

Г. О. Чеботар<sup>1</sup>, к.б.н.

О. Є. Олійник<sup>1</sup>, студентка

Ю. О. Лавриненко<sup>2</sup>, д.с.-г.н., професор

С. В. Чеботар<sup>1,3</sup>, д.б.н., професор

<sup>1</sup>Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, м. Одеса, 65026, вул. Дворянська, 2, e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

<sup>2</sup>Інститут зрошуваного землеробства НААН України, сел. Наддніпрянське, Херсон, 73483, Україна

<sup>3</sup>Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення НААН України, вул. Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

## АПРОБАЦІЯ МАРКЕРНОГО АНАЛІЗУ ГЕНА *TaSnRK2.8-A* НА УКРАЇНСЬКИХ СОРТАХ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ

Досліджували алейний стан гена *TaSnRK2.8-A* у дев'яти сортів озимої м'якої пшениці селекції Інституту зрошуваного землеробства НААН за допомогою CAPS-маркерів. Визначено алелі гену *TaSnRK2.8* та встановлено статистично значимі відмінності за врожайністю в умовах богари та зрошення, а також за індексом посухостійкості між дослідженими в роботі сортами. Найбільш врожайним на богарі був сорт Кошова, він також залишився одним з найбільш врожайних при вирощуванні на зрошенні. За даними двофакторного дисперсійного аналізу вплив факторів «Рік» та «Алень» на врожайність був статистично значимий в умовах зрошення, в цьому випадку рослини з *G* алелем були більш врожайними. Також показано статистично значимий вплив взаємодії факторів «Рік» x «Алень» на врожайність в умовах посухи (богара) та на індекс посухостійкості. За показником індекс посухостійкості спостерігали взаємодію факторів генотип x середовище (фактори «Алень» та «Рік») зі зміною рангів.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum* L., посухостійкість, молекулярні маркери, ген *TaSnRK2.8-A*.

Найбільш важливим екологічним фактором для нормального розвитку рослин в будь-яких умовах є наявність води. В останні роки все гостріше стає проблема змін клімату, що в Україні проявляється в опустелюванні південних регіонів та переміщенням більш посушливих кліматичних зон на північ [3, 5, 7]. За даними Сидоренко, Чеботар [12] у половині з передостанніх 19 років (з 2000 по 2019 р.) середня кількість опадів у квітні і травні в Одеському регіоні становила менше норми (38,9 мм). В цей час відбувається колосіння та цвітіння рослин озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) і посуха суттєво погіршує їх якість та врожайність. У пшениці стійкість до посухи є комплексною (часто пов'язаною зі стійкістю до високих температур) та кількісною ознакою, на прояв якої суттєво впливають фактори навколишнього середовища.

Важливими компонентами сигнальних шляхів, що активуються за дії абіотичних факторів: осмотичного та сольового стресу, у різних видів рослин є гени родини *SnRK2* (Sucrose non-fermenting-1 (SNF1)-related protein kinase 2s) [9, 10, 16, 17]. Гени *SnRK2* кодують серин / треонін кінрази і можуть додатково регулюватися додаванням абсцизової кислоти. З літератури [8, 14] відомо про створення трансгенних толерантних до посухи рослин арабідопсиса, які характеризуються надмірною експресією гена пшениці *TaSnRK2.8* з родини *SnRK2*, що кодує цукронаферментуючу-зв'язану протеїн кінразу 2. Також, Zhang et al. [14] проводили дослідження впливу довжини промоторної ділянки гена *TaSnRK2.8* з *T. aestivum* (-408, -821, -1481, -2631) на рівень експресії гена *GUS* в *Arabidopsis*, що дозволило виділити області для регулювання рівнів та тканинної специфіки транскрипції в умовах стресу. Zhang et al. [15] встановили, що ген *TaSnRK2.8-A* складається з дев'яти екзонів та розташований на 5A хромосомі пшениці. Аналіз послідовності показав, що з 751 детектованих випадків поліморфізму у 165 сортів пшениці, лише заміна *A* на *G* в 3'-фланкуючій послідовності, позиція 5917 п.н., гена *TASNRK2.8-A* мала статистично значимий вплив на фенотип [15]. У зв'язку з цим актуальним є проведення пошуку послідовності гена *TaSnRK2.8-A* та його гомологів в базі даних нуклеотидних послідовностей NCBI, а також визначення алельних варіантів у місцевих сортів пшениці.

**Метою роботи** було визначення одонуклеотидної заміни *A* на *G* в положенні 5917 п.н., що диференціює алелі *A* та *G*, гена *TaSnRK2.8-A* у сортів пшениці м'якої озимої селекції Інституту зрошуваного землеробства НААН України та співставлення сортів з ідентифікованими алелями за врожайністю та індексом посухостійкості.

#### **Матеріали та методи дослідження**

В якості матеріалу досліджували сорти: Анатолія, Благо, Бургунка, Кошова, Овідій, Росинка, Соборна, Херсонська безоста, Херсонська 99.

Для визначення наявності заміни *A* на *G* в позиції 5917 п.н. в 3'-фланкуючій послідовності гена *TaSnRK2.8-A* спочатку проводили ПЛР з парою праймерів розроблених [15]: 5'-GGGGAAACCGAGCCSTATC-3', 5'-CAAGTTCAGTCACAGGTTACACATTA-3', що фланкують послідовність фрагменту, в якому відбувається мутація, та аналізували в 1% агарозному гелі наявність продуктів ампліфікації. Потім отримані продукти ампліфікації піддавали ендонуклеазному розщепленню рестриктазою *Taal* (*HpyCH4III*) та фракціонували в 7% ПААГ. Розміри продуктів ампліфікації визначали відносно маркерів молекулярної маси *pUC19/Msp I* та *Gene ruler* за допомогою програми GelAnalyzer (2010). Пошук нуклеотидної послідовності гена *TaSnRK2.8-A* проводили в базі даних NCBI [11].

Протягом трьох «сільськогосподарських років» 2015–2016, 2016–2017 та 2017–2018 сорти вирощували на дослідних полях Інституту зрошуваного зем-

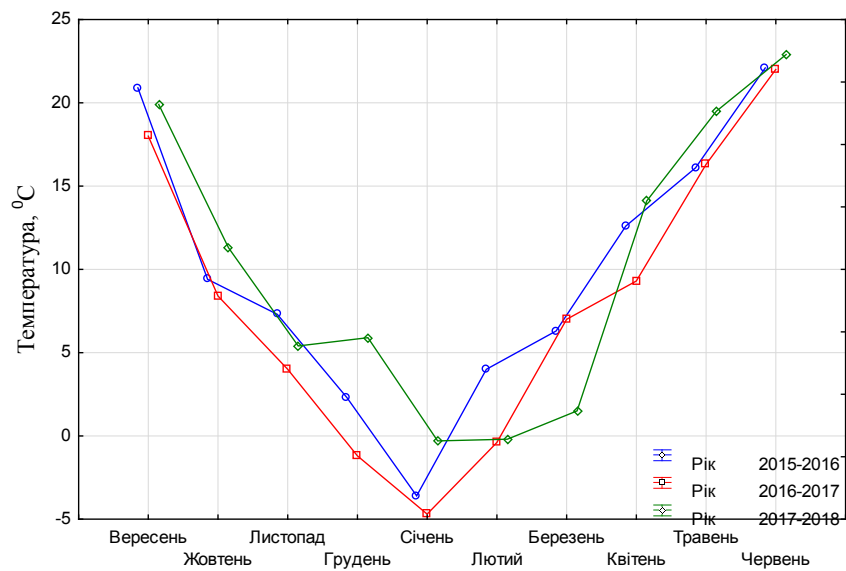
леробства (ІЗЗ), розташованого в зоні Інгулецької зрошувальної системи, що за ґрунтово-кліматичними і метеорологічними факторами відповідає умовам південного Степу України [4]. Польові дослідження проведені відповідно до загальноновизнаних методик, облікова площа ділянки 20 м<sup>2</sup>, повторення триразове [1, 2]. Агротехніка рекомендована для агроекологічних умов південного Степу, крім факторів, що досліджувались (зрошення, богара). При вирощуванні сортів на зрошенні у розсаднику екологічного випробування рівень передполивної вологості ґрунту становив 75 % НВ у шарі 50 см, для зрошення використовували дощувальну установку ДДА 100МА [1]. Визначали врожайність в умовах посухи (богара) і при зрошенні. Двофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) проводили в програмі Statistica 8.

Індекс посухостійкості розраховували як відношення показників врожайності сорту в умовах посухи до врожайності при зрошуванні помножене на 100%. Для даних отриманих у відсотках використовували кутове перетворення Фішера:  $\varphi = 2 \arcsin \sqrt{P}$ , де P – відсоткова частка, виражена в частках одиниці. Щоб робити їх придатними для застосування параметричних статистичних методів, так як вони підлягають нормальному розподілу [6].

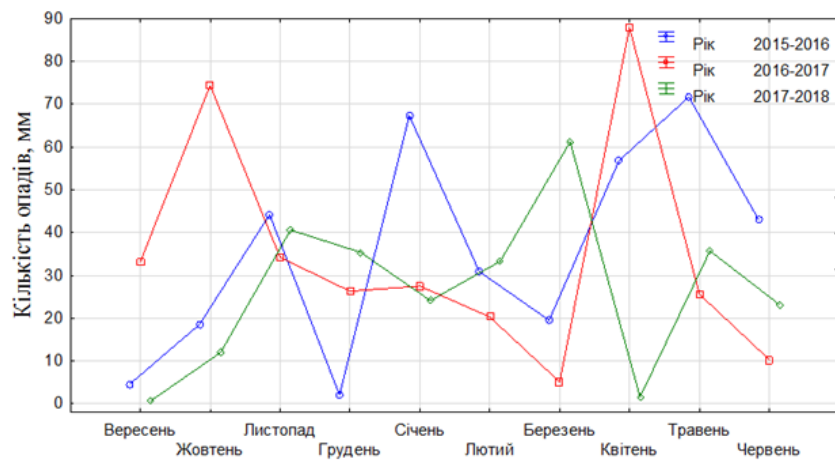
Загалом умови вирощування в 2015–2016 та 2017–2018 роках були більш схожими між собою і відрізнялися від 2016–2017 (рис. 1 А, Б) за даними обласного центру з гідрометеорології м. Херсон. У 2015 і 2017 роках з другої половини літа і до середини жовтня на півдні України утримувалась повітряна і ґрунтова посуха, що було не сприятливим для сівби. В той же час у вересні 2016 року випала достатня кількість опадів. У грудні 2015 і 2017 років утримувалась аномально тепла погода, що призвело до на місяць-півтора більш пізнього призупинення вегетації, отож рослини сортів пшениці ввійшли в зиму розкущеними. А в 2016 році вегетація припинилась на 11 днів раніше середньобагаторічних значень – 15 листопада. Загалом умови зимівлі у всі роки були задовільними. Відмінною особливістю вегетаційного періоду 2016 року була достатньо висока кількість атмосферних опадів у весняний і літній періоди.

### Результати досліджень та обговорення

На сьогодні в базі даних Національного центру біотехнологічної інформації [11] не депоновано повної послідовності гена *TaSnRK2.8-A* пшениці, хоча згідно [15] відомо про його секвенування. В той же час послідовність промоторного регіону цього гена розміром 2984 п.н. (номер в каталогі генбанку MF351624.1) оприлюднена [13]. При виконанні пошуку областей локальної подібності (BLAST) до послідовності промоторного регіону гена *TaSnRK2.8-A* (MF351624.1) знайдено п'ять послідовностей (3 послідовності пшениці, ячменю та егілопеу). Проте це не свідчить про наявність високо гомологічних послідовностей у цих злаків через те, що перекривання цих послідовностей з референсною складає від 2 до 8 %, хоча в рамках перекриття спостерігається від 88 до 100 % гомології.



А



Б

Рис. 1. Метеорологічні умови за роки досліджень: А – середньо-місячна температура; Б – сума опадів за місяць

За даними аналізу з CAPS-маркерами встановлено, що сорти Анатолія, Овідій, Росинка, Херсонська безоста, Херсонська 99 характеризуються *A* алелем – аденін в положенні 5917 п.н. гена *TaSnRK2.8-A* – розмір фрагмента рестрикції 92 п.н., а сорти Соборна, Благо, Бургунка, Кошова – *G* алелем (розмір фрагмента рестрикції 78 п.н.) (рис. 2).

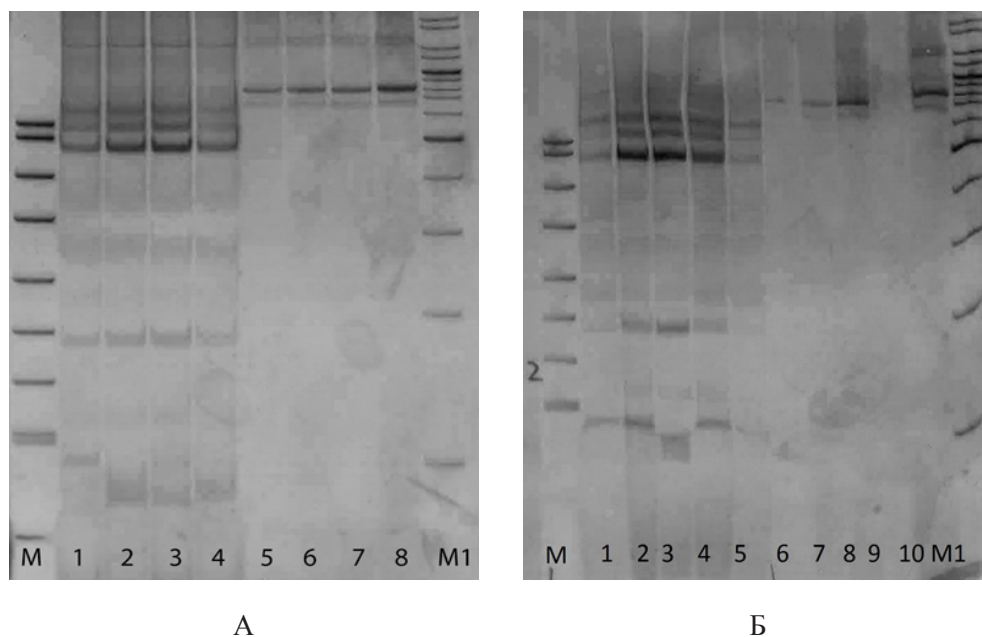


Рис. 2. CAPS аналіз *TaSnRK2.8-A* у генотипах сортів пшениці

А: 1, 5 – Анатолія; 2, 6 – Благо, 3, 7 – Бургунка, 4, 8 – Кошова – в 7 % ПААГ. Б: 1, 6 – Овідій, 2, 7 – Росинка, 3, 8 – Соборна, 4, 9 – Херсонська безоста, 5, 10 – Херсонська в 7 % ПААГ. М – маркер молекулярної маси *pUC19/Msp I*, М1 – маркер молекулярної маси 99 *Gene ruler*. 1, 2, 3, 4 на рис 2 А та 1, 2, 3, 4, 5 на рис 2.Б – поліморфізм за довжиною фрагментів отриманий в результаті ендонуклеазного розщеплення ПЛР-продуктів рестриктазою *HruCH4III*; 5, 6, 7, 8 на рис 2 А та 6, 7, 8, 9, 10 на рис 2.Б – ПЛР-продукти

Алель *A* вважається сприятливим алелем, що приводить до підвищення посухостійкості рослин, так як рослини з цим алелем характеризуються значним збільшенням біомаси проростків та водорозчинних вуглеводів [15]. Проте молекулярно-генетичні механізми цього ефекту залишаються не відомими. В нашому дослідженні частота зустрічальності *A* алелю (55,6 %) та *G* алелю (44,4 %) була майже однаковою, хоча за даними Zhang et al. [15] частота транзиції *A / G* складала 26,0 % при дослідженні 165 зразків. Розбіжність наших даних та даних Zhang et al. [15] може бути пов'язана з обмеженою вибіркою сортів у нашій роботі.

Досліджені сорти вирощували протягом трьох років на полях ІЗЗ в умовах зрошування та на богарі та визначали їх врожайність та індекс посухостійко-

сті (табл. 1). Між сортами виявлено статистично значимі відмінності на 5% рівні за врожайністю в умовах богари та зрошення, а також за індексом посухостійкості. Найбільш врожайним в умовах богари був сорт Кошова, він також залишився одним з найбільш врожайних при вирощуванні на зрошенні. Індекс посухостійкості (ІП) коливався від 38 (Бургунка) до 46 % (Росинка).

Таблиця 1

## Середні значення досліджених ознак у сортів за три роки

Сорт	Алель за геном <i>TaSnRK2.8-A</i>	Врожайність в умовах посухи, т/га	Врожайність при зрошуванні, т/га	Індекс посухостійкості	
				Ф	%
Анатолія	<i>A</i>	3,23	8,07	1,38	40
Бургунка	<i>G</i>	3,01	7,96	1,33	38
Кошова	<i>G</i>	3,80	8,91	1,42	43
Овідій	<i>A</i>	3,35	8,65	1,34	39
Росинка	<i>A</i>	3,54	7,75	1,49	46
Соборна	<i>G</i>	3,61	9,11	1,36	40
Херсонська безоста	<i>A</i>	3,09	8,01	1,34	39
Херсонська 99	<i>A</i>	3,41	8,44	1,38	41
ІП <sub>0,05</sub>		0,40	0,46	0,08	-

За результатами двофакторного дисперсійного аналізу за факторами «Алель» та «Рік» (які відображають вплив факторів генотип та середовище) визначено статистично значимі: вплив факторів «Алель» та «Рік» на врожайність в умовах зрошення ( $p=0,001$ ) та вплив взаємодії факторів «Рік» x «Алель» на врожайність в умовах посухи (богара) ( $p=0,05$ ) та на індекс посухостійкості ( $p=0,001$ ) (табл. 2). Градації факторів «Алель» та «Рік» вважали випадковими. Наявність взаємодії факторів «Рік» x «Алель» свідчить про різноспрямованість впливу факторів в різні роки дослідження. Можливо вірогідні відмінності між середніми значеннями ознак у різні роки зумовлені взаємодією генотипу з середовищем. Так, наприклад, у 2018 році врожайність вирощених на богарі сортів пшениці з *G* алелем була більшою, ніж у сортів з *A* алелем, а в 2016 та 2017 рр. між сортами з різними алелями спостерігалися різноспрямовані тенденції, але їх значимість була несуттєвою (рис. 3). При вирощуванні на зрошенні врожайність була вищою у сортів з *G* алелем у всі роки дослідження.

Якщо розглядати показник індекс посухостійкості то можна спостерігати взаємодію генотип x середовище (факторів «Алель» та «Рік») зі зміною рангів (рис. 3В). Так у 2016 році рослини з алелями *A* та *G* не розрізнялися за ІП, у 2017 більший ІП був у сортів з *A* алелем, а в 2018 році ІП був вищий у сортів з *G* алелем. Отже генотипи, що мають переваги в одних умовах навколишнього середовища, можуть не мати таких переваг в дещо змінених умовах іншого року досліджень.

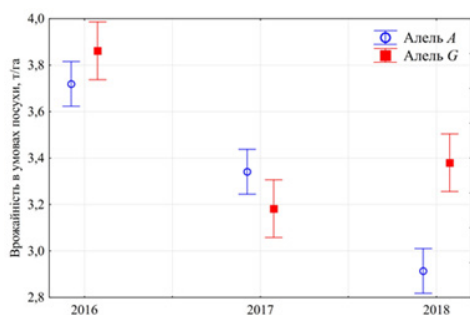
Таблиця 2

Результати дисперсійного аналізу, отримані при дослідженні сортів за три роки (2016–2018)

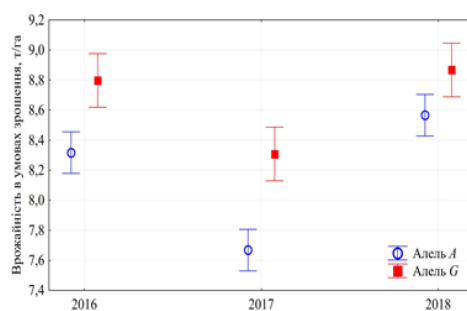
Ознака	Джерело варіації, mS			
	«Рік» (df=2)	«Алель» (df=1)	Взаємодія «Рік» x «Алель» (df=2)	Похибка (df=66)
Врожайність в умовах посухи (богара)	2,99	0,38	0,55*	0,14
Врожайність в умовах зрошення	3,90***	3,78***	0,16	0,29
Індекс посухостійкості	0,21	0,003	0,05***	0,006

Примітки:

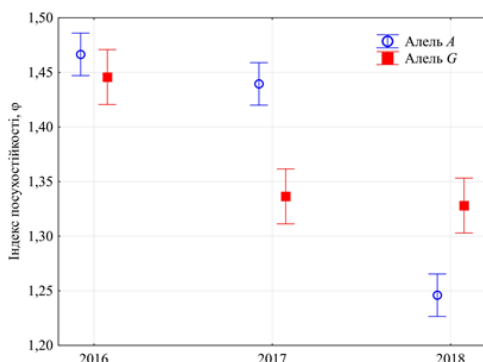
- Критичні рівні статистичної значимості позначено:  $p < 0,05$  – однією і  $p < 0,001$  – трьома зірочками (\*\*\*)
- Статистична значимість впливу факторів «Рік», «Алель» та їх взаємодії визначена за F-критерієм Фішера для відповідного фактора або взаємодії [2]



А



Б



В

Рис. 3. Врожайність в умовах богари (А) та зрошення (Б), а також індекс посухостійкості (В) в залежності від алелів гена *TaSnRK2.8-A*



SNP аналіз показав [15], що різноманітність одонуклеотидних замінів в некодуєчих регіонах гену *TaSnRK2.8* була вищою, ніж в кодуєчих, це дозволяє висловити припущення, що більший селекційний тиск був направлений на кодуєчий регіон гена.

Цікавим може бути продовження досліджень на більшій виборці сортів, або створення рекомбінантно-інбредних, або майже-ізогенних ліній за алелями *A* / *G* гену *TaSnRK2.8-A* та дослідження їх в умовах півдня України. При вирощуванні рослин пшениці в умовах південного степу України, не зважаючи на збільшення біомаси проростків та водорозчинних вуглеводів характерних для рослин з *A* алелем, про які повідомляли Zhang et al. [15], більшою врожайністю характеризувались рослини з *G* алелем. При вирощуванні сортів в умовах нестачі вологи (богара), можливо вплив дефіциту води проявляється ще на початку вегетації, а саме при проростанні рослин, що не дозволяє рослині «закласти більшу масу паростків». Таким чином програма зі збільшення маси паростків не реалізується, так як на більшу кількість (масу) проростків необхідно більше вологи, для їх нормального розвитку. В цьому випадку волога може витрачатися рослиною на ріст своїх вегетативних частин, а не накопичувати асимілянти в зернах. Тому у рослин з запрограмованою меншою масою проростків, вода витрачається саме на формування врожаю. На користь цієї гіпотези можуть свідчити дані обласного центру з гідрометеорології м. Херсон, які свідчать про повітряну і ґрунтову посуху, що спостерігалась до середини жовтня у 2015 і 2017 роках. Що було несприятливим для сівби озимих, а у вересні 2016 року випало 33,2 мм опадів, що близько до норми та має більший вплив для рослин вирощених в умовах богари. Індекс посухостійкості у рослин з *A* алелем був вищим у 2016–2017 році, можливо умови навколишнього середовища дозволили сортам з цим алелем проявити себе під час вегетації.

В той же час посухостійкість є складною та кількісною ознакою і шляхи взаємодії всіх генетичних мереж рослини, які регулюють її стійкість до посухи залишаються не вивченими. Можливо, через взаємодію з іншими генами ефекти *A* алелю в умовах півдня України нівелюються, або в українських сортах є інші мутації, які не дають перевагам *A* алелю проявитися.

### Висновки

В роботі апробовано маркери до гена *TaSnRK2.8-A*. Серед сортів херсонської селекції детектовано поліморфізм за цим геном. У сортів Анатолія, Овідій, Росинка, Херсонська безоста та Херсонська 99 детектовано наявність аденіну в положенні 5917 п.н. (*A* алель), а у сортів Благо, Бургунка, Кошова, Соборна – гуаніну (*G* алель). Між сортами виявлено статистично значимі відмінності за врожайністю в умовах богари та зрошення, а також за індексом посухостійкості. Найбільш врожайним в умовах богари був сорт Кошова, він також залишився одним з найбільш врожайних при вирощуванні на зрошенні. Вплив факторів «Рік» та «Алель» був статистично значимий на врожайність в умовах



зрошення. В той же час врожайність в умовах посухи та ПП залежали від взаємодії факторів генотип x середовище («Рік» x «Алель»). Сорти пшениці з G алелем мали більшу врожайність в умовах зрошення та при вирощуванні на богарі в умовах 2018 року. Не детектовано статистично значимих відмінностей між сортами з різними алелями гену *TaSnRK2.8-A* за врожайністю при вирощуванні на богарі в 2016 та 2017 роках.

Стаття надійшла до редакції 01.11.2020

### Список використаної літератури

1. Вожегова Р. А. Методика польових і лабораторних досліджень на зрошуваних землях / Р. А. Вожегова, М. П. Малярчук, С. В. Коковіхін та ін. // – Херсон: Вид. Гринь Д. С., 2014. – 286 с.
2. Доспехов Б.А. *Методика полевого опыта* (с основами статистической обработки результатов исследований) [5-е изд., доп. и перераб.] / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Иващенко А.А. Изменения климата грозят Украине потерей более половины пахотных земель / А.А. Иващенко // Зеркало недели. – 2012. – [http://news.zn.ua/SOCIETY/izmeneniya\\_klimata\\_grozyat\\_ukraine\\_poterey\\_bole polovini\\_pahotnyh\\_zemel-108287.html](http://news.zn.ua/SOCIETY/izmeneniya_klimata_grozyat_ukraine_poterey_bole polovini_pahotnyh_zemel-108287.html)
4. Лавриненко Ю.О. Еколого-генетична мінливість кількісних ознак зернових культур та її значення для селекції в умовах зрошення / Ю. О. Лавриненко. – Автореф. Дис. на здоб. ступеня докт. сільгосп. наук за спец. 06.01.05. – Дніпропетровськ, 2006. – 40 с. <https://institut-zerna.com/library/repozitarij/docs/lavrinenko/lavrinenko-aref.pdf>
5. Трипольська Г. Як проявляється зміна клімату в Україні? / Г. Трипольська // Фонд ім. Гайнріха Бюлля. – Київ, 2020. - <https://ua.boell.org/uk/2020/06/09/yak-proyavlyaetsya-zmina-klimatu-v-ukraini>
6. Урбах В.Ю. Биометрические методы / В.Ю. Урбах. – М.: Наука, 1964. – 415с.
7. Як змінюється клімат в Україні. Міністерство захисту довкілля та природних ресурсів України 15.03.2020. <https://mepr.gov.ua/news/35246.html>
8. Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 2: Molecular and Genetic Perspectives. Ed. M.A. Hossain, S.H. Wani, S. Bhattacharjee, D.J. Burrit, L.-S. P. Tran. – Springer, 2016. – 604 p.
9. Kawa D. SnRK2 protein kinases and mRNA decapping machinery control root development and response to salt / D. Kawa, A. J. Meyer, H. L. Dekker, A. M. Abd-El-Halim, K. Gevaert, E. Van De Slijke, J. Maszkowska, M. Bucholc, G. Dobrowolska, G. De Jaeger, R. C. Schuurink, M. A. Haring, C. Testerink // Plant physiology. – 2020. – Vol. 182 (1). – P. 361–377. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00818>
10. Klimecka M. Regulation of ABA-non-activated SNF1-related protein kinase 2 signaling pathways by phosphatidic acid / M. Klimecka, M. Bucholc, J. Maszkowska, E. Krzywińska, G. Goch, M. Lichocka, J. Szczegieliński, G. Dobrowolska // International journal of molecular sciences. – 2020. – Vol. 21 (14). – 4984. <https://doi.org/10.3390/ijms21144984>
11. NCBI – National Center for Biotechnology Information [Електронний ресурс] / Режим доступу до бази даних: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
12. Sidorenko M. V. The effect of drought on wheat plants at different growth stages / M. V. Sidorenko, S. V. Chebotar // Вісник ОНУ. Біологія. – 2020. – Т. 25, вип. 1 (46). – С. 67-87.
13. Zhang H. Functional characterization of *TaSnRK2.8* promoter in response to abiotic stresses by deletion analysis in transgenic *Arabidopsis* / H. Zhang, R. Jing, X. Mao // Front. Plant Sci. – 2017. – 8:1198. doi: 10.3389/fpls.2017.01198
14. Zhang H. Overexpression of a common wheat gene *TaSnRK2.8* enhances tolerance to drought, salt and low temperature in *Arabidopsis* / H. Zhang, X. Mao, C. Wang, R. Jing // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5 (12): e16041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016041>

15. Zhang H. Single-nucleotide polymorphisms and association analysis of drought-resistance gene *TaSnRK2.8* in common wheat / H. Zhang, X. Mao, J. Zhang, X. Chang // Plant Physiology and Biochemistry. – 2013. – Vol. 70. – P. 174-181.
16. Zhang Y. Overexpression of *CsSnRK2.5* increases tolerance to drought stress in transgenic *Arabidopsis* / Y. Zhang, S. Wan, X. Liu, J. He, L. Cheng, M. Duan, H. Liu, W. Wang, Y. Yu // Plant Physiology and Biochemistry. – 2020. – Vol. 150. – P. 162-170 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.035>
17. Zhu W. Genome-wide identification and characterization of *SnRK* family genes in *Brassica napus* / W. Zhu, D. Wu, L. Jiang, L. Ye // BMC plant biology. – 2020. – Vol. 20 (1). – 287. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02484-3>

**G. O. Chebotar<sup>1</sup>, O. Ye. Oliinyk<sup>1</sup>, Yu. O. Lavrynenko<sup>2</sup>, S. V. Chebotar<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Odesa National Mechnykov University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: s.v.chebotar@onu.edu.ua

<sup>2</sup>Institute of Irrigated Agriculture of NAAS, Naddniprianske village, Kherson, 73483, Ukraine

<sup>3</sup>Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, Ovidiopska road 3, Odesa, 65036, Ukraine

#### **APPROBATION OF *TaSnRK2.8-A* GENE MARKER ANALYSIS ON UKRAINIAN BREAD WINTER WHEAT VARIETIES**

**Problem.** Drought resistance of wheat is a complex quantitative trait. The study of the mechanisms and components of signaling pathways activated by drought stress, the search for and testing of molecular markers to identify alleles of genes that could provide benefits in certain growing conditions is relevant and necessary.

**The aim of the study** was to reveal the single nucleotide substitution of *A* to *G* at position 5917 bp of *TaSnRK2.8-A* gene, which differentiates alleles *A* and *G*, in bread winter wheat varieties of the Institute of Irrigated Agriculture of NAAS of Ukraine and to compare yield and drought resistance index for varieties with the identified alleles.

**Methods.** The alleles of the *TaSnRK2.8-A* gene in nine varieties of bread winter wheat from the Institute of Irrigated Agriculture of NAAS were studied using CAPS markers. Yields in drought and irrigation conditions were analyzed, as well as the drought resistance index in the field experiment during three growing years. Factors were evaluated using two factor analysis of variance (ANOVA) in Statistica 8.

**The main results.** In the varieties Anatoliia, Ovidii, Rosynka, Khersons'ka bezosta and Khersons'ka 99 the presence of adenine at position 5917 bp was detected – it was *A* allele of the *TaSnRK2.8* gene, and in the varieties Blaho, Burhunka, Koshova, Soborna – *G* allele. Significant differences were found between the varieties in terms of yield in the conditions of drought and irrigation, as well as in terms of drought resistance index. According to the results of two-factor analysis of variance, the factors "Year" and "Allele" significantly affected yield at the conditions of irrigation, in this case, plants with *G* allele were more productive. There were also significant affect of

the interaction of the factors "Year" x "Allele" on the yield in drought conditions and on the drought resistance index.

**Conclusions.** Alleles of the *TaSnRK2.8-A* gene were identified in 9 wheat varieties created at the Institute of Irrigated Agriculture. There were significant differences between the varieties in terms of yield under conditions of drought and irrigation, as well as in terms of drought resistance index. The Koshova variety was the most productive in the conditions of drought, it also remained one of the most productive when grown under irrigation. The influence of factors "Year" and "Allele" was statistically significant on yield under irrigation. At the same time, yields in drought and drought resistance index depended on the interaction of factors genotype x environment ("Year" x "Allele"). Wheat varieties with the *G* allele had higher yields under irrigation and when grown in conditions of drought in 2018. No significant differences were detected between varieties with different alleles of the *TaSnRK2.8-A* gene in terms of yield grown in conditions of drought in 2016 and 2017.

**Key words:** *Triticum aestivum* L., drought tolerance, molecular markers, *TaSnRK2.8-A* gene

## References

1. Vozhegova R.A., Malyarchuk M.P., Kokovikhin S.V. and others., (2014), «Methods of field and laboratory research on irrigated lands» [Metody polevykh i laboratornykh issledovaniy oroshayemykh zemel], Kherson: Publ. Gren D.S., 2014, 286 p.
2. Dospekhov B.A., (1985), «Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results)» [Metody polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezultatov issledovaniy)], B.A. Bronya, M.: Agropromizdat, 351 s.
3. Ivashchenko A.A., (2012), Climate change threatens Ukraine with the loss of more than half of arable land [Izmeneniye klimata grozit Ukraine poterey boleye poloviny pashni], Mirror of the week, [http://news.zn.ua/SOCIETY/izmeneniya\\_klimata\\_grozyat\\_ukraine\\_poterey\\_bolee\\_polovini\\_pahotnyh\\_zemel-108287.html](http://news.zn.ua/SOCIETY/izmeneniya_klimata_grozyat_ukraine_poterey_bolee_polovini_pahotnyh_zemel-108287.html)
4. Lavrinenko Yu. O., 2006, «Ecological and genetic variability of quantitative traits of cereals and its significance for selection under irrigation» [Ekologo-geneticheskaya izmenchivost' kolichestvennykh priznakov zernovykh kul'tur i yeye znacheniye dlya selektsii pri oroshenii], Author's ref. Dis. For degree of Dr. agricultural science for special. 01/06/05 [Avtorskaya iskh. Dis. na zdob. stepen' doktora sel'skokhozyaystvennykh nauk po spets. 06.01.05], Dnepropetrovsk, 40 p. <https://institut-zerna.com/library/repozitariy/docs/lavrinenko/lavrinenko-aref.pdf>
5. Trypolska G., (2020), «How does climate change manifest itself in Ukraine?», Foundation named after Heinrich Böll, <https://ua.boell.org/uk/2020/06/09/yak-proyavlyayetsya-zmina-klimatu-v-ukraini>
6. Urbach V.Yu., (1964), Biometric methods, [Biometricheskiye metody], M.: Nauka, 415 p.
7. How the climate in Ukraine is changing, [Kak menyayetsya klimat v Ukraine], Ministry of Environmental Protection and Natural Resources of Ukraine, [Ministerstvo okhrany okruzhayushchey sredi i prirodnykh resursov Ukrainy], 15.03.2020. <https://mepr.gov.ua/news/35246.html>
8. *Drought Stress Tolerance in Plants (2016), Vol 2: Molecular and Genetic Perspectives.* [Ed. M. A. Hossain, S.H. Wani, S. Bhattacharjee, D.J. Burrit, L.-S. P. Tran]. Springer, 604 pp.
9. Kawa D., Meyer A. J., Dekker H. L., Abd-El-Haliem A. M., Gevaert K., Van De Slijke E., Maszkowska J., Bucholc M., Dobrowolska G., De Jaeger G., Schuurink R. C., Haring M. A., Testerink C., (2020), «SnRK2 protein kinases and mRNA decapping machinery control root development and response to salt», *Plant physiology*, Vol. 182, № 1, P. 361–377. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00818>

10. Klimecka M., Bucholc M., Maszkowska J., Krzywińska E., Goch G., Lichočka M., Szczegielniak J., Dobrowolska G., (2020), «Regulation of ABA-non-activated SNF1-related protein kinase 2 signaling pathways by phosphatidic acid», *International journal of molecular sciences*, Vol. 21, № 14, P. 4984. <https://doi.org/10.3390/ijms21144984>
11. NCBI – National Center for Biotechnology Information [Електронний ресурс]: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
12. Sidorenko M. V., Chebotar S. V., 2020, «The effect of drought on wheat plants at different growth stages», *Visnyk ONU. Ser. Biologiya*, 25 (1), pp. 67-87.
13. Zhang H., Jing R., Mao X., (2017), «Functional characterization of *TaSnRK2.8* promoter in response to abiotic stresses by deletion analysis in transgenic *Arabidopsis*», *Front. Plant Sci.*, 8:1198. doi: 10.3389/fpls.2017.01198
14. Zhang H., Mao X., Wang C., Jing R., (2010), «Overexpression of a common wheat gene *TaSnRK2.8* enhances tolerance to drought, salt and low temperature in *Arabidopsis*», *PLoS ONE*, Vol. 5 (12): e16041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016041>
15. Zhang H., Mao X., Zhang J., Chang X., (2013), «Single-nucleotide polymorphisms and association analysis of drought-resistance gene *TaSnRK2.8* in common wheat», *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 70, P. 174-181.
16. Zhang Y., Wan S., Liu X., He J., Cheng L., Duan M., Liu H., Wang W., Yu Y., (2020), «Overexpression of *CsSnRK2.5* increases tolerance to drought stress in transgenic *Arabidopsis*», *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 150, P. 162-170 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.035>
17. Zhu W., Wu D., Jiang L., Ye L., (2020), «Genome-wide identification and characterization of *SnRK* family genes in *Brassica napus*», *BMC plant biology*, Vol. 20: 287. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02484-3>