

В.И. ФАЙТ¹, В.Р. ФЕДОРОВА¹,
И.А. БАЛАШОВА², А.Ф. СТЕЛЬМАХ¹

¹ Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения УААН, Овидиопольская дорога 3, Одесса 65036, Украина, e-mail: fayt@paco.net

² Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН и МОН Украины, Овидиопольская дорога 3, Одесса 65036, Украина

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ПЕРИОДА ДО КОЛОШЕНИЯ И ТЕСТ НА АЛЛЕЛИЗМ *Ppd*-ЛИНИЙ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ



*Приводятся результаты сравнительного изучения продолжительности периода до колошения линий — носителей различных генов *Ppd* из разных учреждений оригинаторов и теста на аллелизм данных линий. Показана аллельность гена *Ppd3* почти изогенной линии сорта Мироновская 808 гену *Ppd-V1a*, а гена *Ppd1* — более слабому из известных гену *Ppd-A1a*. Оба гена — *Ppd3* и *Ppd1* — оказались не аллельными *Ppd-D1a*.*

© В.И. ФАЙТ, В.Р. ФЕДОРОВА, И.А. БАЛАШОВА,
А.Ф. СТЕЛЬМАХ

Введение. Различия по продолжительности освещения (фотопериодизм) являются одним из факторов адаптивности генотипа к конкретным экологическим условиям региона выращивания [1]. Для обозначения генов, контролирующих различия по реакции на фотопериод, был предложен символ *Ppd*. Показано участие трех генов в контроле различий по фотопериодической реакции [2], которые локализованы в хромосомах 2-й гомологичной группы: *Ppd1-2D*, *Ppd2-2B*, *Ppd3-2A* [3, 4]. Основным эффектом генов *Ppd* выявляется по времени образования терминальных колосков и удлинения стебля [5]. Снижение чувствительности к фотопериоду обусловлено доминантными аллелями генов *Ppd*, а сильная реакция на фотопериод характерна для генотипов — носителей только рецессивных аллелей всех трех генов [6]. Согласно новой классификации, предложенной Snape et al. [7], ген *Ppd1* получил обозначение *Ppd-D1*, *Ppd2* — *Ppd-B1* и *Ppd3* — *Ppd-A1*. При этом доминантные и рецессивные аллели обозначаются *Ppd-X1a* и *Ppd-X1b* соответственно, где *X* — А, В или D геномы.

Исторически сложилось несколько центров по изучению генетики фотопериодизма. Прежде всего, это СГИ в Украине, John Innes Centre, Norwich в Англии, ВИР и ИЦиГ СО в России. В каждом из указанных центров на оригинальном материале интенсивно изучались эффекты генов *Ppd* по ряду морфо-физиологических признаков [5, 8–10], продолжительности периода до колошения [11, 12, 13], по урожаю и его компонентам [14–16], устойчивости к низким отрицательным температурам [17, 18]. Однако нумерация генов *Ppd*, используемая в разных центрах, не была согласована тестом на аллелизм, что, несомненно, вносило путаницу при сопоставлении результатов различных авторов [19].

Целью настоящей работы было выяснение аллельных различий генов *Ppd1*, *Ppd2*, *Ppd3* у почти изогенных линий, созданных в Селекционно-генетическом институте на основе сорта Мироновская 808, и генов *Ppd-D1*, *Ppd-B1* у замещенных и рекомбинантно-замещенных линий, созданных на основе различных сортов в John Innes Centre (Norwich, Англия), а также сопоставление эффектов указанных генов по сокращению продолжительности периода до колошения при изучении материала в оранжерее фитотрона и в поле на широте

г. Одесса. При изложении материала настоящей работы будем придерживаться обозначений генов оригинаторов материала, т.е. *Ppd1*, *Ppd2*, *Ppd3* для линий СГИ и *Ppd-D1a*, *Ppd-D1b*, *Ppd-B1a*, *Ppd-B1b*, *Ppd-A1a*, *Ppd-A1b* — John Innes Centre.

Материал и методы. В качестве исходного материала использовали сорта Одесская 16, Скороспелка 36, Avalon, Brigand, Brimstone, Mercia, Norman, Rendezvous (последние шесть — *Ppd-D1b Ppd-B1b Ppd-A1b*), замещенные линии по хромосоме 2D — Avalon⁶/Ciano 67 2D; Brigand⁵/RCM 71 2D, Brimstone⁵/RCM 71 2D, Mercia⁶/RCM 71 2D; Norman⁵/RCM 71 2D; Rendezvous⁶/RCM 71 2D (*Ppd-D1a Ppd-B1b Ppd-A1b*); рекомбинантно-замещенные линии по гену *Ppd-D1* сортов Мага и Ciano 67 (три линии каждого сорта *Ppd-D1a*, а также три линии *Ppd-D1b*) и по гену *Ppd-B1* сорта Cappelle Desprez (три линии *Ppd-B1a* и три линии *Ppd-B1b*), любезно предоставлены в наше распоряжение д-ром А.Ж. Worland, а также набор почти изогенных по генам *Ppd1*, *Ppd2* или *Ppd3* линий сорта Мироновская 808.

Для изучения эффектов генов *Ppd* в природных условиях семена указанных генотипов высевали осенью на однорядковых делянках длиной 1 м по 25 зерен на рядок в трехкратной повторности. Замещенные и рекомбинантно-замещенные линии John Innes Centre скрещивали с сортами Скороспелка 36, Одесская 16 и почти изогенными линиями сорта Мироновская 808, а также последние между собой. Полный перечень успешных комбинаций скрещивания приведен в табл. 4. Растения F₂ выращивали в поле при осеннем посеве.

Для изучения эффектов генов *Ppd* в условиях оранжерей фитотрона и генетического анализа семена F₂ популяций, родительских форм, сортов Avalon, Brigand, Rendezvous, замещенных линий Avalon⁶/Ciano 67 2D, Brigand⁵/RCM 71 2D, Rendezvous⁶/RCM 71 2D, рекомбинантно-замещенных линий сортов Мага, Cappelle Desprez, почти изогенных линий Мироновской 808 замачивали в песке при комнатной температуре. Пятидневные проростки подвергали 60-суточной яровизации в камере КНТ-1 при +2 °С и круглосуточном освещении. После окончания яровизации проростки высаживали в оранжерее фитотрона в пяти-

литровые сосуды по 10 растений на сосуд и выращивали при 12-часовой продолжительности освещения при температуре 20—23 °С днем и 15—17 °С ночью. Для определения продолжительности периода до колошения во время вегетации при осеннем посеве в поле визуально отмечали дату колошения (при наличии 75 % колосющихся растений в рядке), в оранжерее отмечали дату колошения каждого индивидуального растения путем навешивания пергаментных этикеток на стебель главного побега при появлении верхушки колоса над лигулой флагового листа. Разделение F₂ популяций на фенотипические классы проводили по дате начала колошения сорта Мироновская 808 (подробнее см. результаты исследований). Статистическую обработку данных проводили согласно общепринятым методам [20, 21].

Результаты исследований и их обсуждение. Сопоставление продолжительности периода до колошения растений почти изогенных линий СГИ и замещенных, рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre в полевых условиях при естественном фотопериоде (продолжительность дня осенью от 11 ч 44 мин до 8 ч 58 мин, весной от 12 ч 14 мин до 15 ч 26 мин) и в условиях оранжерей фитотрона (продолжительность освещения 12 ч) указывало на достоверное влияние генов *Ppd* на признак. Так, в поле при осеннем посеве (табл. 1) эффект доминантного аллеля гена (*d*) *Ppd-D1a* по сокращению периода до колошения составлял 4,3 сут у сорта Brigand и практически отсутствовал у сорта Brimstone (1 сут), т.е. значительно зависел от генотипа сорта рекуррентного родителя. Эффект гена *Ppd-B1a* сорта Cappelle Desprez по сокращению периода до колошения в полевых условиях также составил 4,3 сут. Эффект гена *Ppd3* Мироновской 808 был равен 3,7 сут, что сопоставимо с величиной эффекта гена *Ppd-B1a* рекомбинантно-замещенных линий Cappelle Desprez и гена *Ppd-D1a* замещенных по 2D хромосоме сортов Avalon, Brigand, Norman, Rendezvous, а также рекомбинантно-замещенных линий Ciano 67. Эффект гена *Ppd1* Мироновской 808 оказался недостоверным (1,3 сут) и существенно меньше аналогичного показателя у всех указанных генотипов, однако был равен эффекту гена *Ppd-*

D1a рекомбинантно-замещенных линий сорта Mara (1,7 сут). Линия — носитель гена *Ppd2* выколашивалась даже несколько позже рекуррентного родителя сорта Мироновская 808.

В искусственных условиях укороченного дня в оранжереях фитотрона эффекты доминантных генов *Ppd* по сокращению периода до колошения значительно увеличились (табл. 2). В данных условиях сорта Avalon, Brigand, Rendezvous (*Ppd-D1b Ppd-B1b Ppd-A1b*) до 119 сут выращивания (без учета предварительной 60-суточной яровизации) находились в фазе кушения. Колошение же замещенных линий по 2D хромосоме указанных трех сортов — носителей гена *Ppd-D1a* наступало на 69–79-е сутки, т.е. эффект составлял от 40 до 50 сут. Несколько меньший эффект по сокращению периода до колошения отмечен у рекомбинантно-замещенных линий сорта Mara, он был равен 28 сут. Эффект гена *Ppd3* Мироновской 808 в искусственных условиях достигал 41 сут и сопоставим с аналогичной величиной гена *Ppd-D1a*, что было отмечено и в условиях поля. В отличие от естественных полевых условий эффект гена *Ppd-B1a* сорта Cappelle Desprez по сокращению периода до колошения в оранжерее фитотрона на 12-часовом дне был в два с лишним раза меньше эффекта генов *Ppd3* и *Ppd-D1a* и составлял всего 15 сут. Эффект гена *Ppd1* Мироновской 808 в искусственных условиях равнялся 9 сут, что достоверно меньше на 6 сут эффекта гена *Ppd-B1a* и на 19–41 сут эффекта генов *Ppd-D1a* или *Ppd3*. Линия — носитель гена *Ppd2* в условиях оранжереи фитотрона, как и в полевых условиях, достоверно не отличалась от Мироновской 808 по продолжительности периода до колошения.

Подводя итоги сравнительного изучения продолжительности периода до колошения у почти изогенных линий СГИ, а также у замещенных и рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre, можно констатировать, что эффект гена *Ppd3* по сокращению указанного периода сопоставим по величине с эффектом генов *Ppd-D1a* и *Ppd-B1a* в естественных условиях выращивания на широте Одессы и гена *Ppd-D1a* в искусственных условиях. Эффект гена *Ppd-B1a* в оранжерее фитотрона значительно уступал по величине эффектам генов *Ppd3* и *Ppd-D1a*. Доминантный аллель гена

Таблица 1

Продолжительность периода до колошения почти изогенных линий СГИ и замещенных, рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre в поле (Одесса, 2001 г)*, сут

Сорт	Ген	Аллель		d	НСР _{0,05}
		доминантный	рецессивный		
Avalon	<i>Ppd-D1</i>	19,7	23,3	3,7	1,4
Brigand	<i>Ppd-D1</i>	19,7	24,0	4,3	1,4
Brimstone	<i>Ppd-D1</i>	23,3	24,3	1,0	—
Mara	<i>Ppd-D1</i>	23,0	24,7	1,7	1,4
Mercia	<i>Ppd-D1</i>	20,7	23,0	2,3	1,4
Norman	<i>Ppd-D1</i>	20,3	24,3	4,0	2,5
Rendezvous	<i>Ppd-D1</i>	21,0	24,0	3,0	2,5
Ciano 67	<i>Ppd-D1</i>	20,3	24,3	4,0	2,5
Cappelle Desprez	<i>Ppd-B1</i>	20,3	24,7	4,4	1,4
Мироновская 808	<i>Ppd3</i>	17,7	21,3	3,7	1,4
Мироновская 808	<i>Ppd1</i>	20,0	21,3	1,3	1,4
Мироновская 808	<i>Ppd2</i>	22,0	21,3	-0,7	—
НСР _{0,05}		0,9	0,8	0,4	

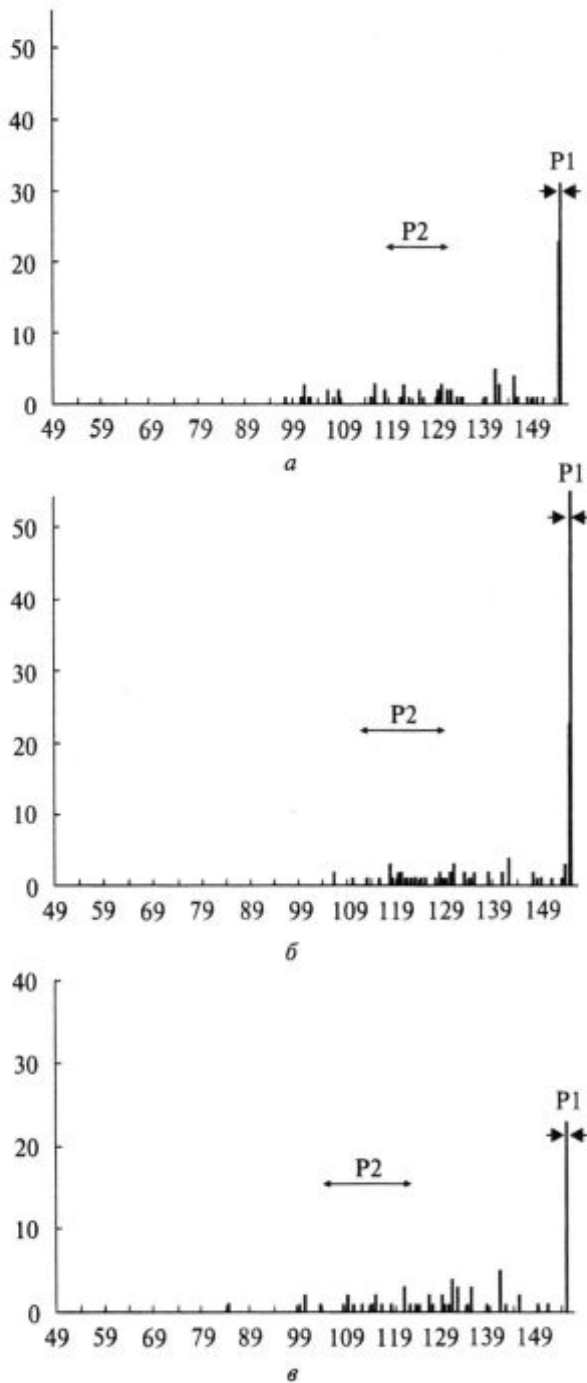
*Для исчисления периода до колошения избрана дата 1 мая.

Таблица 2

Продолжительность периода до колошения почти изогенных линий СГИ и замещенных, рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre в условиях укороченного 12-часового дня (фитотрон), сут

Сорт	Ген	Аллель		d ± Sd
		доминантный	рецессивный	
Avalon	<i>Ppd-D1</i>	69 ± 2,5	>119	>50
Brigand	<i>Ppd-D1</i>	79 ± 3,2	>119	>40
Rendezvous	<i>Ppd-D1</i>	73 ± 2,9	>119	>46
Mara	<i>Ppd-D1</i>	75 ± 1,0	103 ± 2,8	28 ± 3,0
Cappelle Desprez	<i>Ppd-B1</i>	95 ± 1,8	110 ± 1,0	15 ± 2,1
Мироновская 808	<i>Ppd3</i>	67 ± 1,9	108 ± 1,3	41 ± 2,3
Мироновская 808	<i>Ppd1</i>	99 ± 1,0	108 ± 1,3	9 ± 1,6
Мироновская 808	<i>Ppd2</i>	107 ± 2,8	108 ± 1,3	1 ± 3,1

Ppd1 способствовал сокращению периода до колошения в значительно меньшей степени по сравнению с доминантным аллелем гена *Ppd3* и генами *Ppd-D1a* и *Ppd-B1a*. Эффект гена *Ppd2* по сокращению продолжительности до колошения как в поле, так и в оранжерее



Распределение по времени колошения родительских сортов (P1, P2) и F₂ популяций от скрещивания разных сильночувствительных к фотопериоду генотипов озимой пшеницы: по вертикали — количество растений, шт.; по горизонтали — рост на 12-часовом дне, сут; а — Avalon/Одесская 16; б — Avalon/Мироновская 808; в — Brigand/Одесская 16

практически был равен нулю, поскольку в обоих случаях почти изогенная линия — носитель указанного гена по продолжительности периода до колошения достоверно не отличалась от рекуррентного родителя сорта Мироновская 808.

Наличие или отсутствие сопоставимого по величине эффекта по ускорению колошения еще не позволяет утверждать об аллельности или неаллельности генов *Ppd* почти изогенных линий СГИ генам *Ppd*, присутствующим в генотипах замещенных и рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre. Исходя из этого, вторым этапом нашей работы было проведение гибридологического анализа для выявления аллельных различий генов *Ppd* в изучаемом материале линий СГИ и John Innes Centre.

Отправной точкой любого гибридологического анализа является правильный выбор рецессивной по исследуемой системе генов формы и установление границы разделения F₂ популяции на фенотипические классы. Согласно данным литературы [22] и результатам приведенных исследований, сорта украинской селекции Одесская 16 и Мироновская 808 являются сильночувствительными к фотопериоду генотипами и носителями только рецессивных аллелей генов *ppd*. Именно поэтому сорт Мироновская 808 использовался в качестве рекуррентного родителя при создании набора почти изогенных и конгенных линий по генам *Ppd* [23]. Сорта английской селекции Avalon, Rendezvous, Brigand, по данным T. Worland (личное сообщение), также сильночувствительны к продолжительности освещения, что подтверждено и нашими исследованиями. На рисунке представлены диаграммы по времени выколашивания индивидуальных растений трех F₂ популяций комбинаций скрещивания различных сильночувствительных к фотопериоду генотипов: Avalon/Мироновская 808, Avalon/Одесская 16 и Brigand/Одесская 16. Размах варьирования по времени до колошения родительских сортов (min-max) для сорта Мироновская 808 составлял 115—134 сут, для сорта Одесская 16 — 108—128 сут. Растения сортов Avalon и Brigand после 60-суточной предварительной искусственной яровизации в условиях проводимого эксперимента не выко-

лашивались даже через 156 сут роста на укороченном 12-часовом фотопериоде от дня высадки растений в оранжерее.

Ранее сообщалось о возможном наличии в генотипе сорта Мироновская 808 доминантного аллеля какого-то гипотетического гена *Ppd* [24]. Если предположить наличие в генотипах сортов Мироновская 808 и Одесская 16 только одного доминантного аллеля какого-либо гена *Ppd*, а у сортов Avalon и Brigand только рецессивных аллелей всех генов *Ppd*, то при различии родительских сортов по одному гену возможны два варианта расщепления F_2 популяций на рано и поздно колосующиеся растения. Первый — все выколосившиеся растения F_2 популяций являются носителями этого гипотетического доминантного аллеля *Ppd* в гомо- или гетерозиготном состоянии, а невыколосившиеся — носителями только рецессивных аллелей всех генов *ppd*. Тогда в анализируемых комбинациях скрещивания должно было бы наблюдаться расщепление в соотношении 3 выколосившихся растения : 1 невыколосившееся. Второй вариант, не все растения — носители этого гипотетического гена *Ppd* в гетерозиготном состоянии успели выколоситься до конца эксперимента и могли быть отнесены к классу рецессивов. В таком случае класс раньше колосующихся растений включает только гомозиготных носителей доминантного аллеля гена. Предположительно это должны были быть те растения F_2 , которые выколашивались в границах колошения сортов Мироновская 808 или Одесская 16 в соответствующих комбинациях скрещивания. Для комбинации скрещивания Avalon/Мироновская 808, исходя из диаграм-

мы, это могут быть растения F_2 , выколосившиеся через 107—142 сут, а для двух других комбинаций скрещивания, у которых в качестве одного из родителей использовали сорт Одесская 16 — растения, выколосившиеся через 90—136 сут. Остальные выколосившиеся растения (предположительно гетерозиготы) и невыколосившиеся растения относили бы в класс поздно колосующихся. В данном случае должно было бы наблюдаться расщепление, обратное таковому при первом варианте, т. е. 1 рано колосующееся растение : 3 поздно колосующихся. Однако данные табл. 3 не подтверждают предполагаемых моногенных отличий в генотипах сортов Одесская 16 и Мироновская 808 по какому-то гипотетическому гену *Ppd*. Фактически наблюдаемое соотношение расщепления на рано и поздно колосующиеся растения всех трех гибридных комбинаций не соответствует теоретически ожидаемому как при первой гипотезе, так и при второй. Значения $\chi^2_{3:1}$ и $\chi^2_{1:3}$ достоверно больше граничного значения $\chi^2_{0,05} = 3,84$ при $df = 1$. Следовательно, сорта Мироновская 808, Одесская 16, Avalon, Brigand не различаются по генетическому контролю фотопериодической чувствительности и являются носителями только рецессивных аллелей генов *ppd*. Различия же между указанными сортами по продолжительности периода до колошения обусловлены не эффектами гена (генов) *Ppd*, а действием других генетических систем, влияющих на выраженность учитываемого признака, в частности системы генов скороспелости *per se*. Даже в условиях фитотрона невозможно создать независимые комбинации вариантов условий, и идентифика-

Таблица 3

Соотношение рано и поздно колосующихся растений F_2 популяций от скрещивания различных сильночувствительных к фотопериоду генотипов (фитотрон, 12-часовой день)

Комбинация скрещивания	Гипотеза	Фактически наблюдаемое	Теоретически ожидаемое	χ^2	
				3 : 1	1 : 3
Avalon / Мироновская 808	1	46 : 55	75,75 : 25,25	46,74	—
	2	37 : 64	25,25 : 75,75	—	7,29
Avalon / Одесская 16	1	54 : 31	63,75 : 21,25	5,96	—
	2	36 : 49	21,25 : 63,75	—	13,65
Brigand / Одесская 16	1	43 : 30	54,75 : 18,25	10,09	—
	2	32 : 41	18,25 : 54,75	—	13,81

ция генов *Ppd* может сопровождаться одновременным выявлением различий по скороспелости *per se*, обусловленных реакцией конкретных генотипов на интенсивность освещения или качество света. Так, Hoogendoorn [25] было показано, что позднеспелость у сортов озимой пшеницы Северной Европы (Англия) обусловлена наличием в их генотипах именно «негативных» факторов скороспелости *per se*.

Наличие в генотипах сортов Одесская 16 и Мироновская 808 только рецессивных аллелей генов *ppd* подтверждено и с помощью молекулярно-генетических подходов [26, 27]. При использовании ISSR-ПЦР с праймером (AG)₆C был выявлен полиморфизм ДНК замещенных по 2A, 2B, 2D хромосомам линий сорта Mercia и замещенных по 2D хромосоме линий сортов Avalon, Norman, Brigant, Brimstone, Rendezvous. На электрофореграммах ДНК линий Mercia⁶/Ciano 67 2D, Mercia⁶/RCM-71 2D, Avalon⁶/Ciano 67 2D, Avalon⁵/RCM-71 2D, Brigant⁵/RCM-71 2D, Brimstone⁵/RCM-71 2D, Norman⁵/RCM-71 2D, Rendezvous⁶/RCM-71 2D (все носители гена *PpdD1a*) отсутствовал один из продуктов реакции величиной 350 п.н. по сравнению с электрофореграммами ДНК линий Mercia/Chinese Spring 2B (*Ppd-B1a*), Mercia/CS91 2A (*Ppd-A1a*) и соответствующих рекуррентных родителей сортов Mercia, Avalon, Norman, Brigant, Brimstone, Rendezvous (все *Ppd-A1b*, *Ppd-B1b*, *Ppd-D1b*). Отсутствие фрагмента величиной 350 п.н. отмечали в спектрах продуктов амплификации замещенных линий сортов Mercia и Avalon независимо от происхождения донора хромосомы 2D. Отсутствие/наличие ISSR-локуса величиной 350 п.н. в дальнейшем обозначали как 350– / 350+. При этом наличие аллеля 350– рассматривали как нулевой аллель [28]. Указанный маркер позволил идентифицировать сорта Мироновская 808, Одесская 16, Прогресс как носителей гена *Ppd-D1b* (350+). Сорт Обрий оказался носителем гена *Ppd-D1a* (350–).

ISSR-анализ ДНК индивидуальных растений F₂ популяции, полученной от скрещивания носителей альтернативных аллелей маркера Avalon⁶/Ciano 67 2D (*Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1a*; слабочувствительны) // Одесская 16 (*Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1b*; сильночувстви-

тельный), позволил разделить расщепляющуюся популяцию по аллельному состоянию ISSR-локуса 350– / 350+ на два класса. Присутствие нулевого аллеля 350(–) выявили у слабочувствительной к фотопериоду родительской формы — замещенной линии Avalon⁶/Ciano 67 2D и у 22 (из 104) анализируемых растений F₂, как правило, наиболее рано колосящихся. Факт более ранних сроков колошения доминантных гомозигот по генам *Ppd* по сравнению с гетерозиготами [29] позволяет предположить, что рано колосящиеся растения из анализируемой популяции являются носителями доминантного гена *Ppd-D1a* в гомозиготном состоянии (теоретически в указанной комбинации скрещивания доминантных гомозигот должно быть 26). Электрофореграммы остальных 82 растений и их фоточувствительного родителя показали присутствие ISSR-аллеля 350+. Расщепление по ISSR-аллелям 350– / 350+ высоко достоверно соответствует отношению 1 : 3 ($\chi^2 = 0,82$), свидетельствуя о моногенном контроле различий по фотопериодической чувствительности в этой популяции. Классический гибридологический анализ также подтвердил моногенные различия по системе генов *Ppd* между замещенной линией Avalon⁶/Ciano 67 2D и сортом Одесская 16, но в соотношении 3:1 (табл. 3), т.е. обсуждаемый маркер можно было использовать только для идентификации доминантных гомозигот.

При анализе F₂ популяции Прогресс/Обрий с использованием указанного праймера удалось идентифицировать из 229 только 15 растений с аллелем 350–, предполагаемых носителей гена *Ppd-D1a*. Доля таких растений значительно меньше 1/4 при наличии моногенных различий по маркеру и соответствует 1/16 при наличии дигенных различий родительских сортов. Теоретически при дигенных различиях она должна составлять 14 растений (14,3125). Однако при различиях по двум генам доля предполагаемых генотипов носителей гена *Ppd-D1a* должна составлять 4/16. Из них 1/16 должны быть дигенно доминантные гомозиготы, 2/16 — генотипы, сочетающие гомозиготность по гену *Ppd-D1a* с гетерозиготностью по второму гену, и 1/16 — моногенно доминантные гомозиготы по гену *Ppd-D1a*. Учитывая наличие маркера 350+ у замещенных линий Mercia/Chinese Spring 2B

(*Ppd-B1a*), Mercia/C591 2A (*Ppd-A1a*) и возможность его использования для идентификации только доминантных гомозигот, снижение доли генотипов носителей гена *Ppd-D1a* (350-) в F₂ популяции Прогресс/Обрий с 4/16 до 1/16 может быть следствием присутствия в генотипе 3/16 растений доминантного аллеля другого гена, что обуславливало присутствие полосы на электрофореграмме. В таком случае при наличии в генотипе сорта Одесская 16 доминантного аллеля какого-то гипотетического гена *Ppd*, в F₂ популяции Avalon⁶/Ciano 67 2D//Одесская 16 мы должны были тоже наблюдать расщепление по маркеру 1 (350-) : 15 (350+). Однако же оно достоверно соответствовало отношению 1 : 3. Следовательно, сорта Одесская 16 и Мироновская 808 имеют генотип *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1b*.

Исходя из вышеизложенного, при последующем гибридологическом анализе различий по фотопериодической чувствительности разделение F₂ популяций на фенотипические классы проводили по дате начала колошения растений сорта Мироновская 808, учитывая генетические особенности скрещиваемых роди-

тельских форм. При этом к группе рано колосящихся (носители одного или нескольких доминантных аллелей генов *Ppd* в гомо- или гетерозиготном состоянии) относили растения, выколосившиеся до начала колошения растений Мироновской 808. Все растения, колошение которых отмечали одновременно или позже Мироновской 808, а также невыколосившиеся растения (рецессивы по анализируемой системе генов) относили к группе позднеспелых. Анализ расщепления F₂ популяций от скрещивания почти изогенных линий СГИ и замещенных или рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre (табл. 4) позволяет констатировать факт наличия в генотипах замещенных линий сортов Avalon, Rendezvous, Brigand и рано колосящихся рекомбинантно-замещенных линий сортов Ciano, Cappelle Desprez одного доминантного гена *Ppd*. Данный вывод подтверждается выявлением моногенных различий в F₂ популяциях при скрещивании указанных линий с сортами Мироновская 808 и Одесская 16. Соотношение расщепления на рано и поздно колосящиеся растения также соответствовало моногиб-

Таблица 4

Расщепление по фотопериодической чувствительности (рано : поздно колосящиеся потомки) F₂ популяций от скрещивания почти изогенных линий СГИ и замещенных, рекомбинантно-замещенных линий John Innes Centre (фитотрон, 12-часовой день)

Линии John Innes Centre	Генотип	Линии СГИ (Мироновская 808)				Одесская 16 (рецессив)
		Рецессив	<i>Ppd</i> 2	<i>Ppd</i> 1	<i>Ppd</i> 3	
Avalon	<i>Ppd-D1a</i>	79 : 15*	100 : 19	110 : 8**	116 : 7**	84 : 18*
	<i>Ppd-D1b</i>	4 : 97	10 : 101	69 : 45	68 : 26*	8 : 77
Rendezvous	<i>Ppd-D1a</i>	63 : 17*	94 : 24*	—	103 : 5**	—
	<i>Ppd-D1b</i>	—	—	79 : 29*	—	—
Brigand	<i>Ppd-D1a</i>	—	—	123 : 7**	—	—
	<i>Ppd-D1b</i>	—	—	—	—	6 : 67
Ciano 67	<i>Ppd-D1a</i>	—	—	135 : 5**	—	70 : 16*
Cappelle Desprez	<i>Ppd-B1a</i>	53 : 15*	73 : 32*	41 : 3**	100 : 0	68 : 17*
Скороспелка 36	—	54 : 13*	54 : 14*	—	142 : 8**	—
Мироновская 808	<i>Ppd3</i>	41 : 18*	50 : 19*	56 : 4**	—	—
Мироновская 808	<i>Ppd1</i>	31 : 10*	59 : 73	—	56 : 4**	—
Mara	<i>Ppd-D1a</i>	98 : 3**	—	80 : 0	140 : 1***	—
	<i>Ppd-D1b</i>	77 : 15*	—	116 : 0	—	—

* $\chi^2_{3;1}$ меньше 3,84 для df = 1 при P = 0,05. ** $\chi^2_{1;1}$ меньше 3,84 для df = 1 при P = 0,05. *** $\chi^2_{5;1}$ меньше 3,84 для df = 1 при P = 0,05.

риднему и в F_2 популяциях от скрещивания почти изогенных линий, моногенно доминантных по гену *Ppd3* или *Ppd1*, с исходными рецессивными сортами Avalon, Rendezvous, а также первых двух с рекуррентным родительским сортом Мироновская 808. Как и ожидалось, при скрещивании почти изогенных линий по гену *Ppd3* или *Ppd1* сорта Мироновская 808 между собой, а также их с замещенными линиями по 2D хромосоме сортов Avalon, Rendezvous, Brigand и рекомбинантно-замещенной линией — носителем гена *Ppd-D1a* сорта Ciano 67, количество рано и поздно колосющихся растений статистически соответствовало соотношению 15 : 1, что подтверждает неаллельность генов *Ppd3* и *Ppd1* Мироновской 808 гену *Ppd-D1a*, который присутствует у указанных линий John Innes Centre.

Дигенные различия по фотопериодической чувствительности были выявлены в F_2 популяции от скрещивания почти изогенной линии — носителя гена *Ppd1* с рекомбинантно-замещенной линией — носителем гена *Ppd-B1a* сорта Cappelle Desprez. В комбинации же скрещивания указанной рекомбинантно-замещенной линии с почти изогенной линией — носителем гена *Ppd3* расщепление отсутствовало. Все растения выколосились до установленной границы, что свидетельствует об аллельности гена *Ppd3* гену *Ppd-B1a*.

Несколько иную картину расщепления на рано и поздно колосющиеся растения наблюдали в F_2 популяциях, полученных от скрещивания почти изогенных линий сорта Мироновская 808 с рекомбинантно-замещенными линиями сорта Mara, по сравнению с F_2 популяциями от скрещивания первых с остальными линиями John Innes Centre носителями доминантного или рецессивного аллелей гена *Ppd-D1*. Прежде всего расщепление на рано и поздно колосющиеся растения в F_2 популяциях Mara *Ppd-D1a*/Мироновская 808 и Mara *Ppd-D1b*/Мироновская 808 достоверно соответствовало 15 : 1, а во второй 3 : 1. В аналогичных популяциях от скрещивания сорта Мироновская 808 или Одесская 16 с носителями доминантного или рецессивного аллелей гена *Ppd-D1* сортов Avalon, Rendezvous, Brigand, Ciano 67 наблюдали расщепление 3 : 1 и 0 : 1 соответственно. Следовательно, рекомбинантно-заме-

щенная линия Mara *Ppd-D1a* является носителем доминантного аллеля еще одного гена *Ppd*. Вторая линия данного сорта с геном *Ppd-D1b* является моногенно доминантной по одному из генов *Ppd*. Дигенный контроль фотопериодической чувствительности линии Mara *Ppd-D1a* подтверждается и наличием различий по трем генам при скрещивании указанной линии с почти изогенной линией — носителем гена *Ppd3*. О дигенном контроле фотопериодической чувствительности сорта Mara сообщалось и ранее [30]. Поскольку большинством исследователей признана трехгенная модель контроля различий по признаку фотопериодической чувствительности [6, 31, 32], а оба гена, присутствующие у линии Mara *Ppd-D1a* не аллельны гену *Ppd3*, который в свою очередь аллелен гену *Ppd-B1a*, то вторым геном указанной линии может быть наиболее слабый из известных — ген *Ppd-A1a*. Следовательно, линия Mara *Ppd-D1b* может нести также ген *Ppd-A1a*. Параллельно, в F_2 популяциях от скрещивания почти изогенной линии сорта Мироновская 808, носителя гена *Ppd1*, как с линией Mara *Ppd-D1a*, так и с линией Mara *Ppd-D1b* расщепление отсутствовало. Все растения выколосились до установленной границы, свидетельствуя об аллельности гена *Ppd1* почти изогенной линии сорта Мироновская 808 одному из двух генов *Ppd* рекомбинантно-замещенной линии Mara *Ppd-D1a* и единственному доминантному аллелю гена *Ppd* рекомбинантно-замещенной линии Mara *Ppd-D1b*. Выше была показана неаллельность гена *Ppd1* генам *Ppd-D1a* и *Ppd-B1a*. Исходя из этого, можно констатировать, что ген *Ppd1* почти изогенной линии сорта Мироновская 808 аллелен гену *Ppd-A1a* рекомбинантно-замещенных линий сорта Mara.

В данной серии экспериментов было подтверждено наличие в генотипе сорта Скороспелка 36 только одного гена *Ppd*, который является не аллельным генам *Ppd3* и *Ppd-B1a*. Об этом свидетельствовали моногенные различия при скрещивании сорта Скороспелка 36 с сортом Мироновская 808 и дигенные различия по фотопериодической чувствительности в комбинациях скрещивания сорта Скороспелка 36/изогенная линия *Ppd3* и Скороспелка 36/Cappelle Desprez *Ppd-B1a*. В последней

комбинации скрещивания было выявлено 87 рано и 5 поздно колосящихся растений F_2 , что достоверно соответствовало соотношению 15 : 1 ($\chi^2_{15;1} = 0,52$ для $df = 1$). К сожалению, не удалось получить гибриды от скрещивания сорта Скороспелка 3б с линиями — носителями генов *Ppd-D1a* и *Ppd-D1b*.

Почти изогенная линия, предполагаемый носитель гена *Ppd2*, оказалась носителем только рецессивных аллелей генов *Ppd*, что можно было предположить вследствие отсутствия достоверной разницы по продолжительности периода до колошения между данной линией и рекуррентным родителем — сортом Мироновская 808. Практически все растения F_2 популяции Avalon/изогенная линия *Ppd2* и не выколашивались до установленной границы. Отмечали колошение всего лишь 10 растений из 111, что может быть обусловлено эффектами генов скороспелости *per se*. В F_2 популяциях Rendezvous⁶/RCM-71 2D//изогенная линия *Ppd2*, Скороспелка 3б/изогенная линия *Ppd2*, Cappelle Desprez *Ppd-B1a*/изогенная линия *Ppd2*, изогенная линия *Ppd3*/изогенная линия *Ppd2* соотношение рано и поздно колосящихся растений достоверно соответствовало моногибридному. Это указывало на то, что почти изогенная линия *Ppd2* является носителем только рецессивных аллелей всех трех генов *ppd*. Еще в двух комбинациях Avalon⁶/Ciano 67 2D//изогенная линия *Ppd2* и изогенная линия *Ppd1*/изогенная линия *Ppd2* также наблюдали расщепление по фотопериодической чувствительности, но оно не соответствовало ожидаемому при различиях по одному гену. В первом случае доля поздних потомков была занижена, а во втором — значительно завышена.

Выводы. Таким образом, подводя итоги проведенного генетического анализа, можно констатировать факт присутствия в наборе почти изогенных линий сорта Мироновская 808 только двух доминантных генов *Ppd3* и *Ppd1*. Оба гена *Ppd3* и *Ppd1* не аллельны гену *Ppd-D1a*. Ген *Ppd3* оказался аллельным гену *Ppd-B1a*, а ген *Ppd1* — наиболее слабому из известных гену *Ppd-A1a*.

SUMMARY. The duration of periods to heading has been compared in lines which carry various *Ppd* genes from different institutions. Test for allelism has been conducted between these lines. *Ppd-B1a* gene is allelic to *Ppd3* gene of

near isogenic line Mironovskaya 808 (the set of SGI). In the set of SGI lines *Ppd1* gene is allelic to *Ppd-A1a*. These two genes are non-allelic to the known *Ppd-D1a* gene.

РЕЗЮМЕ. Наводяться результати порівняльного вивчення тривалості періоду до колосіння ліній — носіїв генів *Ppd* з різних закладів оригінаторів даних ліній і їх тест на алелізм. Показана алельність гена *Ppd3* майже ізогенної лінії сорту Мироновська 808 (СГІ) гену *Ppd-B1a*, а гена *Ppd1* гену *Ppd-A1a*. Обидва гени *Ppd3* та *Ppd1* виявились не алельними гену *Ppd-D1a*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скрипчинский В.В. Фотопериодизм — его происхождение и эволюция. — Л.: Наука, 1975. — 287 с.
2. Гончаров Н.П. Генетический контроль фотопериодической реакции у мягкой пшеницы (обзор) // С.-х. биология. — 1986. — № 11. — С. 84—90.
3. Welsh J.R., Keim D.L., Pirasteh B. et al. Genetic control of photoperiod response in wheat // Proc. 4th Intern. Wheat Genet. Symp. — Missouri, 1973. — P. 879—884.
4. Carth R., Law C.N. The control of the day-length response in wheat by the genes 2 chromosomes // Z. Pflanzenzucht. — 1984. — 92, № 2. — P. 140—150.
5. Scarth R., Kirby E.J.M., Law C.N. Effects of the photoperiod genes *Ppd1* and *Ppd2* on growth and development of the shoot apex in wheat // Ann. Bot. — 1985. — 55, № 3. — P. 351—359.
6. Ригин Б.В., Гончаров Н.П. Генетика онтогенеза пшеницы. — М.: ВИНТИ, 1989. — 148 с. (Итоги науки и техники. Сер. Генетика и селекция возделываемых растений; т. 1)
7. Snape J.W., Laurie D.A., Worland A.J. Understanding the genetics of abiotic stress response in cereals and possible strategies for their amelioration // Asp. Appl. Biol. — 1998. — № 50. — P. 9—14.
8. Феценко В.В., Подольный В.З., Кокшарова Т.А., Агамолова С.Р. Влияние системы генов *Ppd* на рост и развитие апикальной меристемы и молодых листьев у пшеницы разных биотипов // Биол. науки. — 1992. — 6, № 342. — С. 44—51.
9. Кошкин В.А., Мережко А.Ф., Матвиенко И.И. Влияние фотопериодизма и генов *Ppd* на морфофизиологические признаки гомозиготных линий пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью // Докл. РАСХН. — 1998. — № 4. — С. 8—10.
10. Стельмах А.Ф., Мартынюк В.Р. Эффекты доминантных генов *Ppd* по особенностям органогенеза у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. — 1998. — 32, № 6. — С. 27—34.
11. Стельмах А.Ф., Мартынюк В.Р., Файт В.И. Продолжительность периода «всходы-колошение» изогенных по локусам *Ppd* линий (*Triticum aestivum* L.) на разном фотопериоде // Биол. вестник. — 1999. — 3, № 1/2. — С. 107—110.

12. Алиев Э.Б. Экспрессивность генов *Ppd* — фотопериодической реакции у мягкой пшеницы в условиях естественного короткого дня // Молекулярно-генетические маркеры растений : Тез. докл. Междунар. конф. — Киев, 1996. — С. 10—11.
13. Worland A.J., Borner A., Korzun V. et al. The influence of photoperiod genes to the adaptability of European winter wheats // 5th Int. Wheat Conf. — Ankara, 1996. — P. 517—526.
14. Worland A.J., Sayers E.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheat // Proc. of the 9th EWAC Conference. Newsletter. — Gatersleben, 1995. — P. 61—63.
15. Miazda D., Worland A.J., Kowalczyk K. Pleiotropic effects of *Ppd1* gene on yield and its components in recombinant lines of wheat in Poland // Abstract of the 11th Conference. — Novosibirsk, 2000. — P. 68.
16. Файт В.И., Мартынюк В.Р., Стельмах А.Ф. Роль локусов *Ppd* у визначенні відмінностей щодо продуктивності м'якої пшениці в умовах Причорномор'я // Аграр. вісн. Причорномор'я. — Одеса, 2001. — С. 9—15.
17. Stelmakh A.F. Regulation of the flowering response genetic system affects the stress tolerance in bread wheat // Proc. 9th IWGS. — Saskatoon, 1998. — 4. — P. 86—88.
18. Файт В.И., Федорова В.Р., Нагуляк О.И., Прокопович К.Л., Попова Н.В. Связь фенотипических и генотипических различий по продолжительности яровизации и фотопериодической чувствительности с морозостойкостью озимой пшеницы // Біологічні науки і проблеми рослинництва. — Умань, 2003. — С. 359—364.
19. Мережко А.Ф., Кошкин В.А., Матвиенко И.И. Исходный материал для создания серии почти изогенных линий мягкой пшеницы с различной фотопериодической чувствительностью // Генетика. — 1997. — 33, № 4. — С. 501—511.
20. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1973. — 336 с.
21. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышейш. шк., 1973. — 320 с.
22. Кучеров В.А., Стельмах А.Ф. Генетический анализ различий по фотопериодической реакции у озимых пшениц // Биологические и агротехнические основы выращивания зерновых и зернобобовых культур на юге Украины. — Одесса, 1983. — С. 18—24.
23. Стельмах А.Ф., Кучеров В.А. Создание набора почти изогенных линий по локусам системы *Ppd* (к обоснованию методики) // Генетико-цитологические аспекты селекции сельскохозяйственных растений. — Одесса: ВСГИ, 1984. — С. 85—89.
24. Коваль С.Ф., Коваль В.С., Шаманин В.П. Изогенные линии пшеницы. — Омск, 2001. — 152 с.
25. Hoogendoorn J.J. The physiology of variation in the time of ear emergence among wheat varieties from different regions of the world // J. Plant. Physiol. — 1985. — 27, № 3. — P. 559—571.
26. Балашова И.А., Файт В.И., Сиволап Ю.М. Использование ISSR- и SSR-полимеразной цепной реакции для создания ДНК-маркеров к генам *Ppd* // Біополімери і клітина. — 2003. — 19, № 3. — С. 257—261.
27. Балашова И.А., Файт В.И., Сиволап Ю.М. Маркирование гена *Ppd-D1a* методом ISSR-ПЦР // Вісн. Одес. нац. ун-ту. Сер. біол. — 2002. — 7, вип. 1. — С. 69—74.
28. Gupta P.K., Varshney K.K. The development and use of microsatellite markers for genetics analysis and plant breeding with emphasis of bread wheat // Euphytica — 2000. — 113. — P. 163—185.
29. Гончаров Н.П. Генетический контроль фотопериодической реакции мягкой яровой пшеницы в связи с селекцией на скороспелость : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1986. — 18 с.
30. Алиев Э.Б. Установление наличия двух доминантных генов *Ppd* у некоторых слабочувствительных к короткому дню сортов мягкой пшеницы // Экологическая генетика растений, животных и человека: Тез. докл. IV Всесоюз. науч. конф. — Кишинев: Штиинца, 1991. — С. 85.
31. Мережко А.Д. Наследование продолжительности периода «всходы-колошение» у гибридов мягкой яровой пшеницы Саратовская 29 со скороспелыми мексиканскими сортами // Тр. по приклад. ботанике, генетике и селекции. — 1984. — 85. — С. 30—37.
32. Aliev E.B., Maystrenko O.I. A precise determination of number of genes involved in photoperiodic response in spring wheats with different sensitivity to natural short day light // Cereal Res. Commun. — 1986. — 14, № 2. — P. 129—131.

Поступила 06.06.05