

КОЗУБ Н.О.<sup>1,2</sup>, СОЗІНОВ І.О.<sup>1</sup>, СОЗІНОВА О.І.<sup>1</sup>, КАРЕЛОВ А.В.<sup>1,2</sup>, БЛЮМ Я.Б.<sup>2</sup><sup>1</sup> Інститут захисту рослин НААН,

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 33, e-mail: natalkozub@gmail.com, sia1@i.com.ua

<sup>2</sup> ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»,

Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а

✉ natalkozub@gmail.com, (097) 212-40-89, (044) 257-22-58

ОЦІНКА ЗРАЗКІВ *AEGILOPS BIUNCIALIS* VIS. ЗА ЧАСОМ ЦВІТІННЯ

Швидкість виколошування-цвітіння (скоростиглість) у пшениці *Triticum aestivum* L. та її родичів контролюється трьома основними генетичними системами: відповіді на яровизацію, чутливості до фотоперіоду та скоростиглості *per se* [1–5]. Потреба в яровизації визначається генами *Vrn* [1, 2, 4], а також генами контролю тривалості яровизації *Vrd* [3]. Чутливість до фотоперіоду (довжини дня) контролюється генами *Ppd* [1, 2, 4]. Гени скоростиглості *per se Eps* визначають відмінності у часі цвітіння після повного задоволення потреб у яровизації і фотоперіоді [5]. Вважається, що гени *Eps*, здійснюють точне «налаштування» часу цвітіння [6]. Серед відомих генів *Eps* – гени в локусі *Eps-A1<sup>m</sup>* на довгому плечі хромосоми 1A [5, 7], локусі *Eps-3A<sup>m</sup>* на хромосомі 3A *T. monococtum* та *Eps-D1* на довгому плечі хромосоми 1D *T. aestivum* [6, 8, 9]. Для певних *Eps* генів показано модулювання їх ефектів температурою та взаємодію з *Ppd* генами [8, 9].

Представники роду *Aegilops* здебільшого відносяться до рослин довгого дня з озимим типом розвитку [4, 10]. Тетраплоїдний вид *Aegilops biuncialis* Vis. (UUM<sup>b</sup>M<sup>b</sup>, 2n=28) є одним із найбільш поширених видів егілопсів. Його ареал включає Південно-східну Європу та прилеглий азіатський регіон (Егейські острови,

Болгарію, Туреччину, Кіпр), західну дугу Родючого Півмісяця, східну частину Прикавказзя та Закавказзя, південну частину Криму [10–12]. Цей вид характеризується адаптацією до широкого спектра кліматичних умов [13], значним різноманіттям як за реакцією на абіотичні і біотичні фактори [14], так і високим рівнем генетичного різноманіття за молекулярно-генетичними маркерами [15–17]. Завданням нашої роботи було дослідження відмінностей у скоростиглості (часі цвітіння) у зразків *Ae. biuncialis* з різних місцевостей Криму.

## Матеріали і методи

Матеріалом дослідження слугували зразки *Ae. biuncialis* з кримських популяцій з місцевостей Кара-Даг, Ечки-Даг, Мис Мартьян, Аю-Даг, Берегове, Піщане Бахчисарайського р-ну, Севастополя, в тому числі зразки колекції, яка включає зразок NKO2 невідомого походження [18]. Для розмноження висівали окремі колоси на дослідній ділянці (с. Гатне, Київ. обл.). Зразки вирощували протягом 1–4 років в 1–6 повтореннях. Оцінку скоростиглості проводили в 2008, 2009, 2011, 2014 і 2015 рр. Дати посіву та обліків виколошування-цвітіння та кількість проаналізованих зразків наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Дата посіву зразків *Ae. biuncialis* та дати обліку виколошування-цвітіння

Дата посіву	Дати обліків	Кількість зразків
9.09.2007	28.05.2008, 30.05.2008, 30.06.2008	75
8.09.2008	22.05.2009, 26.05.2009, 28.05.2009, 4.06.2009	23
14.09.2010	22.05.2011, 29.05.2011, 2.06.2011	87
11.09.2013	27.05.2014, 30.05.2014, 2.06.2011, 6.06.2011	25
10.09.2014	24.05.2015, 27.05.2015, 1.06.2015	25

Відмічали стан виколошування зразків на час обліку за допомогою бальної системи: «не виколосився» (0 балів), «починає виколошувати» – є колоси на менш ніж половині стебел (1 бал); «виколосився» – колоси на більш ніж половині стебел (2 бали); «цвіте» – пиляки ви-

тисся» – є колоси на менш ніж половині стебел (1 бал); «виколосився» – колоси на більш ніж половині стебел (2 бали); «цвіте» – пиляки ви-

кинуті принаймні на одному колосі (3 бали). Підсумовували кількість балів для кожного зразка і на основі сумарного бала розподіляли зразки в три групи стиглості: група 1 – найшвидше виколошування, група 3 – найповільніше виколошування, група 2 – проміжна.

### Результати та обговорення

Вирощування колекції зразків *Ae. biuncialis* на дослідній ділянці показало значну різноманітність у часі виколошування-цвітіння. Так, відмінності в часі цвітіння між

деякими зразками становили більше 10 днів (при обліку в 2011 і 2014 р.). Хоча час колосіння-цвітіння є кількісною ознакою, в нашому дослідженні розподіляли зразки лише на три групи – з найшвидшим виколошуванням-цвітінням (група 1), з найповільнішим (група 3) і проміжною група 2 в кожен рік дослідження і порівнювали дані, одержані для різних років і повторень. Серед загальної вибірки проаналізованих 127 зразків виявилася приблизно однакова кількість зразків, віднесених до кожної групи – 37 у групі 1, 43 в групі 2 і 47 у групі 3 (табл. 2).

Таблиця 2. Розподіл зразків за швидкістю цвітіння у зразків *Ae. biuncialis* з різних місцевостей

Походження	Група 1	Група 2	Група 3	Усього
Аю-Даг	-	-	4	4
Берегове Бахчисарайського р-ну	1	4	7	12
Ечки-Даг	9	16	1	26
Кара-Даг	23	3	-	26
Мис Март'ян	1	15	27	43
Піщане	1	4	5	10
Севастополь	1	1	3	5
	1			1
Разом	37	43	47	127

Основну частку зразків із раннім цвітінням (група 1) становили зразки, що походять зі східної частини кримського узбережжя: Кара-Дагу і Ечки-Дагу (табл. 2). Серед зразків із Кара-Дагу майже 90 % характеризуються раннім цвітінням, решта відносяться до проміжної групи, зразків із пізнім цвітінням з цієї місцевості не виявлено. Серед зразків Ечки-Дагу більшість (62 %) відносилися до групи 2, ранньостиглих зразків – 35 % пізньостиглим виявився лише 1 зразок.

У групі 3 з пізнім цвітінням більшість зразків походили з південної частини ареалу цього виду в Криму (Мис Март'ян, Аю-Даг). Зразки з Аю-Дагу стабільно характеризувалися лише пізнім виколошуванням (група 3). Більшість зразків із Мису Март'ян також проявляють пізнє цвітіння (63 %), а решта – мають проміжний рівень цієї ознаки.

Зразки із західної та південно-західної частини ареалу (Берегове, Піщане, Бахчисарайського р-ну, Севастополь) також відносяться переважно до груп 2 і 3, з деякою перевагою зразків з пізнім цвітінням.

Якщо практично всі зразки *Ae. biuncialis* з Кара-Дагу належать до однієї групи за часом цвітіння, то серед зразків з інших популяцій спостерігається певна різноманітність за часом цвітіння.

Отже, в результаті багаторічних досліджень виявлено географічну диференціацію за швидкістю виколошування у *Ae. biuncialis*: найбільш ранньостиглими є зразки із західного узбережжя (Кара-Даг і, в меншій мірі, Ечки-Даг), тоді як зразки південної та західної частини ареалу виколошуються пізніше. Такі відмінності можуть пояснюватися адаптацією до мікрокліматичних умов різних регіонів Криму. Наприклад, зразки з раннім виколошуванням-цвітінням виявлені в південно-східному кліматичному районі Криму, який характеризується як дуже засушливий, жаркий, з дуже м'якою зимою. Відмінності за часом цвітіння було виявлено і при аналізі інших видів егілопсів [10, 19]. Matsuoka et al. [19] показали велику різноманітність за часом цвітіння серед зразків *Ae. tauschii* та зв'язок ранньостиглості з походженням зразків: так, наприклад, зразки

*Ae. tauschii* з раннім цвітінням поширені в східній частині ареалу виду – у зонах з континентальним азіатським кліматом.

Стратегічним завданням створення колекції зразків егілопсів є перенесення нових цінних генів до культурних пшениць. Ознака «час цвітіння», або швидкість виколошування, має велике значення для практичного використання в міжвидовій гібридизації. Оптимальними для цього будуть зразки, час цвітіння яких збігається з часом цвітіння пшениці під час вирощування на дослідній ділянці. У наших дослідженнях виявилось, що найбільш зручними з цієї точки зору є зразки *Ae. biuncialis*, що походять з Кара-Дагу (на рівні часу цвітіння сорту Безоста 1).

Раніше нами розпочато створення колекції зразків *Ae. biuncialis*, яка репрезентувала б

різноманітність алелів за локусами запасних білків [18]. У табл. 3 наведено характеристику зразків цієї колекції за скоростиглістю.

У цій колекції представлені зразки з трьома різними рівнями скоростиглості: 10 зразків із раннім цвітінням, 9 – з середнім рівнем, 5 – пізні. Зразки з раннім цвітінням походять з Кара-Дагу (8), 1 з Ечки-Дагу і 1 зразок невідомого походження. Пізньостиглими є зразки з Аю-Дагу (2), Мису Мартьян (1), Берегового і Піщаного (1). Таким чином, зразки колекції можна використовувати у міжвидовій гібридизації як із врахуванням складу алелів за локусами запасних білків, так і часу цвітіння.

Таблиця 3. Характеристика зразків генетичної колекції *Ae. biuncialis* за скоростиглістю

№ Нац. каталогу	Назва зразка	Походження*	Група скоростиглості
UA0400157	NK 1-1	Мис Мартьян	2
UA0400157	NK B1-1	Піщане, Бахчисарайський р-н	3
UA0400158	NK 4N2	Берегове, Бахчисарайський р-н	2
UA0400159	NK 6-2	Берегове, Бахчисарайський р-н	3
UA0400160	NK 10-3	Кара-Даг	1
UA0400161	NK 11-2	Кара-Даг	1
UA0400162	NK 13-1	Кара-Даг	1
UA0400163	NK 14-12	Кара-Даг	1
UA0400164	NK 50	Кара-Даг	1
UA0400166	NK MM2-1	Мис Мартьян	2
UA0400167	NK MM7-3	Мис Мартьян	3
UA0400168	NK MMB-2	Мис Мартьян	2
UA0400169	NK O2	Зібрано як заносну самосійну рослину на дослідній ділянці м. Київ	1
UA0400170	NK O10	Кара-Даг	1
UA0400171	NK OZ-2	Аю-Даг	3
–	NK 4-1	Мис Мартьян	2
–	NK 24a-4	Ечки-Даг	2
–	NK B1-2	Піщане, Бахчисарайський р-н	2
–	NK 23a-2	Ечки-Даг	1
–	NK OZ-1	Аю-Даг	3
–	NK 13-2-1	Кара-Даг	1
–	NK 12-5	Кара-Даг	1
–	NK BS2-3	Мис Мартьян	2
–	NK B3-1	Піщане, Бахчисарайський р-н	2

Примітка. \*добір з природної популяції, крім NK O2.

## Висновки

Проведено групування зразків *Ae. biuncialis* за скоростиглістю. Виявлено відмінності у часі виколювання-цвітіння між зразками *Ae. biuncialis* з різних місцевостей

Криму. Найбільш раннім цвітінням характеризуються зразки з Кара-Дагу, що, ймовірно, пов'язано з адаптацією до дуже посушливих жарких умов. Схарактеризовано генетичну колекцію *Ae. biuncialis* за часом цвітіння.

## Література

1. Stelmakh A.F. Genetic systems regulating flowering response in wheat // *Euphytica*. – 1998. – V. 100. – P. 359–369.
2. Стельмах А.Ф., Файт В.И., Мартынюк В.Р. Генетические системы типа и скорости развития мягкой пшеницы // *Цитология и генетика*. – 2000. – Т. 34, № 2. – С. 39–45.
3. Файт В.И. Генетическая система контроля различий по продолжительности яровизации у озимой мягкой пшеницы // *Цитология и генетика*. – 2003. – Т. 37, № 5. – С. 57–64.
4. Cockram J., Jones H., Leigh F.J., O'Sullivan D., Powell W., Laurie D.A., Greenland A.J. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication, and sustainable productivity // *J. Exp. Bot.* – 2007. – V. 58, No. 6. – P. 1231–1244.
5. Appendino M.L., Slafer G.A. Earliness *per se* and its dependence upon temperature in diploid wheat lines differing in the major gene *Eps-A<sup>m</sup>1* alleles // *J. Agric. Sci.* – 2003. – V. 141. – P. 149–154.
6. Zikhali M., Wingen L.U., Griffiths S. Delimitation of the Earliness *per se* D1 (*Eps-D1*) flowering gene to a subtelomeric chromosomal deletion in bread wheat (*Triticum aestivum*) // *J. Exp. Bot.* – 2016. – V. 67, N 1. – P. 287–299.
7. Alvarez M.A., Tranquilli G., Lewis S., Kippes N., Dubcovsky J. Genetic and physical mapping of the earliness *per se* locus *Eps-A<sup>m</sup>1* in *Triticum monococcum* identifies *EARLY FLOWERING 3 (ELF3)* as a candidate gene // *Funct. Integr. Genomics*. – 2016. – V. 16, N 4. – P. 365–382.
8. Gawronski P., Ariyadasa R., Himmelbach A., Poursarebani N., Kilian B., Stein N., Steuernagel B., Hensel G., Kumlehn J., Sunish Kumar Sehgal S.K., Gill B.S., Gould P., Hall A., Schnurbusch T. A distorted circadian clock causes early flowering and temperature-dependent variation in spike development in the *Eps-3A<sup>m</sup>* mutant of einkorn wheat // *Genetics*. – 2014. – V. 196, N 4. – P. 1253–1261.
9. Zikhali M., Leverington-Waite M., Fish L., Simmonds J., Orford S., Wingen L.U., Goram R., Gosman N., Bentley A., Griffiths S. Validation of a 1DL earliness *per se* (*eps*) flowering QTL in bread wheat (*Triticum aestivum*) // *Mol. Breed.* – 2014. – V. 34, N 3. – P. 1023–1033.
10. Богуславский Р.Л., Голик О.В. Род *Aegilops* L. как генетический ресурс селекции. – Харьков, 2004. – 236 с.
11. Van Slageren M.W. Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. et Spach.) Eig (*Poaceae*) // Wageningen Agricultural University Papers. – Wageningen, The Netherlands, 1994. – N 94-7. – 512 p.
12. Kimber G., Feldman M. Wild wheat. An introduction. Special Report 353. – Columbia: College of Agriculture University of Missouri, 1987 – 146 p.
13. Zaharieva M., Prosperi J.M., Monneveux P. Ecological distribution and species diversity of *Aegilops* L. genus in Bulgaria // *Biodiversity and Conservation*. – 2004. – V. 13. – P. 2319–2337.
14. Yildiz M., Terzi H., Arkan E.S. Seed germination of populations of wild wheat species, *Aegilops biuncialis* and *Ae. triuncialis*: effects of salinity, temperature and photoperiod // *Pakistan J. Biol. Sci.* – 2006. – V. 9, N 7. – P. 1299–1305.
15. Monte J.V., De Nova P.J.G., Soler C. AFLP-based analysis to study genetic variability and relationships in the Spanish species of the genus *Aegilops* // *Hereditas*. – 2001. – V. 135. – P. 233–238.
16. Козуб Н.А., Созінов І.А., Ксиниас І.Н., Созінов А.А. Разнообразие аллелей локусов высокомолекулярных субъединиц глютеинов *Aegilops biuncialis* Vis. // *Генетика*. – 2011. – Т. 47, № 9. – С. 1216–1222.
17. Козуб Н.А., Созінов І.А., Созінов А.А. Идентификация аллелей глиадиновых локусов *Gli-U1* и *Gli-M<sup>b</sup>1* *Aegilops biuncialis* Vis. // *Генетика*. – 2012. – Т. 48, № 4. – С. 473–479.
18. Козуб Н.О., Созінов І.О., Бідник Г.Я., Дем'янова Н.О., Блюм Я.Б., Созінов О.О. Генетична колекція *Aegilops biuncialis* Vis. // *Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр.* – К.: Логос, 2016. – Т. 18. – С. 181–185.
19. Matsuoka Y., Takumi S., Kawahara T. Flowering time diversification and dispersal in Central Eurasian wild wheat *Aegilops tauschii* Coss.: genealogical and ecological framework // *PLoS ONE*. – 2008. – V. 3, N 9. – e3138. doi: 10.1371/journal.pone.0003138.

**KOZUB N.A.<sup>1,2</sup>, SOZINOV I.A.<sup>1</sup>, SOZINOVA O.I.<sup>1</sup>, KARELOV A.V.<sup>1,2</sup>, BLUME Ya.B.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Plant Protection, NAAS,*

*Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylkivska str., 33, e-mail: natalkozub@gmail.com, sial@i.com.ua*

<sup>2</sup> *Institute of Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine,*

*Ukraine, 04123, Kyiv, Osyrovskogo str., 2a*

## ASSESSMENT OF *AEGILOPS BIUNCIALIS* VIS. ACCESSIONS FOR FLOWERING TIME

**Aim.** The aim of the study was to assess diversity in flowering time in *Aegilops biuncialis* Vis. accessions from different localities of the Crimea. **Methods.** *Ae. biuncialis* accessions were grown on the experimental plot (Kyiv region). The state of heading and flowering was recorded during 5 years. The accessions were assigned to three groups: early-

flowering, late-flowering and intermediate. A total of 127 accessions were assessed. **Results.** The early-flowering group included mainly *Ae. biuncialis* accessions from the eastern part of the area of the species. The majority of accessions from the southern and western-southern regions were assigned both to late-flowering and intermediate groups with a slight predominance of late-flowering. **Conclusions.** Differences in flowering time were revealed among *Ae. biuncialis* accessions from different localities of the Crimea. Samples from Kara-Dag are the most early-flowering, which is possibly due to adaptation to very droughty hot conditions. The diversity of the genetic collection of *Ae. biuncialis* was characterized with respect to flowering time.

**Keywords:** *Aegilops biuncialis* Vis., accessions, flowering time, diversity.