково-практичної конференції. Вінниця, 2016. С. 62–63.

12. Бакума А. О., Моцний І. І., Чеботар С. В. Вплив алеля *Ppd-D1a* на агрономічні ознаки пшениці, визначений із застосуванням ліній-аналогів. Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції. Херсон, 2016. С. 16–17.

13. Бакума А. О., Жарікова Д. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Генетичний поліморфізм за генами *Ppd* сучасних сортів пшениці м'якої озимої Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. Селекція, генетика і технології вирощування сільськогосподарських культур. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених. Миронівка, 2015. С. 6.

14. Бакума А. О., Булавка Н. В., Чеботар С. В. Вплив алелів генів *Rpd* на темпи розвитку озимої м'якої пшениці. Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція. Матеріали VII Міжнародної конференції молодих вчених, аспірантів, студентів. Одеса, 2015. С.4–5.

ДОДАТОК Б

Таблиця 1

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

Сорти	Горлиця	Оберіг миронівський	Світанок миронівський	Крижинка	Легенда	Миронівська 65	Економка	Деметра
Горлиця	0	18,7**	13,7**	10,7**	6,4**	5,8**	4,3*	8,4**
Оберіг миронівський	21,6**	0	5,5**	8,0**	11,9**	24,6**	14,4**	10,3**
Світанок миронівський	18,6**	2,9**	0	2,94	7,22**	19,52**	9,3**	5,2*
Крижинка	17,7**	3,8**	0,9	0	4,28**	16,57**	6,4**	2,3
Легенда миронівська	13,9**	7,7**	4,7**	3,8*	0	12,29**	2,11	2,0
Миронівська 65	5,2*	16,3**	13,4**	12,5**	8,65**	0	10,18**	14,3**
Економка	20,2**	1,4	1,5	2,4	6,2**	14,90**	0	4,1*
Деметра	20,8**	0,8	2,2	3,1	6,9**	15,6**	0,6	0

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

ДОДАТОК В

Таблиця 2

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 2016 рік

Сорти	Горлиця	Оберіг миронівський	Світанок миронівський	Крижинка	Легенда	Миронівська 65	Економка	Деметра
Горлиця	0	0,5	2,1*	1,1	1,4	6,7**	5,7**	3,7**
Оберіг миронівський	5,6**	0	1,6	0,6	0,9	6,2**	5,2**	3,2*
Світанок миронівський	5,4**	0,1	0	1,0	0,7	4,6**	3,6**	1,7
Крижинка	2,2*	3,4*	3,3**	0	0,3	5,6**	4,6**	2,7*
Легенда миронівська	6,4**	0,8	1,0	4,2*	0	5,3**	4,3**	2,3
Миронівська 65	8,3**	2,7	2,9	6,2**	1,9	0	1,0	2,9
Економка	9,8**	3,8*	4,4**	7,7**	3,4*	1,5	0	1,9
Деметра	9,5**	3,9*	4,1*	7,4**	3,1	1,2	0,3	0

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

ДОДАТОК Г

Таблиця 3

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 2018 рік

Сорти	Горлиця	Оберіг миронівський	Світанок миронівський	Крижинка	Легенда	Миронівська 65	Економка	Деметра
Горлиця	0	0,1	10,6**	6,6**	7,9**	11,3**	16,2**	16,2**
Оберіг миронівський	1,9	0	10,5**	6,4**	7,7**	11,1**	16,1**	16,0**
Світанок миронівський	9,4*	7,6	0	4,0	2,7	0,7	5,6*	5,6
Крижинка	9,2**	7,3**	0,2	0	1,3	4,7	9,6**	9,6*
Легенда миронівська	11,9**	10,0**	2,5	2,7	0	3,4	8,4**	8,3
Миронівська 65	9,5*	7,6	0	0,3	2,4	0	4,9	4,9
Економка	13,2**	11,4**	3,8	4,0	1,3	3,7	0	0,1
Деметра	11,0**	9,1**	1,5	1,8	0,9	1,5	2,2	0

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

ДОДАТОК Д

Таблиця 4

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	16,8**	5,4*	27,8**
Миронівська золотоверха	15,6**	0	11,4**	11,0**
Берегиня миронівська	0,1	15,6**	0	22,4**
Зимоярка	11,3**	4,3*	11,4**	0

Примітка: над діагоналлю – різниця доби між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за тривалістю періоду сходи – колосіння на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця доби між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за тривалістю періоду сходи – колосіння на короткому фотоперіоді; ** – рівень значимості різниць = 0,01; * – рівень значимості різниць = 0,05.

ДОДАТОК Е

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 2016 рік

Сорти	Миронівська сторічна	Миронівська золотоверха	Берегиня миронівська	Зимоярка
Миронівська сторічна	0	4,0**	4,4**	5,2**
Миронівська золотоверха	4,1**	0	0,4	1,2
Берегиня миронівська	7,9**	3,8**	0	0,7
Зимоярка	5,4**	1,3	2,5**	0

Примітка: над діагоналлю – різниця доби між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за тривалістю періоду сходи – колосіння на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця доби між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за тривалістю періоду сходи – колосіння на короткому фотоперіоді; ** – рівень значимості різниць = 0,01; * – рівень значимості різниць = 0,05.

ДОДАТОК Є

Таблиця 6

Відмінності між сортами Миронівського інституту пшениці з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за датою колосіння на природному та короткому фотоперіоді за 2018 рік

Сорти	Миронівська сторічна	Миронівська золотоверха	Берегиня миронівська	Зимоярка
Миронівська сторічна	0	5,0	10,2**	16,9**
Миронівська золотоверха	3,3**	0	5,2*	11,9**
Берегиня миронівська	2,7	0,7	0	6,7**
Зимоярка	1,9	1,4	0,8	0

Примітка: над діагоналлю – різниця доби між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за тривалістю періоду сходи – колосіння на природному фотоперіоді; під діагоналлю – різниця доби між сортами МІП з генотипом *Ppd-A1b/Ppd-B1b/Ppd-D1b* за тривалістю періоду сходи – колосіння на короткому фотоперіоді; ** – рівень значимості різниць = 0,01; * – рівень значимості різниць = 0,05.

ДОДАТОК Ж

Алелі генів *Ppd-1* в сучасних українських сортах пшениці м'якої озимої

№	Сорти	Алелі генів <i>Ppd-1</i>			Мутації (делеції та інсерції) гена <i>Ppd-D1</i>					Гаплотип за геном <i>Ppd-D1</i>	<i>Ppd-B1</i> типу Sonora 64	<i>Ppd-B1</i> типу Chinese Spring
		<i>Ppd-D1</i>	<i>Ppd-A1</i>	<i>Ppd-B1</i>	інсерції 24 п. н. і 15 п. н. у промоторі	делеція 2089 п. н. у промоторі	TE в інтроні 1	делеція 5 п. н. у сьомому екзоні	делеція 16 п. н. у восьмому екзоні			
Сорти Миронівського інституту пшениці ім. В.М.Ремесла												
1	Горлиця миронівська (2016)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Економка (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	Крижинка (2002)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
4	Легенда миронівська (2012)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
5	Деметра (2005)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
6	Мадярка (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
7	Миронівська 65 (2000)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

8	Миронівська ранньостигла (2002)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
9	Оберіг миронівський (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
10	Пам'яті Ремесла (2009)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
11	Світанок миронівський (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
12	Ювіляр миронівський (2009)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
13	Зимоярка (2007)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	+	-	+	-	II	немає	немає
14	Берегиня миронівська (2016)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	+	+	+	-	III	немає	немає
15	Миронівська золотоверха (на сортовипробуваннях)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	+	+	+	-	III	немає	немає
16	Миронівська сторічна (2009)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	+	+	+	-	III	немає	немає
17	Подоянка (2003)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
18	МПП Вишиванка (2017)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

19	МПП Княжна (2017)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
20	Естафета миронівська (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
21	Вежа миронівська (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
22	МПП Дніпрянка (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
23	Грація миронівська (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
24	МПП Ассоль (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
25	Балада миронівська (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
26	Трудівниця миронівська (2017)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
27	МПП Валенсія (2017)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
28	Миронівська слава (2017)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	+	-	-	-	IV	немає	немає

Сорти Білоцерківської дослідно-селекційної станції

1	Білоцерківська напівкарликова (1999)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
---	--------------------------------------	----------	----------	----------	---	---	---	---	---	-----	-------	-------

2	Олеся (2001)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	Перлина лісостепу (2001)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
4	Елегія (2003)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
5	Ясочка (2006)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
6	Либідь (2006)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
7	Лісова пісня (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
8	Романтика (2009)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
9	Відрада (2010)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
10	Щедра нива (2011)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
11	Чародійка білоцерківська (2011)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
12	Водограй білоцерківський (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
13	Дріада-1 (2004)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
14	Русса (2000)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
15	Царівна (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
16	Легенда білоцерківська (2017)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>						IV	немає	немає

Сорти Полтавської державної аграрної академії

1	Вільшана (2010)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Говтва	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	Оржиця (2013)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
4	Кармелюк (2015)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
5	Коломак 3	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
6	Коломак 5	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
7	Українка полтавська	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
8	Диканька (2005)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
9	Левада (2005)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
10	Сагайдак (2010)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
11	Сидор Ковпак	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
12	Царичанка (2013)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
13	Лютенька	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
14	Соната	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
15	Аріївка (2017)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

Сорти Інституту зрошуваного землеробства

1	Анатолія (2015)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Благо (2011)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	Бургунка (2015)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
4	Конка (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
5	Кохана (2009)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
6	Кошова (2017)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
7	Ледя (2016)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
8	Марія (2013)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
9	Овідій (2009)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
10	Росинка(2007)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
11	Соборна (2019)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
12	Херсонська безоста (2002)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
13	Херсонська 99 (2005)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

ТОВ «Дріада, Лтд», м. Херсон

1	Клариса (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
---	----------------	----------	----------	----------	---	---	---	---	---	-----	-------	-------

Сорти Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення												
1	Епоха одеська (2010)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Ужинок (2010)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	Антоновка (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	є	немає
4	Годувальниця одеська (2009)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
Сорти Одеського інституту агропромислового виробництва НААН України												
1	Кнопа (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
Сорти Луганського інституту селекції і технологій												
1	Металіст (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Паляниця (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
Сорти Донецького інституту агропромислового виробництва НААН України, Донецької с/х дослідної станції НААН України												
1	Краплина (2008)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Білосніжка (2006)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
Сорти Синельниківській селекційно-дослідній станції інституту зернового господарства НААН України, Інституту зернового господарства НААН України												
1	Зіра (2005)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

Сорти Дніпровського державного аграрно-економічного університету

	Комерційна (2011)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
	Співанка (2005)	<i>a/b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-/+	-?			VII (I) / II	немає	немає

Сорти агрофірми ТОВ «Сади України», м. Харків

1	Тулуза (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Верден (2014)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	Турі (2015)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

Сорти Національного наукового центру «Інститут землеробства» НААН України, Київська обл.

1	Співанка поліська (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	Водограй (2018)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

Сорти науково-виробничої агрофірми ТОВ "Землеробець", Миколаївська обл.

	Кольчуга (2007)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
--	-----------------	----------	----------	----------	---	---	---	---	---	-----	-------	-------

Сорти та лінії Носівської селекційно-дослідної станції Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла НААН

1	лінія КС1 (1995)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
2	лінія КС22-04 (2004)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
3	лінія Л59-95 (1995)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає

4	Зоряна Носівська (1998)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
5	сорт Ювівата 60 (2013)	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	+	+	+	-	III	немає	немає
6	лінія КС14 (2005)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+	+	-	VII	немає	немає
7	лінія Л41/95 (1995)	<i>a/b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	-	-	+/-	+	-	VII / III	немає	немає

ДОДАТОК 3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Миронівського
інституту пшениціімені В.М. Ремесла НААН
член-кореспондент НААН

О.А. Демидов

« 1 » лютого 2018 р.

АКТ

**впровадження у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції озимої
пшениці Миронівського інституту пшениці
імені В.М. Ремесла НААН**

Алельні характеристики за генами фотоперіодичної чутливості *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1*, що були визначені у результаті виконання наукових досліджень науковцями кафедри генетики і молекулярної біології Одеського Національного університету імені І.І. Мечникова за НДДКР «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці і сої та залежність розвитку рослин від їхнього алельного складу, за даними ПЛР-аналізу» (№ держреєстрації 0117U001114) для сортів пшениці м'якої озимої Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН, зокрема для сортів: Берегиня миронівська, Горлиця миронівська, Економка, Зимоярка, Крижинка, Легенда Миронівська, Миронівська золотоверха, Миронівська 65, Миронівська ранньостигла, Миронівська сторічна, Оберіг Миронівський, Пам'яті Ремесла, Світанок Миронівський, Ювіляр Миронівський, впроваджено у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції озимої пшениці Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН.

Завідуючий

лабораторії селекції озимої пшениці

Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН

кандидат с.-г. наук

Гуменюк О.В.

ДОДАТОК И

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту зрошуваного
землеробства НААН

Р.А.Вожегова

2018 р.

АКТ

впровадження у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції і насінництва пшениці озимої Інституту зрошуваного землеробства НААН

Алельні характеристики за генами фотоперіодичної чутливості *Ppd-D1*, *Ppd-B1*, *Ppd-A1*, що були визначені у результаті виконання наукових досліджень за НДДКР «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці і сої та залежність розвитку рослин від їхнього алельного складу, за даними ПЛР-аналізу» (№ держреєстрації 0117U001114) для сортів пшениці м'якої озимої Інституту зрошуваного землеробства НААН, зокрема для сортів: Анатолія, Бургунка, Конка, Кохана, Кошова, Леда, Марія, Овідій, Росинка, Соборна, Херсонська безоста, Херсонська 99 впроваджено у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції і насінництва пшениці озимої Інституту зрошуваного землеробства НААН.

Головний науковий співробітник
доктор с.-г. наук

Ю. О. Лавриненко