

ЧЕБОТАРЬ Г.А.¹✉, СЕЧНЯК В.Е.², ЮРГАНОВА Т.Ю.¹, ЧЕБОТАРЬ С.В.^{1,2}¹ Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,

Украина, 65058, г. Одесса, Шампанский переулок, 2, e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

² Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения НААН (СГИ – НЦСС),

Украина, 65036, г. Одесса, Овидиопольская дор., 3

✉ s.v.chebotar@onu.edu.ua, (0482) 68-11-02

ПОЛИМОРФИЗМ В РЕГИОНЕ, ПРЕДШЕСТВУЮЩЕМ КОДИРУЮЩЕЙ ОБЛАСТИ
ГЕНА *Ppd-D1*, У *AEGILOPS TAUSCHII* COSS.

Цель. Оценить влияние полиморфизмов в регионе, предшествующем кодирующей области гена *Ppd-D1*, на сроки колошения и цветения в коллекционных образцах *Aegilops tauschii* Coss., донора генома D мягкой пшеницы. **Методы.** Выделение ДНК, аллель-специфичная ПЦР, электрофорез в полиакриламидном геле, двухфакторный дисперсионный анализ. **Результаты.** Согласно данным аллель-специфичной ПЦР с праймерами к аллелю *Ppd-D1b*, в коллекционных образцах *Ae. tauschii* выявлен полиморфизм по длине в области, предшествующей кодирующей. В образцах k-78, k-396, k-529, k-531, k-1144, k-1162, k-1235, k-1273, k-1283 детектирован фрагмент размером 414 п. н., в образцах k-187, k-968, k-2178 – фрагмент 429 п. н., а в образцах k-80, k-2358, *Tetra tauschii* – 453 п. н. Результаты трехлетнего полевого эксперимента показали достоверное влияние выявленных полиморфизмов на время колошения и цветения. **Выводы.** В генотипах образцов из коллекции *Ae. tauschii* при проведении аллель-специфичной ПЦР с праймерами к *Ppd-D1b* аллелю детектировали фрагменты амплификации размером 414 п. н., 429 п. н. и 453 п. н. Аллель *Ppd-D1a* в коллекции *Ae. tauschii* не обнаружен. Образцы эгилопсов – носители инсерций 24+15 п. н., у которых с помощью аллель-специфичной ПЦР детектирован аллель 453 п. н., – характеризовались более ранними сроками колошения и цветения в отдельные годы.

Ключевые слова: колошение и цветение, *Ppd-D1* ген, *Aegilops tauschii* Coss.

Фотопериодизм – реакция растений на длину светового дня, от которой зависят темпы индивидуального развития и срок зацветания растений. Вариабельность фотопериодической реакции у разных растений обеспечивает их

адаптацию к конкретным условиям внешней среды и проявляется в ускорении или замедлении роста и развития растения в зависимости от комплекса сезонных и климатических условий определенного региона. Чувствительность к фотопериоду у растений возникла в процессе эволюции как генетически детерминированная адаптивная реакция на климатические условия конкретного региона и служит показателем региональной адаптации [1].

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) – растение длинного дня, которое раньше зацветает при продолжительном световом дне [2], а также является наиболее приспособленным к различным фотопериодам злаком. *Ppd* гены, контролирующие чувствительность растений пшеницы к длине светового дня, располагаются на второй гомеологичной группе хромосом. Ген *Ppd-D1*, локализованный на 2D хромосоме *T. aestivum* L., является одним из мажорных генов пшеницы, и его аллельное состояние может объяснять до 58% генотипической вариации по времени зацветания [3]. Донором D-генома мягкой пшеницы является *Aegilops tauschii* Coss. [4]. Аллельные различия по генам фотопериодической чувствительности, а также полиморфизм на уровне гаплотипов активно изучаются в настоящее время с целью объяснения широкой адаптации пшеницы к различным условиям по длине светового дня [5–7], а также селекции генотипов, максимально эффективных в тех или иных условиях произрастания.

Мажорный аллель *Ppd-D1a*, определяющий нечувствительность к фотопериоду, приводит к раннему цветению как в условиях короткого (10 часов или меньше светового дня), так и длинного дня (14 часов или больше светового дня) и содержит делецию размером 2089 п. н. перед кодирующим регионом (рис. 1) [8]. Для детекции аллеля *Ppd-D1a* Beales с соавтора

© ЧЕБОТАРЬ Г.А., СЕЧНЯК В.Е., ЮРГАНОВА Т.Ю., ЧЕБОТАРЬ С.В.

ми [8] предложили пару праймеров Ppd-D1_F и Ppd-D1_R2, которая при амплификации с геномной ДНК пшеницы дает фрагмент размером 288 п. н. Чувствительные к фотопериоду сорта не имеют такой делеции и в результате аллель-специфичной ПЦР с альтернативной парой праймеров Ppd-D1_F и Ppd-D1_R1, предложенной этими же авторами, у таких сортов детектируют фрагменты амплификации размером 414 п. н.

В наших предыдущих работах [9, 10], посвященных анализу полиморфизма по гену *Ppd-D1* у 30 и 49 сортов озимой и яровой пшеницы, созданных в Украине, нами не было детектировано инсерций 24 + 15 п. н. перед кодирующим регионом гена *Ppd-D1*. В то же время большинство озимых украинских сортов, как показано нами и В.И. Файтом и др. [7], характеризовалось *Ppd-D1a* аллелем.

Целью нашей работы было оценить влияние полиморфизмов в регионе, предшествующем кодирующей области гена *Ppd-D1*, на сроки колошения и цветения в коллекционных образцах *Aegilops tauschii* Coss., донора генома D мягкой пшеницы.

Материалы и методы

Исследованы коллекционные образцы *Aegilops tauschii* Coss. (k-78, k-80, k-187, k-396, k-529, k-531, k-968, k-1144, k-1162, k-1235, k-1273, k-1283, k-2178, k-2358) из Всероссийского института растениеводства (ВИР) (г. Санкт-Петербург, РФ), а также образец *Tetra tauschii*, предоставленный с. н. с., к. б. н. Р.Л. Богуславским, из коллекции сортов Национального центра генетических ресурсов расте-

ний Украины (НЦГРРУ) Института растениеводства имени В.Я. Юрьева (г. Харьков).

ДНК выделяли из 5–7-дневных этиолированных проростков с помощью СТАВ-буфера согласно методическим рекомендациям [11].

Для амплификации *Ppd-D1a* аллеля в ПЦР использовали два олигонуклеотидных праймера Ppd-D1_F и Ppd-D1_R2, а для амплификации *Ppd-D1b* аллеля – праймеры Ppd-D1_F и Ppd-D1_R1 (рис. 1), как рекомендовано [8].

Реакционная смесь для проведения ПЦР объемом 20 мкл содержала: 2,0 мкл 10 х ПЦР – буфера (50 мМ KCl, 20 мМ трис-HCl pH 8,4 (25°C), 0,01% Tween 20), 4 нмоль dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 1,5 мМ MgCl₂, 250 нМ левого и правого праймеров, 100 нг ДНК и 1 единицу Dream Taq-полимеразы (Fermentas). В пробирки поверх реакционной смеси добавляли 20 мкл минерального масла. Амплификацию проводили согласно [8]: начальная денатурация: 94°C – 2 мин; 30 циклов, которые включали: денатурацию 94°C – 40 сек, отжиг праймеров 54°C – 30 сек, элонгацию 72°C – 1 мин., и заключительную элонгацию 72°C – 7 мин.

Продукты амплификации фракционировали при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном геле (ПААГ). Для визуализации продуктов амплификации использовали окрашивание ПААГ с помощью AgNO₃ согласно методике 'Silver sequence TM DMA Sequencing System Technical Manual' (Promega) [12]. Полученные результаты документировали с помощью цифровой фотокамеры. Размеры амплифицированных фрагментов вычисляли, используя программу Image Master 1 D Elite v 3.1. и маркер молекулярной массы pUC19/Msp I.

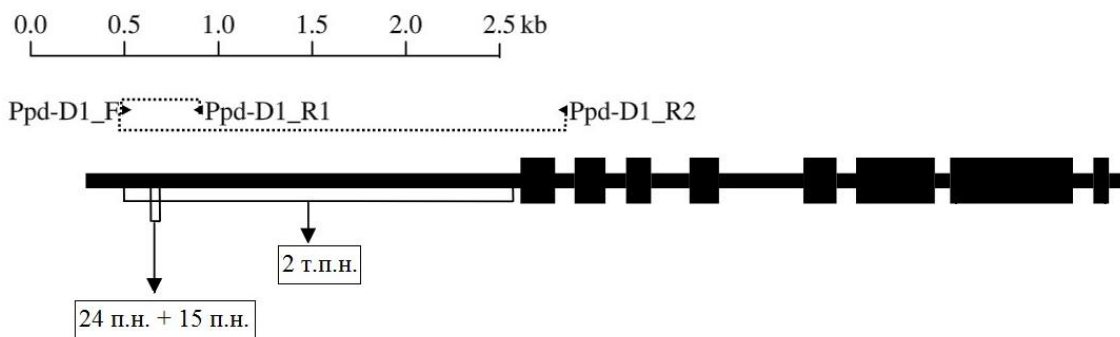


Рис. 1. Схематическое строение гена *Ppd-D1* на основе данных секвенирования нуклеотидной последовательности у сортов пшеницы. Показаны возможные полиморфизмы в области перед кодирующим регионом и места отжига праймеров. Высокие черные прямоугольники представляют кодирующие области, а низкие прямоугольники представляют интроны 5'-НТР и 3'-НТР (цитируется с изменениями согласно [5]).

Полевые наблюдения проводили в 2013, 2014 и 2016 годах на экспериментальном участке СГИ – НЦНС (с. Дачное, Одесская область). Во время вегетации и сбора урожая измеряли такие признаки: время колошения, время цветения и высоту растений. В поле, кроме изучаемых в этой работе образцов эгилопсов, выращивали и ранее проанализированные [9] с помощью аллель-специфичной ПЦР образцы *Ae. tauschii* Coss.: k-108, k-358, k-396, k-608, k-1322, k-1957, для которых характерен фрагмент амплификации размером 414 п.н.; k-76, k-178, k-415, k-602, k-667, k-677, k-2363 – 453 п. н.; а так же k-55, k-216, k-362, k-624, k-678, k-1761 – 429 п. н. Двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) проводили в программе Statistica 10.

Результаты и обсуждение

В исследованных в работе при помощи аллель-специфичных праймеров Ppd-D1_F и Ppd-D1_R1 к *Ppd-D1* гену образцах *Ae. tauschii*: k-78, k-396, k-529, k-531, k-1144, k-1162, k-1235, k-1273, k-1283 детектирован фрагмент амплификации 414 п. н.; в образцах k-187, k-968, k-2178 – 429 п. н.; для k-80, k-2358, *Tetra tauschii* выявлен фрагмент 453 п. н. Beales et al. [8] показали соответствие фрагмента амплификации 414 п. н. аллелю *Ppd-D1b*, обуславливающему чувствительность к фотопериоду растений пшеницы. Два других гаплотипа по аллелю *Ppd-D1b* отличаются наличием инсерции 15 п. н. – фрагмент амплификации 429 п. н., либо инсерциями 15 и 24 п. н., разделенными между собой после-

довательностью 105 п. н. [8, 9]. Полученные данные свидетельствуют о наличии генетического полиморфизма (рис. 2) и существовании гаплотипов по аллелю *Ppd-D1b* в регионе, предшествующем кодирующей области, у изученных образцов. Аллель *Ppd-D1a* в коллекции *Ae. tauschii* нами не был обнаружен. Полученные результаты согласуются с данными Guo et al. [5], Huang et al. [13], Г.А. Чеботарь и др. [9], в работах которых также не был детектирован *Ppd-D1a* аллель у образцов *Ae. tauschii*.

Ранее, при выращивании эгилопсов в полевых условиях в 2010 году [9], не было определено достоверного влияния мутаций в области, предшествующей кодирующей, на дату колошения. С учетом результатов, полученных Huang et al. [13], которые свидетельствуют в пользу того, что у растений с инсерцией 24 + 15 п. н. (детектируется фрагмент амплификации 453 п. н.) отмечаются более ранние сроки колошения, нами были продолжены полевые наблюдения в 2013, 2014 и 2016 годах.

Двухфакторный дисперсионный анализ данных, полученных за 3 года полевого эксперимента, показал достоверное влияние факторов «Год» и «Полиморфизм региона, предшествующего кодирующей области гена *Ppd-D1*» на даты колошения и цветения (табл. 1, рис. 3). На нашей выборке анализируемых эгилопсов на высоту растений влиял фактор «Год». Взаимодействие «Год» x «Полиморфизм региона, предшествующего кодирующей области гена *Ppd-D1*» не влияло на исследуемые признаки.

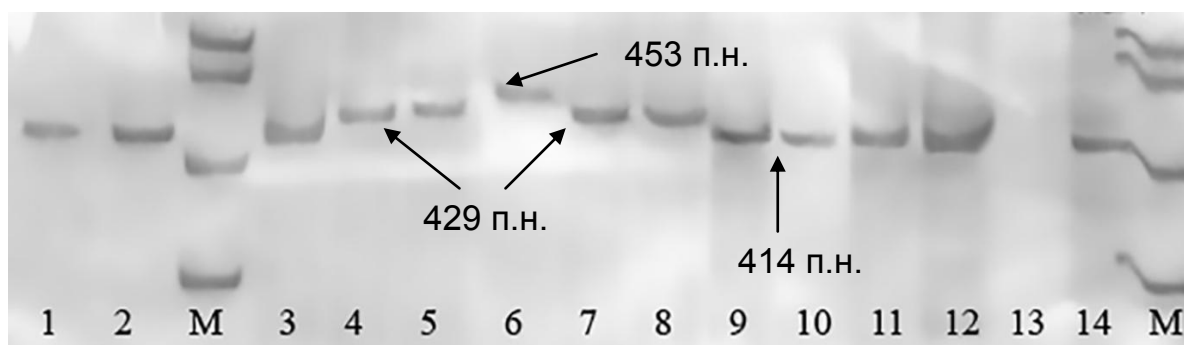


Рис. 2. Электрофоретическое разделение в 7% ПААГ продуктов амплификации ДНК, полученных с помощью ПЦР анализа с праймерами к аллелю *Ppd-D1b*. Продукты ПЦР для линий *Ae. tauschii* Coss.: 1 – k-1235; 2 – k-529.1; 3 – k-529.2; 4 – k-968.1; 5 – k-968.2; 6 – k-80.2; 7 – k-187.1; 8 – k-187.2; 9 – k-1273.1; 10 – k-1162.1; 11 – k-396.1; 12 – k-396.2; 13 – контрольная линия пшеницы с *Ppd-D1a* аллелем; 14 – контрольная линия пшеницы с *Ppd-D1b* аллелем (фрагмент амплификации 414 п. н.).

Таблица 1. Результаты дисперсионного анализа, полученные при исследовании образцов *Ae. tauschii* Coss.

Признак	Источник вариации, mS			Ошибка (df=62)
	«Год» (df=2)	«Полиморфизм региона, предшествующего кодирующей области гена <i>Ppd-D1</i> » (df=2)	Взаимодействие «Год» x «Полиморфизм региона, предшествующего кодирующей области гена <i>Ppd-D1</i> » (df=4)	
Дата колошения	259,1***	140,4***	20,7	16,5
Дата цветения	397,4***	49,1*	19,5	11,71
Высота растений	2683,5***	64,7	22,9	41,6

Примечания: * – достоверно при $p=0,05$; *** – достоверно при $p=0,001$. Достоверность влияния факторов «Год», «Полиморфизм региона, предшествующего кодирующей области гена *Ppd-D1*» и их взаимодействия определена по F-критерию Фишера для соответствующего фактора или взаимодействия [14].

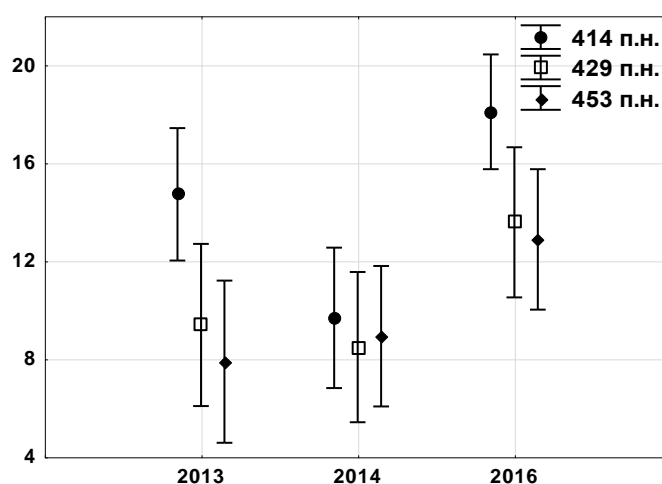


Рис. 3. Время колошения эгилопсов в зависимости от года и полиморфизма продуктов амплификации, полученных с праймерами *Ppd-D1_F* и *Ppd-D1_R1* к *Ppd-D1* гену. По оси X указаны годы, в которые проводили полевые исследования. По оси Y – дата колошения, дни с начала мая.

Согласно данным полевых наблюдений, в отдельные годы прослеживается достоверная разница по времени начала колошения у представителей *Ae. tauschii*, у которых детектируется фрагмент амплификации размером 453 п. н. по сравнению с образцами с «классическим» аллелем *Ppd-D1b* – фрагмент амплификации 414 п. н. Данная тенденция сохраняется до начала цветения, и растения с фрагментом амплификации 453 п. н. зацветают раньше. Однако эта разница может нивелироваться условиями года.

Определенные с помощью молекулярных маркеров образцы *Ae. tauschii*, носители инсерции 24+15 п. н. в регионе, предшествующем кодирующей области гена *Ppd-D1*, могут послужить донорами признака «раннее колошение» для пшеницы и создания, возможно, более ранних и более толерантных к засухе сортов. Такие генотипы можно рассматривать как источник генов, позволяющих растениям, как

принято говорить, «уходить» от засухи и высоких температур в период налива зерна, эпифитотий бурой и стеблевой ржавчины [6], избегать высоких температур при выходе из трубки в начале мая, а так же в дальнейшем проходить критические фазы онтогенеза до наступления высоких температур, которые характерны для степной зоны юга Украины.

Выводы

Установлено, что в генотипах исследованных образцов коллекции *Ae. tauschii* Coss. при проведении аллель-специфичной ПЦР с праймерами к *Ppd-D1b* аллелю выявляются фрагменты амплификации размером 414 п. н., 429 п. н. и 453 п. н. Так, для образцов *Ae. tauschii* k-78, k-396, k-529, k-531, k-1144, k-1162, k-1235, k-1273, k-1283 длина фрагментов амплификации при аллель-специфичном ПЦР-анализе с праймерами *Ppd-D1_F1* и *Ppd-D1_R1*

составляет 414 п. н.; у образцов k-187, k-968, k-2178 детектирован фрагмент амплификации 429 п. н., а у *Tetra tauschii* k-80, k-2358 – 453 п.н. Аллель *Ppd-D1a* в коллекции *Ae. tauschii* не обнаружен.

Образцы эгилопсов – носители инсерций 24+15 п. н. в регионе, предшествующем кодирующей области гена *Ppd-D1* (у которых с помощью аллель-специфичной ПЦР детектирован аллель 453 п. н.), характеризовались более ран-

ними сроками колошения и зацветания в отдельные годы. Отобранные образцы *Ae. tauschii*, несущие данный фрагмент амплификации, могут быть использованы для интрогрессивной гибридизации как доноры гаплотипа 24 + 15 п. н. аллеля *Ppd-D1b*, обуславливающего более раннее цветение и колошение злака.

Приносим благодарность в. н. с., к. б. н. Моцному И.И. (СГИ – НЦНС) за предоставление семян коллекционных образцов Ae. tauschii Coss.

Литература

1. Тоцький В.М., Дьяченко Л.Ф., Мутерко О.Ф., Балашова І.А., Топтиков В.А. Генетична детермінація і функція RR-білків – регуляторів фотоперіодичних реакцій і циркадних ритмів у рослин. *Цитологія і генетика*. 2012. № 5. С. 72–73.
2. Олейникова Т.В. Влияние длины дня и температуры на формирование зачаточного колоса у хлебных злаков. *Морфогенез растений*. М.: Изд. МГУ, 1961. Т. 1. С. 133–170.
3. Langer S.M., Longin C.F.H., Würschum T. Flowering time control in European winter wheat. *Front Plant Sci*. 2014. Vol. 5. P. 537. doi: 10.3389/fpls.2014.00537.
4. Feldman M. Origin of cultivated wheat. *The world wheat book: a history of wheat breeding* / Bonjean A.P., Angus W.J., editors. Paris: Lavoisier Publishing, 2001. P. 3–56.
5. Guo Z., Song Y., Zhou R., Ren Z., Jia J. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytologist*. 2010. Vol. 185. P. 841–851.
6. Федорова В.Р. Відмінності ефектів генів фотоперіодичної реакції в озимій м'якої пшениці: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Одеса, 2004. 19 с.
7. 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.
8. Beales J., Turner A., Griffiths S., et. al. A Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2007. Vol. 115. P. 721–733.
9. Чеботар Г.О., Чеботар С.В., Бабенко Д.О., Моцний І.І., Щербань А.Б., Сиволап Ю.М. Алелі гена *Ppd-D1* у зразках колекції *Aegilops tauschii* і м'якої пшениці. *Biopolymers and Cell*. 2012. Vol. 28, № 2. P. 149–155.
10. Vakuma A., Chebotar G., Filimonov V., Kyrylyuk T., Chebotar S. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. *Book of abstracts 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding jointly organized by EUCARPIA Cereal Section* (Budapest, 6–9 November, 2017). *Cereal Research Communications* 45 (Suppl.). 2017. P. 35–36. doi: 10.1556/0806.45.2017.100.
11. Использование ПЦР анализа в генетико-селекционных исследованиях / под редакцией Ю.М. Сиволапа. Киев: Аграрна наука, 1998. С. 24–37.
12. Promega Technical Manual. Gene Print. STR Systems. New York, 1999. Is. 7. 52 p.
13. Huang L., Wang Q., Zhang L., Yuan Z., Wang J., Zhang H., Zheng Y., Liu D. Haplotype variations of gene *Ppd-D1* in *Aegilops tauschii* and their implications on wheat origin. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2011. Springer published online: doi: 10.1007/s10722-011-9741 2.
14. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Высшая школа, 1973. 320 с.

References

1. Totskii V.M., Dyachenko L.F., Muterko O.F., Balashova I.A., Toptikov V.A. Genetic determination and function of RR proteins, regulators of photoperiodic reactions, and circadian rhythms in plants. *Cytol Genet*. 2012. Vol. 46, No. 5. P. 319–334. doi: 10.3103/S009545271205009X.
2. Oleynikova T.V. Effect of day length and temperature on the formation of rudimentary spike in cereals. *Morphogenesis of plants*. Moscow: Izd. Moscow State University, 1961. Vol. 1. P. 133–170.
3. Langer S.M., Longin C.F.H., Würschum T. Flowering time control in European winter wheat. *Front Plant Sci*. 2014. Vol. 5. P. 537. doi: 10.3389/fpls.2014.00537.
4. Feldman M. Origin of cultivated wheat. In: Bonjean A.P., Angus W.J., editors. *The world wheat book: a history of wheat breeding*. Paris: Lavoisier Publishing, 2001. P. 3–56.
5. Guo Z., Song Y., Zhou R., Ren Z., Jia J. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene. *New Phytologist*. 2010. Vol. 185. P. 841–851. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03099.x.
6. Fedorova V.R. Differences of the effects of photoperiodic sensitivity genes in winter bread wheat. PhD Thesis. Odesa, 2004. 19 p.
7. Fayt V.I., Balashova I.A., Fedorova V.R., Balvinska M.S. Identification of bread wheat Ppd-genotypes by hybridological and STS-PCR analysis. *Plant physiology and genetics*. 2014. Vol. 46, № 4. P. 325–336.
8. Beales J., Turner A., Griffiths S., et. al. A Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2007. Vol. 115. P. 721–733. doi: 10.1007/s00122-007-0603-4.

- Chebotar G.O., Chebotar S.V., Babenko D.O., Motsnyy I.I., Scherban A.B., Sivolap Yu. M. Alleles of *Ppd-D1* gene in the collection of *Aegilops tauschii* accessions and bread wheat varieties. *Biopolymers and Cell*. 2012. Vol. 28, № 2. P. 149–155. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000042>.
- Bakuma A., Chebotar G., Filimonov V., Kyrylyuk T., Chebotar S. Haplotypes of *Ppd-D1* gene and alleles of *Ppd-A1* and *Ppd-B1* in Ukrainian wheat varieties. *Book of abstracts 4th Conference of Cereal Biotechnology and Breeding jointly organized by EUCARPIA Cereal Section* (Budapest, 6–9 November, 2017). *Cereal Research Communications* 45 (Suppl.). 2017. P. 35–36. doi: 10.1556/0806.45.2017.100.
- The using of PCR analysis in genetic-selection studies. Scientific and methodological guidance / Ed. Yu.M. Sivolap. Kyiv: Agrarna Nauka, 1998. P. 24–37.
- Promega Technical Manual. Gene Print. STR Systems. New York, 1999. Is. 7. 52 p.
- Huang L., Wang Q., Zhang L., Yuan Z., Wang J., Zhang H., Zheng Y., Liu D. Haplotype variations of gene *Ppd-D1* in *Aegilops tauschii* and their implications on wheat origin. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2011. Springer published online: doi: 10.1007/s10722-011-9741 2
- Rokitsky P.F. Biological Statistics. Minsk: Vysheish. Shk., 1973. 320 p.

CHEBOTAR G.O.¹, SECHNYAK V.E.², YURGANOVA T.Yu.¹, CHEBOTAR S.V.^{1,2}

¹ Odessa National Mechnikov University,

Ukraine, 65058, Odessa, Shampansky lane 2, e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

² Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seeds and Cultivar Investigations NAAS, Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopol'skaya doroga, 3

POLYMORPHISM UPSTREAM THE CODING REGION OF THE *Ppd-D1* GENE IN *AEGILOPS TAUSCHII* COSS.

Aim. Evaluate time of heading and flowering in *Aegilops tauschii* Coss. accessions, donor of the bread wheat D genome, that are differentiated by polymorphism at upstream the coding region of the *Ppd-D1* gene. **Methods.** NA extraction, allele-specific PCR, electrophoresis in polyacrylamide gel, two-factor analysis of variance. **Results.** We have found polymorphism upstream the coding region of *Ppd-D1* gene with the help of the allele-specific PCR with primers to the *Ppd-D1b* allele in the accessions from the collection of *Ae. tauschii*. Fragment 414 bp was detected in the samples: k-78, k-396, k-529, k-531, k-1144, k-1162, k-1235, k-1273, k-1283, fragment 429 bp have been revealed in the samples k-187, k-968, k-2178, and 453 bp – in the samples k-80, k-2358, *Tetra tauschii*. The results of a three-year field experiment showed a significant effect of the detected polymorphisms on the time of heading and flowering. **Conclusions.** Among the *Ae. tauschii* accessions by allele-specific PCR with primers to the *Ppd-D1b* allele have been tested amplification fragments 414 bp, 429 bp and 453 bp. Allele *Ppd-D1a* was not found in the collection of *Ae. tauschii* accessions. Samples of aegilops that are carrier of insertions 24 + 15 bp (for which the fragment 453 bp was detected by allele-specific PCR) – were characterized by earlier heading and flowering time in certain years.

Keywords: time of heading and flowering, *Ppd-D1* gene, *Aegilops tauschii* Coss.

ЧЕБОТАР Г.О.¹, СЕЧНЯК В.Є.², ЮРГАНОВА Т.Ю.¹, ЧЕБОТАР С.В.^{1,2}

¹ Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,

Україна, 65058, м. Одеса, Шампанський провулок, 2, e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

² Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннізнавства та сортовивчення НААН, Україна, 65036, м. Одеса, Овідіопольська дор., 3

ПОЛІМОРФІЗМ В РЕГІОНІ, ЩО ПЕРЕДУЄ КОДУЮЧІЙ ДІЛЯНЦІ ГЕНА *Ppd-D1*, У *AEGILOPS TAUSCHII* COSS.

Мета. Оцінити вплив поліморфізмів в регіоні, що передуює кодуючій ділянці гена *Ppd-D1*, на строки колосіння та цвітіння в колекційних зразках *Aegilops tauschii* Coss., донора геному D м'якої пшениці. **Методи.** Виділення ДНК, алель-специфічна ПЛР, електрофорез в поліакриламідному гелі, двохфакторний дисперсійний аналіз. **Результати.** Згідно даних алель-специфічної ПЛР з праймерами до алелю *Ppd-D1b*, в колекційних зразках *Ae. tauschii* виявлено поліморфізм за довжиною в області, що передуює кодуючій. В зразках – k-78, k-396, k-529, k-531, k-1144, k-1162, k-1235, k-1273, k-1283 детектували фрагмент розміром 414 п.н., в зразках k-187, k-968, k-2178 – фрагмент 429 п.н., а в зразках k-80, k-2358, *Tetra tauschii* – 453 п.н. Результати трирічного польового експерименту показали достовірний вплив зазначених поліморфізмів на час колосіння та цвітіння. **Висновки.** У генотипах досліджених зразків колекції *Ae. tauschii* при проведенні алель-специфічної ПЛР з праймерами до *Ppd-D1b* алелю детермінуються фрагменти ампліфікації розміром 414 п.н., 429 п.н. і 453 п.н. Алель *Ppd-D1a* в колекції *Ae. tauschii* не виявлений. Зразки егілопсів – носії інсерцій 24 + 15 п.н., у яких за допомогою алель-специфічної ПЛР детектували алель 453 п.н. – характеризувалися більш ранніми строками колосіння та зацвітання в окремі роки.

Ключові слова: реакція на фотоперіод, *Ppd-D1* ген, *Aegilops tauschii* Coss.