

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

РИМАР ЮЛІЯ ЮРІЇВНА

УДК 581.821:577.21:633.11

ДИСЕРТАЦІЯ

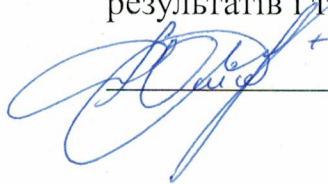
ОСОБЛИВОСТІ БІОГЕНЕЗУ ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ У ПШЕНИЦІ

Спеціальність 091 «Біологія»

Галузь знань 09 «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.



Юлія РИМАР

Науковий керівник: Моргун Богдан Володимирович, доктор біологічних наук,
член-кореспондент НАН України

Київ – 2025

АНОТАЦІЯ

Римар Ю.Ю. Особливості біогенезу продихового апарату у пшениці. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 «Біологія»). – Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, 2025.

Дисертаційна робота присвячена вивченню продихового апарату та генів його біогенезу у пшениці й інших представників роду *Triticum*.

Основні функції рослин, які регулюються продихами – це фотосинтез, транспірація, транспорт води та розчинених у ній органічних і мінеральних речовин, а також один із основних шляхів проникнення патогенів. До 99 % поглинутої води втрачається рослиною в процесі транспірації через продихи. На стан продихів впливає концентрація CO₂: за низької концентрації вуглекислого газу в міжклітинниках (під час фотосинтезу) продихи відкриваються, а за високої концентрації (через припинення фотосинтезу) – закриваються. Дефіцит води знижує швидкість фотосинтезу і відповідно через закриття продихів припиняється надходження CO₂ до мезофілу листка, що негативно впливає на продуктивність рослин. Відомо, що у відповідь на підвищення концентрації вуглекислого газу в атмосфері утворюється менша кількість продихів на одиницю площі листка та змінюються розміри замикаючих клітин. Ці модифікації істотно впливають на баланс водного режиму рослин й інтенсивність газообміну листків.

Пшениця залишається основною продовольчою культурою, але через посуху значно знижується її продуктивність. Задля зменшення витрат води та ефективного її використання важливим є розуміння механізмів адаптації продихового апарату до стресу. Дослідження генів *EPF1*, *EPF2*, *MUTE*, *FAMA*, *SCR*, *SHR*, *FLP* та інших генів, які контролюють розвиток продихів, дає поглибленні знання щодо процесів розвитку та функціонування продихів рослин на молекулярно-генетичному рівні. Розуміння, як саме зміни в

нуклеотидних послідовностях генів біогенезу продихів впливають на їх морфологію та показники їх кількості й особливості функціонування – є вагомим фактором у підвищенні стійкості рослин до посухи, біотичних і абіотичних стресів, зокрема посухи. Отже, дослідження продихового апарату та його генетичних детермінантів є ключовим напрямком для вирішення глобальних проблем продовольчої безпеки людства та підтримки сталого розвитку сільського господарства при мінливих умовах навколишнього середовища.

Метою роботи було дослідити особливості морфології і фізіології продихового апарату пшениць та співставити їх з відмінностями нуклеотидних послідовностей генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*. Для досягнення поставленої мети було окреслено та вирішено наступні завдання:

1. Створити й охарактеризувати колекцію з пшениці, споріднених видів та їх гібридів, придатну для вивчення продихового апарату.
2. Провести біоінформатичний аналіз генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*, зокрема їх промоторної частини.
3. Розробити системи ДНК-маркерів для детекції поліморфізму в промоторах генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*.
4. Провести скринінг колекцій пшениці, споріднених видів та їх гібридів за допомогою створених систем ДНК-маркерів на наявність поліморфізму.
5. Проаналізувати морфологію продихового апарату у сортів і селекційних ліній пшениці м'якої, а також споріднених видів.
6. Дослідити інтенсивність газообміну та вплив ґрунтової посухи у рослинах споріднених видах пшениці.
7. Встановити кореляційні зв'язки між морфологією, інтенсивністю газообміну і поліморфізмом нуклеотидних послідовностей генів біогенезу продихів.

У роботі використано такі методи досліджень: метод польового досліду, морфологічні, цитологічні, фізіологічні, молекулярно-генетичні, біоінформатичні, методи статистичного аналізу даних.

Для вивчення продихового апарату була створена колекція пшениці, споріднених видів та їх гібридів. Колекція налічувала 74 зразки з Національного центру генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України), 70 зразків комерційних сортів пшениці м'якої, придатних для вирощування в різних еколого-географічних зонах України (з Інституту фізіології рослин і генетики НАН України) та 74 зразки з міжнародної колекції гібридів та сортів пшениці м'якої з CIMMYT. Колекційні рослини проаналізовані за морфологічними, агрономічними характеристиками і стійкістю до збудників грибних інфекцій. Продихові щілини на листовій поверхні використовуються грибними патогенами як один із основних шляхів проникнення всередину рослини. Тому продихи безпосередньо залученні в ініціації та розвитку грибних захворювань, зокрема таких як борошниста роса та септоріоз листя пшениці. Нами встановлено, що серед зразків зібраної колекції найвища стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя серед озимих злаків притаманна рослинам, які поєднують пшенично-житні геноми (ABR чи ABDR) та мають два субгеноми АВ (*T. durum*); а серед ярих злакових – рослинам *T. dicoccum* (геном АВ) та *T. spelta* var. *album* (геном ABD).

Важливими генетичними детермінантами, що обумовлюють формування продихового апарату рослин злаків, є гени *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*. Тому проведено біоінформатичний аналіз промоторів цих генів у пшениці м'якої. У результаті вирівнювання нуклеотидних послідовностей промоторів, виявлено численні одонуклеотидні заміни й інсерції/делеції. Встановлено, що більшість змін мають вплив на склад *цис*-регуляторних елементів. Найбільшу кількість відмінностей спостерігали у послідовностях гена *EPF1* субгеному D. Проте, між нуклеотидними послідовностями промоторів генів *EPF2* субгеному А, *EPF2* субгеному D і *MUTE* субгеному В посухотолератного сорту 'Подільська' і посухочутливого сорту 'Наталка' не було виявлено відмінностей.

Дослідження поліморфізму промоторних ділянок нуклеотидних послідовностей *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* дало можливість розробити системи праймерів за допомогою Інтернет-ресурсу Primer-BLAST (NCBI). Створено й

апробовано 5 ДНК-маркерів й оптимізовано параметри полімеразної ланцюгової реакції для визначення поліморфізму в промоторних ділянках генів *EPF1* та *EPF2* (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE1D2, prE2B1). За допомогою запропонованих ДНК-маркерів, визначено частоти зустрічання поліморфних алелів у колекціях злакових. Найчастіше зустрічаються дві одонуклеотидні заміни A→G та A→C у промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному А. Частота цих замін є найвищою в українських сортів пшениці м'якої і складає 0,89; у колекції CIMMYT – 0,81; а серед співродичів пшениці та міжвидових гібридів – 0,56. Інсерція у промоторному регіоні гена *EPF2* з субгеному В найрідше детектується у диких родичів пшениці та зовсім не виявляється у зразків колекції CIMMYT. За частотою поширення поліморфних алелів, які виявляються маркерами prE1A1, prE1B1, prE1D1 і prE2B1, співродичі пшениці найбільше відрізняються від культурної пшениці м'якої української й іноземної селекції.

Уперше вивчено 7 морфологічних параметрів продихового апарату (довжина та ширина продихової щілини, її площа, довжина та ширина замикаючої клітини, кількість продихів на квадратний міліметр площі листка, сумарна площа продихових щілин на одиницю площі листка) в рослин *Triticum sinskajae*, *T. dicoccum* та *T. sphaerococcum*. Уточнено морфологічні параметри продихового апарату пшениці озимої – знайдено морфологічно відмінні генотипи. Встановлено, що три досліджувані селекційні лінії, які походять з Північної Америки – «Карликова», «Остиста, короткостеблова» та «Короткоостиста» – суттєво відрізняються за одним із параметрів продихового апарату. «Короткоостиста» вирізняється більшою кількістю продихів на адаксіальній поверхні листка; «Карликова» – зростанням сумарної площі продихових щілин на одиницю площі поверхні листової пластинки на адаксіальній стороні; а «Остиста, короткостеблова» – має меншу сумарну площу продихових щілин на абаксіальній стороні й одночасно проявляє тенденцію до зниження сумарної площі продихів абаксіальної поверхні листка.

Серед досліджуваних іноземних сортів рослин пшениці м'якої знайдено контрастні генотипи за кількістю продихів і загальною площею продихових щілин на одиницю площі поверхні листка. Максимальну кількість продихів як на адаксіальній так і на абаксіальній поверхні мали рослини сорту 'Колонія'. Проте, рослинам сорту 'Реформ' була притаманна максимальна загальна площа продихових щілин на одиницю площі адаксіальної та абаксіальної поверхонь листка.

Також визначено фізіологічні параметри транспірації та фотосинтезу для різних видів роду *Triticum* за умов ґрунтової посухи й оптимального поливу; виявлені кореляційні зв'язки між морфологією продихового апарату й особливостями його функціонування. Встановлено, що рослини полби *T. dicoccum* var. *aeruginosum* мають найбільшу кількість продихів на одиницю площі обох поверхонь листової пластини. Проте розміри замикаючих клітин і площа продихової щілини є найменшими у порівнянні із *T. spelta* var. *album* та *T. aestivum* сорту 'Зимоярка'. Такі особливості у морфології продихового апарату *T. dicoccum* впливають на продихову провідність й інтенсивність CO₂- і H₂O-газообміну. Встановлено, що більша кількість продихів на одиницю площі листка у *T. dicoccum* сприяє вищій продиховій провідності й інтенсивності транспірації, але дещо меншій ефективності використання води при фотосинтезі за умов високої інтенсивності світла та оптимального поливу. Внаслідок сильної негативної кореляції між кількістю продихів та їх розмірами, більші розміри замикаючих клітин у *T. spelta* та *T. aestivum* негативно корелюють із інтенсивністю газообміну за оптимальних умов. За дії короткочасної ґрунтової посухи більша кількість менших за розмірами продихів у *T. dicoccum* асоціювалася зі значним зниженням продихової провідності, але водночас підвищенням ефективності використання води та інтенсивності фотодихання, які є важливими компонентами адаптації до умов обмеженого вологозабезпечення.

Досліджено вплив відмінностей нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* на формування структур продихового апарату пшениці

м'якої. Встановлено високий взаємозв'язок для більшості досліджуваних поліморфних алелів з розмірами продихової щілини і кількістю продихів на одиницю площі листової пластини.

В цілому, створена платформа для вивчення продихового апарату злаків, яка включає зібрану колекцію рослин роду *Triticum*, методики морфологічного аналізу продихового апарату, вирівнювання і визначення поліморфізму нуклеотидних послідовностей, розроблені ДНК-маркери, статистичні алгоритми обробки даних. Застосування цієї платформи дозволило порівняти і вивчити морфологію та функціонування продихового апарату пшениці і споріднених злаків; виявити наявність поліморфізму в промоторах генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE*; встановити кореляцію особливостей морфології продихового апарату з його функціонуванням і взаємозв'язок з поліморфними алелями генів біогенезу продихів.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в наступному:

1) уперше вивченню нуклеотидні послідовності й анотовано поліморфні та консервативні локуси у промоторних ділянках генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* пшениці м'якої;

2) уперше розроблено й апробовано 5 ДНК-маркерів й оптимізовано параметри полімеразної ланцюгової реакції для визначення поліморфізму в промоторних ділянках генів *EPF1* та *EPF2*;

3) уперше виміряно морфологічні параметри продихового апарату рослин *Triticum sinskajae*, *T. dicoccum* та *T. sphaerococcum*;

4) уперше показана кореляція між відмінностями досліджених нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* і морфологією продихів у пшениці м'якої;

5) уперше показана кореляція між морфологією, кількістю продихів та їх функціонуванням (газообмін, фотосинтез, продихова провідність, ефективність використання води) у *T. dicoccum* та *T. spelta*.

Практичне значення отриманих результатів:

1) розроблені й апробовані ДНК-маркери, які можуть використовуватися

для детекції цінних алелів генів біогенезу продихів при відборі селекційного матеріалу;

2) встановлена кореляція між генетичними змінами та морфологією продихового апарату стає підґрунтям для подальших досліджень особливостей біогенезу продихового апарату з використанням сучасних, інноваційних біотехнологічних підходів; отримані закономірності можуть бути застосовані для направленного редагування геному пшениці м'якої;

3) виявлені зразки злакових рослин, котрі мають стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя, можуть бути використані у селекційних програмах;

4) зібраний, узагальнений новітній інформаційний матеріал стосовно будови, морфології і функціонування продихового апарату рослин може бути представлений у навчальних дисциплінах біологічного профілю для викладання студентам закладів вищої освіти.

Результати теоретичних та практичних досліджень можуть представляти інтерес для біологічної й аграрної галузей, а також зацікавлених біотехнологів, генетиків-селекціонерів, які залучені до створення нових сортів пшениці з поліпшеною функціональністю продихового апарату, толерантних до посухи та стійких до збудників борошнистої роси й септоріозу листя. Виявлені й анотовані поліморфні локуси генів біогенезу продихів можуть бути мішенями для цілеспрямованого редагування у біотехнологічних роботах фундаментального і прикладного характеру.

Ключові слова: продихи, гени біогенезу продихів, *EPF1*, *EPF2*, *MUTE*, молекулярні маркери, поліморфізм, спельта *Triticum spelta* L., пшениця *Triticum aestivum* L., полба *Triticum dicoccum* (Schuebl.) Schrank, біотична стійкість, абіотичний стрес, транспірація, ґрунтова посуха, *in silico* аналіз, морфологія

SUMMARY

Rymar Yu.Yu. Features of Stomata Biogenesis in Wheat. – Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis to fulfill requirements for Doctor of Philosophy degree in the specialty 091 “Biology” (09 “Biology”). – Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2025.

The dissertation is devoted to the study of the stomatal apparatus and the genes of its biogenesis in wheat and other representatives of the genus *Triticum*.

The main functions of plants regulated by stomata are photosynthesis, transpiration, transport of water, organic and mineral substances dissolved in it, as well as one of the main routes of pathogen penetration. Up to 99% of the absorbed water is lost by the plant during transpiration through the stomata. The state of stomata is influenced by the concentration of CO₂: at low concentrations of carbon dioxide in the intercellular spaces (during photosynthesis), the stomata open, and at high concentrations (due to the cessation of photosynthesis), the stomata close. Water deficiency reduces the rate of photosynthesis and, accordingly, the closure of stomata stops the flow of CO₂ to the mesophyll of the leaf, which negatively affects plant productivity. It is known that in response to an increase in the concentration of carbon dioxide in the atmosphere, fewer stomata are formed per unit of leaf area and the size of the guard cells changes. These modifications significantly affect the water balance of plants and the intensity of gas exchange in leaves.

Wheat remains the main food crop, but drought significantly reduces its productivity. To reduce water consumption and use it efficiently, it is important to understand the mechanisms of adaptation of the stomatal apparatus to stress. Research on the *EPF1*, *EPF2*, *MUTE*, *FAMA*, *SCR*, *SHR*, *FLP*, and other genes that control stomatal development provides in-depth knowledge about the processes of plant development and functioning at the molecular genetic level. Understanding how changes in the nucleotide sequences of stomatal biogenesis genes affect their morphology, number, and functioning is an important factor in increasing plant

resistance to drought, abiotic, and biotic stresses. Therefore, research on the stomatal apparatus and its genetic determinants is a key area for addressing global food security issues and supporting sustainable agricultural development in changing environmental conditions.

The aim of the study was to investigate the morphological and physiological characteristics of the stomatal apparatus of wheat and compare them with the differences in the nucleotide sequences of the *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE* stomatal biogenesis genes. To achieve this goal, the following tasks were outlined and solved:

1. create and characterize a collection of wheat, related species, and their hybrids suitable for studying the stomatal apparatus;
2. conduct a bioinformatic analysis of the genes of stomatal biogenesis *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE*, in particular their promoter regions;
3. develop DNA marker systems for the detection of polymorphism in the promoters of the genes of stomatal biogenesis *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE*;
4. screen collections of wheat, related species, and their hybrids for polymorphism using the developed DNA marker systems;
5. analyze the morphology of the stomatal apparatus in varieties and breeding lines of bread wheat, as well as related species;
6. study the intensity of gas exchange and the effect of soil drought in related wheat species;
7. establish correlations between morphology, gas exchange intensity, and polymorphism of nucleotide sequences of the stomatal biogenesis genes.

The following research methods were used in this work: field trial, morphological, cytological, physiological, molecular genetic, bioinformatic, and statistical data analysis methods.

To study the stomatal apparatus, a collection of wheat, related species, and their hybrids was established. The collection included 74 samples from the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine (Yuriev Plant Production Institute of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine), 70 samples of commercial bread wheat varieties suitable for cultivation in various ecological and geographical

zones of Ukraine (from the Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine), and 74 samples from the international collection of bread wheat varieties and hybrids from CIMMYT. The collection plants were analyzed for morphological and agronomic characteristics and resistance to fungal pathogens. Stomata on the leaf surface are used by fungal pathogens as one of the main routes of entry into the plant. Therefore, stomata are directly involved in the initiation and development of fungal diseases, such as powdery mildew and leaf septoria in wheat. We have established that among the samples in the collected collection, the highest resistance to powdery mildew and leaf septoria pathogens among winter cereals is characteristic of plants that combine rye-wheat genomes (ABR or ABDR) and have two AB subgenomes (*Triticum durum*); and among spring cereals – *T. dicoccum* (AB genome) and *T. spelta* var. *album* (ABD genome).

The *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE* genes are important genetic determinants that influence the formation of the stomatal apparatus in cereal plants. Therefore, a bioinformatic analysis of the promoters of these genes in bread wheat was performed. As a result of alignment of the nucleotide sequences of the promoters, numerous single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions were identified. It was found that most of the polymorphisms affect the composition of *cis*-regulatory elements. The greatest number of differences was observed in the sequences of the *EPF1* gene of subgenome D. However, no differences were found among the nucleotide sequences of the promoters of the *EPF2* subgenome A, *EPF2* subgenome D, and *MUTE* subgenome B genes of the drought-tolerant variety ‘Podolyanka’ and the drought-sensitive variety ‘Natalka’.

Research into the polymorphism of the promoter regions of the *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE* nucleotide sequences made it possible to develop primer systems using the Primer-BLAST (NCBI) online resource. Five DNA markers were created and tested, and the parameters of the polymerase chain reaction were optimized to determine polymorphism in the promoter regions of the *EPF1* and *EPF2* genes (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE1D2, prE2B1). Using the proposed DNA markers, the frequencies of polymorphic alleles in cereal collections were determined. The most

common are two single nucleotide polymorphisms A→G and A→C in the promoter region of the *EPF1* gene from subgenome A. The frequency of these substitutions is the highest in Ukrainian bread wheat varieties being 0.89; in the CIMMYT collection – 0.81; and among wheat relatives and interspecific hybrids – 0.56. The insertion in the promoter region of the *EPF2* gene from subgenome B is the least frequently detected in wild wheat relatives and is not detected at all in samples from the CIMMYT collection. In terms of the frequency of polymorphic alleles detected by the prE1A1, prE1B1, prE1D1, and prE2B1 markers, wheat relatives differ most from cultivated bread wheat of Ukrainian and foreign breeding.

For the first time, seven morphological parameters of the stomatal apparatus (length and width of the stomatal aperture, area of the stomatal aperture, length and width of the guard cell, number of stomata per square millimeter of leaf area, total stomatal pore area per unit area of leaf) in *Triticum sinskajae*, *T. dicoccum*, and *T. sphaerococcum* plants were measured for the first time. The morphological parameters of the stomatal apparatus of winter wheat were refined, and morphologically distinct genotypes were found. It was established that the three breeding lines studied, which originate from North America – “Dwarf,” “Spiny, Short-Stemmed,” and “Short-Spined” – differ significantly in one of the parameters of the stomatal apparatus. “Short-Spined” is distinguished by a greater number of stomata on the adaxial surface of the leaf; “Dwarf” – by an increase in the total area of stomatal openings per unit area of the leaf blade on the adaxial side; and “Spiny, Short-Stemmed” has a smaller total area of stomatal openings on the abaxial side and at the same time shows a tendency to decrease the total area of stomata on the abaxial surface of the leaf.

Among the studied foreign varieties of bread wheat, contrasting genotypes were found in terms of the number of stomata and the total area of stomatal openings per unit of leaf surface area. The maximum number of stomata on both the adaxial and abaxial surfaces was found in plants of the ‘Colonia’ variety. However, plants of the ‘Reform’ variety had the maximum total area of stomatal openings per unit area of the adaxial and abaxial surfaces of the leaf.

The physiological parameters of transpiration and photosynthesis for different species of the genus *Triticum* under conditions of soil drought and optimal irrigation were also determined; correlations between the morphology of the stomatal apparatus and the peculiarities of its functioning were revealed. It was found that *T. dicoccum* var. *aeruginosum* had the largest number of stomata per unit area on both surfaces of the leaf blade. However, the size of the guard cells and the area of the stomatal aperture are the smallest compared to *T. spelta* var. *album* and *T. aestivum* variety 'Zymoyarka'. These features in the morphology of the stomatal apparatus of *T. dicoccum* affect stomatal conductance and the intensity of CO₂ and H₂O gas exchange. It has been established that a greater number of stomata per unit of leaf area in *T. dicoccum* contributes to higher stomatal conductance and transpiration intensity, but slightly lower water use efficiency during photosynthesis under conditions of high light intensity and optimal irrigation. Due to the strong negative correlation between the number of stomata and their size, the larger size of guard cells in *T. spelta* and *T. aestivum* negatively correlates with the intensity of gas exchange under optimal conditions. Under short-term soil drought, a larger number of smaller stomata in *T. dicoccum* was associated with a significant decrease in stomatal conductance, but at the same time with an increase in water use efficiency and photorespiration intensity, which are important components of adaptation to conditions of limited water supply.

The influence of differences in the nucleotide sequences of the *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE* genes on the formation of the stomatal apparatus structures of bread wheat was investigated. A high correlation was established for most of the studied polymorphic alleles with the size of the stomatal aperture and the number of stomata per unit area of the leaf blade.

In general, a platform for studying the stomatal apparatus of cereals has been developed, which includes a collection of plants of the genus *Triticum*, methods for morphological analysis of the stomatal apparatus, alignment and determination of nucleotide sequence polymorphism, developed DNA markers, and statistical algorithms for data processing. The use of this platform made it possible to compare

and study the morphology and functioning of the stomatal apparatus of wheat and related cereals; detect the presence of polymorphism in the promoters of the stomatal biogenesis genes *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE*; establish a correlation between the morphological features of the stomatal apparatus and its functioning and the relationship with polymorphic alleles of stomatal biogenesis genes.

The scientific novelty of the obtained results is as follows:

1) for the first time, nucleotide sequences were studied, polymorphic and conservative loci in the promoter regions of the *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE* genes of bread wheat were annotated;

2) for the first time, five DNA markers were developed and tested, and the parameters of the polymerase chain reaction were optimized to determine polymorphism in the promoter regions of the *EPF1* and *EPF2* genes;

3) for the first time, morphological parameters of the stomatal apparatus of *Triticum sinskajae*, *T. dicoccum*, and *T. sphaerococcum* plants were measured;

4) for the first time, the correlation between the differences in the studied nucleotide sequences of the *EPF1*, *EPF2*, and *MUTE* genes and the morphology of stomata in bread wheat was shown;

5) for the first time, the correlation among morphology, stomatal number, and stomatal function (gas exchange, photosynthesis, stomatal conductance, water use efficiency) in *T. dicoccum* and *T. spelta* was demonstrated.

Practical significance of the obtained results:

1) DNA markers have been developed and tested that can be used to detect valuable alleles of stomatal biogenesis genes when selecting breeding material;

2) the established correlation between genetic changes and the morphology of the stomatal apparatus provides a basis for further research into the characteristics of stomatal apparatus biogenesis using modern, innovative biotechnological approaches; the patterns obtained can be applied to targeted editing of the bread wheat genome;

3) the identified samples of cereal plants that are resistant to powdery mildew and leaf septoria pathogens can be used in breeding programs;

4) the latest information on the structure, morphology, and functioning of the

stomatal apparatus of plants has been collected and summarized, and can be presented in biology courses for students at higher education institutions.

The results of theoretical and practical research may be of interest to the biological and agricultural sectors, as well as to interested biotechnologists, geneticists breeders involved in the development of new wheat varieties with improved stomatal apparatus functionality, drought tolerance, and resistance to powdery mildew and leaf septoria pathogens. The identified and annotated polymorphic loci of stomatal biogenesis genes can be points for targeted editing in fundamental and applied biotechnological work.

Keywords: stomata, stomatal biogenesis genes, *EPF1*, *EPF2*, *MUTE*, molecular markers, polymorphism, *Triticum spelta* L., *Triticum aestivum* L., *Triticum dicoccum* (Schuebl.) Schrank, biotic resistance, abiotic stress, transpiration, soil drought, *in silico* analysis, morphology

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових виданнях України:

1. **Римар Ю.**, Лахнеко О.Р. (2025) ДНК-маркери для детекції поліморфізму генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* пшениці. *Біомедична інженерія і технологія*. Т. 3, № 18, С. 1–17. <https://doi.org/10.20535/2025.18.333019> (**Категорія Б**) (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, проводила частину експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, здійснила статистичну обробку даних та аналіз отриманих результатів, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку);
2. **Римар Ю.Ю.**, Проніна О.В., Кірізій Д.А., Дуплій В.П., Моргун Б.В., Стасик О.О. (2025) Характеристика продихового апарату прапорцевого листка у зв'язку з інтенсивністю газообміну і посухостійкістю у споріднених видів ярої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. Т. 57, № 1, С. 64–82. <https://doi.org/10.15407/frg2025.01.064> (**Категорія Б**) (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку);
3. **Римар Ю.Ю.**, Проніна О.В., Дуплій В.П., Моргун Б.В. (2023) Особливості морфології продихового апарату пшениці м'якої. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. Т. 32, С. 120–124, <https://doi.org/10.7124/FEEO.v32.1547> (**Категорія Б**) (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, здійснила аналіз отриманих даних, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку).

Статті в зарубіжних періодичних наукових виданнях:

4. Lakhneko, O., Stepanenko, A., **Rymar, Y.**, Borysyuk, M., Morgun, B. (2024). Sequence comparison of MUTE promoters between two wheat cultivars revealed both conservative and diverged regions. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 13(6). <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9662> (Web of Science, Scopus, Q4) (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та оптимізації проведення експериментальних досліджень, брала участь у написанні статті).

Тези наукових доповідей:

5. Lakhneko, O., Stepanenko, A., **Rymar, Yu.**, Yaroshko, O., Velykozhon, L., Morgun, B. (2025). PCR analysis of stomata biogenesis genes in common wheat varieties. «Біотехнологія XXI століття»: Матеріали XIX Міжнародної науково-практичної конференції. (16 травня 2025 р., м. Київ) – Київ: КПІ ім. Сікорського, 2025. – с. 139–140. <http://conf.biotech.kpi.ua/article/view/329856> (Здобувачка проводила частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, підготувала матеріал до друку);
6. Lisova, H., **Rymar, Y.**, Morgun, B. (2024) Wheat genome and resistance to powdery mildew and septoria leaf spot. *National Conference with International Participation 'Natural Sciences in the Dialogue of Generations'*, Chisinau, Moldova, September 12-13, 2024. P. 73. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/215333 (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних);
7. **Rymar, Y.**, Lakhneko, O., Stepanenko, A., Morgun, B. (2024) DNA markers to detect polymorphisms in stomatal biogenesis genes *EPF1* and *EPF2*. У: *10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology*, 25–26 червня 2024 р., Kyiv, Ukraine. с. 37. https://icbge.org.ua/eng/RAPB_2024 (Здобувачка брала участь у плануванні

та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку);

8. Stepanenko, A., Lakhneko, O., **Rymar, Y.**, Morgun, B., Borysyuk, M. (2024) Modulation of leaf surface features for improved wheat drought tolerance. *10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology*. Kyiv, Ukraine, 25-26 June, 2024, P. 26. https://icbge.org.ua/eng/RAPB_2024 (Здобувачка провела частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних);
9. Stepanenko, A., Lakhneko, O., **Rymar, Y.**, Morgun, B., Borisjuk, N. (2023) Leaf surface features, composition of cuticle and frequency of stomata, affect drought tolerance in wheat. *У: Translational Research in Crops*, 22–23 червня 2023 р., Ghent, Belgium. <https://www.vibconferences.be/abstract/2421> (Здобувачка провела частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, описала їх);
10. **Римар Ю.**, Лахнеко О., Степаненко А., Моргун Б. (2023) Оцінка поліморфізму в промоторній ділянці гена біогенеза прорихів *EPF1*. *Збірник тез доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»*, м. Львів, 26–28 квітня 2023 р., Львівський національний університет імені Івана Франка, С. 97–98. <https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2023/04/Youth-and-Progress-of-Biology.-Abstracts-of-XIX-International-Scientific-Conference-for-Students-and-PhD-Students-Lviv-April-26-28-2023..pdf> (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку);
11. **Римар Ю.Ю.**, Лісова Г.М., Проніна О.В., Сливка Л.В., Рябчун В.К., Моргун Б.В. (2023) Стійкість видів пшениці з різними геномами до збудників борошнистої роси та септоріозу листя. *Тези доповідей Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми генетики,*

біотехнології та біохімії рослин». 19 жовтня 2023 р., СГІ–НЦНС НААН України. Одеса, С. 81–82.

http://www.sgi.in.ua/data/documents/vidannya-institutu/materiali-konferencii/materiali_konferencii_8.pdf (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, підготувала матеріал до друку);

12. **Римар Ю.Ю.**, Проніна О.В., Моргун Б.В. (2023) Характеристика морфологічних параметрів продихів селекційних ліній пшениці м'якої. *Матеріали XVI конференції молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів»*. 12 травня 2023 р., Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, С. 50–52. https://drive.google.com/file/d/1KCFg2LqdceFORIgvu-BPaEA_-oQK5Z4/-view (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку);

13. Lakhneko, O., Stepanenko, A., **Rymar, Y.**, Borysyuk, M., Morgun, B. (2022) Variability of promoter regions of *MUTE* homeologous genes in bread wheat. *Book of reviewed from the 15th International Scientific Conference FOOD|BIO|TECH*, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, 5-6 October 2022, Nitra, Slovak Republic – p. 52. <https://doi.org/10.15414/2022.9788055225173> (Здобувачка брала участь у плануванні й оптимізації проведення експериментальних досліджень);

14. **Римар Ю.**, Лахнеко О., Степаненко А., Борисюк М., Моргун Б. (2022) Аналіз промоторів генів *EPF1*, залучених в процес біогенезу продихів пшениці. *Матеріали Міжнародної науково–практична конференція «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети»*, 30 вересня 2022 р., Одеса, Україна – с. 183–184. <https://ovoch.com.ua/publiczna-informaciya/novini/mizhnarodna-naukovopraktichna-online-konferenciya-selekciya-agrokultur-v-umovah-zmin-klimatu-napr>

[yami-taprioriteti/](#) (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та підготувала матеріал до друку);

15. **Римар Ю.Ю.,** Проніна О.В., Лахнеко О.Р., Степаненко А.І., Моргун Б.В. (2022) Морфологія продихового апарату пшениці шарозерної сорту Донор Київський. *Матеріали Міжнародної наукової конференції з нагоди 125-річчя від дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора, академіка ВАСГНІЛ Бориса Павловича Соколова*, 15–16 вересня 2022 р., Дніпро – с. 23–24. <https://institut-zerna.com/library/repozitariy/docs/materialy-konf/materiali-naukovoi-konferentsii-15-16-veresnya-2022-r.pdf> (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	24
ВСТУП	25
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	33
1.1. Пшениця і близькоспоріднені види як об'єкт дослідження	35
1.2. Продихи та транспірація	37
1.2.1. Історичні аспекти дослідження	38
1.2.2. Еволюція продихів у рослин	39
1.2.3. Роль продихів у процесі газообміну рослин	42
1.3. Біогенез продихів	42
1.3.1. Гени біогенезу продихів	42
1.3.2. Особливості біогенезу продихів в однодольних і дводольних	43
1.3.3. Дослідження генів біогенезу продихів у злакових	45
1.4. Прикладне застосування дослідження продихового апарату злаків ...	48
1.5. Висновки до розділу 1	50
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	51
2.1. Рослинний матеріал	51
2.2. Методика вирощування злаків у польових дослідках	57
2.2.1. Визначення елементів структури врожайності і продуктивності рослин	57
2.2.2. Методика оцінювання стійкості рослин до збудників грибних уражень	58
2.3. Методика мікроскопічного вивчення продихового апарату рослин	61
2.4. Молекулярно-генетичні методи	62
2.5. Фізіологічні методи вивчення функціонування продихового апарату пшениці	66
2.5.1. Моделювання умов ґрунтової посухи	66
2.5.2. Вимірювання показників газообміну та фотосинтезу	67
2.6. Біоінформатичні методи	68

2.7. Статистичні методи	68
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	70
3.1. Створення колекції злаків, її детальна характеристика	70
3.1.1. Характеристика за структурними елементами рослин і продуктивністю	72
3.1.2. Оцінка стійкості пшениці й інших злаків до збудників грибних хвороб	74
3.1.3. Висновки до підрозділу 3.1	82
3.2. Біоінформатичний аналіз генів біогенезу проростків	84
3.2.1. Аналіз поліморфізму в нуклеотидних послідовностях промотора гена <i>EPF1</i>	87
3.2.2. Аналіз поліморфізму в нуклеотидних послідовностях промотора гена <i>EPF2</i>	90
3.2.3. Аналіз поліморфізму в нуклеотидних послідовностях промотора гена <i>MUTE</i>	91
3.2.4. Висновки до підрозділу 3.2	93
3.3. Розробка систем ДНК-маркерів для детекції поліморфізму промоторів генів <i>EPF1</i> , <i>EPF2</i> та <i>MUTE</i>	95
3.3.1. Оптимізація умов проведення ПЛР й апробація ДНК-маркерів	95
3.3.2. Висновки до підрозділу 3.3	101
3.4. Молекулярно-генетичний скринінг колекцій пшениці та споріднених видів на наявність поліморфізму	103
3.4.1. Дослідження поширення поліморфних алелів серед колекції українських сортів пшениці м'якої	103
3.4.2. Дослідження поширення поліморфних алелів серед міжнародної колекції пшениці CIMMYT	104
3.4.3. Дослідження поширення поліморфних алелів серед диких співродичів пшениці, споріднених видів та їх гібридів	106
3.4.4. Висновки до підрозділу 3.4	108
3.5. Особливості морфології проросткового апарату	111

3.5.1. Порівняння особливостей морфології продихового апарату українських сортів і селекційних ліній північноамериканського походження	111
3.5.2. Особливості внутрішньовидової відмінності морфології продихового апарату різних сортів пшениці м'якої української й іноземної селекції	116
3.5.3. Особливості морфології продихового апарату різних видів пшениць	125
3.5.4. Висновки до підрозділу 3.5	132
3.6. Взаємозв'язок морфології продихового апарату з інтенсивністю газообміну та впливом ґрунтової посухи	135
3.6.1. Морфологічні особливості досліджуваних зразків рослин роду <i>Triticum</i> L.	135
3.6.2. Порівняння морфології продихового апарату досліджуваних зразків рослин роду <i>Triticum</i> L.	137
3.6.3. Інтенсивність газообміну та фотосинтезу у досліджуваних зразків рослин роду <i>Triticum</i> L.	142
3.6.4. Зернова продуктивність у досліджуваних зразках рослин роду <i>Triticum</i> L. за умов ґрунтової посухи	146
3.6.5. Результати кореляційних залежностей між морфологією продихового апарату і показниками газообміну зразків рослин роду <i>Triticum</i>	147
3.6.6. Висновки до підрозділу 3.6	152
3.7. Взаємозв'язок поліморфізму алелів генів з морфологією продихового апарату	153
3.7.1. Висновки до підрозділу 3.7	155
ВИСНОВКИ	157
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	160
ДОДАТКИ	176

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

VBCH-код – класифікація стадій розвитку рослин, запропонована компаніями

BASF, Bayer AG, Ciba Geigy AG та Hoechst AG

bp, пн – пар нуклеотидів

CDS – coding sequence, частина нуклеотидної послідовності гена, кодує протеїн

DNA, ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

EPF1, EPF2 – Epidermal Patterning Factor, фактор формування епідермісу

GMC – Guard Mother Cell, замикаюча материнська клітина

LB-буфер – буфер для нанесення зразків у гель

MUTE – основний helix-loop-helix (bHLH) транскрипційний фактор

PIF4 – Phytochrome Interacting Factor 4, транскрипційний фактор

SMC – Subsidiary Mother Cells, допоміжні материнські клітини

SPCH – SPEECHLESS, транскрипційний фактор

WUEi – instantaneous water use efficiency, ефективність використання води при фотосинтезі в момент вимірювання

АФК – активні форми кисню

дНТФ – дезоксинуклеотидтрифосфати

ЕДТА – етилендіамінтетраоцтова кислота

мкг – мікрограм

мл, мкл – мілілітр, мікролітр

мМ – мілімоль

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

МТЗ – маса тисячі зерен

нм – нанометр

ПВ – повна вологомісткість ґрунту

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ЦТАБ – cetyltrimethylammonium bromide, СТАВ, цетилтриметиламоній бромід

хв – хвилина

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Продихи контролюють основні важливі фізіологічні функції рослин: транспірацію, фотосинтез, транспорт води, охолодження рослин через випаровування води, захист рослин від збудників хвороб. У процесі продихової транспірації випаровується 90–99 % води з рослини (Hetherington et al., 2003; Bertolino et al. 2019; Lawson et al., 2020; Tateda et al. 2019). Стан продихів залежить від концентрації CO₂: за низької концентрації вуглекислого газу в міжклітинниках (під час фотосинтезу) продихи відкриваються, а за високої концентрації (через припинення фотосинтезу) – закриваються (Nunes et al., 2019; McAdam et al., 2021). Низька вологість і дефіцит води також спричиняють закриття продихів через втрату тургора у замикаючих клітинах (гідропасивне закриття). Разом з тим знижується інтенсивність фотосинтезу через припинення надходження CO₂ до листків. Це має безпосередній вплив на продуктивність рослин. Отже, через посуху втрачається значний відсоток урожаю сільськогосподарських культур, у тому числі і пшениці (Hunt et al., 2021). Відомо, що у відповідь на підвищення концентрації вуглекислого газу в атмосфері утворюється менша кількість продихів на одиницю площі листка та змінюються розміри замикаючих клітин (Dow et al., 2019). Зміна щільності розташування продихів на поверхні листка та зміна продихової провідності дозволяють рослинам акліматизуватися до умов навколишнього середовища. Ці модифікації істотно впливають на баланс водного режиму рослин й інтенсивність газообміну листків (Dow et al., 2019).

Пшениця м'яка – є життєво важливим компонентом забезпечення продовольчої безпеки України і не тільки, а також залишається однією з найбільш вирощуваних зернових культур у світі. Задля зменшення витрат води та ефективного її використання, важливим є розуміння механізмів адаптації продихового апарату до стресу. Гени біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2*, *MUTE* є важливими генетичними детермінантами, які регулюють асиметричний поділ при утворенні продихових клітин (Hunt et al., 2009; Serna, 2011; 2021; Raissig et

al., 2017; Guo et al., 2021). Також *MUTE* регулює перехід майбутніх замикаючих клітин від проліферації до диференціації (Serna, 2011; 2021; Raissig et al., 2017). Дослідження генів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* дає поглибленні знання щодо процесів розвитку та функціонування рослин на молекулярно-генетичному рівні.

Особливо актуальним є комплексний підхід до дослідження щодо утворення і діяльності продихового апарату пшениці, який включає морфологію продихів, їх функціонування та визначення поліморфізму генів його біогенезу. Отже, дослідження продихового апарату та його генетичних детермінантів являється ключовим напрямком для вирішення глобальних проблем продовольчої безпеки людства та підтримки сталого розвитку сільського господарства при мінливих умовах навколишнього середовища.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконувались в Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України згідно з бюджетними темами III-9-17 «Дослідження цінних генетичних детермінант і нових алельних ефектів генів для поліпшення хлібних злаків в умовах негативного впливу глобальних кліматичних змін (державний реєстраційний номер 0117U000385), III-7-22 «Системи молекулярних маркерів для добору сприятливих генотипів культурних рослин» (державний реєстраційний номер 0122U001512) та III-7-25 «Молекулярно-генетичний супровід селекційного поліпшення рослин» (державний реєстраційний номер 0125U002197), а також на конкурсній основі грантами НАН України дослідницьким лабораторіям/групам молодих вчених НАН України для проведення досліджень за пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки «Дослідження молекулярно-генетичних чинників біогенезу продихів в контексті підвищення посухостійкості пшениці» (державний реєстраційний номер 0122U002213) і «Роль механізмів регуляції редокс протеому у поліпшенні посухостійкості пшениці» (державний реєстраційний номер 0125U001842).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було дослідити особливості морфології і фізіології продихового апарату пшениць та

співставити їх з відмінностями нуклеотидних послідовностей генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*. Для досягнення поставленої мети було окреслено та вирішено наступні завдання:

1. Створити й охарактеризувати колекцію з пшениці, споріднених видів та їх гібридів, придатну для вивчення продихового апарату.
2. Провести біоінформатичний аналіз генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*, зокрема їх промоторної частини.
3. Розробити системи ДНК-маркерів для детекції поліморфізму в промоторах генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*.
4. Провести скринінг колекцій пшениці, споріднених видів та їх гібридів за допомогою створених систем ДНК-маркерів на наявність поліморфізму.
5. Проаналізувати морфологію продихового апарату у сортів і селекційних ліній пшениці м'якої, а також споріднених видів.
6. Дослідити інтенсивність газообміну та вплив ґрунтової посухи у рослин споріднених видах пшениці.
7. Встановити кореляційні зв'язки між морфологією, інтенсивністю газообміну і поліморфізмом нуклеотидних послідовностей генів біогенезу продихів.

Об'єкт дослідження – продиховий апарат злаків та його генетичні детермінанти як ключові елементи підвищення адаптивності рослин пшениці до абіотичних стресів.

Предмет дослідження – морфологічні і фізіологічні аспекти продихів пшениці у зв'язку з поліморфізмом генів, що відповідають за їх формування.

Методи дослідження: методи польового досліду, оцінки стійкості рослин до збудників хвороб), фізіологічні, морфологічні, цитологічні, молекулярно-генетичні, біоінформатичні та методи статистичного аналізу даних.

Наукова новизна одержаних результатів зумовлена сукупністю поставлених завдань. У межах проведених досліджень отримано результати, які мають наукову новизну і виносяться на захист, а саме:

1) вперше вивченню нуклеотидні послідовності й анотовано поліморфні та консервативні локуси у промоторних ділянках генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* пшениці м'якої;

2) уперше розроблено й апробовано 5 ДНК-маркерів й оптимізовано параметри полімеразної ланцюгової реакції для визначення поліморфізму в промоторних ділянках генів *EPF1* та *EPF2*;

3) вперше виміряно морфологічні параметри продихового апарату рослин *Triticum sinskajae*, *T. dicocum* та *T. sphaerococum*;

4) уперше показана кореляція між відмінностями досліджених нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* і морфологією продихів у пшениці м'якої;

5) вперше показана кореляція між морфологією, кількістю продихів та їх функціонуванням (газообмін, фотосинтез, продихова провідність, ефективність використання води) у *T. dicocum* та *T. spelta*.

Практичне значення одержаних результатів:

1) розроблені й апробовані ДНК-маркери, які можуть використовуватися для детекції цінних алелів генів біогенезу продихів при відборі селекційного матеріалу;

2) встановлена кореляція між генетичними змінами та морфологією продихового апарату стає підґрунтям для подальших досліджень особливостей біогенезу продихового апарату з використанням сучасних, інноваційних біотехнологічних підходів; отримані закономірності можуть бути застосовані для направленої редагування геному пшениці м'якої;

3) виявлені зразки злакових рослин, що мають стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя пшениці, можуть бути використані у селекційних програмах.

4) зібраний, узагальнений новітній інформаційний матеріал стосовно будови, морфології і функціонування продихового апарату рослин може бути представлений у навчальних дисциплінах біологічного профілю для викладання студентам закладів вищої освіти.

Біоетична експертиза. Дисертантка не порушила жодних рекомендацій «Заяви про позицію МСОП (Міжнародного союзу охорони природи) щодо досліджень видів, які знаходяться під загрозою зникнення» («IUCN Position Statement on Research Involving Species at Risk of Extinction») та працювала в рамках українського законодавства. Дисертантка не імпортувала рослин з жодної країни і працювала виключно зі зразками колекції рослин, уже наявних в Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. Також рослини пшениці із зареєстрованої колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України і Національного центру генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України) залучалися як вихідний матеріал для проведення досліджень.

Особистий внесок здобувачки. Дисертаційна робота містить результати отримані здобувачкою. Проблематика, мета і завдання роботи сформульовані авторкою разом з науковим керівником д.б.н. Богданом Володимировичем Моргуном. Особистий внесок дисертантки полягав у підборі й аналізі наукової літератури, плануванні експериментальних досліджень, зборі колекції злакових рослин, підготовці посівного матеріалу та проведенні посівів на дослідній ділянці, агрономічному аналізі зібраного врожаю, відборі матеріалу для вивчення продихового апарату у рослин роду *Triticum*, створенні препаратів для мікроскопічного аналізу продихів, обрахунку морфологічних параметрів продихів, проведенні вимірювань інтенсивності газообміну та фотосинтезу й оцінки стійкості рослин до збудників грибних інфекцій, проведенні біоінформатичного аналізу нуклеотидних послідовностей генів біогенезу продихів, розробці систем ДНК-маркерів, оптимізації умов проведенні полімеразної ланцюгової реакції, молекулярно-генетичному аналізі колекційних зразків, статистичній обробці одержаних результатів, їх описі, аналізі та формулюванні висновків. Внесок інших авторів у роботи (Римар & Лахнеко, 2025; Римар, Проніна, Кірзій, Дуплій, Моргун, Стасик, 2025; Lakhneko, Stepanenko, Rymar, Borysyuk, Morgun, 2024; Римар, Проніна, Дуплій, Моргун, 2023) полягав у сприянні і допомозі під час проведення експериментальних

досліджень, обговоренні отриманих даних, написанні та редагуванні рукописів публікацій. Внесок Ольги Романівни Лахнеко (Ph.D., ІКБГІ НАН України) полягав у допомозі з біоінформатичним аналізом та розробкою систем ДНК-маркерів (Римар, Лахнеко, 2025; Lakhneko, Stepanenko, Rymar, Borysyuk, Morgun, 2024). Внесок Антона Ігоровича Степаненка (к.б.н., ІКБГІ НАН України) та Миколи Володимировича Борисюка (к.б.н., ІКБГІ НАН України) полягав в отриманні нуклеотидних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* (Lakhneko, Stepanenko, Rymar, Borysyuk, Morgun, 2024). Внесок Володимира Павловича Дуплія (м.н.с., ІКБГІ НАН України) полягав у допомозі з проведенням статистичної обробки отриманих результатів (Римар, Проніна, Кірзій, Дуплій, Моргун, Стасик, 2025; Римар, Проніна, Дуплій, Моргун, 2023). Внесок Галини Михайлівни Лісової (к.б.н., Інституту захисту рослин НААН України) полягав у практичній допомозі з оцінюванням стійкості рослин до збудників грибних інфекцій (Lisova, Rymar, Morgun, 2024; Римар, Лісова, Проніна, Сливка, Рябчун, Моргун, 2023). Внесок співробітників Інституту фізіології рослин і генетики НАН України полягав у допомозі з проведенням вегетаційних дослідів та вирощуванням рослин на дослідній ділянці. Внесок Олега Остаповича Стасика (д.б.н., ІФРГ НАН України) полягав у допомозі при проведенні вимірювань інтенсивності газообміну та фотосинтезу рослин (Римар, Проніна, Кірзій, Дуплій, Моргун, Стасик, 2025). Внесок Ольги Володимирівни Проніної (пров. інженер, ІКБГІ НАН України) полягав у практичній допомозі з оптимізацією методики створення препаратів прорихів й обрахунку їх морфологічних параметрів (Римар, Проніна, Кірзій, Дуплій, Моргун, Стасик, 2025; Римар, Проніна, Дуплій, Моргун, 2023).

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи були оприлюднені й обговорені на наукових семінарах Відділу молекулярної генетики, на засіданнях Вченої ради Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, а також представлені на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях, таких як: Міжнародна наукова конференція з нагоди 125-річчя від дня народження

доктора сільськогосподарських наук, професора, академіка ВАСГНІЛ Бориса Павловича Соколова (Дніпро, 15–16 вересня 2022 р.); Міжнародна науково–практична конференція «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети» (Одеса, 30 вересня 2022 р.); 15th International Scientific Conference FOOD|BIO|TECH (Нітра, 5-6 жовтня 2022 р.); VI конференція молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів» (Київ, 12 травня 2023 р.); Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми генетики, біотехнології та біохімії рослин» (Одеса, 19 жовтня 2023 р.); XIX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 26–28 квітня 2023 р.); Translational Research in Crops (Гент, 22–23 червня 2023 р.); 10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology (Київ, 25–26 червня 2024 р.); National Conference with International Participation «Natural Sciences in the Dialogue of Generations» (Chişinău, Moldova, 12–13 вересня 2024 р.); XIX Міжнародна науково-практична конференція «Біотехнологія XXI століття» (Київ, 16 травня 2025 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, з них 4 наукові статті, у тому числі 3 – у фахових наукових виданнях України та 1 опубліковано у зарубіжному науковому періодичному виданні, включеному до міжнародних наукометричних бази Web of Science і Scopus, та 11 тез доповідей на наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел і додатків. Основна частина роботи викладена на 140 сторінках друкованого тексту, проілюстрована 24 рисунками та 24 таблицями. Список використаних джерел складається з 132 найменувань, з яких 115 – латиницею. Загальний обсяг рукопису становить 210 сторінок.

Подяки. За допомогу під час проведення фізіологічних досліджень для дисертації авторка висловлює щире подяку Стасику Олегу Остаповичу з

Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. За сприяння у дослідженні стійкості рослин до фітопатогенів щиро вдячна Лісовій Галині Михайлівні з Інституту захисту рослин НААН України. Авторка висловлює вдячність Дуплію Володимиру Павловичу, співробітнику Відділу генетичної інженерії ІКБГІ НАН України за допомогу під час статистичної обробки даних. За наданий первинний матеріал насіння дякує Моргуну Володимиру Васильовичу (Інститут фізіології рослин і генетики НАН України) та Рябчуну Віктору Кузьмовичу (Національний центр генетичних ресурсів рослин України, Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України). Також здобувачка висловлює слова подяки співробітникам Відділу молекулярної генетики ІКБГІ НАН України за допомогу і консультації впродовж усього терміну навчання, зокрема Лахнеко Ользі Романівні, Степаненку Антону Ігоровичу, Борисюку Миколі Володимировичу, Банниковій Марії Олександрівні, Проніній Ользі Володимирівні, Великожон Людмилі Григорівні.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Пшениця і близькоспоріднені види як об'єкт дослідження

Пшениця (*Triticum aestivum* L.) – найважливіша сільськогосподарська культура, яку людина вирощує та споживає у вигляді різних харчових продуктів тисячоліттями. Саме пшениця займає понад 17 % орних земель і є джерелом харчування для приблизно третини населення світу. Її зерно забезпечує понад 20% загальної калорійності раціону людини, містить необхідні білки, вуглеводи, вітаміни та мікроелементи, сприяючи зниженню ризиків хронічних захворювань (Morhun, et al. 2014; Shiferaw et al. 2013; Erenstein, et al. 2020; Sandetska & Dubrovna, 2025). Це підтверджує важливість пшениці для забезпечення продовольчої безпеки людства.

Незважаючи на зростання посівних площ пшениці, глобальна зміну клімату, що призводить до небажаного зростання середньодобової температури повітря та посухи, становить загрозу врожайності цієї важливої культури (Ren, et al. 2019; Khan et al., 2020). Значні температурні перепади, непередбачувані опади, посухи, а також поява нових рас патогенів і шкідників загрозливо швидко посилюють негативний вплив стресових чинників. Для забезпечення стабільності врожаю без збільшення посівних площ, критично важливим є підвищення толерантності пшениці до абіотичних стресів (Ren, et al. 2019; Shiferaw et al. 2013).

Посуха є найважливішим абіотичним стресором, що істотно знижує врожайність пшениці. Її дія викликає значні зміни в ростових, фізіологічних та метаболічних процесах рослини. У відповідь на посуховий стрес, у пшениці активується комплекс морфо-анатомічних, фізіологічних та біохімічних адаптацій, спрямованих, зокрема, на обмеження втрати води через прориди (Karoor et al., 2020 Naghpanah et al., 2024). Хоча посуха впливає на пшеницю протягом усього онтогенезу, її наслідки є найбільш руйнівними на критичних

стадіях розвитку, таких як сходи, кушіння, колосіння, цвітіння та налив зерна (Kapoor et al., 2020; Mutanda et al., 2025). Близькоспоріднені види пшениці та її дикі родичі є цінним джерелом генетичного різноманіття щодо підвищення адаптивної здатності та стійкості сортів пшениці до дії абіотичних чинників.

T. spelta – гексаплоїдний вид плівчастих пшениць, характеризується невибагливістю до ґрунту, стійкістю до надмірного зволоження. Рослини спельти є високорослими з вузькими і ламкими при дозріванні колосками, мають сильне продуктивне кушіння, але зерно цінується високою якістю за рахунок вищого вмісту білка на відміну від пшениці м'якої (Babenko et al., 2018; Morgun et al. 2016). Також рослини спельти характеризуються підвищеною стійкістю до патогенів, мають кращі механізми адаптації до несприятливих умов на відміну від пшениці м'якої (Shewry et al. 2018). Особливу увагу для селекціонерів спельта привертає підвищеним вмістом білка – до 25% (Morgun et al. 2016; Rybalka et al. 2024). Важливо відзначити, що спельта менш чутлива до впливу кліматичних змін та погіршення родючості ґрунту порівняно з більшістю сучасних сортів пшениці (Dinu et al. 2018; Rybalka et al. 2024). Ці властивості роблять спельту перспективним генетичним ресурсом для підвищення стабільності та адаптивності пшеничного виробництва в умовах зростаючих екологічних викликів.

T. dicoccum – тетраплоїдний вид плівчастих пшениць та здатен витримувати різкі кліматичні зміни, має водночас стійкість до посухи й низьких температур та весняних приморозків. Насіння ярої полби здатне проростати при більш низьких температурах ніж пшениці м'якої. Аналогічно до виду *T. spelta* полба стійка до ряду збудників грибкових захворювань сільськогосподарських рослин, може зростати на збіднених ґрунтах, а зерно має високий вміст білка та харчових волокон (Babenko, et al., 2017; Васильєв, 2017).

Також слід звернути увагу на вид *Triticum dicoccoides*, рослини цього виду називають диною полбою. *T. dicoccoides* – це тетраплоїдний попередник пшениці твердої та полби, який є ключовим ресурсом для поліпшення адаптивних ознак у сучасних сортів пшениці. Дослідження показують, що дику

полбу можна ефективно використовувати для генетичного покращення твердої пшениці (*Triticum durum*) з метою підвищення врожайності та стійкості до абіотичних стресів. Геном *T. dicoccoides* містить унікальні алелі стійкості, які можуть надати сортам пшениці нових властивостей (Balla et al., 2022).

Як було зазначено вище, пшениця м'яка та її близькоспоріднені види є незамінними елементами, які забезпечують глобальну продовольчу безпеку світу, проте продуктивність пшениці м'якої дедалі більше страждає від несприятливих кліматичних умов та абіотичних стресів, зокрема посухи. Для підвищення врожайності цієї сільськогосподарської культури в умовах зміни клімату, критично важливим є покращення її стійкості до посухи. У цьому контексті, глибше розуміння та можливість маніпулювати функціонуванням продихового апарату рослин є одним із найбільш перспективних напрямків досліджень.

1.2. Продихи та транспірація

Транспірація – це фізіологічний процес випаровування води та газообміну з надземних частин рослин (листя, стебла, квіти). Більшість води 97–99 % від поглинутої води рослиною втрачається в процесі транспірації та гутації (процес виділення) (Zhu et al., 2022). Транспірація відіграє важливу роль в процесі життєдіяльності рослин, оскільки завдяки випаровуванню води рослина захищена від перегріву. Крім того, з потоком води відбувається перемішування певних неорганічних та органічних речовин в рослинних тканинах. Інтенсивність такого перемішування залежить від інтенсивності випаровування води. У залежності від структур, через які відбувається транспірації, її поділяють та три типи: і. продихова; ii. кутикулярна; iii. лентикулярна (Mellander et al., 2004; Evaristo et al., 2015; Hochberg et al., 2017).

Лентикулярна транспірація здійснюється через сочевички (спеціалізовані утворення на стовбурах та гілках дерев). Такий тип транспірації характерний для стебел та коренів. Кутикулярна транспірація – здійснюється крізь поверхню

кутикули (захисний шар епідермальних клітин листка). Цей тип транспірації більш характерний для молодих листків. У них не до кінця сформований кутикулярний шар, тому вони є більш чутливими до посухи. Зазвичай, саме транспірація через продихи є основною для більшості видів рослин (Hochberg et al., 2017).

Продихи – спеціалізовані клітини, які мають здатність відкриватися та закриватися в залежності від тургору в замикаючих клітинах. Інакше кажучи, це пори, які розташовані в епідермісі листка (Šantrůček et al. 2014). Під час процесу транспірації у рослин випаровується значна кількість води, тому контроль активності роботи продихів та активності транспірації має перспективне значення для контролю використання води (Nunes et al. 2019). Продих з грецької "*στόμα*" перекладається як "рот". Продих складається з пари захисних клітин та власної пори, яка називається продихова щілина. Замикаючі клітини містять хлорофіл, при цьому в них більша кількість хлорофілу ніж в клітинах, від яких вони походять (Zeiger et al. 2002). Також клітинні стінки замикаючих клітин нерівномірно потовщенні – тонкі оболонки знаходяться по периметру, який контактує з іншими клітинами епідермісу, а більш товсті оболонки зі сторони продихової щілини. На рис. 1.1. на прикладі модельної злакової рослини показана будова (морфологія) продихового апарату однодольних рослин.

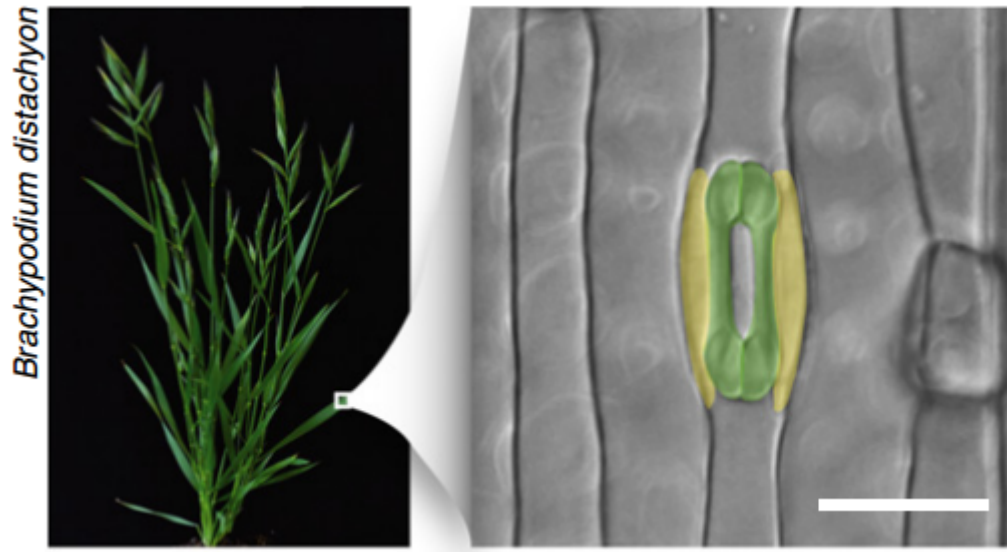


Рис. 1.1. Морфологія продихового апарату у злакових на прикладі модельної рослини *Brachypodium distachyon* (Nunes et al., 2019).

У наземних рослин характеристики продихів (їх кількість, розмір, розподіл по поверхні листка) може варіювати в досить широких межах. Так, у дводольних зазвичай більше продихів на нижній поверхні листка ніж на верхній. У однодольних таких відмінностей може не спостерігатися. У водних рослини, для яких характерна наявність листя, що плаває на поверхні води, продихи можуть бути лише на верхній поверхні (Nunes et al., 2019).

1.2.1. Історичні аспекти дослідження

Вивчення продихів розпочалося у XVII столітті завдяки значним внескам кількох вчених. Перший, хто зробив великий внесок у вивчення продихів, став фізик та ботанік 17 століття Едм Маріютт. Він вперше виміряв рівень випаровування води з рослини, фактично відкрив процес транспірації у рослин. Це відкриття передувало виявленню структур на поверхні листків, які мали щілину.

Цей період збігся з розробкою перших мікроскопів та спостереженням клітин Робертом Гуком. Італійський анатом і біолог Марчелло Мальпігі вперше офіційно опублікував інформацію про наявність продихів у своєму манускрипті

“Anatomia Plantarum” у 1671 році. Приблизно в той самий час англійський ботанік Неємія Грю здійснив схожі спостереження, а також створив детальні рисунки поверхневих структур, які були опубліковані у 1682 році (Willmer C. & Fricker M., 1996).

Ефективність функціонування продихового апарату має вирішальне значення для виживання та продуктивності рослин в умовах постійних змін умов навколишнього середовища. Розуміння цих фундаментальних фізіологічних процесів не було б повним без заглиблення в еволюційні процеси, що призвели до появи таких важливих клітинних структур, як продихи. Їхня поява стала ключовою адаптацією, що дозволила рослинам виживати у наземному середовищі. Вивчення еволюції продихів – від первісних форм у ранніх наземних рослин до складної регуляції у сучасних покритонасінних – розкриває, як мільйони років природного добору формували ці структури, оптимізуючи їх, зберігаючи рівновагу між поглинанням CO₂ та збереженням води в різних кліматичних умовах.

1.2.2. Еволюція продихів у рослин

Історія про продихи почалася майже 400 мільйонів років тому. Результати аналізу викопних скам'янілостей вказують на те що продихи з'явилися скоріш за все на межі силуру та девону (Edwards et al. 1998; Willmer C. & Fricker M., 1996). Описи продихів рослин того періоду, які зроблені на основі викопних скам'янілостей мають подібну будову з продихами мохів та папоротей. Вивчення тканин рослин Райнієвих кременів показало що, продихові структури призвели до адаптації та більш ефективного використання води рослиною. Також авторами висловлюється припущення щодо зменшення кількості продихів, яке пов'язане з нестачею вологи та високими концентраціями вуглекислого газу в атмосфері, що характерно для того періоду. Не дивлячись на те, що скам'янілості не містять прямих доказів еволюцію цих клітинних структур, припускається, що саме селективний тиск був одним з рушійних

факторів формування продихів (Edwards et al., 1998; Willmer C. & Fricker M., 1996). Для виживання рослинам необхідно було набути нових ознак, які б запобігали надмірної втрати води, при цьому пропускаючи вуглекислий газ в рослину для фотосинтезу. Тому вважають, що одночасний розвиток кутикули, продихів та судинної тканини дали початок та розвиток великих наземних рослин (Bergu et al., 2010). Хоча продиховоподібні структури наявні ще на древніх викопних скам'янілостях, в печіночниках (Marchantiophyta) відсутні продихи. Вторинна втрата продихів створює ряд труднощів для розуміння еволюції цих важливих структур (Rudall, et al., 2013).

Ранні дослідження XVII століття заклали фундамент для розуміння морфології продихів, але подальший розвиток науки дозволив перейти до глибокого вивчення їхніх фізіологічних функцій. Відкриття продихів Едмом Маріоттом у контексті випаровування води стало першим кроком до розуміння їхньої ключової функції – регуляції газообміну та транспірації.

1.2.3. Роль продихів у процесі газообміну рослин

Фотосинтез, транспорт води та розчинених в ній органічних і мінеральних речовин, газообмін регулюються продиховою функцією, яка є важливою для цілісного функціонування рослин.

Окрім випаровування води функціонування продихів регулює надходження в клітини листка вуглекислого газу та виділення кисню, тому на стан продихів впливає концентрація CO_2 . Якщо концентрація CO_2 в міжклітинниках низька, то збільшується тургор в замикаючих клітинах і продихи відкриваються. Відповідно, коли концентрація CO_2 стає вищою, то продихи закриваються. Тому в світлу пору доби, коли активно відбувається процес фотосинтезу і концентрація CO_2 низька, продихи будуть відкриті. А вночі, коли припиняється фотосинтез, концентрація CO_2 піднімається і продихи закриваються. При цьому зниження транспірації через зменшення кількості продихів може призвести до зниження накопичення CO_2 , який є важливим

компонентом при процесі фотосинтезу та для синтезу рослиною органічних сполук, а саме крохмалю. Але дефіцит води знижує швидкість фотосинтезу і через закриття продихів припиняється надходження CO_2 до мезофілу листка (Dietrich et al., 2001; Roth-Nebelsick et al., 2009).

Існують різні механізми закриття продихів. Низька вологість спричиняє втрату тургору і замикаючі клітини закриваються, такий механізм називається гідропасивним закриттям. Гідроактивне закриття спричинене різницею потенціалів іонів в клітинах рослин залежить від абсцизової кислоти (Dietrich et al., 2001;).

Виявлено зменшення кількості продихів на одиницю листка у відповідь на підвищення концентрації CO_2 в атмосфері (Rico et al., 2013). З іншої сторони при підвищених концентраціях CO_2 зменшуються розміри замикальних клітин продихів (Harrison et al., 2019). Ці зміни істотно впливають на водний режим рослин та інтенсивність газообміну листків (Rico et al., 2013). Ці дані свідчать, що більші продихи можуть бути ефективнішими для рослин за умови високої концентрації CO_2 в атмосфері, оскільки нижчий рівень продихової провідності є достатнім для оптимального функціонування фотосинтезу й асиміляції вуглецю. Також види рослин, які є вразливими до посухи мають високу продихову провідність за рахунок вищої кількості продихів або більших розмірів продихових клітин (Haworth et al., 2021). На рисунку 1.2 продемонстрована регуляція відкриття та закриття продихів через зміни тургору в замикаючих клітинах.

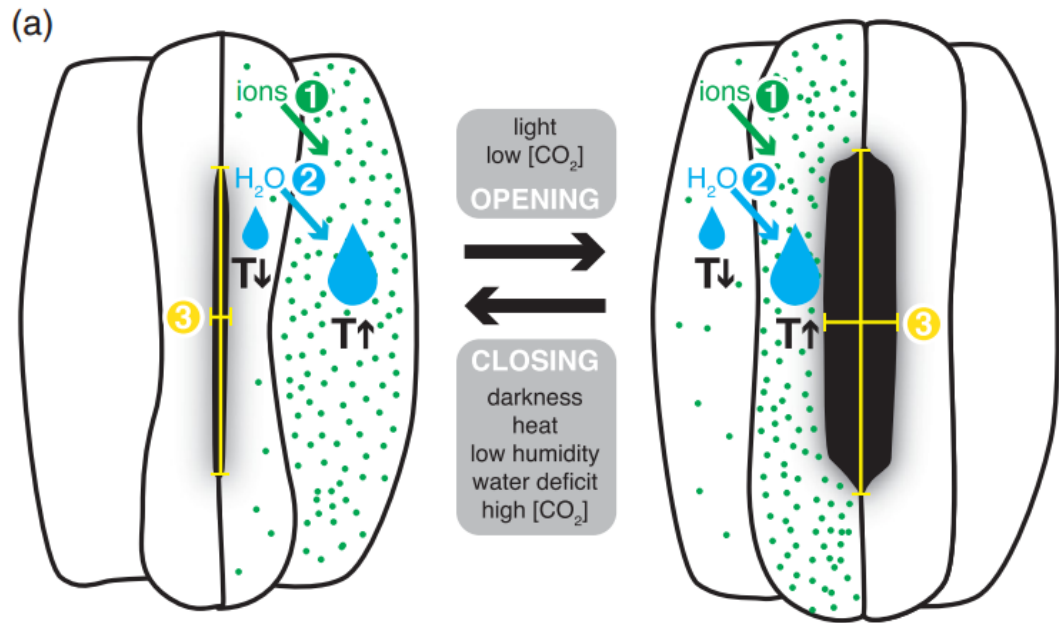


Рис. 1.2. Регуляція тургору замикаючих та допоміжних клітин продихового апарату для підтримання газообміну (Nunes et al., 2021). *Примітка:* 1) переміщення іонів та осмолітів між замикаючих та допоміжних клітин; 2) взаємний потік води; 3) відкриття продихової щілини з мінімальним латеральним зміщенням замикаючої клітини

Морфологічні зміни продихового апарату, які залежать від факторів навколишнього середовища, впливають на продихову провідність, від якої залежить фотосинтез й подальший рівень врожаю (Moore, C. E., et al., 2021). Зниження тургору в замикальних клітинах продихів через нестачу вологи призводить до їх закриття, й відповідно пригнічується надходження вуглекислого газу з навколишнього середовища в клітини для подальшої асиміляції вуглеводів (Buckley, T. N., 2013). Адаптивною здатністю рослин є оптимізація продихової провідності при одночасній максимально ефективній асиміляції вуглецю з атмосфери з мінімальними витратами вологи, але такий шлях не завжди реалізується.

Функціонування продихів впливає не лише на газообмін, фотосинтез та транспорт води по ксилемі, а й на охолодження рослини через випаровування води (Rico, C., et al., 2013; Moore, C. E., et al., 2021). Посуха зазвичай супроводжується вищими від норми середньодобовими температурами повітря.

Продихи максимально відкриваються для охолодження тканин листків при високих денних температурах, всупереч на низький рівень фотосинтезу через водний дефіцит. Підвищена температура є обмежувальним фактором у роботі продихового апарату, особливо в посухочутливих видах, тому що підтримання оптимальної температури в тканинах рослин є важливим для збереження функціональної здатності фотосинтетичного апарату (Moore, C. E., et al., 2021).

Таким чином, забезпечення вологою та морфологічні характеристики продихового апарату взаємопов'язані з фотосинтетичним апаратом й продуктивністю рослин. Розуміння фізіологічного функціонування продихів, зокрема їхньої здатності до динамічної регуляції газообміну та транспірації, нерозривно пов'язане з дослідженням їхнього біогенезу – процесів формування та розвитку цих клітинних структур.

1.3. Біогенез продихів

1.3.1. Гени біогенезу продихів

Формування продихів є генетично регульованим процесом, що включає диференціацію спеціалізованих клітин епідермісу. Біогенез продихового апарату починається з асиметричних поділів клітин-попередників, які дають початок меристемоїдам – клітинам, що згодом диференціюються у замикаючі клітини продихів. Точність цих поділів та подальшої диференціації забезпечується складною мережею генів, що кодують транскрипційні фактори, сигнальні молекули та компоненти клітинного циклу (Takata et al., 2013; Nadeau et al., 2002; Hara et al., 2009; Lee et al., 2012).

Продихи формуються з меристимоїдних клітин у результаті асиметричного поділу. Цей процес контролюють гени біогенезу продихів – *EPF1*, *EPF2*, *FLP*, *SCR/SHR*, а також гени транскрипційних факторів *MUTE*, *FAMA*, *SPCH* та інші гени-регулятори (Guo et al., 2021; Caine et al., 2016; Hara et al., 2009; Lee et al., 2012). Вперше ці генетичні детермінанти були

охарактеризовані для рослини *Arabidopsis thaliana*. Продукти генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* через взаємодію з клітинними рецепторами регулюють диференціацію продихових клітин. Таким чином, ці протеїни впливають на паттерн продихів та регулюють їх кількість на листку. Також важливим генетичним регулятором виступає транскрипційний фактор MUTE, який регулює асиметричний поділ клітин при утворенні замикаючих клітин продихового апарату й відповідає за перехід від проліферації до диференціації клітин (Le et al., 2014). Транскрипційний фактор MUTE починає експресуватися в меристимійних клітинах і забезпечує утворення спершу материнських замикаючих клітин, а потім замикаючих клітин продихів. Також він безпосередньо контролює ключові гени біогенезу продихів та гени клітинного циклу (Guo et al., 2021; Han et al., 2018; Serna, 2021).

1.3.2. Особливості біогенезу продихів в однодольних і дводольних

Утворення продихів як у дводольних, так і в однодольних рослин вимагає суворої регуляції асиметричного поділу клітин, переходу клітин до диференціації. Це запрограмовано внутрішніми шляхами розвитку, а також утворення продихів залежить від зовнішніх змін середовища.

У дводольних рослин, на прикладі *Arabidopsis*, утворення продихових клітин у проростків відбувається в основному випадково, за участю перетворення частини протодермальних клітин у меристемійні материнські клітини (MMCs). Одна MMC ділиться асиметрично і утворюються дві дочірні клітини. Маленька дочірня клітина стає а меристемійною, а велика клітина стає основою продихової лінії клітин (SLGC). Обидві з цих клітин можуть зазнати додаткових асиметричних клітинних поділів (ACDs) перед тим, як остаточно диференціюватись у замикаючі клітини (guard cells) та бокові клітини (pavement cells) відповідно. Меристемійди часто піддаються послідовним самовідновлювальним поділам ACDs, тоді як SLGC діляться асиметрично, щоб розмістити новостворені замикаючі клітини подалі від існуючих (Guo et al.,

2021; Lee et al., 2012). У дводольних після серії клітинних поділів мають утворитися продихи, між якими має бути мінімум одна прилягаюча клітина. Тому генетичні детермінанти є надзвичайно важливими в процесі біогенезу продихів.

У багатьох однодольних рослин комплекси замикаючих клітин продихів (дві замикаючі клітини, що прилягають до двох допоміжних клітин) лінійно вирівняні по поздовжній осі. В основі листа попередники продихових клітини діляться асиметрично, утворюючи невелику замикаючу материнська клітину (GMC), яка диференціюється на замикаючі клітини, та велику дочірню клітину, яка диференціюється в бокову клітину. Дві сусідні клітини епідермісу, знаходяться латерально до GMC, стають допоміжними материнськими клітинами (SMCs), кожна з яких ділиться асиметрично для того, щоб утворилася допоміжна клітини, що прилягає до GMC. Допоміжні клітини тісно пов'язані з замикаючими клітинами, це дозволяє продиховим комплексам більш ефективно здійснювати газообмін (Larkin et al., 2003). Розвиток продихів у однодольних рослин зображено на рис. 1.3.

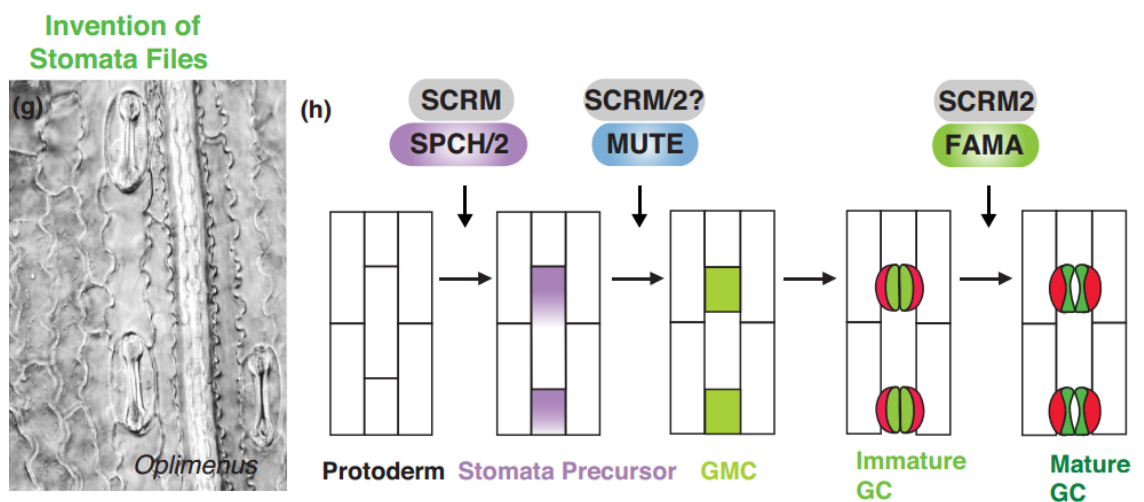


Рис. 1.3. Схема розвитку продихового апарату в однодольних, на основі рослин рису та *Brachypodium distachyon* (Qu et al., 2017). Примітка: Визначення продихових клітин забезпечують гени *SPCH*, *SCRM*; *MUTE* контролює асиметричний поділ клітин-попередників продихів (позначені світло-зеленим кольором); *FAMA* та *SCRM2* відповідають за утворення і диференціацію замикаючих клітин (позначені темно-зеленим

кольором). Під час утворення замикаючих клітин паралельно утворюються допоміжні клітини (позначені червоним кольором).

Асиметричний поділ клітин є принципово важливим для розвитку рослин, оскільки морфогенез відбувається в рослинах постембріонально і вимагає безперервної генерації нових типів клітин протягом усього життя рослини. Асиметричні поділи продихових клітин контролюються як автономними, так і неавтономними клітинами механізми для забезпечення контролю клітинного циклу, правильного розподілу і формування продихових патернів. Ініціація формування продихової лінії залежить від структури петля-спіраль-петля (bHLH) транскрипційного фактора SPEECHLESS (SPCH). Клітинно-автономна функція SPCH як транскрипційного фактора проявляється його прямим зв'язуванням з промоторами ключових генів, необхідних для переходу клітини до поділів та диференціації в розвитку продихів. SPCH також регулює експресією факторів внутрішньої полярності – Breaking of Asymmetry in the Stomatal Lineage (BASL) і POLAR, які регулюють орієнтацію поділів та специфіку клітинного циклу при асиметричних поділах ACD продихових клітин. Мішені SPCH і сам SPCH регулюються неклітинно-автономними шляхами, опосередкованими пептидами та фітогормонами, які сприяють модуляції вироблення продихів у відповідь на зміну середовища. Відсутність SPCH призводить до відсутності продихів, тоді як підвищені рівні білка SPCH призводять до надмірної проліферації клітин продихової лінії *Arabidopsis* (Pillitteri et al., 2017; Qu et al., 2017;).

Червоний спектр світла індукує експресію домену LLM генів GATA класу В, які також задіяні в регуляцію біогенезу та стимулюють утворенню продихів. Крім того, висока температура індукує експресію bHLH фактору транскрипції Phytochrome Interacting Factor 4 (PIF4), який зв'язується з певними ділянками в промоторі SPCH і пригнічує експресію SPCH. У свою чергу SPCH безпосередньо зв'язується з промотором PIF4 для пригнічення експресії PIF4. Така негативна регуляція та взаємодія PIF4–SPCH може швидко знизити рівень

експресії SPCH, щоб зменшити кількість продихів, тим самим обмежуючи втрату води рослинами в більш теплих умовах. Крім того, було виявлено, що експресія SPCH безпосередньо інгібується транскрипційним фактором INDETERMINATE DOMAIN (IDD) 16, який функціонує в морфогенезі органів рослин. Інший шлях інгібування біогенезу продихів залежить від білку EPF1, який активує TMM/ERL і потім разом активують кінazu YODA, яка пригнічує SPCH. На посттранскрипційному рівні на стабільність і функції білка SPCH сильно впливає фосфорилування та дефосфорилування (Jewaria et al., 2013; Niwa et al., 2013).

У однодольних, як і в дводольних виявлено транскрипційний фактор MUTE (кукурудза та рис). Функціонування MUTE у однодольних таке саме як і в *Arabidopsis*. Показано, що *MUTE*-мутанти (рослини із заблокованим транскрипційним фактором) не можуть утворювати симетричну GMC при поділі і нормальні продихові комплекси. Цікаво, що білки MUTE в травах можуть функціонувати не тільки в GMC, а й в SMC. Відповідно, в *Brachypodium*, відсутність MUTE призводить до втрати SMC, втрати цілісності чотириклітинного продихового комплексу. Таким чином, MUTE у травах працює автономно для GMC і неавтономно для SMC (Qu et al., 2017; Richardson et al., 2013).

1.3.3. Дослідження генів біогенезу продихів у злакових

На відміну від дводольних, у злакових рослин продихи складаються з двох гантелеподібних замикаючих клітин, які оточені двома бічними допоміжними клітинами (subsidiary cells). Ця особлива будова забезпечує дуже ефективний газообмін, що, ймовірно, сприяло еволюційному успіху злаків.

Виявлено ортологи гена *MUTE Arabidopsis* у різних видів злаків, таких як *BdMUTE* у *Brachypodium*, *BZU2/ZmMUTE* у кукурудзи та *OsMUTE* у рису. Ці гени відіграють ключову роль у формуванні замикаючих клітин. Цікаво, що, на відміну від *Arabidopsis* MUTE, який сприяє ідентичності GMC, ортологи MUTE

у злаків, схоже, також можуть залучати допоміжні клітини (Zhao et al., 2018; Bi et al., 2016; 2017; 2018; Shpak et al., 2022).

На сьогодні вже описані гомологи генів *EPF1* та *EPF2* для ячменю та пшениці. Крім того, вже було досліджено експресію генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* в українських сортах пшениці м'якої (Лакнеко, 2021; Lakhneko et al., 2022; Stepanenko et al., 2023). В останні роки проведені дослідження на рослинах ячменю *Hordeum vulgare*, в яких зазначається, що надмірна експресія гена епідермального фактора *EPF1* зменшує в трансгенних рослинах кількість продихів шляхом інгібування їх розвитку. При цьому значне зниження газообміну в листках рослин через зменшення щільності розташування продихів не приводить до зменшення врожайності і продуктивності зерен ячменю. Також трансгенні рослини демонстрували значно вищу ефективність у використанні води, що впливає на толерантність до посухи (Hughes, J. et al, 2017). Схожі дослідження проводилися й на пшениці (Bi et al, 2018). Це показує нові можливості для захисту та оптимізації врожайності зернових культур, які вирощуються в засушливих регіонах, контролюючи кількість продихів у рослин.

У світовому масштабі важливим є дослідження Raissig та інших, які вивчають формування різних допоміжних клітин, їх функціональну значущість та еволюційне походження різноманітних морфологій продихів. Так дослідження вказують, що зменшення щільності продихів за допомогою молекулярних підходів покращує ефективність використання води (WUE) (Hughes, J. et al, 2017; Bi et al., 2016; 2017; 2018). Це є перспективною мішенню для покращення посухостійкості злакових культур. Крім того, продихова провідність є важливим аспектом для врожайності, оскільки вона впливає на всі ключові етапи культури, особливо на накопичення біомаси.

Сучасні дослідження зосереджені на ідентифікації ключових генів, які контролюють кожен етап розвитку продихів: від ініціації клітинних поділів до формування продихової щілини. Вивчення цих генів, їхніх взаємодій та регуляторних шляхів дозволяє не лише розкрити фундаментальні механізми

розвитку рослин, а й відкриває перспективи для генетичної модифікації рослин з метою оптимізації їхніх продихових характеристик. Розробка стратегій маніпулювання морфологічними особливостями та функціонуванням продихів з метою підвищення врожайності, водоефективності та стійкості злакових культур до абіотичних стресів є важливим напрямком для сільського господарства. З огляду на це фундаментальні дослідження продихового апарату мають величезне прикладне значення.

1.4. Прикладне застосування дослідження продихового апарату злаків

Одне з важливих прикладних аспектів дослідження продихового апарату є оптимізація рослин до ефективнішого використання води. Наприклад, дослідження показали, що рис, ячмінь та пшениця зі зниженою щільністю продихів мають кращу толерантність до посухи та зберігають урожайність за умов обмеженого водопостачання (Cai et al., 2017; Franks et al., 2015; Xie et al., 2020). Також маніпуляція розміром можуть бути перспективним для покращення WUE, оскільки менші продихи можуть швидше реагувати на зміни зовнішнього середовища. Крім адаптаційної здатності рослин до абіотичного стресу, зокрема посухи, продихи відіграють важливу роль в біотичній стійкості рослин.

Продихи задіяні у формуванні реакцій стійкості рослин до патогенів. Продихові щілини на листовій поверхні використовуються патогенами як один із основних шляхів проникнення всередину рослини. З огляду на це, продиховий апарат розглядається як фізичний бар'єр до збудників хвороб і регулятор захисних реакцій рослин (Panchal & Melotto, 2017; Melotto et al., 2006; Underwood, 2012; Tateda et al., 2019). Бар'єрна роль продихів полягає у швидкому їх закритті у відповідь на розпізнавання молекулярних сигналів/патернів, асоційованих з мікроорганізмами (MAMPs – microbe-associated molecular patterns) або патоген-асоційованих молекулярних

патернів (PAMPs – pathogen-associated molecular patterns), таких як флагелін бактерій або хітин грибів (Melotto et al., 2006; Zeng et al., 2010). Розпізнавання патогенів запускає сигнальний каскад, що призводить до транспорту іонів втрату тургору замикаючих клітин і спричинює закриття продихової щілини. Це і є ранньою імунною відповіддю рослин (Underwood, 2007; Zeng et al., 2010; Melotto et al., 2017).

Адаптація продихового апарату до запобігання розвитку захворювань рослин показана на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana*. Виявлено, що після бактеріальної інфекції спричиненою бактерією *Pseudomonas syringae*, яка проникає через продихові щілини рослини, кількість продихів у новоутворених листках знижується. Це покращує стійкість рослин до хвороб (Dutton et al., 2019).

Морфологія продихового апарату в цьому контексті є важливим елементом у запобіганні хвороб рослин. Наприклад у роботах Tateda показано, що щільність продихів на адаксіальній поверхні листка у японського тирлича (*Gentiana scabra*) є одним із основних факторів, що визначає сприятливість рослини до збудника септоріозу (*Septoria gentianae*). Так, рослини з більшою кількістю продихів були більш сприйнятливі до цього гриба, оскільки більша кількість продихів надавала більше точок входу патогена всередину рослини. Через це генетичне маніпулювання генами, які пов'язані із формуванням продихів показало можливість збільшити стійкість рослин до збудників хвороб (Tateda et al., 2019).

Таким чином, вивчення взаємозв'язку морфології продихового апарату зі стійкістю рослин до збудників хвороб є досить актуальним та необхідним напрямком досліджень. Такі дослідження переважно є комплексними та міждисциплінарними, які поєднують фізіологію рослин, цитологію та молекулярну генетику. Сучасні підходи дозволяють проводити дослідження на більш поглибленому рівні, відкриваючи нові можливості та перспективи щодо відбору стійких до біотичних факторів навколишнього середовища ліній та сортів сільськогосподарських культур.

Проаналізовані літературні дані свідчать, що модифікація продихів можуть покращити стійкість до посухи такої важливої сільськогосподарської культури, як пшениця. В цій роботі розглядаються як генетичні та фізіологічні та морфологічні особливості продихового апарату пшениці.

1.5. Висновки до розділу 1

Проведений аналіз літератури стосовно стану та розвитку досліджень біогенезу продихового апарату злакових рослин. З'ясовано, що продихами контролюються основні важливі фізіологічні функції рослин: транспірація, фотосинтез, транспорт води, випаровування води для охолодження рослин, захист рослин до збудників хвороб. Аналітичний огляд літературних джерел за темою дисертаційної роботи дозволив встановити, що зменшення витрат вологи продихової транспірації є перспективною стратегією покращення стійкості сільськогосподарських культур до посухи, тому особливості біогенезу і морфології продихового апарату стали предметом інтенсивних досліджень щодо підвищення ефективності використання води рослиною протягом останніх років.

Проведений аналіз літератури стосовно функцій продихового апарату та генів біогенезу продихів дозволив зробити висновок про те, що поставлені нами завдання є актуальними як для фундаментальних біологічних наук, так і для практичного застосування в аграрному секторі, біотехнологічній галузі та селекції злакових культур.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Рослинний матеріал

Для дослідження було отримано зразки різних видів пшениць та їх міжвидових гібридів з Національного центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України (табл. 2.1). Зерновий матеріал був висіяний на дослідній ділянці для розмноження цінних зразків і подальших досліджень.

Таблиця 2.1. Список пшениць, споріднених видів та міжвидових гібридів, зерновий матеріал яких наданий Національного центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України.

№	ІН	Підвид, сорт	Тип розвитку	Геном	Країна походження
<i>Triticum aestivum</i>					
1	UA0122879	var. <i>erythrospermum</i> , 'Вигадка'	Озимий	ABD	Україна
2	UA0122901	var. <i>erythrospermum</i> , 'Метелиця Харківська'	Озимий	ABD	Україна
3	IR 17344W	var. <i>erythrospermum</i> , 'Спадщина Одеська'	Озимий	ABD	Україна
4	UA0111002	var. <i>lutescens</i> , 'Улюблена'	Ярий	ABD	Україна
<i>T. durum</i>					
5	UA0201359	var. <i>leucurum</i> , 'Континент'	Озимий	AB	Україна
6	UA0201437	var. <i>leucurum</i> , 'Шуліндінка'	Озимий	AB	Україна
7	UA0201580	var. <i>leucurum</i> , 'Ксантія'	Ярий	AB	Україна
8	UA0201075	var. <i>hordeiforme</i> , 'Спадщина'	Ярий	AB	Україна
<i>T. sphaerococcum</i>					
9	UA0300654	var. <i>rubiginosum</i> , Л 322-15	Озимий	ABD	Україна
10	UA0106239	var. <i>spicatum</i> , 'Шарада'	Озимий	ABD	росія
11	UA0300244	var. <i>tumidum</i>	Ярий	ABD	Індія
<i>T. spelta</i>					
12	UA0300487	var. <i>arduini</i> , 'Європа'	Озимий	ABD	Україна
13	UA0300340	var. <i>duhamelianum</i> , 'Зоря України'	Озимий	ABD	Україна
14	UA0300111	var. <i>album</i>	Ярий	ABD	Канада
15	UA0300218	var. <i>caeruleum</i> , Tridentina	Ярий	ABD	Італія
16	UA0300304	var. <i>album</i>	Ярий	ABD	Австралія
17	UA0300074	var. <i>caeruleum</i>	Ярий	ABD	Азербайджан
18	UA0300392	var. <i>caeruleum</i> CDC 'Zobra'	Ярий	ABD	Канада
19	UA0300071	var. <i>duhamelianum</i>	Озимий	ABD	Польща
20	UA0300101	var. <i>duhamelianum</i> 'Baulaender'	Озимий	ABD	Німеччина
21	UA0300103	var. <i>duhamelianum</i> 'Frankenkorn'	Озимий	ABD	Німеччина
22	UA0300075	var. <i>griseoturanorecens</i>	Озимий	ABD	Таджикистан

23	UA0300587	var. <i>arduini</i>	Ярий	ABD	Іспанія
<i>T. dicoccum</i>					
24	UA0300327	var. <i>aeruginosum</i> , 'Руно'	Ярий	AB	росія
25	UA0300081	var. <i>atratum</i>	Озимий	AB	Польща
26	UA0300002	var. <i>dicoccum</i>	Пізньозимий	AB	Україна
27	UA0300208	var. <i>nigroajar</i>	Ярий	AB	Ефіопія
28	UA0300001	var. <i>rufum</i>	Напівозимий	AB	Україна
29	UA0300087	var. <i>rufum</i>	Пізньозимий	AB	Іспанія
30	UA0300159	var. <i>semicanum</i>	Пізньозимий	AB	Німеччина
31	UA0300183	var. <i>serbicum</i> , 'Polba 3'	Ярий	AB	росія
32	UA0300040	var. <i>aeruginosum</i>	Ярий	AB	Вірменія
33	UA0300004	var. <i>rufum</i>	Ярий	AB	Швеція
34	UA0300072	var. <i>haussknachtianum</i>	Ярий	AB	Казахстан
35	UA0300044	var. <i>haussknachtianum</i>	Ярий	AB	Азербайджан
36	UA0300056	var. <i>haussknachtianum</i> 'Bolshaia holova'	Ярий	AB	Індія
37	UDS00003	var. <i>serbicum</i>	Ярий	AB	Болгарія
38	UA0300009	var. <i>serbicum</i>	Ярий	AB	росія
39	IR00293	var. <i>semicanum</i>	Напівозимий	AB	Німеччина
40	UA0300026	var. <i>volgense</i> Vernal	Ярий	AB	США
41	UA0300006	var. <i>aeruginosum</i>	Ярий	AB	Азербайджан
42	UA0300087	n.a.	Ярий	AB	Казахстан
43	UA0300021	Polba Kokchetavska	Ярий	AB	Казахстан
44	UA0300008	var. <i>aeruginosum</i>	Ярий	AB	росія
45	UA0300129	var. <i>vasconicum</i> , 'Crjunella'	Пізньозимий	AB	Іспанія
46	UA0300012	var. <i>muticovolgense</i> , Полбяно-пшеничний гібрид 7	Ярий	AB	росія
47	UA0300406	var. <i>nudirufum</i> , 'Голіковська'	Ярий	AB	Україна
48	UA0300022	var. <i>volgense</i>	Ярий	AB	Казахстан
<i>T. ispahanicum</i>					
49	UA0300070	var. <i>ispahanicum</i>	Ярий	AB	Іран
<i>T. macha</i>					
50	UA0300250	var. <i>palaeoimereticum</i>	Озимий	ABD	Грузія
<i>T. sinskajae</i>					
51	UA0300224	var. <i>sinskajae</i>	Ярий	A	росія
<i>T. vavilovii</i>					
52	IR 00364	var. <i>vavilovii</i>	Озимий	ABD	Вірменія
<i>Triticosecale</i>					
53	UA0604401	var. <i>erithrosperrum</i> , 'Боривітер Харківський'	Напівозимий	ABDR	Україна
54	UA0605030	var. <i>erithrosperrum</i> , 'Свобода Харківська'	Напівозимий	ABDR	Україна
55	UA0602792	var. <i>ferrugineum</i> , 'Borislav'	Озимий	ABDR	Україна
56	IR 06331	var. <i>suberythrosperrum</i> , 'Ілона'	Озимий	ABDR	Україна
<i>Sereale</i>					
57	UA0700412	subsp. <i>cereale</i> (Typus) var. <i>vulgare</i> , 'Пам'яті Дерев'янка'	Озимий	R	Україна
58	UA0700080	subsp. <i>cereale</i> (Typus) var. <i>vulgare</i> , 'Gazelle'	Ярий	R	Канада
Гібриди					
	Назва	Схрещування	ІН	Геном [18–21]	Країна походження
59	<i>T. × palmovae</i>	<i>T. boeoticum</i> /Ae. <i>tauschii</i>	UA0500054	A / D	росія
60	<i>T. × hexapolonicum</i>	<i>T. polonicum</i> × Ae. <i>tauschii</i>	UA0500048	A ⁿ B / D	Вірменія
61	<i>T. × kiharae</i>	<i>T. timopheevii</i> × Ae. <i>tauschii</i>	UA0500014	AGD	Японія
62	<i>Aegilotriticum cylindroaestivum</i>	Ae. <i>cylindrica</i> /T. <i>aestivum</i>	UA0500028	DC / ABD	Вірменія
63	<i>Haynaticum</i>	<i>T. dicoccum</i> /Dasypyrum <i>villosum</i>	UA0500018	AB / V	росія

64	АД (Міоза)	<i>T. aestivum</i> / <i>Ae. comosa</i>	UA0500057	ABD / M	росія
65	АД	<i>Ae. ventricosa</i> / <i>T. dicoccum</i>	UA0500021	M / AB	росія
66	АД 1	<i>T. dicoccum</i> / <i>Ae. speltoides</i>	UA0500012	AB / S	Азербайджан
67	АД 2	<i>T. durum</i> / <i>Ae. comosa</i>	UA0500057	AB / M	росія
68	АД 7	<i>T. ispahanicum</i> / <i>Ae. cylindrica</i>	UA0500030	AB / DC	Азербайджан
69	АД 8	<i>T. dicoccum</i> / <i>Ae. triuncialis</i>	UA0500022	AB / UC	Азербайджан
70	АД 217	<i>T. timopheevii</i> / <i>Ae. umbellulata</i>	UA0300017	AG / U	Японія
71	АД 221-4	<i>T. persicum</i> / <i>Ae. tauschii</i>	UA0500029	AB / D	Японія
72	ПАГ-31	<i>T. dicoccum</i> / <i>T. monococcum</i>	UA0500008	AB / A ^b	росія
73	ПЕАГ	<i>T. dicoccum</i> / <i>Ae. tauschii</i>	UA0500010	AB / D	росія
7 4	Tritordeum 1199/09	<i>T. durum</i> / <i>Hordeum chilense</i>	n.a.	AB / H ^{ch}	Іспанія

Примітка: ІН – ідентифікаційний номер в колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України

Крім того, для молекулярно-генетичного скринінгу використовувалася колекція сортів пшениці м'якої української селекції. Ця колекція нараховує 70 комерційних сортів пшениці м'якої, придатних для вирощування в різних еколого-географічних зонах України (табл. 2.2). Українські сорти пшениці м'якої були отримані з Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

Таблиця 2.2. Список досліджуваних українських сортів пшениці м'якої, отриманих з ІФРГ НАН України.

№ п/ч	Сорт	Установа оригінатор
1	Богдана, Зимоярка, Злука, Золотоколоса, Крижинка, Переясловка, Подолянка, Смуглянка, Снігурка, Спасівка, Фаворитка, Хуртовина, Ювіляр миронівський	Інститут фізіології рослин і генетики НАН України та Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України
2	Альботрос одеський, Антонівка, Білява, Бунчук, Ватажок, Гармонія одеська, Господарка	Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортівивчення НААН України, м.Одеса
3	Гурт, Єдність, Журавка одеська, Зиск, Кірія, Красуня одеська, Куяльник, Мелодія одеська, Місія одеська, Нива одеська, Одеська 267, Панна, Соната одеська, Українка одеська, Борія 85, Даринка Київська, Здоба Київська, Каланча, Київська остиста, Ладижинка, Лимарівна, Новокиївська, Сотниця, Ятрань 60, лінія УК 823	Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ

4	Відрада, Царівна	Бурденюк-Тарасевич Лариса Анатоліївна і Білоцерківська дослідно-селекційна станція ім. О.К. Коломієць Інституту цукрових буряків НААН України, м. Біла Церква
5	Досконала	Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України, м. Харків
6	Збруч	Інститут фізіології рослин і генетики НАН України та Подільська дослідна станція Тернопільського інституту агропромислового виробництва НААН України
7	Миронівська 65, Наталка	Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України, м. Миронівка
8	Поліська 90	ННЦ Інститут землеробства НААН України, м. Київ
9	Чародійка білоцерківська	Білоцерківська дослідно-селекційна станція ім. О.К. Коломієць Інституту цукрових буряків НААН України, м. Біла Церква
10	Дарунок Поділля	Інститут фізіології рослин і генетики НАН України та ПрАТ «Зернопродукт МХП»
11	Годувальниця одеська, Жайвір, Княгиня Ольга, Ліра одеська, Мудрість одеська, Наснага, Небокрай, Ужинок	Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення та ЗАТ «Селена», м. Одеса
12	Херсонська безоста	Інститут зрошуваного землеробства НААН України, м. Херсон
13	Шестопалівка	Приватне сільськогосподарське селекційно-дослідне підприємство «Бор»
14	Добриня, Жадана, Збруч № 3	Дані відсутні

Також використовували міжнародну колекцію гібридів та сортів пшениці м'якої, отриману із CIMMYT (Global Wheat Program of the International Maize and Wheat Improvement Center). Ця вибірка налічувала 74 зразки, отримані з різних частин світу і придатні до вирощування в різних кліматичних зонах (табл. 2.3).

Таблиця 2.3. Список досліджуваних сортів та селекційних ліній пшениці м'якої, отриманих з СІММУТ.

№	Назва сорту/селекційної лінії	Країна походження
1	INIA-F-66	Мексика
2	AC VISTA	Канада
3	ANZA	Мексика
4	D-12	Перу
5	GRANDE-DEL-MONTE	Венесуела
6	KLEIN FAVORITO	Аргентина
7	ZAMBESI	Зімбабве
8	SAKHA 69	Єгипет
9	MILLALEAU INIA	Чилі
10	SAFED LERMA	Індія
11	TSELINNAYA-YUBILEINAYA	Казахстан
12	ZERDAKIA	Ірак
13	KIMMO	Фінляндія
14	CARIBO	Німеччина
15	CENAD-512	Румунія
16	EXCALIBUR	Австралія
17	JANZ	Австралія
18	KULIN	Австралія
19	GLENLEA	Канада
20	COMANCHE	США
21	TOBARITO M 97	Мексика
22	V-17	Мексика
23	MANITAL	Італія
24	SVENNO	Швеція
25	ALBIS	Швейцарія
26	TALIMKA	Киргизстан
27	ISKAMISH-K-2-LIGHT	Афганістан
28	KE FENG 2	Китай
29	RECITAL	Франція
30	ROKYCANSKA SAMETKA	Чехія
31	ZIRKA	Україна
32	BOLESLAVSKA BELKA	Чехія
33	GODOLLOI 15	Угорщина
34	PI 610750/SASIA	Мексика
35	RICHMOND	Канада
36	BRUNETA	Чехія
37	W-67	Пакистан
38	VALDOR	Франція
39	ZEMUNKA	Югославія

40	GRAY JD1447	Афганістан
41	PRINCE-LEOPOLD	Бельгія
42	SPARTA	Чехія
43	HGO94.9.2.29	CIMMYT INT.
44	CItr 4901	Індія
45	RUFUS	Бельгія
46	JENKIN	США
47	KING-HING-1	Китай
48	CAROL	Бельгія
49	BLANC-PRECOCE	Швейцарія
50	GRAY JD1032	Афганістан
51	ADMIRAL	Німеччина
52	RUMSKA-CERVENKA	Сербія
53	MURAS	Литва
54	NL90.15.2.11	Мексика
55	HXL7573/2*BAU	Мексика
56	B-262	Швейцарія
57	HOLDFAST	Велика Британія
58	ARENDANY	Болгарія
59	OTOFTE-56	Данія
60	VAL	Бельгія
61	CHAPEI KILASHIKA	Китай
62	WW425	Австралія
63	ROI-ALBERT	Німеччина
64	LAMMAS	Велика Британія
65	VIERNY	СРСР
66	CHIBIA/4/PGO//CROC_1/AE.SQUARROSA (224)/3/2*BORL95	Мексика
67	NING CHUN 20/3/MYNA/VUL//JUN/6/FILIN/IRENA/5/CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/A EGILOPS SQUARROSA (TAUS)/4/WEAVER	Мексика
68	CHEN/AE.SQ//2*OPATA/3/FINSI	Мексика
69	RED SCHLANSTETTER RIMPAU	Німеччина
70	NORM.2-A BC178/3/CHEN/AE.SQ//2*OPATA	Мексика
71	BJY/COC//PRL/BOW/3/MILAN/KAUZ/4/BAV92	Мексика
72	FALCIN/AE.SQUARROSA (312)/3/THB/CEP7780//SHA4/LIRA/4/	Мексика
73	RUPERT J CAR 882 (26882)	Чилі
74	MUNIA/3/RUFF/FGO//YAV79/4/PASTOR	Мексика

Для аналізу продигового апарату використовували рослини пшениць у фазі розвитку за загальноприйнятою шкалою ВВСН-код 55-73 (від появи суцвіття до молочної стиглості зерна), які вирощували у польових умовах Дослідного сільськогосподарського господарства ІФРГ НАН України (Київська область, смт Глеваха) за традиційною технологією впродовж 2021–2022 років.

Для оцінки морфології продихів рослини пшениці м'якої та споріднених видів вирощували на дослідній ділянці ІФРГ НАН України протягом 2022–2024 років.

З усього перерахованого рослинного матеріалу виділялась загальна ДНК з рослини для молекулярно-генетичного аналізу.

2.2. Методика вирощування злаків у польових дослідях

Вирощування рослин проводили згідно із загальноприйнятими методиками (Доспехов, 1984). Першим кроком вирощування пшеничних посівів є підготовка поля або дослідної ділянки. Оранку здійснювали на рекомендовану глибину 15 см. Після цього поверхню ґрунту доводили до дрібно-грудкового стану на глибину загортання насіння. На етапі посіву, насіння закладали у підготовлений ґрунт із відстанню міжрядь приблизно 20 см. Посів насіння проводили у підготовлений ґрунт з міжряддями близько 20 см. Насіння загортали на оптимальну глибину, що становила 4–7 см. Після посіву насіння покривали тонким шаром ґрунту (близько 4 см для весняного посіву та 6 см для озимого посіву). Для забезпечення необхідних поживних речовин застосовували мінеральні добрива, що містили азот, фосфор та калій.

2.2.1. Визначення елементів структури врожайності і продуктивності рослин

Методика дозволяє визначити продуктивність окремих рослин, або передбачити врожайність досліджуваного генотипу з ділянки. До елементів структури врожайності і продуктивності рослин належать: продуктивність колоса (довжина колоса, кількість колосків у колосі, кількість зерен у колосі, маса зерен з одного колосу), маса тисячі зерен (МТЗ), кущистість рослини (загальна кущистість, продуктивна кущистість), коефіцієнт господарської ефективності. Відбір зразків рослин пшениці проводили після повного дозрівання (вологість зерна близько 14%) зсередини ділянки для уникнення

крайового ефекту. Зразки злаків обережно виривали з кореневою системою, очищали від ґрунту та ретельно розділяли на окремі рослини, зберігаючи всі бічні пагони. Зібрані зразки залишали на декілька днів для підсихання, а після проводили вимірювання (висота рослин, кількість пагонів, довжина колосу, кількість колосків в суцвітті, кількість зернівок в головному колосі, маса зерен головного колосу, маса всіх зерен з однієї рослини, маса тисячі зерен).

Для аналізу кореневу систему рослин відрізали приблизно на рівні ґрунту (близько 5 см від вузла кущення). З кожного колоса окремо вимолочували зерно вручну. Підраховували кількість зерен у колосі та визначали їх масу. Додатково визначали масу 1000 зерен (МТЗ) для кожного сорту. Після всіх вимірювань встановлювали загальну кущистість (ЗК) – загальну кількість пагонів, та продуктивну кущистість (ПК) – кількість продуктивних пагонів з колоссям.

Числові дані з лабораторного журналу переносять у таблицю Microsoft Excel. Проводять статистичний обрахунок по Доспехову.

Розраховували коефіцієнт господарської ефективності ($K_{ге}$), що відображає співвідношення між масою зерна та масою соломи з однієї рослини формулі:

$$K_{ге} = (m_z/m_p) \times 100$$

де, m_z – маса зерна з 1 рослини, г; m_p – маса соломи з 1 рослини, г

Коефіцієнт господарської ефективності, % вимірюється у відсотках.

2.2.2. Методика оцінювання стійкості рослин до збудників грибних уражень

У дослідженнях використовували озимі зразки із зібраної нами колекції, а зокрема види пшениці м'якої, пшениці твердої, пшениці шарозерної, спельти, полби, жита, тритикале та інших диких співродичей пшениці з відмінними геномами. В основному зерновий матеріал було залучено з Національного центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України.

Оцінку стійкості 25 зразків різних видів пшениці озимої і 26 зразків різних видів пшениці ярої, які можуть бути потенційними носіями генів стійкості до збудників борошнистої роси та септоріозу листя пшениці проводили згідно загальноприйнятою методикою (Бабаянц О.Б., Бабабянц Л.Т., 2014). Зразки вирощували на дослідній ділянці ІФРГ НАН України впродовж 2022–2023 років за традиційною технологією. Обліки ураження проводили в період максимального розвитку захворювання – у фазі молочно-воскової стиглості. У цей час на листках рослин утворювалися клейстотеції збудника борошнистої роси пшениці та некротичні плями з пікнідами збудника септоріозу пшениці.

Ураженість дорослих рослин оцінюють за Шкалою оцінки стійкості пшениці та інших колосових культур до збудника борошнистої роси (табл. 2.4).

Таблиця 2.4. Шкала оцінки стійкості пшениці та інших колосових культур до збудника борошнистої роси (Бабаянц та ін., 1988; Бабаянц та ін., 2014).

Бал	Характер прояву хвороби	Ступінь стійкості, сприйнятливості
9	Ознаки хвороби відсутні	Дуже висока та висока стійкість
8	На листках окремі хлорозні та некротичні плями, дуже рідкий поодинокий наліт конідій	
7	Уражені самі нижні листки; спостерігаються поодинокі дрібні подушечки, можливо в хлорозних чи некротичних плямах	Стійкість
6	Уражена нижня третина рослини: самі нижні листки уражені помірно; міцелій утворює частіше видовжені подушечки, часом в хлорозних та некротичних плямах	
5	Рослина уражена від кореня до середини стебла: самі нижні листки уражені сильно, розташовані вище – слабо чи помірно	Слабка сприйнятливість
4	Рослина уражена до предпрапорцевого листка: листки нижнього ярусу значно уражені і гинуть; листки середнього ярусу уражені помірно; сліди інфікування на прапорцевому листку	Сприйнятливість
3	Рослина уражена до прапорцевого листка; листки нижнього ярусу уражені сильно і	

	гинуть, а середнього ярусу – помірно чи сильно, прапорцевий листок – слабо	
2	Уражена вся рослина: листки до предпрапорцевого уражені сильно, прапорцевий лист – помірно; гинуть листки нижнього і середнього ярусів; інфекція на колосових лусочках і вістях	Висока і дуже висока сприйнятливість
1	Уражена вся рослина; листки уражені дуже сильно і спостерігається їх гибель; інфекція на колосових лусочках, вістях, стеблі в різному ступені	

Ураженість дорослих рослин оцінювали за Інтегрованою шкалою інтенсивності ураження пшениці та інших колосових культур до збудника септоріозу листя пшениці (табл. 2.5). Дані оцінки стійкості заносили до робочого журналу польових досліджень.

Таблиця 2.5. Інтегрованою шкалою інтенсивності ураження пшениці та інших колосових культур до збудника септоріозу пшениці (Бабаянц та ін., 1988; Бабаянц та ін., 2014).

Бал	Характер прояву хвороби	Ступінь стійкості, сприйнятливості
9	Ознаки хвороби відсутні	Дуже висока та висока стійкість
8	На листках окремі хлорозні та некротичні плями, пікніди відсутні, інтенсивність не більше 5%	
7	Уражені самі нижні листки; спостерігаються поодинокі дрібні некротичні плями, деякі мають пікніди, інтенсивність плям до 10%	Стійкість
6	Уражена нижня третина рослини: самі нижні листки уражені помірно; некротичні плями більшого розміру з пікнідами, інтенсивність плям до 15%	
5	Рослина уражена від кореня до середини стебла: самі нижні листки уражені сильно, розташовані вище – слабо чи помірно, на некротичних плямах інтенсивністю до 25% є пікніди	Слабка сприйнятливість
4	Рослина уражена до предпрапорцевого листка: листки нижнього ярусу значно уражені і гинуть; листки середнього ярусу уражені помірно; сліди інфікування на прапорцевому листку,	Сприйнятливість

	інтенсивність плям до 40% на них виражені пікніди	
3	Рослина уражена до прапорцевого листка; листки нижнього ярусу уражені сильно і гинуть, а середнього ярусу – помірно чи сильно, прапорцевий листок – слабо, інтенсивність некротичних плям до 65%	
2	Уражена вся рослина: листки до передпрапорцевого уражені сильно, прапорцевий лист – помірно; гинуть листки нижнього і середнього ярусів; інтенсивність некротичних плям із пікнідами до 90%	Висока і дуже висока сприйнятливність
1	Уражена вся рослина; листки уражені дуже сильно і спостерігається їх гибель; інфекція на всіх листках рослини, інтенсивність ураження 100%	

2.3. Методика мікроскопічного вивчення продихового апарату рослин

Характеристики продихового апарату визначали на прапорцевому листку рослин контрольного варіанту (за умов оптимального поливу) у фазу цвітіння рослин (ВВСН 61-69). Для оцінки кількості, розмірів і апертури продихів за допомогою прозорого лаку робили відбитки із середини адаксіальної та абаксіальної поверхні листової пластини (Herworth et al., 2015). Відбитки зроблені для трьох окремих рослин по 2-4 відбитки з адаксіальної (верхня сторона) та абаксіальної (нижня сторона) поверхні листка. Прийнято вважати, що адаксіальна поверхня – це сторона органа рослини (наприклад, листка), яка при закладці звернута до конуса наростання (вершини) пагона. Абаксіальна – це сторона органа рослини (наприклад, листка), яка при закладці звернута від конуса наростання (вершини) пагона. Отримані відбитки аналізували під світловим мікроскопом Carl Zeiss Jena Amplival під 100-200 кратним загальним збільшенням. Знімки робили за допомогою фотокамери Sigeta M3CMOS 16000. Кількість продихів на мм² листової пластини, довжину і ширину продихової щілини, а також замикальних клітин продихів визначали за використання програмного пакету ImageJ (Media Cybernetics). Площу продихових щілин розраховували як добуток їх ширини та довжини. Сумарну

площу продихових щілин на мм^2 визнали як добуток середніх значень площі продихових щілин та їх кількості (Franks et al., 2015).

2.4. Молекулярно-генетичні методи

ДНК для молекулярно-генетичного аналізу виділяли з 2–3 зернівок досліджуваних зразків за скороченим методом з використанням ЦТАБ (Murtagh et. al., 1980; Stewart et. al., 1993). Спершу зерновий матеріал розтирали у ступках і наважку 30–40 мг переносили в пробірку типу Eppendorf. Для лізису клітин використовували попередньо нагрітий до 70°C буфер (2 % ЦТАБ; 1,42 М NaCl; 20 мМ ЕДТА; 100 мМ Tris-Cl pH 8,0; 2% полівінілпірролідон; 5 мМ аскорбінова кислота; 4,0 мМ натрію диетилдитіокарбамат). Утворену суспензію струшували на термошейкері протягом 10–15 хв, а далі проводили депротейнізацію клітинного лізату за допомогою суміші хлороформу та ізоамілового спирту. Після центрифугування відбирали верхню водну фазу для подальшої очистки та осадження молекул ДНК за допомогою ізопропілового спирту. Отриманий осад ДНК промивали 70% етиловим спиртом, висушували за температури 55°C і розчиняли в ТЕ-буфері pH 8,0 (10 мМ Tris-HCl pH 8,0, 1 мМ ЕДТА) та зберігали у морозильній камері при -20°C .

Спектрометричне вимірювання концентрації і чистоти препарату ДНК проводили за наступної послідовності згідно загальноприйнятого протоколу (Ausubel et. al., 2001). Для кювети товщиною 10 мм, і довжини хвилі 260 нм, поглинання $A = 1$ відповідає приблизно 50 мкг/мл дволанцюгової ДНК, приблизно 37 мкг/мл одноланцюгової ДНК, 40 мкг/мл РНК або приблизно 30 мкг/мл олігонуклеотидів (Sambrook et. al., 2001).

Для визначення концентрації ДНК використовували спектрофотометр BioPhotometer™ Plus (Eppendorf, Німеччина). При приготуванні розчинів для вимірювання використовували таке співвідношення – 3 мкл досліджуваного зразка ДНК, 57 мкл деіонізованої води. Вимірювання проводили при довжинах хвиль: 230, 260 і 280 і 340 нм (Ausubel et. al., 2001; Sambrook et. al., 2001).

Для проведення полімеразної ланцюгової реакції готували суміш загальний об'єм якої становив 20 мкл: 1 мкл геномної ДНК, 0,5 мкл кожного з праймерів (0,2 мкМ), 0,1 мкл 5 од./акт. Taq-полімерази (Solis Biotec, Estonia) з концентрацією 5 од/мкл, 1 х реакційного буферу В (Solis Biotec, Estonia), 1,6 мкл $MgCl_2$ концентрацією 2 мМ, 2 мкл суміші дНТФ (Thermo Fisher Scientific, USA) із розрахунку 200 мкМ кожного в реакційній суміші, 2 мкл 10х LB буфера (буфер для завантажування), стерильна деіонізована вода до повного об'єму.

Характеристика праймерів для систем ДНК-маркерів (для виявлення поліморфізму в промоторах генів *EPF1*, *EPF2*) розроблені в цій роботі наведена в таблиці 2.6. Також використовували праймери для систем ДНК-маркерів, які виявляють поліморфізм в кодучих нуклеотидних послідовностях генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* (Римар, 2025) (табл. 2.7).

Таблиця 2.6. Характеристика розроблених пар праймерів для виявлення поліморфізму генетичних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*.

Промотор на ділянка гена	Назва праймера	Нуклеотидна послідовність (5'→3')	Tm, °C	Довжина ампліфікованого фрагмента, пн		Детектований поліморфізм
				‘Подоянка’	‘Наталка’	
EPF1-A1	prE1A1 F	GAT TGC TGA AGT AGT AAA GAC	55	-	380	-1223 A→G; -1221 A→C
	prE1A1 R	TCA GGT TCA GTT CTT GGC AT	56			
EPF1-B1	prE1B1 F	GAA ACC CTA ACC CTA GCG CA	60	353	480	127 пн інсерція (-1486...-1487)
	prE1B1 R	TTT TCG TGC AAA GAG TGC CG	58			
EPF1-D1	prE1D1 F	GCT CTT TTG ACC ACT ACT TAG	57	-	280	11 пн інсерція (-1584...-1585)
	prE1D1 R	GCA ACC GAG CAT CCA ACT AT	58			
	prE1D2 F	TCC GTG TGA TGG AAT TCG AG	58	334	-	6 пн делеція в позиції -268...-273
	prE1D2 R	AGA AGA AGA CGA GCG TGG TG	60			
EPF2-B1	prE2B1 F	ATT GGT TCC TAT CCT CCG CA	58	-	267	297 пн інсерція (-963...-964)
	prE2B1 R	TGG GAA GGG GGC TAT GAA CT	60			
MUTE-A1	prMA1 F	GCA GTA AAG TGG ACA CGC A	58	716	-	276 пн інсерція (-1865...-2140)
	prMA1 R	TGT GGC AAG ACA ATT AAG AGA ACA G	60			
	prMA2 F	GCA GTA AAG TGG ACA CGC A	58	693	417	
	prMA2 R	AGA GAT TGA TTT GGT AAC CCC G	58			

Таблиця 2.7. Характеристика систем праймерів для виявлення поліморфізму кодуєчих послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* методом ПЛР (Римар, 2025).

Ген	Назви праймерів	Нуклеотидна послідовність, від 5' до 3' кінця	Довжина ампліфікованого фрагменту, пн	Детектований поліморфізм
<i>EPF1-A1</i>	E1A1 F	AGCCG CATGA TCTCT ACGTG	173	+274 T→G (сорт 'Подільська', 'Chinese Spring')
	E1A1 R	CCGAC ACATC CTTCT TCTCC		
<i>EPF1-B1</i>	E1B1 F	CGTTC ACCCC CTTCT TCTCC	254	+273 C→T (сорт 'Одеська 267', 'Поліська 90')
	E1B1 R	CAGGA ACCCC TTCTC CTCCA		
	E1B2 F	ATGAT GCTGA TGC GA AACCG	88	+273 T→C (сорт 'Одеська 267', 'Поліська 90') / +276...+281 інсерція 6 пн
	E1B2 R	AGGAA CCCCT TCTCC TCCGT		
<i>EPF1-D1</i>	E1D1 F	GCTCT TTTGA CCACT ACTAG	281	-9...-6 інсерція 4 пн (сорт 'Наталка', 'Астарта')
	E1D1 R	GCAAC CGAGC ATCCA ACTAT		
	E1D2 F	GGAGA AGGAG GATGG GTCGG	183	+250...+262 інсерція 12 пн (сорт 'Наталка', 'Астарта')
	E1D2 R	TAGCA CTTGC CCTTG CACAT		
<i>EPF2-A1</i>	E2A1 F	GCCGT GCAAG CGGGT CATGA	140	+451 G→A (сорт 'Поліська 90')
	E2A1 R	GGGGT ACGTT GCGGA GCACG		
<i>MUTE-D1</i>	MD1 F	GCAGT AAAGT GGACA CGCA	182	+273 T→C (сорт 'Одеська 267')
	MD1 R	TGTGG CAAGA CAATT AAGAG AACAG		

Для детекції загальної ДНК з рослинних клітин і продуктів ампліфікації використовували метод електрофорезу ДНК в агарозному гелі. Для візуалізації під ультрафіолетовою лампою (до агарозного гелю) додавали 5 мкг/мл етидій броміду. Електрофорез загальної ДНК проводився в 1% агарозному гелі в LB-буфері. Електрофорез ампліфікованих фрагментів проводили в 1,2 % LB-буфері. Напруга в електрофоретичній камері була 5-6 В/см. Для приготування агарозного геля використовували агарозу фірми Sigma. Для електрофорезу використовували блок постійного живлення Electrophoresis Power Supply EPS 500/400 фірми "Pharmacia Fine Chemicals" і камеру для електрофорезу 30x15 см, multiSub Choice ("Cleaver Scientific", Великобританія). Для електрофорезу загальної ДНК у кожен лунку гелю вносили по 5 мкл розчину виділеної ДНК та 1 мкл завантажувального буферу Thermo Fisher Scientific попередньо змішаних. Для електрофоретичного дослідження ампліконів в кожен лунку вносили по 8-10 мкл продуктів ампліфікації. У крайні

лунки агарозної пластинки вносили маркери молекулярної маси 100 bp DNA Ladder Mix (SolisBioDyne, Естонія) або DNA λ /Hind III (Thermo Fisher Scientific).

2.5. Фізіологічні методи вивчення функціонування продихового апарату пшениці

2.5.1. Моделювання умов ґрунтової посухи в умовах вегетаційного дослідю

Попередньо пророщене зерно висаджували у вегетаційні посудини з ґрунтосумішшю (10 кг суміші сірого опідзоленого ґрунту – рН (KCl) 5,8, вміст органічної речовини 1,8 %, азоту 30 мг/кг, фосфор 25 мг/кг, калій 30 мг/кг, який у співвідношенні 3:1 змішували з піском). У посудини додатково вносили азот, фосфор і калій з розрахунку 160 мг/кг ґрунту кожного елемента (80 при наповненні посудин і 80 мг/кг в середині фази виходу в трубку). Рослини вирощували на вегетаційному майданчику (рис. 2.1) під поліетиленовим дахом. Температура і освітленість – природні.



Рис. 2.1. Дослідний майданчик для дослідження впливу ґрунтової посухи.

До початку цвітіння рослин, а в контрольному варіанті впродовж всієї вегетації, вологість ґрунту підтримували на рівні 70 % повної вологості (ПВ). На початку фази цвітіння припиняли полив рослин дослідного варіанта, знижуючи протягом 3 діб вологість ґрунту до рівня 30 % ПВ, який підтримували протягом наступних 7 діб. Після цього вологість ґрунту в посудинах з дослідними рослинами відновлювали до рівня контролю (70 % ПВ), який підтримували до кінця вегетації. Вологість ґрунту в посудинах контролювали гравіметрично двічі на добу.

2.5.2. Вимірювання показників газообміну та фотосинтезу

Визначення показників інтенсивності газообміну в рослин контрольного і дослідного варіантів проводили через сім діб вирощування за 30 % ПВ. Інтенсивність фотосинтезу і дихання реєстрували за контрольованих умов на установці, змонтованій на базі оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М, увімкненого за диференційною схемою. Середні частини інтактних прапорцевих листків головного пагона (по 2 паралельно) поміщали в камеру з контрольованою температурою (25 °C) і освітлювали світлодіодним прожектором ТА-11 потужністю 50 Вт з колірною температурою 5200 К. Освітленість на рівні камери становила 1500 мкмоль/(м² · с) ФАР. Кондиціоноване повітря (вологість – 9,5–10 мбар) продували через камеру зі швидкістю 1 л/хв. Інтенсивність фотодихання оцінювали за викидом CO₂ із листка протягом 1 хв після вимкнення світла. Інтенсивність транспірації реєстрували за контрольованих умов газоаналізатором EGM-5 (PP Systems, США) і розраховували за різницею вологості повітря на вході і виході з листової камери. Параметри газообміну розраховували за стандартними протоколами (Busch et. al., 2001). Повторність визначень показників газообміну 4-разова.

2.6. Біоінформатичні методи

Програмне забезпечення CLC Main Workbench 6.9.2 (Qiagen, США) було використано для множинних глобальних вирівнювань та попарних порівнянь референтних (нуклеотидна послідовність сорту пшениці м'якої 'Chinese Spring') та досліджуваних послідовностей (нуклеотидні послідовності сортів 'Наталка' та 'Подольнка'). Референтну послідовність пшеничного геному сорту 'Chinese Spring' було взято з бази даних міжнародного консорціуму із секвенування геному пшениці IWGSC_ref_V1.0.

Біоінформатичний аналіз отриманих нуклеотидних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* з трьох гомеологічних геномів пшениці сортів 'Наталка' та 'Подольнка' на рахунок впливу змін *цис*-регуляторних елементів проводили за допомогою спеціалізованого біоінформатичний ресурсу NewPLACE (<https://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/?action=newplace>) (Higo K. et al., 1999). Пари праймерів до систем ДНК-маркерів були сконструйовані за допомогою Інтернет-ресурсу Primer-BLAST (NCBI).

Для визначення розміру ампліфікованих фрагментів ДНК в агарозному гелі використовували програму GelAnalyzer 19.1 (István Lázár). Ця програма надає можливість аналізувати зображення електрофореграм та має функції калібрування молекулярної маси, що дозволяє визначити завдяки маркерам молекулярної маси довжини ампліконів. Важливо враховувати, що даний метод детекції має похибку, але при цьому може демонструвати наявність або відсутність відмінностей між довжинами фрагментів й застосовуватися при оптимізації умов розроблених праймерів для ДНК-маркерів.

2.7. Статистичні методи

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel та R версії 4.4.2 (R Core Team (2024)) та RStudio версії 2025.05.0 (<https://posit.co/products/open-source/rstudio/>). Результати виражені як середнє

значення та стандартна помилка ($\bar{x} \pm SE$). Для порівняння середніх використовували дисперсійний аналіз (ANOVA) (Chambers et al., 1992) з подальшим тестом Тьюкі (Steel et al., 1997; Hsu, 1996). Відмінності між варіантами вважалися значущими за $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Продихи – основні клітинні структури, які відіграють ключову роль у газообміні між рослинним організмом та навколишнім середовищем. Саме продихи забезпечують як надходження вуглекислого газу для фотосинтезу, так і транспірацію, що має вплив на продуктивність рослин та толерантність до посухи. Водночас морфологія продихового апарату (кількість продихів, розміри продихових щілин тощо) залежить від генів біогенезу продихів, оскільки поліморфізм кодуєчих та регуляторних послідовностей генів (разом із дією зовнішніх факторів) впливає на формування продихів. При цьому ці морфологічні особливості продихового апарату визначають інтенсивність газообміну, ефективність використання води рослиною та стійкість рослин до збудників грибних хвороб. З огляду на це, в роботі досліджувався поліморфізм нуклеотидних послідовностей промоторів генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* з одного боку й особливості морфології та фізіології продихів (порівнювалась інтенсивність газообміну та фотосинтезу за умов ґрунтової посухи) як сортів/селекційних ліній пшениці м'якої, так й інших злаків – з другого боку. Для того щоб з'ясувати потенційний взаємозв'язок морфології продихового апарату з газообміном та поліморфізмом генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* отримані дані статистично обраховувалися. Проте, спершу для запуску досліджень необхідно було зібрати відповідний рослинний матеріал і сформувати його в упорядковану колекцію, придатну для отримання вихідних даних цінних результатів і досягнення поставленої мети.

3.1. Створення колекції злаків, її детальна характеристика

Як відомо, одомашнення сільськогосподарських культур призвело до втрати ряду адаптаційних ознак. Дикі предки сучасних злакових рослин та споріднені види, які зазнавали меншого селекційного тиску можуть слугувати

матеріалом для дослідження продигового апарату. Через це було зібрано колекцію пшениці, споріднених та диких видів і їх міжвидових гібридів (детальний опис всіх зразків наведено в матеріалах табл. 2.1).

Серед зібраних зразків представлені наступні: *T. aestivum* – 4 зразки, *T. durum* – 4 зразки, *T. spelta* – 12 зразків, *T. sphaerococcum* – 3 зразки, *T. dicoccum* – 25 зразків, *Secale cereale* – 2 зразки, *T. ispahanicum* – 1 зразок, *T. sinskajae* – 1 зразок, *T. macha* – 1 зразок, *T. vavilovii* – 1 зразок, міжвидові гібриди – 20 зразків, включаючи комерційні сорти *Triticosecale* – 4 зразки, (рис. 3.1). Крім того, зібране видове різноманіття представлене різною плоїдністю геному. Так, пшениця м'яка, пшениця шарозерна, пшениця Вавилова, спельта є гексаплоїдними видами та мають субгеноми А, В та D. Тетраплоїдні види, які мають субгеноми А та В представлені зразками пшениці твердої, полби, пшениці ісфаханської. Також тетраплоїдний геном має сорт жита української селекції 'Пам'яті Дерев'янка'. Диплоїдні геноми мають зразки рослин пшениці сіньської (геном AA) та сорт жита 'Gazelle' (геном RR).

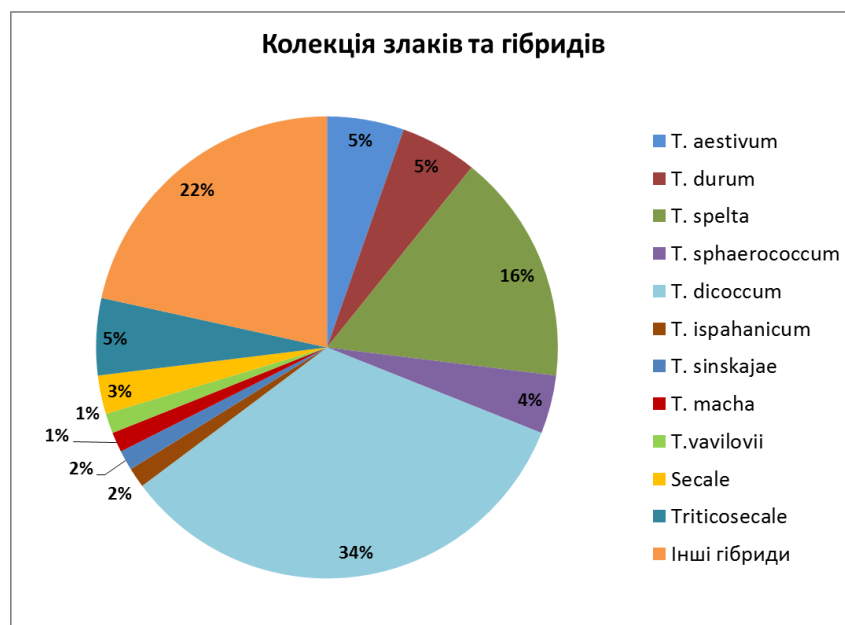


Рисунок 3.1. Діаграма розподілу видового різноманіття зразків, представлених у зібраній колекції.

Важливо зазначити, що зразки суттєво різняться за походженням. Окрім українських зразків, в даній колекції представлені цінні зразки із Північної, Центральної, Західної, Східної та Південної Азії, зразки із Північної, Південної, Південно-Східної, Центральної, Південно-Центральної та Східної Європи, зразки із Північної Америки, Східної Африки та Австралії. Така різноманітність за видами, геномами та еколого-географічним походженням є підґрунтям для вивчення особливостей морфології продихового апарату.

Щоб охарактеризувати зібрану колекції злаків, рослини були вирощені на дослідній ділянці. Після цього досліджувані рослини були оцінені за стійкістю до грибних патогенів, а у фазу повної стиглості зерна рослини (ВВСН 85-92) були зібрані та в подальшому проаналізовані за рядом морфологічних ознак (довжина стебла, кількість продуктивних стебел, довжина головного колосу, кількість колосків головного колосу) та продуктивністю (кількість зерен головного колосу, маса зерен головного колосу, маса зерен з однієї рослини та маса тисячі зерен).

3.1.1. Характеристика рослин за структурними елементами і продуктивністю

Проаналізовано структурні та морфобіологічні характеристики кожної рослини, а також оцінено їх продуктивність. Дані аналізу наведені в таблиці 3.1. Виявлено, що серед досліджуваних зразків є досить контрастні форми, як за морфологічними ознаками, так і за продуктивністю рослин. Очікувано, що сортові форми пшениці м'якої, спельти та пшениці твердої мають вищу продуктивність у порівняння з дикими формами полби та міжвидових гібридів. Також рослини жита та житньо-пшеничного гібрида тритикале мають вищу висоту і вирізняються високою продуктивністю.

Таблиця 3.1. Структурно-морфологічні показники рослин пшениць, споріднених видів та міжвидових.

ІН	ВР	ПК	ДГК	ККГК	КЗГК	МЗГК	МЗР	МТЗ
ОЗИМИ ЗРАЗКИ								
<i>T. aestivum</i>								
IR 17344W	92,1±4,6	2,85±0,1	14,2±0,2	18,3±0,5	40,5±1,6	2,3±0,1	5,3±0,3	57,2±0,8
‘Подольнка’	88,6±1,2	2,8±0,1	9,15±0,2	17,2±0,3	38,3±1,8	1,9±0,1	4,5±0,2	48,7±0,7
Наталка	99,8±1,3	3,05±0,1	11,9±0,2	15,9±0,3	37,7±1,5	1,9±0,1	4,7±0,3	49,5±1,2
<i>T. durum</i>								
UA0201437	81,3±1,6	3,0±0,1	16,3±0,2	17,3±0,3	29,3±2,1	1,8±0,1	4,2±0,3	61,5±3,2
<i>T. spelta</i>								
UA0300071	115,1±1,0	4,5±0,3	10,4±0,2	15,4±0,5	25,9±1,2	1,2±0,1	4,9±0,5	44,3±3,6
UA0300075	118±2,0	4,0±0,1	11,8±0,2	16,1±0,2	26,5±1,0	1,1±0,1	4,9±0,9	42,7±1,4
<i>T. sphaerococcum</i>								
UA0300654	109,4±1,0	3,8±0,1	8,5±0,2	17,6±0,2	14,2±2,1	0,4±0,1	1,2±0,1	28,4±1,2
UA0106239	69,6±1,4	3,15±0,16	7,15±0,2	17,0±0,3	32,3±1,6	1,2±0,1	2,9±0,2	35,5±0,9
<i>Triticosecale</i>								
UA0602792	95,6±0,7	3,25±0,1	13,7±0,3	28,3±0,4	52,1±2,2	2,8±0,2	7,7±0,5	53,6±1,1
IR 06331	114,9±1,6	2,8±0,2	14,0±0,3	30,0±0,4	60,8±3	3,67±0,2	8,9±0,6	59,8±0,8
<i>Secale</i>								
UA0700412	150,2±3,3	3,7±0,2	13,5±0,2	30,5±0,7	46,2±1,6	2,3±0,1	7,5±0,4	49,4±1,3
<i>T. macha</i>								
UA0300250	106,4±1,5	3,1±0,2	7,6±0,2	25,7±0,5	38,1±1	1,6±0,1	3,9±0,3	43,0±1,2
<i>T. vavilovii</i>								
IR 00364	122,1±2,4	3,5±0,2	10,1±0,3	15,4±0,5	25,4±1,4	1,1±0,1	3,2±0,2	42,7±0,2
<i>T. dicoccum</i>								
UA0300001	107,4±1,9	3,0±0,1	13,3±0,2	20,2±0,2	20,7±1,5	1,23±0,1	2,8±0,2	60,37±3, 2
UA0300159	118±8,7	3,3±0,2	10,9±0,5	16,8±1,2	20,0±3,1	0,62±0,1 0	1,9±0,2	30,4±1,7
<i>T. x palmovae*</i>								
UA0500054	112,2±2,6	3,1±0,3	12,0±0,7	8,9±1,2	8,9±1,3	0,8±0,1	2,0±0,1	95,6±11, 9

Примітка: ІН – ідентифікаційний номер в колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України; ВР – висота рослин; ПК – кількість продуктивних стебел (продуктивна куцистість); ДГК – довжина головного колоса; ККГК – кількість колосків головного колоса; КЗГК – кількість зерен головного колоса; МЗГК – маса зерен головного колоса; МЗР – маса зерен з всієї рослини; МТЗ – маса тисячі зерен.

Таким, чином зразки із зібраної колекції злаків різко відрізняється за морфобіологічними ознаками рослин і цікавими об'єктами для вивчення продихового апарату.

3.1.2. Оцінка стійкості пшениці й інших злаків до збудників грибних хвороб

Продихи не лише є важливими елементами газообміну, а й шляхом проникнення грибних хвороб, оскільки виступають першою лінією захисту рослин. Саме тому продиховий апарат відіграє також значну роль у формуванні імунності рослин до збудників грибних хвороб. З іншої сторони сучасний геном пшениці м'якої вичерпує свій потенціал різноманіття генів стійкості до збудників хвороб. Тому виникає необхідність пошуку стійких форм серед співродичів пшениці з різними геномами. Саме визначення таких стійких форм до найбільш поширених збудників хвороб є перспективним для селекції пшениці на стійкість.

Проведено оцінку стійкості 25 зразків різних видів пшениці озимої, які можуть бути потенційними носіями генів стійкості до дії природних популяцій збудників борошнистої роси та септоріозу листя пшениці. В якості контролю рівня стійкості були сорти української селекції 'Подільська' і 'Наталка' (*T. aestivum*, геном ABD), які проявили слабку сприйнятливість до збудника борошнистої роси (бал 5) та стійкість (бал 6) до збудника септоріозу листя (табл. 3.2). Ці збудники входять в п'ятірку найбільш поширених листових хвороб пшениці в Україні.

Оцінка стійкості показала імунність до двох збудників хвороб у зразків *Triticosecale* var. *ferrugineum*, 'Borislav' та *Triticosecale* var. *suberithrosperrum*, 'Ілона' (геном ABR), *Secale* subsp. *cereale* (Typus) var. *vulgare* 'Пам'яті Дерев'янка' (геном RR), *Triticosecale* var. *erithrosperrum* 'Борівітер Харківський' (геном ABDR) – бал 9 (дуже висока стійкість, імунність).

Висока стійкість і стійкість (бали 9-8 і 7) до збудників борошнистої роси та септоріозу листя виявлена у зразків *T. durum* var. *leucurum* 'Шуліндінка' (геном AB), *T. dicoccum* var. *rufum* (геном AB), *T. dicoccum* var. *semicanum* (геном AB), *Triticosecale* var. *erithrosperrum* 'Свобода Харківська' (геном ABDR).

Стійкість в межах 6–7 балів (інтенсивність розвитку захворювання на лисках рослин від 10 до 15 %) мали зразки *T. durum* var. *leucurum* 'Континент' (геном AB), *T. macha* var. *palaeoimereticum* (геном ABD), *T. sphaerococcum* var. *rubiginosum* 'Л 322-15' (геном ABD).

Серед всіх зразків *T. spelta* (геном ABD) різного еколого-географічного походження (Польща, Німеччина, Таджикистан, Україна) характерним був прояв слабкої сприйнятливості-сприйнятливості (бали 5 і 4, 3) до збудника борошнистої роси і стійкість (бали 6-7) до збудника септоріозу листя. Серед всіх зразків цього виду виділявся за рівнем стійкості до збудника септоріозу листя зразок *T. spelta* var. *duhamelianum* 'Зоря України' (Україна). Можливо, що цей сорт спельти містить гени стійкості до дії цього патогена. Такі ж результати стійкості проявив зразок *T. vavilovii* var. *vavilovii* (геном ABD) (Вірменія).

Стійкість до збудника септоріозу листя на фоні сприйнятливості до збудника борошнистої роси проявили зразки *T. sphaerococcum* var. *spicatum* 'Шарада' (геном ABD), *T. x palmovae* (*T. boeoticum* – *Ae. tauschii*, геном A/D). Серед зразків пшениці м'якої озимої подібні результати мав зразок *T. aestivum* var. *erythrospermum*, 'Метелиця Харківська' (геном ABD). Зразок *T. aestivum* var. *erythrospermum*, 'Спадщина Одеська' (геном ABD) та *T. aestivum* var. *erythrospermum*, 'Вигадка' (геном ABD) були слабо сприйнятливими – стійкими (бали 5–6) до обох збудників хвороб.

Дослідження стійкості різних видів пшениці озимої до збудників борошнистої роси та септоріозу листя показали, що зразки із наявністю в геномі хромосом групи D проявляють слабку сприйнятливість – сприйнятливість до збудника борошнистої роси та стійкість до збудника септоріозу листя. Можливо саме в хромосомах групи D містяться гени стійкості до цього патогена. Наявність в геномі групи хромосом від жита AVR чи окремих хромосом жита RR сприяє прояву дуже високої стійкості і навіть імунності до дії двох збудників хвороб. Зразок з геномом ABDR проявляє повну імунність до дії місцевих популяцій двох збудників хвороб і підтверджує цінність залучення житніх хромосом у селекційний процес для підвищення стійкості рослин. З цієї

точки зору, геном АВ твердих пшениць є досить «вдалим поєднанням», яке також сприяє прояву стійкості до двох збудників хвороб.

Таким чином, виявлено, що найбільша стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя детектується у зразках, що поєднують пшенично-житні геноми (ABR та ABDR), а також поєднання двох субгеномів АВ у пшениці твердої озимої проявляє досліджувану стійкість.

Серед ярих форм як стандарт використовували сорт пшениці м'якої української селекції 'Улюблена' (*T. aestivum* var. *lutescens*, геном ABD), який показав слабку сприйнятливість до збудника борошнистої роси (бал 5) та стійкість (бал 6) до збудника септоріозу листя (табл. 3.2).

Серед зразків *T. spelta* (геном ABD) високу стійкість і стійкість до обох збудників хвороб проявили зразки *T. spelta* var. *album* з Канади (бал 6 і 9, відповідно) та з Австралії (бал 6 до обох збудників). Можливо ці два зразки містять гени стійкості до двох патогенів. Зразок *T. spelta* var. *caeruleum* 'Tridentina' (Італія) був стійким–слабко сприйнятливим до борошнистої роси (бали 5-6) та стійким (бал 6) до септоріозу листя. *T. spelta* var. *caeruleum* 'CDC Zorba' (Канада) не мав стійкості до обох збудників (бали 4 і 5 . відповідно). Зразок *T. spelta* var. *arduini* (Іспанія) проявив стійкість до збудника септоріозу листя (бал 7) і слабку сприйнятливість до борошнистої роси (бал 5).

Всі зразки видової пшениці *T. dicoccum* (геном АВ) var. *rufum* (Україна), *T. dicoccum* var. *aeruginosum* (Вірменія), *T. dicoccum* var. *haussknechtianum* (Азербайджан), *T. dicoccum* (Казахстан) та *T. dicoccum* var. *aeruginosum* 'Руно', *T. dicoccum* var. *serbicum* 'Полба 3', *T. dicoccum* var. *serbicum* (росія) мали високу стійкість (бали 9, 8) чи стійкість (бали 7-6) до збудників борошнистої роси та септоріозу листя, що робить її потенційними донорами стійкості для селекції. Виключенням став тільки зразок *T. dicoccum* var. *nudirufum* 'Голіковська' (Україна), який був слабко сприйнятливим до борошнистої роси (бал 5), але стійким до септоріозу листя (бали 6-7).

Зразок жита *Secale subsp. cereale* (Typus) var. *vulgare* 'Gazelle' (Канада) (геном RR) проявив дуже високу – високу стійкість до обох збудників хвороб.

Він може містити в геномі високоефективні гени стійкості до цих патогенів і мати перспективу в селекції на стійкість.

Зразки видової пшениці *T. durum* var. *leucurum* 'Ксантия' (геном АВ) (Україна) проявив стійкість до збудника септоріозу листя (бали 7-8), але був слабо сприйнятливим до борошнистої роси (бал 5). Проте, зразок *T. durum* var. *hordeiforme* 'Спадщина' (Україна) був сприйнятливим до борошнистої роси (бал 4) і слабо сприйнятливим до септоріозу листя. (бал 5). Такі показники стійкості не дозволяють використовувати його в якості донора стійкості.

Зразки двох видів пшениці *T. ispahanicum* var. *ispahanicum* (геном АВ) (Іран) та *T. sinskajae* var. *sinskajae* (геном АА) (Туреччина) проявили однакові показники стійкості – слабку сприйнятливість – сприйнятливість (бали 5-4) до борошнистої роси та стійкість (бал 6 з інтенсивністю розвитку хвороби до 15 % на листку) до септоріозу листя. Такі особливості треба враховувати в селекції на стійкість.

Оцінка стійкості 6-ти зразків амфідиплоїдних гібридів роду *Triticum* L. показала, що три зразки АД-7 *T. ispahanicum* × *Ae. cylindrical* (геном АВ/CD) (Азербайджан), ПАГ-31 *T. dicoccum* × *T. monoccum* (геном АВ/Ab) (росія), АД1 *T. dicoccum* × *Ae. speltoides* (геном АВ/S) (Азербайджан) мали дуже високу і високу стійкість до обох збудників хвороб (бали 9 і 8). Зразок *Triticum* × *kiharae* (*T. timopheevii* × *Ae. tauschii*, геном AGD) (Японія) був стійким (бал 6) до борошнистої роси та високо стійким до септоріозу листя (бал 8). Амфідиплоїд *Haynaticum* (*T. dicoccum* × *Dasypyrum villosum* (геном АВ/V)) (росія) навпаки був високостійким (бал 8) до борошнистої роси та стійким до септоріозу листя (бал 6). Зразок ПЕАГ (*T. dicoccum* × *Ae. tauschii*, геном АВ/D) (росія) проявив стійкість до двох збудників хвороб (бал 6). Всі 6 зразків амфідиплоїдних гібридів можуть бути донорами стійкості до збудників борошнистої роси та септоріозу листя пшениці з різним рівнем стійкості від імунності і високої стійкості до стійкості.

Порівнюючи наші дані досліджень в зоні Правобережного Лісостепу України з даними щодо вивчення стійкості зразків пшениці ярої до листових

грибних хвороб в умовах Лісостепу України (Лівобережний Лісостеп України, Харківська обл.) (Чуприна та ін, 2020), серед яких були зразки з нашої колекції, можна помітити відмінності в прояву стійкості до збудників борошнистої роси та септоріозу листя серед амфідиплоїних зразків. За результатами наших досліджень вони були високо стійкими - стійким до збудників борошнистої роси та септоріозу листя тоді, як в зоні Лівобережного Лісостепу України вони значно уражалися обома збудниками ПАГ-31 *T. dicoccum* × *T. monoccum* (геном AB/Ab) (росія), ПЕАГ (*T. dicoccum* × *Ae. tauschii*, геном AB/D) (росія), *Triticum* × *kiharae* (*T. timopheevii* × *Ae. tauschii*, геном AGD) (Японія), Haynaticum (*T. dicoccum* × *Dasypyrum villosum* (геном AB/V)) (росія). Така ситуація може бути через відмінності у складі популяцій патогенів різних зон, що має вплив на гени стійкості в геномі рослин. Схожі показники стійкості тільки для зразків двох видів пшениці *T. ispahanicum* var. *ispahanicum* (геном AB) (Іран) та *T. sinskajae* var. *sinskajae* (геном AA) (Туреччина) відмічаються для двох зон вирощування. Зразок *T. dicoccum* var. *nudirufum* 'Голіковська' (Україна) за нашими даними був слабо сприйнятливим до борошнистої роси і стійким до септоріозу листя, а в зоні Лівобережного Лісостепу він навпаки був стійкий до борошнистої роси і мав значні ураження септоріозом (Чуприна та ін, 2020). Зразки з геномом AB *T. dicoccum* var. *aeruginosum* 'Руно', *T. dicoccum* var. *serbicum* 'Полба 3', *T. dicoccum* var. *serbicum* (росія) в наших дослідженнях проявили вищу стійкість, ніж за даними (Чуприна та ін, 2020). Нами встановлено, що зразок *T. spelta* var. *caeruleum* 'CDC Zorba' (Канада) не мав стійкості до обох збудників хвороб, а в зоні Лівобережного Лісостепу України він виявляється стійким до патогенів. Отже, порівняння результатів досліджень стійкості для двох зон вирощування видових зразків пшениці ярої і її співродичів показує відмінності в результатах стійкості і доводить необхідність проведення визначення стійкості в різних зонах вирощування для забезпечення об'єктивної і результативної селекції на стійкість. Дані з літературних джерел для зони Лівобережного Лісостепу України показали відмінності в стійкості зразків, із зоною Правобережного Лісостепу України, що пов'язано із

особливостями впливу збудників хвороб на геном рослин у різних зонах вирощування. Отже, встановлено зразки з колекції пшениці ярої, які проявляють стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя вище контролю пшениці м'якої ярої. Вони містять гени стійкості в геномі та можуть використовуватися в якості донорів і джерел стійкості в селекції на стійкість в Правобережному Лісостепу України:

- тільки два зразки виду *T. spelta* проявили рівень стійкості вищий за контроль: це різновид *album* (геном ABD) Канада – стійкість до борошнистої роси та імунність до септоріозу листя та спельта з Австралії – стійкість до обох збудників. Решта різновидів цього виду не мають ефективні показники стійкості;

- всі зразки видової пшениці *T. dicoccum* (геном AB) var. *rufum* (Україна), *T. dicoccum* var. *aeruginosum* (Вірменія), *T. dicoccum* var. *haussknechtianum* (Азербайджан), *T. dicoccum* (Казахстан) та *T. dicoccum* var. *aeruginosum* 'Руно', *T. dicoccum* var. *serbicum* 'Полба 3', *T. dicoccum* var. *serbicum* (росія) мали високу стійкість (бали 9, 8) чи стійкість (бали 7-6) до збудників борошнистої роси та септоріозу листя – можуть мати ефективні гени стійкості в геномі;

- зразок жита *Secale subsp. cereale* (Typus) var. *vulgare* 'Gazelle' (Канада) (геном RR) проявив дуже високу – високу стійкість до обох збудників хвороб, що співпадає з даними по пшениці озимій;

- 6 зразків амфідиплоїдних гібридів роду *Triticum* L. АД-7 *T. ispananicum* × *Ae. cylindrical* (геном AB/CD) (Азербайджан), ПАГ-31 *T. dicoccum* × *T. monoccum* (геном AB/Ab) (росія), АД1 *T. dicoccum* × *Ae. speltoides* (геном AB/S) (Азербайджан) – дуже високо і високо стійкі до обох збудників хвороб. Зразок *Triticum* × *kiharae* (*T. timopheevii* × *Ae. tauschii*, геном AGD) (Японія) був стійким до борошнистої роси та високо стійкий до септоріозу листя. Амфідиплоїд *Haunaticum* (*T. dicoccum* × *Dasyphyrum villosum* (геном AB/V)) (росія) високо стійкий до борошнистої роси та стійкий до септоріозу листя. Зразок ПЕАГ (*T. dicoccum* × *Ae. tauschii*, геном AB/D) (росія) проявив стійкість до двох збудників хвороб. Всі 6 зразків амфідиплоїдних гібридів можуть бути

донорами стійкості до збудників борошнистої роси та септоріозу листя пшениці з рівнем стійкості від імунності і високої стійкості до стійкості;

На відміну від пшениці озимої ярі зразки *T. durum* з геномом АВ не проявили стійкість вище контрольного зразка. Ярі форми пшениці з геномом АВ проявляють стійкість до двох патогенів тільки зразки виду *T. dicossum* за винятком *T. dicossum* var. *nudirufum* 'Голіковська'. Або при додаванні до нього геномів інших видів, як у випадку амфідиплоїдних зразків роду *Triticum* L., чи як типово для жита з геномом RR. Саме такі генотипи рекомендуємо залучати до ідентифікації ефективних генів стійкості та до селекційного процесу.

Таблиця 3.2. Оцінка стійкості пшениць, споріднених видів та міжвидових гібридів до збудників грибних хвороб.

№	ІН	Підвид, сорт	Геном	Країна походження	Бр.*	С.*
ОЗИМИ ЗРАЗКИ						
<i>T. aestivum</i>						
1	UA0122879	var. <i>erythrospermum</i> , Вигадка	ABD	Україна	5-6	6-5
2	UA0122901	var. <i>erythrospermum</i> , Метелиця Харківська	ABD	Україна	4	6
3	IR 17344W	var. <i>erythrospermum</i> , Спащина Одеська	ABD	Україна	5-4	6-5
4		'Подольнка'	ABD	Україна	5	6
5		Наталка	ABD	Україна	5-4	6
<i>T. durum</i>						
6	UA0201359	var. <i>leucurum</i> , Континент	AB	Україна	6	6
7	UA0201437	var. <i>leucurum</i> , Шулиндінка	AB	Україна	8-7	6-7
<i>T. spelta</i>						
8	UA0300487	var. <i>arduini</i> , Європа	ABD	Україна	4-3	6
9	UA0300340	var. <i>duhamelianum</i> , Зоря України	ABD	Україна	4	7-8
10	UA0300071	var. <i>duhamelianum</i>	ABD	Польща	4-5	7
11	UA0300101	var. <i>duhamelianum</i> Baulaender	ABD	Німеччина	6-5	6-5
12	UA0300103	var. <i>duhamelianum</i> Frankenkorn	ABD	Німеччина	5	6
13	UA0300075	var. <i>griseoturanorecens</i>	ABD	Таджикистан	4	6
<i>T. sphaerococcum</i>						
14	UA0300654	var. <i>rubiginosum</i> , ЛІ 322-15	ABD	Україна	7	6-7
15	UA0106239	var. <i>spicatum</i> , Шарада	ABD	рф	5	6
<i>Triticosecale</i>						
16	UA0604401	var. <i>erithrospermum</i> , Борівітер Харківський	ABDR	Україна	9	9
17	UA0605030	var. <i>erithrospermum</i> , Свобода Харківська	ABDR	Україна	9	7-6
18	UA0602792	var. <i>ferrugineum</i> , Borislav	ABDR	Україна	6	9
19	IR 06331	var. <i>suberythrospermum</i> , Лона	ABDR	Україна	9	8

<i>Secale</i>						
20	UA0700412	subsp. <i>cereale</i> (Typus) var. <i>vulgare</i> , Пам'яті Дерев'янка	R	Україна	9	9
<i>T. macha</i>						
21	UA0300250	var. <i>palaeoimereticum</i>	ABD	Грузія	6	7-8
<i>T. vavilovii</i>						
22	IR 00364	var. <i>vavilovii</i>	ABD	Вірменія	3	7-8
<i>T. dicoccum</i>						
23	UA0300001	var. <i>rufum</i>	AB	Україна	8	7
24	UA0300159	var. <i>semicanum</i>	AB	Німеччина	9	6
<i>T. x palmovae*</i>						
25	UA0500054	<i>T. boeoticum</i> / <i>Ae. tauschii</i>	A / D	рф	6-5	7
ЯРІ ЗРАЗКИ						
<i>T. dicoccum</i>						
26	UA0300327	var. <i>aeruginosum</i> , Руно	AB	рф	9	7
27	UA0300183	var. <i>serbicum</i> , Polba 3	AB	Удмуртія	7	7
28	UA0300040	var. <i>aeruginosum</i>	AB	Вірменія	6	8
29	UA0300044	var. <i>haussknachtianum</i>	AB	Азербайджан	9	7-6
30	UA0300009	var. <i>serbicum</i>	AB	рф	7-8	7-6
31	UA0300001	var. <i>rufum</i>	AB	Україна	8-9	7
32	UA0300087	n.a.	AB	Казахстан	9	9
33	UA0300406	var. <i>nudirufum</i> , Голіковська	AB	Україна	5	6-7
<i>T. aestivum</i>						
34	UA0111002	var. <i>lutescens</i> , Улюблена	ABD	Україна	4	7
<i>T. durum</i>						
35	UA0201580	var. <i>leucurum</i> , Ксантія	AB	Україна	5	7-8
36	UA0201075	var. <i>hordeiforme</i> , Спадщина	AB	Україна	4	5
<i>T. spelta</i>						
37	UA0300392	var. <i>caeruleum</i> CDC Zobra	ABD	Канада	4	5
38	UA0300218	var. <i>caeruleum</i> , Tridentina	ABD	Італія	6-5	6
39	UA0300304	var. <i>album</i>	ABD	Австралія	6	6
40	UA0300111	var. <i>album</i>	ABD	Канада	6	9
41	UA0300587	var. <i>arduini</i>	ABD	Іспанія	5	7
<i>T. sinskajae</i>						
42	UA0300224	var. <i>sinskajae</i>	A	рф	5-4	6
<i>T. ispahanicum</i>						
43	UA0300070	var. <i>ispahanicum</i>	AB	Іран	5-4	6
<i>Secale</i>						
44	UA0700080	subsp. <i>cereale</i> (Typus) var. <i>vulgare</i> , Gazelle	R	Канада	8-9	8-7
<i>T. x kiharae*</i>						
45	UA0500014	<i>T. timopheevii</i> × <i>Ae. tauschii</i>	AGD	Японія	6-5	7
Найнатрику*						
46	UA0500018	<i>T. dicoccum</i> / <i>Dasypyrum villosum</i>	AB / V	рф	8	6
ПАГ-31*						
47	UA0500008	<i>T. dicoccum</i> / <i>T. monococcum</i>	AB / A ^b	рф	9	9
ПЕАГ*						
48	UA0500010	<i>T. dicoccum</i> / <i>Ae. tauschii</i>	AB / D	рф	6	6
АД 1*						
49	UA0500012	<i>T. dicoccum</i> / <i>Ae. speltoides</i>	AB / S	рф	8	8

Примітки: * – позначені міжвидові гібриди; Бр – борошниста роса збудник (збудник гриби порядку *Erysiphales*); С – септоріоз (збудник гриби роду *Septoria*).

При селекції на стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя слід звернути увагу саме на ці описані зразки ярих співродичів пшениці. Залучення їх до селекції збагатить геном ярої пшениці потенційно ефективними генами стійкості.

3.1.3. Висновки до підрозділу 3.1.

Зібрана колекція пшениці, споріднених видів та міжвидових гібридів, включаючи унікальні зразки злаків. Зразки колекції охарактеризоване за морфологічними, агрономічними характеристиками і стійкістю до збудників грибних хвороб. Цю колекцію зручно використовувати для аналізу продихового апарату і молекулярно-генетичного скринінгу алельних варіантів генів біогенезу продихів.

За оцінкою стійкості до збудників грибних захворювань найбільша стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя серед озимих злаків зібраної колекції детектується у зразках, що поєднують пшеничні-житньо геноми (ABR та ABDR), а також у зразках із а субгеномами АВ у пшениці твердої. Серед ярих зразків встановлено, що найбільша стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя детектується у зразках, що мають геноми АВ (*T. dicoccum*), зразки *T. spelta* var. *album* геном ABD, а також 6 амфідиплоїдних зразків роду *Triticum* L. (АД-7, ПАГ-31, AD1 *Triticum* × *kiharae* *Haynaticum*, ПЕАГ)

Публікації до підрозділу 3.1.

1. Lisova H., Rymar Y., Morgun B. (2024) Wheat genome and resistance to powdery mildew and septoria leaf spot. *National Conference with International Participation 'Natural Sciences in the Dialogue of Generations'*, Chisinau, Moldova, September 12-13, 2024. P. 73 (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних).

2. **Римар Ю.Ю.,** Лісова Г.М., Проніна О.В., Сливка Л.В., Рябчун В.К., Моргун Б.В. (2023) Стійкість видів пшениці з різними геномами до збудників борошнистої роси та септоріозу листя. *Тези доповідей Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми генетики, біотехнології та біохімії рослин»*. 19 жовтня 2023 р., СГІ-НЦНС НААН України. Одеса, С. 81–82 (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, підготувала матеріал до друку).

3.2. Біоінформатичний аналіз генів біогенезу продихів

Для розуміння особливостей морфології продихового апарату, який відіграє важливу роль в стійкості рослин до біотичних та абіотичних факторів навколишнього середовища необхідно не лише вивчати існуючі адаптації в наявних колекціях злаків, а й поглиблювати розуміння молекулярно-генетичних механізмів, що лежать в основі біогенезу та регуляції продихів. Сучасні підходи дозволяють перейти від фенотипових спостережень до ідентифікації та аналізу конкретних генів, які контролюють ці процеси. У зв'язку з цим, біоінформатичний аналіз генів, що регулюють розвиток продихів, таких як *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*, є ключовим етапом для розкриття їхньої ролі у формуванні продихового апарату у різних видів злаків.

З молекулярно-генетичного рівня важливими генетичними детермінантами продихового апарату рослин є гени – *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*. Ці гени відповідають за формування продихів. На основі нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* у *Hordeum vulgare* знайдені гомологічні ділянки у геномі *Triticum aestivum* та спрогнозовано структуру генів для *T. aestivum* (Bi et al., 2018). Характеристика гомологічних нуклеотидних послідовностей наведена в таблиці 3.3 за відомими сиквенсами IWGSC RefSeq сорту ‘China Spring’ v2.1. Досліджувані гени *EPF1-A*, *EPF1-B*, *EPF1-D*, *EPF2-A*, *EPF2-B*, *EPF2-D*, та *MUTE-A*, *MUTE-B*, *MUTE-D* у *T. aestivum* мають подібну структурну організацію (рис. 3.2.) і знаходяться у хромосомі 2. Так, гени мають 2 екзони, які розділені інтроном. Ген *EPF1* з субгеному А має розмір 936 пар нуклеотидів (пн), а з субгеному В – 831 пн, субгеному D – 857 пн. Ген *EPF2-A* має розмір 819 пн, *EPF2-B* – 1064 пн, а *EPF2-D* – 950 пн. Ген *MUTE* є трохи більшим у порівнянні з двома попередніми генами. Для субгеному А розмір його становить 1056 пн, для субгеному В – 1111 пн, а для субгеному D – 1044 пн.

Таблиця 3.3. Характеристика нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2*, *MUTE* за даними Генетичного банку GenBank® NCBI (IWGSC CS RefSeq v2.1) ([Nucleic Acids Research, 2013 Jan;41\(D1\):D36-42](#))

Ген	Хромосома	Координати гена	Розмір гена, пн	Довжина на мРНК, н	Координати промотору	CDS, координати	Довжина протеїна, аа	Номер доступу в GenBank®
EPF1-A	2A	750612312-750612786	936	851	750612731-750614872	1 екзон: 37...331 2 екзон: 417...694	190	NC_057797
EPF1-B	2B	759580160-759580626	831	743	759580313-759582788	1 екзон: 120...234 2 екзон: 356...591	127	NC_057798
EPF1-D	2D	619453074-619453493	857	773	619453227-619455103	1 екзон: 160...271 2 екзон: 356...594	116	NC_057799
EPF2-A	2A	559434971-559435789	819	699	559432659-559435223	1 екзон: 135...240 2 екзон: 361...677	140	NC_057797
EPF2-B	2B	494252050-494253113	1064	943	518026462-518027390	1 екзон: 310...421 2 екзон: 543...877	148	NC_057798
EPF2-D	2D	415102168-415102671	950	829	415102225-415100599	1 екзон: 235...340 2 екзон: 462...799	147	NC_057799
MUTE-A	2A	75461634-75462689	1056	934	75459816-75461777	1 екзон: 47...592 2 екзон: 715...819	216	NC_057797
MUTE-B	2B	115574279-115575389	1111	936	115572709-115573750	1 екзон: 3...617 2 екзон: 793...894	238	NC_057798

MUTE	2D	74109312-74110355	1044	924	74106782-74107672	1 екзон: 56...601 2 екзон: 722...823	215	NC_057799
-D								

Примітка: CDS – coding sequence, кодуюча частина гена.

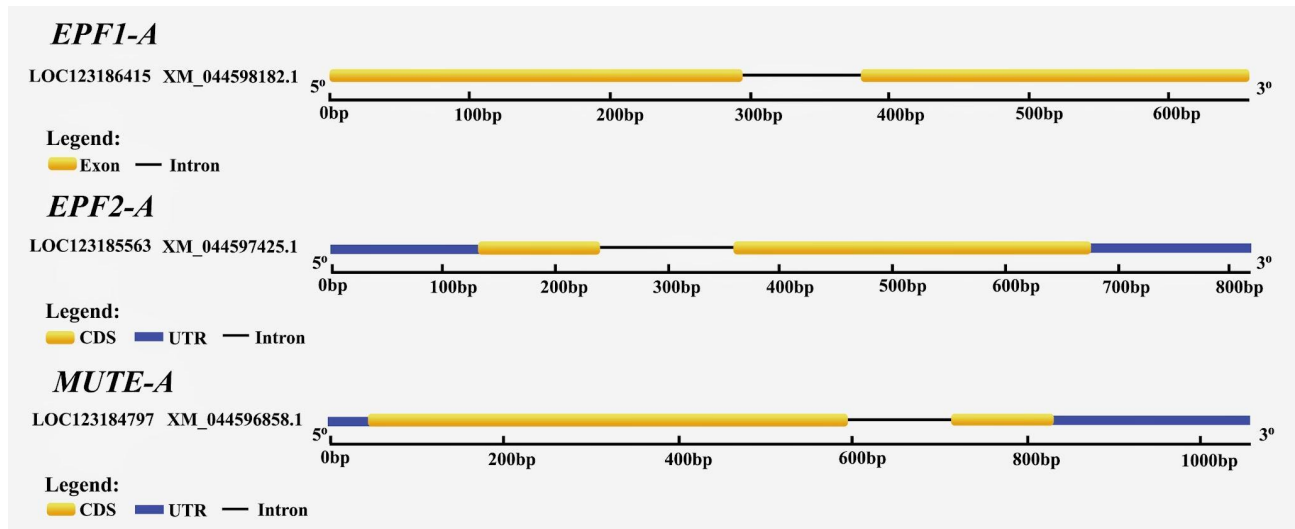


Рис. 3.2. Екзон-інтронна структура генів *EPF1*, *EPF2*, *MUTE* у сорту пшениці м'якої 'China Spring' за даними IWGSC CS RefSeq v2.1.

Отримані послідовності промоторів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* з трьох гомеологічних геномів пшениці сортів 'Наталка' та 'Подольнка' (Bi et al., 2018; Степаненко, 2021; Lakhneko et al., 2022; Stepanenko et al., 2023; 2024) було проаналізовано щодо рахунок впливу змін між сортами на *cis*-регуляторні елементи за допомогою спеціалізованого біоінформатичного ресурсу NewPLACE (Higo et al., 1999). Більшість одонуклеотидних змін (SNP) або інсерцій / делецій потенційно могли призвести до утворення або до того, що нуклеотидні послідовності переставали бути регуляторними. Отримані результати аналізу було згуртовано в таблиці (Додаток А) Позиція, а також наявність інсерції або делеції описано відносно сорту 'Подольнка'.

3.2.1. Аналіз поліморфізму в нуклеотидних послідовностях промоторів гена *EPF1*

Промотори є важливими елементами регуляції експресії генів, тому будь-які зміни в цих нуклеотидних послідовностях можуть мати безпосередній вплив на функціональність генів. Біоінформатичний аналіз проводили для з'ясування консервативних та варіативних ділянок промоторів досліджуваних генів біогенезу продихів.

Для аналізу промоторного регіону *EPF1-A1* було ізольовано 2125 пн від старт кодону відповідного гена з рослин пшениці сортів 'Наталка' та 'Подольнка' (Bi et al., 2018; Stepanenko et al., 2023; 2024). Між нуклеотидними послідовностями промоторів у двох досліджуваних сортів ('Наталка' та 'Подольнка') було виявлено лише 16 однонуклеотидних замін, 10 з яких мали вплив на зміну *cis*-регуляторних мотивів. Зокрема, заміна G на A (позиція -1690) призвела до елімінації елемента S-box, активність за яким залежить від рівня цукру та абсцизової кислоти (Acevedo-Hernández et al., 2005). Заміна G на T (-1624) спричинила утворення CACT-елемента (мезофіл-специфічна експресія) та елімінації послідовності ACGT (елемент ранньої реакції на зневоднення). Заміна A на G (-1223) спричинила утворення декількох сайтів – Dof-мотива (сайт зв'язування білків Dof) та TAAAGSTKST1-елемента (елемента регуляції експресії генів специфічних для змикаючих клітин продихів) (Gowik et al., 2005). Дві однонуклеотидні заміни C на G (позиція -1099) та T на G (-651) призвели до елімінації ряду W-боксів у послідовності сорту 'Наталка', зокрема, WBOXNTCHN48 (елемент відповіді на еліситор), WBOXHVIS01 (елемент цукор-опосередкованої регуляції), WRKY71OS (елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну) та WBOXNTERF3 (відповідає за поранення-залежну експресію).

Ізольована промоторна послідовність гена *EPF1-B1* складала 2591 пн для сорту Наталка і 2464 пн для сорту 'Подольнка' (Bi et al., 2018; Stepanenko et al., 2023; 2024). Загалом було ідентифіковано 14 однонуклеотидних замін у двох

досліджуваних сортів та інсерцію в 127 пн в послідовності сорту 'Наталка'. Лише 4 однонуклеотидні заміни не мали впливу на зміну складу *cis*-елементів отриманих послідовностей. Інсерція розміром 127 пн в позиції -1486...-1487 в послідовності з сорту 'Наталка' призвела до утворення певний ряду елементів: мотиви PRRECONSCRHSP70A (елемент MgProto- та світло-залежної експресії), ядро GC-box (елемент відповіді на дію патогенів та дію жасмонату), ACGT послідовність (рання відповідь на зневоднення), сайти зв'язування MYC (відповідь на абіотичний стрес) та MYB (відповідь на абіотичний стрес), сайт зв'язування ARR1 (регулятор відповіді на дію цитокінів), консенсусна послідовність CAAT-box (активація транскрипції) та деякі інші *cis*-елементи тканинно/орган-специфічної експресії.

Найбільшу варіабельність було виявлено при порівнянні промоторних послідовностей гена *EPF1-D1* у двох дослідних сортів. Досліджувана послідовність сорту 'Наталка' складалась з 2264 пн, а сорту 'Подільська' – 2269 пн. Загалом було виявлено 125 однонуклеотидних замін, 92 з яких мали вплив на утворення або елімінацію *cis*-регуляторних мотивів. Також, при порівнянні послідовності промотора гена *EPF1-D1* сорту 'Наталка' з послідовністю сорту 'Подільська' було виявлено 7 пн делецію TAGTATC у позиції -1838...-1844 (елімінація CACT-елементу мезофіл-специфічної експресії, та GATA-box, що необхідний для світло-регульованої тканинно-специфічної експресії), 1 пн інсерцію T D позиції -1742-1743 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів), 2 пн делецію CC в позиції -1650...1651 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів), 11 пн інсерцію в позиції -1584-1585 (формування ряду W-боксів, що є елементами відповіді на ряд стресових чинників: WBOXPCWRKY1, WBOXNTCHN48, WBOXHVISO1, WRKY71OS та WBOXNTERF3), 1 пн делецію G в позиції -1524 (утворення сайту зв'язування GT-1, що відповідає за світло-регульовану експресію, відповідь на засоленість та дію патогенів), 1 пн делецію A в позиції -1502 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів), 1 пн інсерцію T в позиції -1457-1458 (не виявлено впливу на формування релевантних *cis*-елементів), 1 пн інсерцію T в

позиції -1403-1404 (елімінацію СААТ та ССААТ боксів, що впливають на підвищення рівня транскрипції), 1 пн інсерція А на позиції -1383-1384 (утворення елемента ембріо-специфічної експресії - SEF4MOTIFGM7S), 1 пн делеція А в позиції -1330 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів), 25 пн делеція AAAACAATTTAACAGGTTGCCGAAG в позиції -1259-1283 (призвела до елімінації MYBCORE – регуляція відповіді на водний стрес, САСТ елемента, СААТ боксу), 3 пн делеція САТ в позиції -1246-1248 (утворення сайту зв'язування GT-1, що регулює світло-залежну експресію, відповідь на засоленість ґрунту дію патогенів; PYRIMIDINEBOXHVEPB1 елемента, що необхідний для індукції гіберелінової кислоти), 6 пн інсерцію TCCTAC в позиції -1085-1086 (елімінація T-box елемента світло-залежної регуляції та Dof-елемента), 11 пн делеції CAGTAGGAGTA в позиції -1034-1044 (елімінація EECCRCAN1 елемента, який відповідає за CO₂-залежну активацію транскрипції, ARR1AT, утворення нового та елімінація двох САСТ мотивів мезофіл-специфічної експресії), 14 пн делеція GGCGCCTTCATTTT в позиції -1014...-1027 (не виявлено впливу на формування релевантних *cis*-елементів), 1 пн інсерція Т в позиції -998...-999 (утворення EECCRCAN1 елемента CO₂-залежної транскрипційної активації), 10 пн інсерція CCATGTTATG в позиції -966-967 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів), 3 пн інсерція AAA в позиції -912-913 (утворення сайту зв'язування GT-1, що відповідає за світло-регульовану експресію, відповідь на засоленість ґрунту та дію патогенів), 10 пн інсерцію TTCCACGGGA в позиції -814-815 (утворення ARR1 елемента, зміщення та утворення додаткового мотиву PRRECONSCRHSP70A, що є елементом MgProto- та світло-залежної експресії), 2 пн делеція АТ в позиції -759-760 (не виявлено впливу на формування релевантних *cis*-елементів), 1 пн делеція А в позиції -713 (утворення сайту зв'язування білків Dof), 6 пн інсерція АСТСТС в позиції -605...-606 (утворення CGCG-box, що регулює експресію Ca²⁺-опосередковано), 34 пн інсерція в позиції -544-545 (утворення мотиву S-box, активність за яким залежить від рівня цукру та абсцизової кислоти, CBF-елемента, що реагує на дегідратацію,

GCC-box, елемента відповіді на дію патогенів та жасмонату, CGCG-box, що регулює Ca^{2+} -опосередковану експресію), 3 пн делеція AGG в позиції -515...-517 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів), 12 пн інсерція GCTGGCCGTGCC в позиції -449-450 (елімінація GCC-боксу, елемента відповіді на дію патогенів та жасмонату), 6 пн делеція ATTCTGA в позиції -268-273 (елімінація EECRCAN1 елемента CO_2 -залежної транскрипційної активації), 12 пн інсерції CGCGCGCGCGCG в позиції -196-197 (утворення чотирьох CGCG-боксу, що регулює Ca^{2+} -опосередковану експресію) та 4 пн інсерція GGGG в позиції -10...-11 (не виявлено впливу на формування *cis*-елементів).

Таким чином, описано особливості нуклеотидної послідовності промоторного регіону гена *EPF1-A1*, *EPF1-B1*, *EPF1-D1*. Серед проаналізованих послідовностей гена *EPF1* найбільш варіабельна виявилася промоторна послідовність з субгеному D.

3.2.2. Аналіз поліморфізму в нуклеотидних послідовностях промоторів гена *EPF2*

При дослідженні промоторних послідовностей гена *EPF2-A1* розміром 2565 пн серед сортів ‘Наталка’ та ‘Подольянка’ (Bi et al., 2018; Stepanenko et al., 2023; 2024) не було виявлено відмінностей між послідовностями.

Досліджуючи промоторну послідовність гена *EPF2-B1* довжиною 1930 пн у сорту ‘Наталка’ і 1633 пн у сорту ‘Подольянка’, було виявлено лише одну інсерцію в 297 пн в позиції -963-964 у сорту ‘Наталка’ в порівнянні з сортом ‘Подольянка’. Ця зміна у послідовності спричинила утворення близько 60 додаткових *cis*-регуляторних мотивів, зокрема тих, що мають відношення до регулювання рівня експресії при зміні умов середовища. Спостерігали утворення MYB1AT (елемент відповіді на дегідратацію у сигнальних шляхах абсцизової кислоти), трьох MYBST1 (зв’язування MybSt1), шістьох ARR1AT (елемент регуляції експресії), трьох BIN1OS (елемент пов’язаний зі стійкістю

до хвороб), одного WBOXATNPR1 (елемент, що реагує на саліцилову кислоту), трьох WRKY71OS (елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну), двох сайтів зв'язування MYC (елемент механізму дії абсцизової кислоти).

При аналізі нуклеотидної послідовності гена *EPF2-D1* довжиною 1627 пн не було виявлено відмінностей між промоторними послідовностями у двох досліджуваних сортів 'Наталка' та 'Подольнянка'.

Таким чином виявлено, що серед досліджуваних промоторних послідовностей гена *EPF2* трьох гомологічних геномів А, В, D лише нуклеотидна послідовність субгенома В була варіабельною. Нуклеотидні послідовності промотора гена *EPF2* геномів А, та D є консервативними серед досліджуваних генотипів пшениці м'якої.

3.2.3. Аналіз поліморфізму в нуклеотидних послідовностях промотора гена *MUTE*

Розмір промоторних послідовностей гена *MUTE-A1* складав 3482 пн у сорту 'Наталка' та 3756 пн у сорту 'Подольнянка' (Bi et al., 2018; Stepanenko et al., 2023; 2024; Lakhneko et al., 2018). Порівнюючи дані послідовності було виявлено 32 одонуклеотидні заміни, з яких лише 8 не мали впливу на склад *цис*-активних мотивів. Також виявлено п'ять інсерції/делеції: 1 пн делеція Т в позиції -2735 (не виявлено впливу на формування *цис*-елементів), 276 пн делеція в позиції -1865...-2140 (елімінація у послідовностях сорту 'Наталка' ряду *цис*-елементів), 1 пн інсерція А у положенні -715-716 (утворення регуляторних елементів), 1 пн інсерції Т у положенні -337-338 (не виявлено впливу на формування *цис*-елементів) та 3 пн делеція ААГ у позиції 1...-1 (не виявлено впливу на формування *цис*-елементів). Делеція розміром 276 пн характерна для сорту 'Наталка' призводить до елімінації у нуклеотидних послідовностях ряду *цис*-елементів, зокрема, одного WRKY71OS, двох WBOXNTERF3, одного BINH1OS, двох WRKY71OS та одного MYBPZM.

При аналізі послідовностей *MUTE-B1* величиною 1538 пн не було виявлено відмінностей між промоторними послідовностями двох досліджуваних сортів ‘Наталка’ та ‘Подольнка’.

Порівнюючи промоторні послідовності *MUTE-D1* величиною 1422 пн було виявлено лише одну однонуклеотидну заміну Т на С у положенні -590 сорту ‘Наталка’ у порівнянні з послідовностями сорту ‘Подольнка’. Дана відмінність призвела до утворення нових мотивів BOXIIPCCCHS (елемент світло-залежної експресії) та ACGTABREMOTIFA2OSEM (елемент експресії, залежної від вмісту абсцизової кислоти) та до елімінації мотивів, що регулюють відповідь на абіотичні види стресу – BIHD1OS і WRKY71OS.

Крім того, для виявлення поліморфізму отриманні послідовності промоторів генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1* та *MUTE-D1* українського сорту ‘Наталка’ були вирівняні з референтною послідовністю сорту ‘China Spring’. Порівняння показало, що пари ‘China Spring’ / ‘Наталка’ нуклеотидних послідовностей генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1* мали найвищі значення ідентичності (91,45 та 87, 14 відповідно). Через велику кількість змін пара ‘China Spring’ / ‘Наталка’ нуклеотидної послідовності промотора гена *MUTE-D1* мала низьку ідентичність - 48, 99. В результаті виявлено численні сортоспецифічні SNP та декілька інсерцій/делецій: 35 SNP та одна інсерція (276 пн) в нуклеотидній послідовності гена *MUTE-A1*, 7 SNP та одна делеція (205 пн) - гена *MUTE-B1*, 15 SNP, 2 делеції (4 пн та 1285 пн), одна інсерція (28 пн) - гена *MUTE-D1*. Так, кожна досліджувана нуклеотидна послідовність гена *MUTE* генотипу ‘Наталка’ мала велику делецію.

Незважаючи на це, проксимальні промотори генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1* та *MUTE-D1* сортів ‘China Spring’ та ‘Наталка’, які розташовані приблизно на відстані 300 пн перед стартовим кодоном, мали високу спорідненість. Уся промоторна область гена *MUTE* включала різні *cis*-елементи: ряд W-боксів, сайти розпізнавання MYC та MYB, елементи зв'язування ARR1, елемент LTRE та CBF. У досліджуваних промоторних послідовностей виявлено 4 типи W-боксів: TGAC, TGACY, TTGAC та TGACT. Найпоширенішим з виявлених

W-боксів був елемент TGAC (12 елементів в промоторі гена *MUTE-A1*; 17 - гена *MUTE-B1*; 18 - гена *MUTE-D1*) сорту 'China Spring'. У промоторних послідовностях сорту 'Наталка' спостерігалось зменшення кількості W-боксів (11 елементів в промоторі гена *MUTE-A1*; 12 - гена *MUTE-B1*; 9 - гена *MUTE-D1*). Також інші типи W-боксів були еліміновані у нуклеотидних послідовностях т сорту 'Наталка'. Тільки SNP у положенні -339 нуклеотидної послідовності гена *MUTE-A1* призводив до утворенню нового W-боксу в сорті 'Наталка'.

Також поширеним *cis*-регуляторним елементом є сайт розпізнавання MYC, який пов'язаний з реакцією на абіотичний стрес. Найбільша кількість регуляторного елемента MYC нараховується у нуклеотидній послідовності промотора гена *MUTE-A1*. Загалом у нуклеотидних послідовностях промоторів генів *MUTE-B1* та *MUTE-D1* детектовано 28 та 26 мотивів MYC однаково у сортів 'China Spring' та 'Наталка'.

Порівняння нуклеотидних послідовностей промоторів генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1*, *MUTE-D1* між сортами пшениці 'Подільянка' та 'Наталка', 'China Spring' та 'Наталка' виявило область як високої подібності, так й варіативні ділянки. При цьому більше поліморфних ділянок виявлено між нуклеотидними послідовностями сортів 'Наталка' та 'China Spring'. З однієї сторони, подібні нуклеотидні послідовності промоторів між сортами пшениці м'якої, які мають різне географічне походження ('Наталка' та 'China Spring') ймовірно відображають фундаментальні засади та принципи регуляції транскрипції гена *MUTE*. З іншої сторони, виявлені значні делеції нуклеотидних послідовностей промоторів генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1*, *MUTE-D1* сорту 'Наталка' демонструють можливу гнучкість регуляції транскрипції генів біогенезу продихів.

3.2.4. Висновки до підрозділу 3.2.

У результаті аналізу вирівняних промоторних послідовностей виявлено численні одонуклеотидні заміни й інсерції/делеції. Встановлено, що більшість

змін мають вплив на склад *cis*-регуляторних елементів. Найбільшу кількість відмінностей спостерігали у нуклеотидних послідовностях промотора гена *EPF1-D1* у досліджуваних українських сортів 'Наталка' та 'Подільська'. Проте, між промоторними послідовностями генів *EPF2-A1*, *EPF2-D1* і *MUTE-B1* посухотолерантного сорту 'Подільська' і посухочутливого сорту 'Наталка' не було виявлено відмінностей.

Публікації до підрозділу 3.2.

1. Lakhneko, O., Stepanenko, A., **Rymar, Y.**, Borysyuk, M., Morgun, B., (2024). Sequence comparison of MUTE promoters between two wheat cultivars revealed both conservative and diverged regions. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 13 (6). <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9662> (Web of Science, Scopus, Q4.) (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та оптимізації проведення експериментальних досліджень, брала участь у написанні статті).
2. Lakhneko O., Stepanenko A., **Rymar Y.**, Borysyuk M., Morgun B. (2022) Variability of promoter regions of *MUTE* homeologous genes in bread wheat. *Book of reviewed from the 15th International Scientific Conference FOOD|BIO|TECH*, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, 5-6 October 2022, Nitra, Slovak Republic – p. 52. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та підготувала матеріал до друку).
3. **Римар Ю.**, Лахнеко О., Степаненко А., Борисюк М., Моргун Б. (2022) Аналіз промоторів генів *EPF1*, залучених в процес біогенезу проростків пшениці. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети»*, 30 вересня 2022, Одеса, Україна – с. 183–184. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та підготувала матеріал до друку).

3.3. Розробка систем ДНК-маркерів для детекції поліморфізму промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*

Дослідження поліморфізму промоторних ділянок генетичних послідовностей *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* дало можливість розробити системи праймерів для виявлення поліморфізму в даних послідовностях пшениці. Для виявлення поліморфізмів у промоторній ділянці гена *EPF1* створені маркери – prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE1D2; гена *EPF2* – prE2B1; гена *MUTE* – prMA1 та prMA2. Праймери сконструйовані за допомогою Інтернет-ресурсу Primer-BLAST (NCBI).

3.3.1. Оптимізація умов проведення ПЛР й апробація ДНК-маркерів

ДНК-маркер prE1A1 розроблявся для виявлення двох SNP (в позиції -1223 A→G; в позиції -1221 A→C) в промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному A на основі нуклеотидної послідовності сорту 'Наталка'. Однонуклеотидна заміна A→G (-1223) виявлена у сорті Наталка за даними біоінформатичного ресурсу NewPLACE призводить до утворення сайту зв'язування білків, а також утворюється елемент TAAAG регуляції експерсії генів, який характерний для замикаючих клітин продихів. Заміна A→C в сорті 'Наталка' призводить до елімінації ТАТА-боксу.

Для сорту Наталка довжина очікуваного амплікованого фрагменту становить 380 пн, а в сорті 'Подольнка' не очікується ампліфікації. Базуючись на температурах плавлення праймерів градієнтну ПЛР ставили в таких температурних режимах стадії відпалу праймерів: 50°C, 52°C, 54°C (рис. 3.3). Після аналізу електрофореграм температуру відпалу праймерів обрали 52°C, а час елонгації 20 секунд, концентрація іонів Mg²⁺ (в розчині MgCl₂) була 2 мМ.

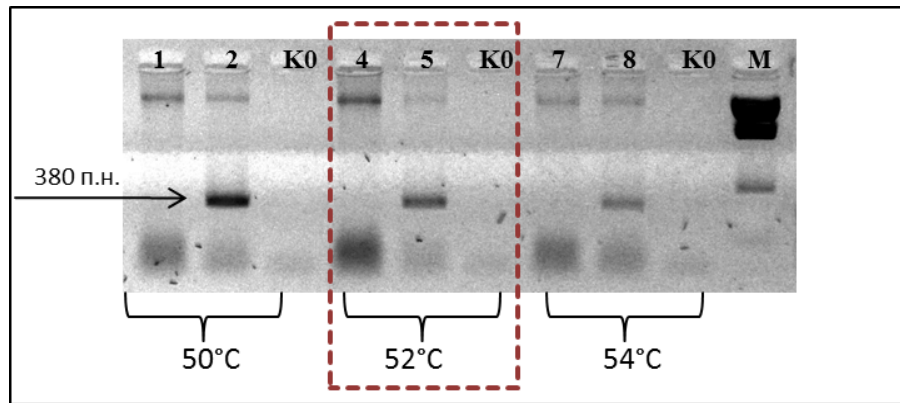


Рисунок 3.3. Електрофореграма оптимізації умов ПЛР для маркеру prE1A1. 1,2 % агарозний гель, LB електродний буфері. Доріжка 1, 4, 7 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту 'Подольнка'; Доріжка 2, 5, 8 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту Наталка; М – маркер молекулярної маси DNA λ /HindIII

ДНК-маркер prE1B1 розроблений для виявлення варіабельності в промоторній частині гена *EPF1* з субгеному В. Завдяки цій системі (prE1B1) можна детектувати інсерцію розміром 127 пн в позиції -1486...-1487 від старту транскрипції. Ця інсерція сприяє утворенню ряду регуляційних елементів експресії, таких як елемент світлозалежної експресії MgProto, елемент ранньої реакції на зневоднення та водний стрес, консенсусна послідовність промотора СААТ та інші.

Для сорту Наталка розмір очікуваного амплікону становить 480 пн, а для сорту 'Подольнка' – 353 пн. Теоретично розраховано оптимальні температури відпалу праймерів: 55°C, 57°C, 59°C. За результатами градієнтної ПЛР обрано температуру 57°C, яка давала найчіткіші результати з мінімальною ампліфікацією неспецифічних фрагментів. В реакційну суміш вносили залишили 2 мМ MgCl₂, а час елонгації обрали 20 секунд (рис. 3.4).

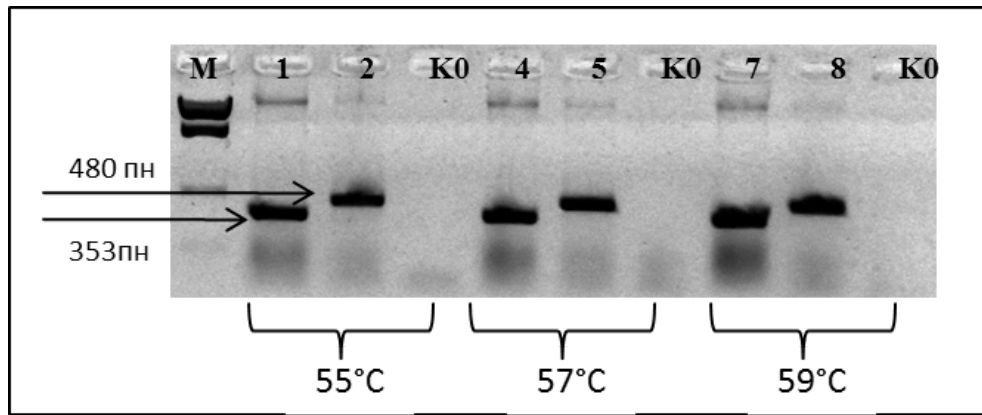


Рисунок 3.4. Електрофореграма оптимізації умов ПЛР для маркеру *prE1B1*. 1,2 % агарозний гель, LB електродний буфері. Доріжка 1, 4, 7 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту 'Подольнка' ; Доріжка 2, 5, 8 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту Наталка; М – маркер молекулярної маси DNA λ /HindIII

Також для виявлення поліморфізму в промоторному регіоні гена *EPF1* субгеному D синтезовано 2 ДНК-маркери. ДНК-маркер *prE1D1* сконструйований для виявлення інсерції в сорті Наталка в позиції -1584...-1585 від старту транскрипції. Ця інсерція розміром 11 пн нуклеотидів сприяє утворенню елементу мезофіл-специфічної експресії, елементу, який реагує на елісатори та WB-боксу, який є елементом зв'язування WRKY протеїнів. Також утворюється регуляторний елемент W-бокс, який відповідає за реакцію на саліцилову кислоту й є елементом патоген-залежної експресії в сигнальному шляху гібереліну. В якості позитивного контролю використовували загальну рослинну ДНК з сорту 'Наталка' розмір синтезованого фрагменту становить 280 пн, а для сорту 'Подольнка' не очікується ампліфікації.

Для загальної ДНК виділеної з рослин сорту 'Наталка' розмір синтезованого фрагменту становить 280 пн., а зразок ДНК з сорту 'Подольнка' виступає негативним контролем, тобто для цього зразка не очікується ампліфікації. Градієнтну ПЛР проводили в трьох температурних режимах з кроком 2°C: 52°C, 54°C, 56°C (рис. 3.5). Для отримання більш специфічного

амплікона температуру стадії відпалу підвищили до 57°C. Концентрація $MgCl_2$ становила (2 мМ), а час елонгації встановили 15 секунд.

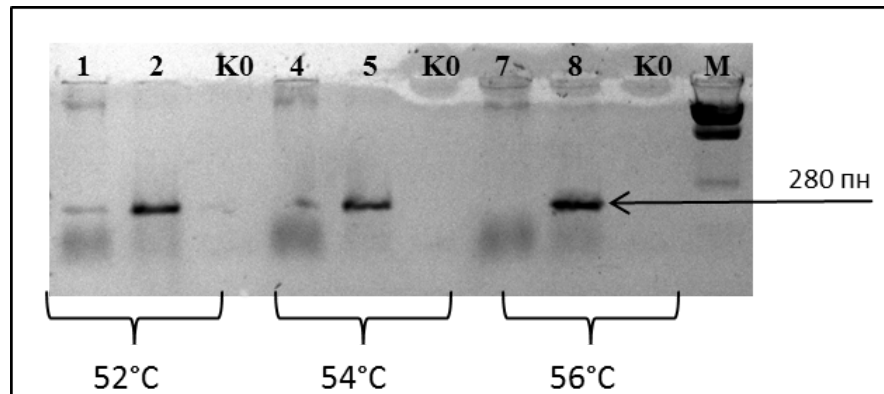


Рисунок 3.5. Електрофореграма оптимізації умов ПЛР для маркеру prE1D1. 1,2 % агарозний гель, LB електродний буфері. Доріжка 1, 4, 7 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту 'Подольанка'; Доріжка 2, 5, 8 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту Наталка; М – маркер молекулярної маси DNA λ /HindIII

Інший ДНК-маркер prE1D2 розроблений для виявлення делеції ATTCTGA в позиції -268...-273 від початку транскрипції, яка виявлена в нуклеотидній послідовності рослин сорту 'Подольанка'. Біоінформатичний аналіз показав, що ця делеція довжиною 6 пн призводить до елімінації елементу CO_2 -залежної транскрипційної активності.

Для сорту 'Подольанка' розмір очікуваного фрагмента становить 334 пн для сорту Наталка не характерна ампліфікація даної послідовності. Для цього ДНК-маркеру (prE1D2) обрали наступні температури стадії відпалу: 53°C, 55°C, 57°C, але при цих температурах спостерігалася ампліфікація в негативному контролі (сорт Наталка). Ампліфікований регіон багатий на GC-пари, тому в цьому випадку додавали до реакційної суміші буфер S (SolisBioDyne, Естонія) як радить виробник в різних кількостях, проте це не дало очікуваних результатів при температурі гібридизації 55°C. Через наявність неспецифічних ампліконів емпіричним шляхом визначали концентрацію іонів Mg^{2+} . Для цього проводили

декілька реакцій з використаними концентраціями $MgCl_2$: 2 мМ, 1,75 мМ, 1,5 мМ (рис. 3.6А). Також для гібридизації праймерів застосовували температури 53°C та 55°C для температури гібридизації праймерів. При 55°C отримували чіткіші амплікони. Щоб зменшити синтез неспецифічних фрагментів використовували низхідну ПЛР (touchdown). Для перших циклів обрали вищу температуру 61°C для гібридизації праймерів та з кожним кроком знижували температуру до 55°C (рис. 3.6Б).

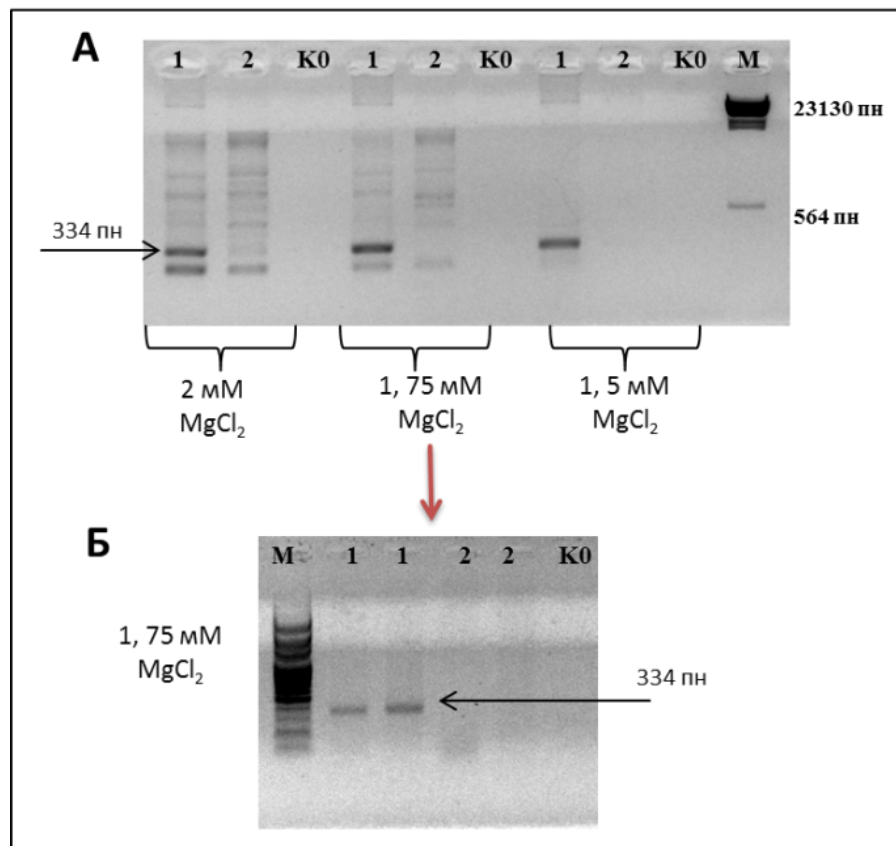


Рисунок 3.6. Електрофореграма оптимізації умов ПЛР для маркеру prE1D2. 1,2 % агарозний гель, LB електродний буфері. Доріжка 1 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту 'Подольнка' ; Доріжка 2 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту Наталка; М – маркер молекулярної маси DNA λ /HindIII (А) / маркер молекулярної маси DNA Ladder Mix (Б)

Щоб виявляти поліморфізм в промоторному регіоні гена *EPF2* з субгеному В створений один ДНК-маркер - prE2B1. Цей маркер дозволяє визначати інсерцію довжиною 297 пн в положенні -963...-964, яка характерна

для нуклеотидної послідовності сорту Наталка. У цьому випадку розмір очікуваного ампліфікованого фрагменту становить 267 пн, а для сорту 'Подольнка' не очікується ампліфікації. Температури плавлення форвардного та реверсного праймерів становлять 58°C та 60°C, тому для градієнтної ПЛР обрали такі температури відпалу праймерів: 53°C, 55°C, 57°C (рис. 3.7). Після уточнення цієї системи праймерів (prE2B1) обрали температуру 57°C, час елонгації встановили 20 секунд, а концентрацію $MgCl_2$ – 2 мМ.

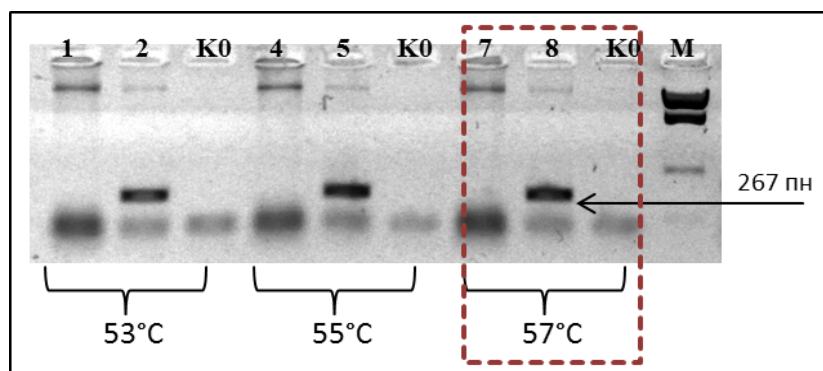


Рисунок 3.7. Електрофореграма оптимізації умов ПЛР для маркеру prE2B1. 1,2 % агарозному гелі, LB електродний буфері. Доріжка 1, 4, 7 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту 'Подольнка'; Доріжка 2, 5, 8 – загальна ДНК рослин пшениці м'якої з сорту Наталка; М – Маркер молекулярної маси DNA λ /HindIII

Для іншого гена біогенезу продихів – *MUTE*, створено два ДНК-маркери prMA1 та prMA2. Обидва маркери виявляють делецію розміром 276 пн з генетичними координатами -1865...-2140 від старту транскрипції, яка характерна для сорту 'Подольнка'.

Для prMA1 прогнозований розмір ампліфікованого фрагменту становить 716 пн, а для сорту Наталка не є характерним синтез даного фрагменту. Другий маркер prMA2 повинен ампліфікувати фрагмент розміром 693 пн для зразка ДНК із сорту 'Подольнка', а із сорту Наталка - 417 пн.

Таким чином успішну апробацію та оптимізацію пройшли 5 пар ДНК-маркерів, які можуть в подальшому використовуватися для виявлення

цінних алелів генів. Наявність можливих ДНК-маркерів, які спрямовані на гени біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2*, *MUTE*, перевіряли в базі даних Інтернет-порталу Ensembl Plants. Для гена *EPF1* не знайдені наразі ДНК-маркери, які можна використовувати для генотипування. Для генів *EPF2*, *MUTE* в базі даних опубліковані ДНК маркери для виявлення лише EMS індукованих варіантів (Grewal et al., 2019; Ramirez-Gonzalez et al., 2015; Gardiner et al., 2019). Розроблені ДНК-маркери доповнюють наявні колекції молекулярних маркерів для визначення поліморфізму генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* в комерційних сортах і селекційних лініях пшениці.

3.3.2. Висновки до підрозділу 3.3.

Розроблені й апробовані 5 ДНК-маркерів (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE1D2, prE2B1) для виявлення поліморфізму в промоторних ділянках генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2*. Ці ДНК-маркери можуть використовуватися для молекулярно-генетичного виявлення алелів генів.

Публікації до підрозділу 3.3.

1. **Римар Ю.**, Лахнеко О.Р. ДНК-маркери для детекції поліморфізму генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* пшениці. *Біомедична інженерія і технологія*. 2025. Т. 3, № 18, С. 1–17. <https://doi.org/10.20535/2025.18.333019> (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, проводила частину експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, здійснила статистичну обробку даних та аналіз отриманих результатів, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку).
2. Lakhneko O., Stepanenko A., **Rymar Yu.**, Yaroshko O., Velykozhon L., Morgun B. (2025). PCR analysis of stomata biogenesis genes in common wheat varieties. *«Біотехнологія XXI століття»: Матеріали XIX Міжнародної науково-практичної конференції*. (16 травня 2025 р., м. Київ)

- Київ: КПІ ім. Сікорського, 2025. – с. 139–140. (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та оптимізації проведення експериментальних досліджень, брала участь у написанні статті).
3. **Rymar Y., Lakhneko O., Stepanenko A., Morgun B.** (2024) DNA markers to detect polymorphisms in stomatal biogenesis genes *EPF1* and *EPF2*. У: *10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology*, 25–26 червня 2024 р., Kyiv, Ukraine. с. 37. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку).
 4. **Римар Ю., Лахнеко О., Степаненко А., Моргун Б.** (2023) Оцінка поліморфізму в промоторній ділянці гена біогенеза продихів *EPF1*. *Збірник тез доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»*, м. Львів, 26–28 квітня 2023 р., Львівський національний університет імені Івана Франка, С. 97–98. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку).

3.4. Молекулярно-генетичний скринінг колекцій пшениці та споріднених видів на наявність поліморфізму

Використані ДНК-маркери детектують поліморфізм, що пов'язаний з регуляторними елементами, в тому числі що мають відношення до регулювання рівня експресії при зміні умов середовища. Описані SNP, інсерції та делеції потенційно можуть призвести до утворення або елімінації *cis*-регуляторних елементів.

Детектований поліморфізм занотовано для кожного зразку та зібрано у вигляді таблиці (Додаток Б). Проведено обрахунки та розраховано частоту зустрічання SNP, інсерції та делеції для кожної вибірки. Отримані частоти представлені на рисунках 3.8–3.10.

3.4.1. Дослідження поширення поліморфних алелів серед колекції українських сортів пшениці м'якої

Для молекулярно-генетичного аналізу було взято 70 сортів пшениці м'якої, оригіном яких є українські установи. Серед українських сортів пшениці м'якої найчастіше зустрічаються дві SNP (A→G; A→C) в промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному A (рис. 3.8). Так, майже більшість зразків (89%) мають дані заміни. Детектована інсерція в промоторній частині гена *EPF2* з субгеному B є другим за частотою поширеності поліморфізму серед сортів пшениці м'якої української селекції. Частота інсерції становить 0,37. Схожа частота зустрічання серед українських зразків характерна для 280-пн інсерції в промоторі гена *EPF1* з субгеному D. Частота цього поліморфізму в зібраній нами колекції українських сортів становить 0,36. Досліджувана інсерція в промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному B має найнижчу частоту поширеності серед українських сортів пшениці м'якої й становить 0,13. Ця інсерція характерна для сортів 'Наталка' та 'Білява', а також зустрічаються 6

гетерозиготних генотипів: ‘Миронівська 65’, ‘Журавка Одеська’, ‘Наснага’, ‘Соната Одеська’, ‘Ужинок’ та ‘Панна’.

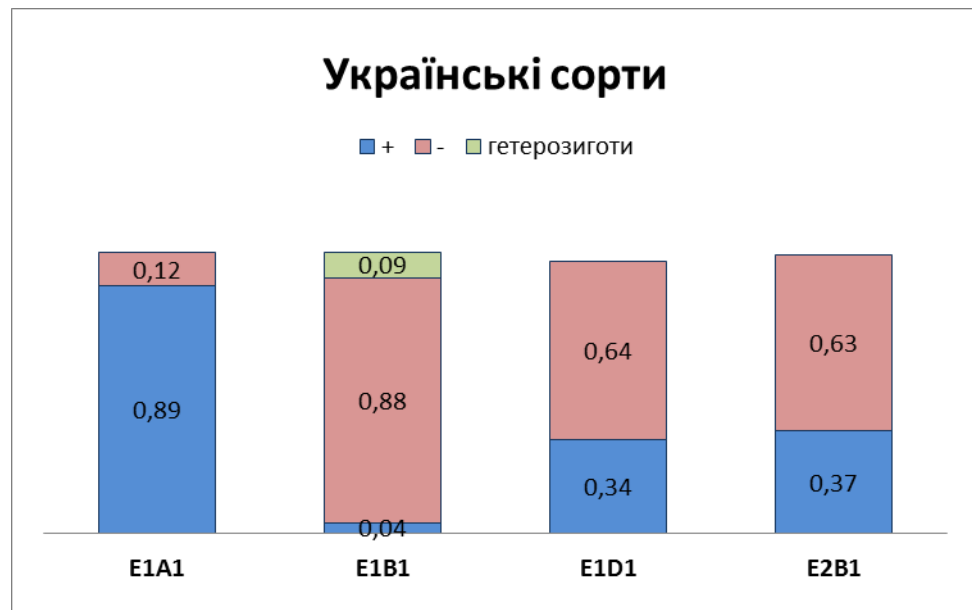


Рисунок 3.8. Розподіл частоти поширення поліморфізму в промоторах генів *EPF1-A*, *EPF1-B*, *EPF1-D* та *EPF2-B* серед зразків пшениці м'якої української селекції, який детектується ДНК маркерами (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1). Примітка: «+» – наявний детектований поліморфізм; «-» – відсутній детектований поліморфізм.

3.4.2. Дослідження поширення поліморфних алелів серед міжнародної колекції пшениці CIMMYT

В цілому колекція CIMMYT налічує 171 тисячу сортів та ліній пшениці з інформацією про географічне походження, відомі алелі, стійкість до збудників хвороб, чутливість до різних абіотичних факторів тощо (за даними Genetic Resources Information System for Wheat and Triticale). Наша вибірка включає 74 зразки пшениці м'якої з різних континентів, які відрізняються за типом розвитку, морфологічними ознаками та походженням. Результати поширеності частот досліджених поліморфізму наведено у таблиці (Додаток Б) візуалізовано у вигляді діаграм (рис. 3.9).

У результаті проведеного скринінгу міжнародної колекції зразків пшениці CIMMYT виявлено, що дві SNP (A→G -1223 пн від старту транскрипції; в позиції -1221 A→C) у промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному A є досить поширеним поліморфізмом (частота зустрічання 0,81). Серед зразків, які не мають цих замін, є сорти та селекційні лінії північно- й південноамериканського походження, декілька зразків з Європи, у тому числі український сорт 'Zirka', а також два зразки із Західної та Центральної Азії.

Частота поширеності інсерції в промоторі гена *EPF1* з субгеному B, визначено за допомогою розробленого ДНК-маркеру маркеру prE1B1, серед зразків колекції CIMMYT є досить низькою – 0,03. Серед проаналізованих 74 зразків лише 3 мали цю інсерцію, а саме одна селекційна лінія з Афганістану, сорт французького походження 'Recital' й український сорт 'Zirka'.

За допомогою ДНК-маркеру prE1D1 визначено поширення 11-пн інсерції в субгеномі D промотора гена *EPF1*. Частота зустрічання для пшениць колекції CIMMYT становить 0,14. Серед 10 зразків, для яких характерна ця інсерція, три зразки мають європейське походження (селекційна лінія «Godolloi 15», сорт з Чехії 'Bruneta' та старовинний сорт з Швейцарії 'Blanc-precocse'), два сорти з Азії (напівкаркликовий сорт 'Safed Lerma' та 'Tselinnaya-Yubileinaya'), а також один сорт з Чилі ('Millalea-Inia'), один сорт з Мексики ('Tobarito-M-97') та декілька сортів / селекційних ліній невідомого походження. Для дослідження частоти поширеності інсерції в промоторі гена *EPF2* з субгеному B використовували розроблений маркер prE2B. Виявлено, що ця інсерція зовсім не зустрічається в міжнародній колекції CIMMYT, але є типовою для українських сортів.

Найбільша відмінність досліджуваних зразків пшениці з міжнародної колекції CIMMYT полягала у відсутності інсерції в промоторі гена *EPF2* з субгеному B. Попри те що цей поліморфізм є досить поширеним серед сортів пшениці м'якої української селекції.

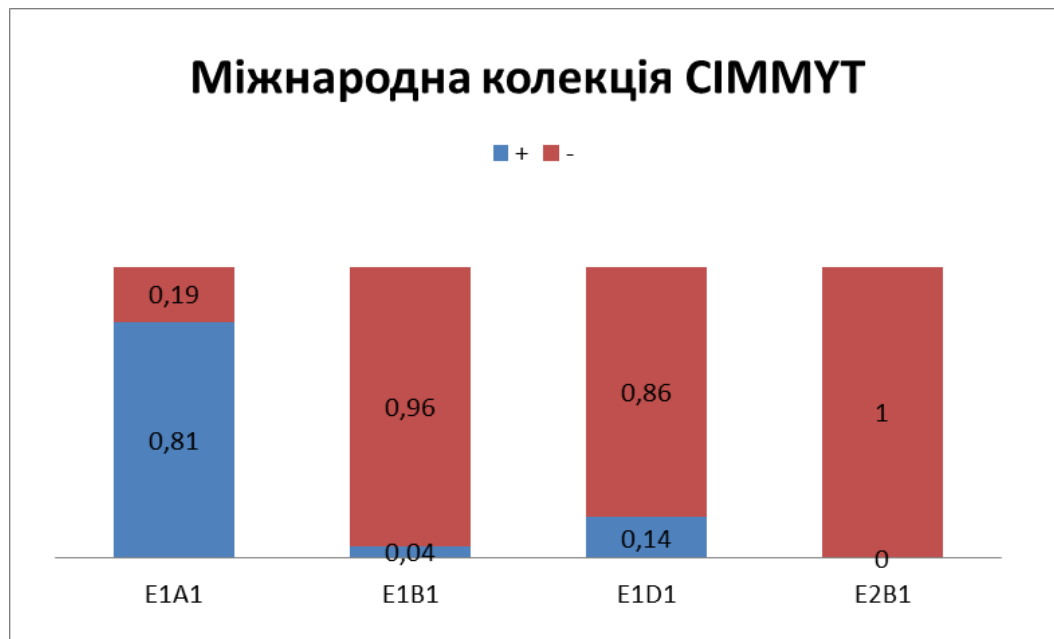


Рисунок 3.9. Розподіл частоти поширення поліморфізму в промоторах генів *EPF1-A*, *EPF1-B*, *EPF1-D* та *EPF2-B* серед зразків міжнародної колекції пшениці CIMMYT, який детектується розробленими ДНК маркерами (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1). Примітка: «+» – наявний детектований поліморфізм; «-» – відсутній детектований поліморфізм.

3.4.3. Дослідження поширення поліморфних алелів серед співродичів пшениці, споріднених видів та їх гібридів

Молекулярно-генетичний аналіз проводився на 73 зразках співродичів пшениці та їх міжвидових гібридів (рис. 3.10). В цій зібраній колекції найчастіше зустрічається дві SNP (A→G -1223 пн від старту транскрипції; в позиції -1221 A→C) у промотрній ділянці гена *EPF1* з субгеному А. Частота поширення цих SNP становить 0,56, що трохи нижче ніж для сортів та селекційних ліній пшениці м'якої. Дві SNP у промотрній ділянці гена *EPF1* з субгеному А виявлені у зразках рослин *T. sphaerococcum*, *T. durum*, *T. spelta*, *T. dicoccum*, *T. vavilovii*, *T. sinskajae*, *T. ispahanicum* та в деяких міжвидових гібридах (*Triticosecale*, *T. x hexapolonicum*, АД (Міоза), ПАГ-31, АД, АД1, ПЕАГ, АД7, АД8, Тритордеум). Частота поширеності інсерції в промоторі гена *EPF1* з субгеному В у зібраній колекції пшеничних злаків та гібридів становить

0,25, що є вище ніж для колекцій пшениці м'якої українського та міжнародного походження. Ця інсерція детектована у зразках рослин *T. sphaerococcum* var. *spicatum*, 'Шарада', *T. spelta* var. *griseoturanorecens* (Таджикистан), *T. spelta* var. *album* (Австралія та Канада), *T. spelta* var. *arduini* (Іспанія), *T. spelta* var. *caeruleum* (Азербайджан), *T. spelta* var. *duhamelianum* (Польща), *T. dicoccum* var. *aeruginosum* (Азербайджан), *T. dicoccum* var. *nigroajar* (Ефіопія), var. *nudirufum*, 'Голіковська' (Україна), *T. dicoccum* var. *aeruginosum*, *T. dicoccum* var. *serbicum*, 'Червоноколоса' (Болгарія), *T. dicoccum* var. *haussknechtianum* (Індія), а також у гібридів АД1 (*T. dicoccum* / *Ae. speltoides*), АД7 (*T. ispahanicum* / *Ae. cylindrical*) та Haunaticum (*T. dicoccum* / *Dasypyrum villosum*).

Інсерції в промоторі гена *EPF1* з субгеному D серед цієї колекції злаків є не поширеним поліморфізмом і маю частоту 0,06. Очевидно, цей поліморфізм є більш характерний для культурних сортів, які піддавалися селекційному тиску. Так, серед злаків, які мали субгеном D ця 280-пн інсерція притаманна, окрім зразка *T. aestivum*, var. *erythrospermum*, 'Спадщина Одеська', зразку *T. Spelta*, var. *caeruleum*, 'CDC Zorba', який має північноамериканське походження.

Частота поширеності інсерції в промоторі гена *EPF2* з субгеному B – 0,03. Цей поліморфізм найрідше детектувався серед співродичей пшениці та гібридів, які мають субгеном B, а для українських сортів пшениці м'якої є досить поширеним. Ця інсерція була виявлена у двох зразках рослин колекції: *T. aestivum*, var. *erythrospermum*, 'Спадщина Одеська' та гібрид АД (*Ae. ventricosa* / *T. dicoccum*).

Колекція співродичей пшениці, інших злаків та гібридів відрізнялася за наявності та частотою поширеності вивчених поліморфних алелів генів біогенезу протидієв *EPF1* та *EPF2* (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1) від культурних форм, сортів та селекційних ліній пшениці м'якої українського та іноземного походження.

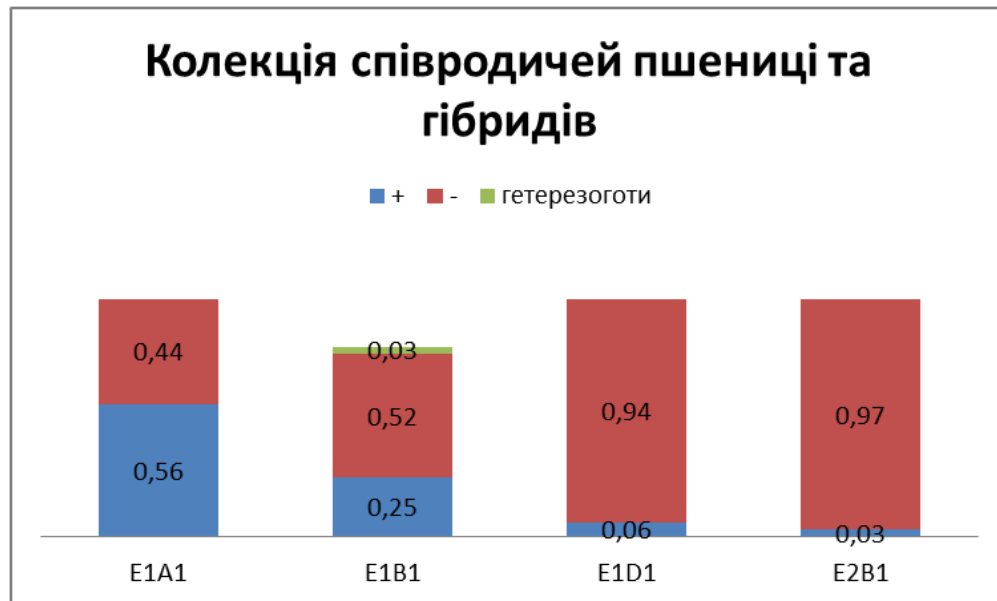


Рисунок 3.10. Розподіл частоти поширення поліморфізму серед зібраної колекції співродичів пшениці та міжвидових гібридів, який детектується ДНК маркерами (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1). Примітка: «+» – наявний детектований поліморфізм; «-» – відсутній детектований поліморфізм.

3.4.4. Висновки до підрозділу 3.4.

Серед трьох проаналізованих колекцій пшениці (українські сорти пшениці м'якої, зразки міжнародної колекції CIMMYT, співродичі пшениці та їхміжвидові гібриди) найчастіше зустрічаються дві SNP (A→G; A→C) в промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному А. Частота цієї заміни є найвищою для українських сортів, і складає 0,89, а для колекції CIMMYT – 0,81. В колекції диких співродичів пшениці та міжвидових гібридів цей поліморфізм зустрічається з частотою 0,55. Інсерція у промоторному регіоні гена *EPF2* з субгеному В найрідше детектувалася у вибірці зразків диких співродичей пшениці та її зовсім не виявлено у зразках з CIMMYT. Встановлено, що за частотою поширення цих алелів зразки співродичів пшениці найбільше відрізняються від вибірок пшениці м'якої української й іноземної селекції.

Публікації до підрозділу 3.4.

1. **Римар Ю.**, Лахнеко О.Р. ДНК-маркери для детекції поліморфізму генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* пшениці. *Біомедична інженерія і технологія*. 2025. Т. 3, № 18, С. 1–17. <https://doi.org/10.20535/2025.18.333019> (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, проводила частину експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, здійснила статистичну обробку даних та аналіз отриманих результатів, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку).
2. Lakhneko O., Stepanenko A., **Rymar Yu.**, Yaroshko O., Velykozhon L., Morgun B. (2025). PCR analysis of stomata biogenesis genes in common wheat varieties. *«Біотехнологія XXI століття»: Матеріали XIX Міжнародної науково-практичної конференції*. (16 травня 2025 р., м. Київ) – Київ: КПП ім. Сікорського, 2025. – с. 139–140. (Здобувачка проводила частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, підготувала матеріал до друку).
3. **Rymar Y.**, Lakhneko O., Stepanenko A., Morgun B. (2024) DNA markers to detect polymorphisms in stomatal biogenesis genes *EPF1* and *EPF2*. *У: 10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology*, 25–26 червня 2024 р., Kyiv, Ukraine. с. 37. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку).
4. **Римар Ю.**, Лахнеко О., Степаненко А., Моргун Б. (2023) Оцінка поліморфізму в промоторній ділянці гена біогенеза продихів *EPF1*. *Збірник тез доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»*, м. Львів, 26–28 квітня 2023 р., Львівський національний університет імені Івана Франка, С. 97–98. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних

досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку).

3.5. Особливості морфології продихового апарату

Вивчення морфології продихового апарату у поєднанні з дослідженням поліморфізму генів біогенезу продихів (*EPF1*, *EPF2* та *MUTE*) є важливим етапом для розуміння адаптації рослин до умов навколишнього середовища, а особливо толерантності до посухи. Гени біогенезу продихів відповідають за формування структур продихового апарату, а його морфологічні параметри є безпосереднім проявом взаємодії функції генів та впливу навколишнього середовища. Через це, інший напрямок дослідження полягав в аналізі продихового апарату пшениці та знаходженні відмінних генотипів серед рослин пшениці м'якої українського й іноземного походження.

3.5.1. Порівняння особливостей морфології продихового апарату українських сортів і селекційних ліній північноамериканського походження

Пошук фенотипово відмінних є підґрунтям для визначення ролі генетичних детермінантів у формуванні продихів, тому досліджено параметри продихів, проведено їх обрахунки зразків рослин пшениці м'якої різного еколого-географічного походження. Для роботи відібрано різні за фізіологічними ознаками та походженням зразки пшениці м'якої озимої. Так, використовували 3 українські сорти: 'Подільська', 'Зимоярка', 'Богдана' та 3 селекційні лінії, що походять з Північної Америки, які відрізняються за морфологічними властивостями рослин.

Для оцінки розмірів продихів вимірювали довжину та ширину продихової щілини при 20х збільшенні об'єктива мікроскопа та визначали її площу перемножуючи отримані дані. Кількість продихів на одиницю площі підраховували при 10х збільшенні об'єктива мікроскопа. Сумарну площу продихових щілин на одиниці площі листка визначали за допомогою множення середньої площі продихових щілин на середню кількість продихів на одиниці

площі листка. На рисунку 3.11 зображено приклад отриманих мікрофотографій продихів пшениці за різного збільшення.

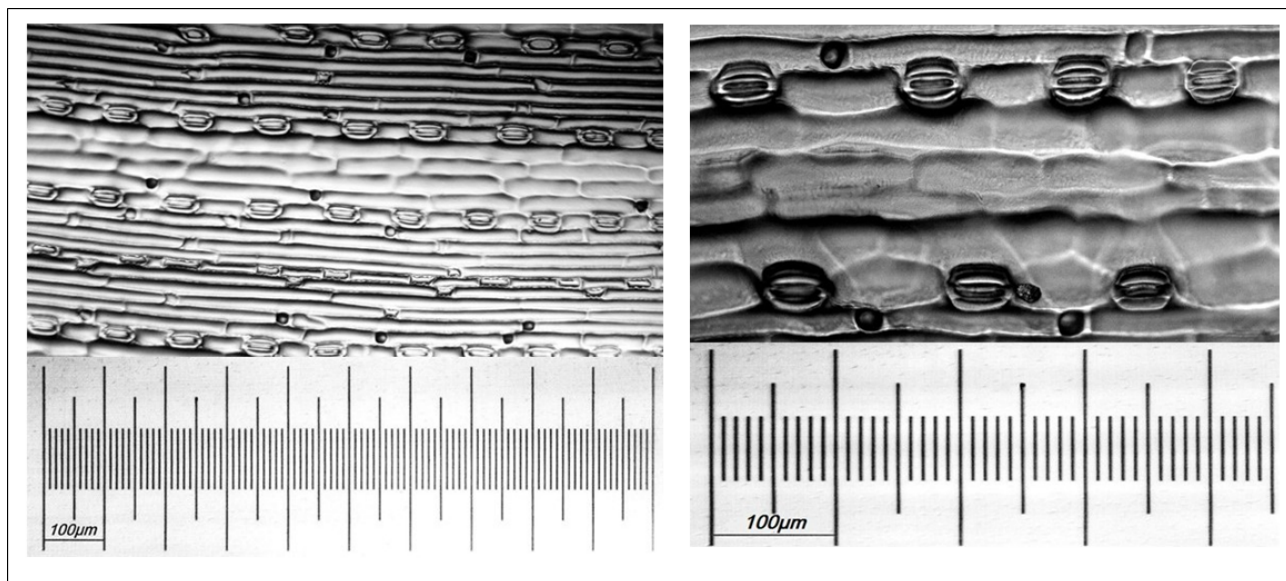


Рис. 3.11. Мікрофотографія відбитків продихів пшениці м'якої (праворуч збільшення об'єктива мікроскопу 10х, ліворуч – 20х).

Виявлено, що довжина продихової щілини коливається від $30,2 \pm 2,2$ мкм (селекційної лінії «Короткоостистої») до $36,9 \pm 5$ мкм рослин сорту 'Зимоярка' на адаксіальній поверхні та від $27,8 \pm 2,6$ мкм (селекційної лінії «Карликова») до $35,3 \pm 3,6$ мкм рослин сорту 'Зимоярка' на абаксіальній стороні. Розмір продихової щілини при цьому був від $2,8 \pm 0,5$ мкм у рослин сорту 'Подольанка' до $3,8 \pm 0,5$ мкм (у селекційній лінії «Карликова») та $3,0 \pm 0,5$ мкм у зразках рослин сорту 'Подольанка' й $4,0 \pm 0,7$ мкм у пшениці селекційної форми «Короткоостиста» на відповідних сторонах листків.

Довжина замикаючої клітини на адаксіальній поверхні була максимальною у пшениці сорту 'Богдана' і мінімальною у селекційній лінії «Короткоостиста» пшениці. На абаксіальній стороні найбільший показник було визначено у рослин сорту 'Зимоярка', а найменші були у сорту 'Богдана' та селекційних ліній «Карликова» та «Короткоостиста». Розміри продихової щілини та

замикаючої клітини для продихів досліджуваних сортів наведені в таблиці 3.4, де зазначено середнє та стандартне відхилення для поражених показників.

Надалі отримані показники порівнювали за допомогою статистичного тесту ANOVA. Для всіх показників були побудовані діаграми розсіювання. Для досліджуваних зразків пшениці м'якої достовірної різниці за розмірами продихової щілини та замикаючої клітини не виявлено.

Таблиця 3.4. Характеристика морфології продихового апарату у досліджуваних сортів/селекційних ліній озимої пшениці.

Сорт/Лінія	Довжина продихової щілини, мкм	Ширина продихової щілини, мкм	Площа продихової щілини, мкм ²	Довжина замикаючої клітини, мкм	Ширина замикаючої клітини, мкм	Площа замикаючої клітини, мкм ²
Адаксіальна поверхня						
‘Богдана’	35,9±4,2	2,9±0,5	108,6±21,2	53,1±4,0	4,3±0,4	226,8±28,8
‘Подільська’	32,6±3	2,8±0,5	92,5±16,7	49,0±3,0	3,9±0,7	189,7±37,3
‘Зимоярка’	36,9±5	3,0±0,4	113,3±20,9	52,5±5,5	4,2±0,7	219,9±42,6
Карликова*	35,3±3,6	3,8±0,5	134,2±22,2	50,2±3,4	4,7±0,7	234,6±40,7
Остиста, короткостебл ова*	31,4±2,9	3,2±0,5	103,7±17,0	47,8±3,1	4,9±0,7	232,6±33,6
Короткоости ста*	30,2±2,2	2,9±0,5	84,3±17,2	45,6±2,4	4,7±0,9	213,0±42,3
Абаксіальна поверхня						
‘Богдана’	27,8±3	3,1±0,4	87,6±13,7	45,4±7,8	4,5±0,8	203,3±46,0
‘Подільська’	30,7±2,8	3,0±0,5	93,7±18,6	49,6±3,4	4,4±0,8	218,5±44,0
‘Зимоярка’	35,3±3,6	3,1±0,4	111,4±17,6	52,3±4,0	4,4±0,8	228,5±51,5
Карликова*	27,8±2,6	3,5±0,6	96,7±16,2	45,5±3,3	5,0±0,8	228,7±36,7
Остиста, короткостебл ова*	29,6±3,3	3,1±0,5	90,8±13,4	46,7±3,0	4,1±0,5	194,0±32,3
Короткоости ста*	30,2±2,2	4,0±0,7	121,7±21,4	45,6±2,4	4,7±0,9	213,0±42,3

Примітки: * – селекційні форми з Колекції цінних зразків озимої пшениці ІФРГ НАН України.

Кількість продихів на квадратний міліметр площі листка на адаксіальній поверхні перевищує цей показник на абаксіальній поверхні у всіх

досліджуваних генотипів. За кількістю продихів на квадратний міліметр площі листка пшениці на абаксіальній поверхні достовірної різниці виявлено не було, а для адаксіальної поверхні статистично значущим є зростання цього показника у пшениці селекційної лінії «Короткоостиста». Також, у порівнянні до інших селекційних форм, значуще знижується кількість продихів на адаксіальній стороні в пшениці «Остиста, короткостеблова». Описані вище дані за кількістю продихів на квадратний міліметр площі листка зображено на рисунку 3.12.

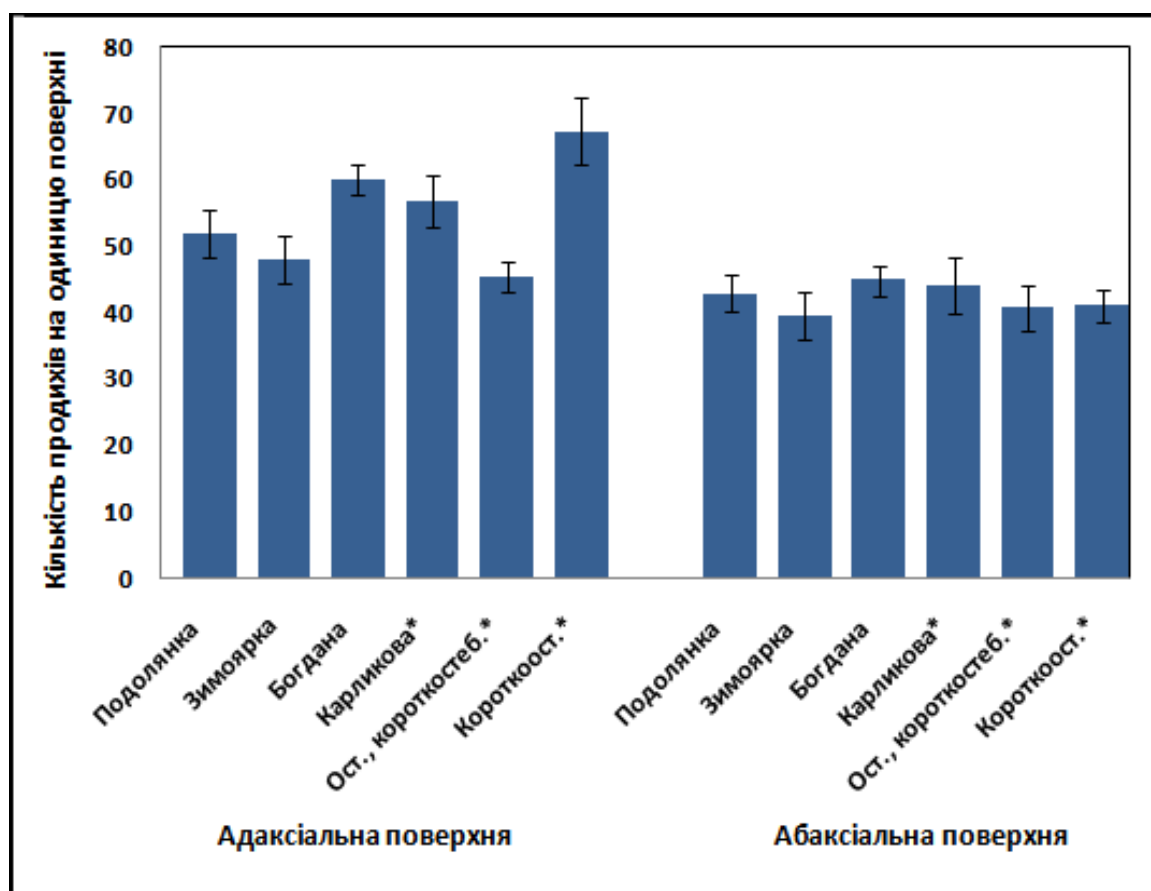


Рис. 3.12. Діаграма кількості продихів на квадратний міліметр листової пластини у сортів та селекційних ліній пшениці м'якої.

Для інтегральної оцінки морфологічних ознак продихового апарату порівнюваних сортів та селекційних форм пшениць було запропоновано використати показник сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка. Отримані дані представлено на рисунку 3.13.

Достовірної різниці у сумарній площі продихових щілин на одиницю площі листка на абаксіальній поверхні виявлено не було (рис. 3.13). Варто зазначити, що для селекційної форми «Остиста, короткостеблова» виявлена тенденція до зниження цього показника.

На адаксіальній поверхні характерним є значна міра розсіювання значень сумарній площі продихових щілин, при цьому статистично значущим є зростання сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка у рослин селекційної форми «Карликова». При цьому знову відмічаємо тенденцію до зниження сумарної площі у зразках селекційної форми «Остиста, короткостеблова».

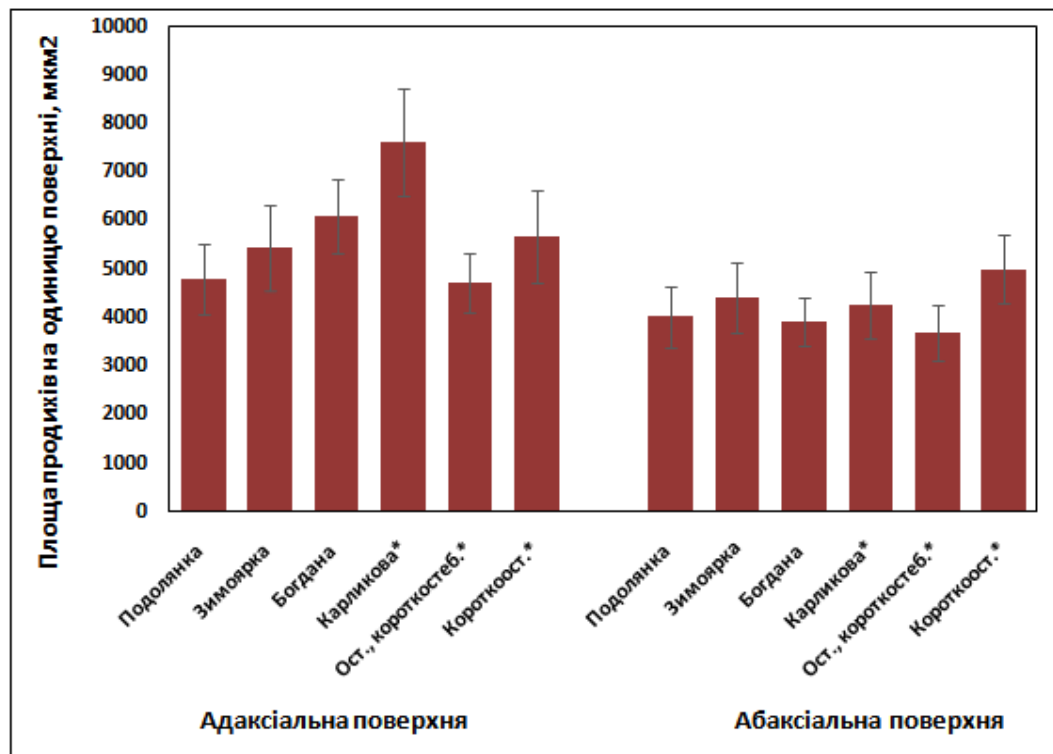


Рис. 3.13. Діаграма величин сумарної площі продихових щілин на квадратний міліметр листка для сортів та селекційних ліній пшениці м'якої.

Особливості морфології продихового апарату в різних сортах і селекційних лініях пшениці м'якої розширило характеристики сортів за цією ознакою. Отже, для досліджуваних сортів пшениці м'якої, що широко поширені в Україні ('Подільська', 'Зимоярка', 'Богдана') та трьох селекційних ліній, що походять з

Північної Америки («Короткоостистої», «Остиста, короткостеблова», «Остиста, короткостеблова»), які відрізняються за морфобіологічними особливостями, достовірної різниці за розмірами продихової щілини та замикаючих клітин виявлено не було. Також не виявлено достовірної різниці у кількості продихів на квадратний міліметр площі листка пшениці на абаксіальній поверхні. Разом з тим, для адаксіальної поверхні статистично значущим є зростання цього показника для селекційної лінії «Короткоостиста». Попри це кількість продихів на квадратний міліметр площі листка на адаксіальній поверхні перевищує цей показник для абаксіальної поверхні для всіх досліджуваних сортів та ліній. Достовірної різниці сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка, на абаксіальній поверхні виявлено не було, але на адаксіальній поверхні статистично значущим є зростання цього показника у зразках пшениці селекційної лінії «Карликова».

3.5.2. Особливості внутрішньовидової відмінності морфології продихового апарату різних сортів пшениці м'якої української й іноземної селекції

Для того, щоб знайти ширші відмінності морфології продихового апарату серед культурних форм пшениці м'якої досліджено 17 зразків пшениці м'якої, які вирізняються еколого-географічним походженням. У роботі обраховано кількість продихів на мм^2 поверхні листової пластини, ширину та довжину продихової щілини, ширину та довжину замикаючої клітини, площу однієї продихової щілини та загальну площу продихових щілин на одиницю площі поверхні листової пластини. Методом багатofакторного дисперсійного аналізу Multiway ANOVA виявлено, що генотип сорту достовірно впливає на морфологію продихового апарату при $p < 0,001$.

За всіма досліджуваними ознаками продихового апарату спостерігається достовірна відмінність між сортами при $p < 0,05$. Результати прорахованих

морфологічних параметрів продихів у досліджуваних зразках наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5. Характеристика морфології продихового апарату використаних сортів озимої пшениці.

Сорт/Лінія	Довжина продихової щілини, мкм	Ширина продихової щілини, мкм	Площа продихової щілини, мкм ²	Довжина замикаючої клітини, мкм	Ширина замикаючої клітини, мкм	Загальна площа продихових щілин, мкм ² /мм ²
Адаксіальна поверхня						
‘Богдана’	31,18±0,79	2,8±0,09	87,56±3,41	49,0±0,69	4,38±0,18	5516±257
‘Дрогана’	31,57±0,67	3,0±0,11	93,55±3,76	50,34±0,75	4,8±0,16	4771±241
‘Етана’	31,12±0,72	3,9±0,23	121,15±7,55	45,79±0,57	3,58±0,15	7269±469
‘Гелубулу’	30,85±1,02	3,1±0,12	94,55±4,5	47,63±1,18	4,21±0,18	6240±330
«Карликова»*	30,46±0,5	3,2±0,12	96,18±4,11	47,44±0,76	4,55±0,17	5482±295
‘Колонія’	29,69±0,58	4,0±0,22	118,8±7,51	42,34±0,62	3,78±0,13	8791±576
‘Корелі’	28,42±0,63	3,8±0,16	108,62±5,33	42,91±0,62	4,03±0,1	6628±350
«Короткоости ста»*	29,84±0,65	2,9±0,09	87,25±3,65	47,59±0,75	4,98±0,1	5846±322
«Остиста, короткостебл ова»*	28,63±0,64	3,2±0,12	92,97±4,29	45,31±0,85	4,43±0,16	4184±217
‘Миронівська ,	30,13±0,49	3,0±0,12	91,14±3,96	46,92±0,49	4,6±0,13	5924±291
‘Нордіка’	31,58±0,49	2,5±0,07	78,52±2,8	49,28±0,67	4,29±0,11	5104±232
‘Паннонікус’	36,56±0,69	3,6±0,08	130,24±4,46	49,96±0,63	3,79±0,13	8205±349
‘Подольнка’	31,05±0,57	3,0±0,11	94,14±4,14	48,7±0,75	4,24±0,12	5554±288
‘Реформ’	31,84±0,54	4,8±0,18	155,26±7,52	45,18±0,68	4,07±0,13	10247±525
‘Тобак’	34,49±0,56	3,1±0,15	106,7±6,04	51,65±0,7	4,45±0,13	6295±383
‘Здоба Київська’	33,9±0,77	3,4±0,16	115,15±6,91	52,12±0,93	4,41±0,12	5758±409
‘Зимоярка’	31,77±0,85	2,8±0,14	90,04±6,14	48,18±0,96	4,77±0,13	4682±354
Абаксіальна поверхня						
‘Богдана’	28,7±0,47	2,8±0,13	81,53±4,39	46,71±0,7	4,41±0,14	3587±209
‘Дрогана’	33,75±0,57	3,2±0,11	108,68±3,85	52,73±0,7	4,82±0,12	4347±215
‘Етана’	29,79±0,77	3,7±0,12	109,27±4,74	44,08±0,81	4,05±0,1	5464±250
‘Гелубулу’	33,24±0,63	2,9±0,11	96,8±3,8	50,27±0,73	4,32±0,16	4550±203
«Карликова»*	29,96±0,7	3,1±0,11	92,56±4,36	48,79±0,92	4,81±0,14	4073±263
‘Колонія’	28,29±0,54	4,0±0,11	113,07±4,49	40,5±0,75	4,19±0,16	6106±309
‘Корелі’	35,17±0,63	4,0±0,10	141,12±4,3	47,83±0,61	4,09±0,13	6068±217

«Короткоостиста»*	30,55±0,43	3,5±0,44	105,53±4,47	48,59±0,61	5,06±0,13	4327±231
«Остиста, короткостеблева»*	29,49±1,03	3,0±0,11	89,51±4,02	46,47±0,72	4,27±0,1	3670±223
‘Миронівська’,	26,54±0,64	3,1±0,14	83,42±4,23	42,65±0,81	4,67±0,12	4421±252
‘Нордіка’	28,9±0,59	3,1±0,10	88,54±3,39	46,5±0,91	4,68±0,15	4427±189
‘Паннонікус’	33,28±0,69	3,7±0,11	122,45±4,01	46,71±0,62	3,91±0,12	5878±245
‘Подільська’	30,04±0,43	2,9±0,09	87,31±2,65	48,43±0,4	4,33±0,14	4016±171
‘Реформ’	30,65±0,65	3,9±0,10	119,19±4,33	42,29±0,55	4,26±0,07	6436±257
‘Тобак’	33,71±0,67	3,4±0,13	114,27±5,78	49,41±0,79	4,66±0,18	5256±288
‘Здоба Київська’	33,29±0,94	3,3±0,12	109,97±4,8	51,81±1,02	4,67±0,17	4069±211
‘Зимоярка’	31,12±0,45	3,2±0,10	98,54±3,14	48,67±0,67	4,47±0,1	4927±191

Серед всіх обрахованих характеристик морфології продихів є достовірні відмінності між адаксіальною та абаксіальною поверхнею листка в межах рослин одного сорту. Разом з тим розміри замикаючої клітини (довжина і ширина) мають менше достовірних відмінностей між двома поверхнями листка у досліджуваних сортів ніж розміри продихової щілини та кількість продихів на мм² листової поверхні. Так, достовірні відмінності ширини замикаючої клітини між різними поверхнями листка знайдені у рослин сортів ‘Нордіка’ і ‘Етана’.

Ширина замикаючих клітин на адаксіальній поверхні листка у рослин сортів ‘Дрогана’ та ‘Зимоярка’ була найбільшою (4,8±0,16 мкм та 4,77±0,13 мкм, відповідно). Найменше значення ширини замикаючих клітин було притаманне у рослин сорту ‘Етана’ і становило 3,58±0,15 мкм. На абаксіальній поверхні листка рослини селекційної лінії «Короткоостиста» мали найбільше значення ширини замикаючої клітини (5,06±0,13 мкм) серед проаналізованих зразків рослин. Рослини австрійського сорту ‘Паннонікус’ характеризувалися найменшими значеннями замикаючих клітин на абаксіальній стороні листка (3,91±0,12 мкм). Всі вивчені українські сорти пшениці м’якої ‘Зимоярка’, ‘Здоба Київська’, ‘Богдана’, ‘Подільська’ та ‘Миронівська’ не мали достовірних

відмінностей за шириною замикаючих клітин, як на абаксіальній, так й на адаксіальній сторонах листової пластини. Так, рослини болгарського сорту 'Дрогана' та українського сорту 'Зимоярка' достовірно відрізняються більшою шириною замикаючих клітин продихів на адаксіальній поверхні листка від рослини німецького сорту 'Етана'. На абаксіальній поверхні листка рослини селекційної лінії «Короткоостиста» та сорту 'Дрогана' мали достовірну більшу ширину замикаючої клітини ніж рослини сорту 'Паннонікус'.

Довжина замикаючої клітини на адаксіальній поверхні листка у рослин українського сорту 'Здоба Київська' була найбільшою – $52,12 \pm 0,93$ мкм, а найменші значення довжини обраховані у рослин сортів 'Колонія' та 'Корелі' ($42,34 \pm 0,62$ мкм та відповідно $42,91 \pm 0,62$ мкм). На абаксіальній поверхні листової пластинки найбільша довжина замикаючої клітини визначена у рослин сорту 'Дрогана' ($52,73 \pm 0,7$ мкм), а мінімальні значення серед обрахованих рослин пшениці – сорту 'Колонія' ($40,5 \pm 0,75$ мкм). Так, довжина замикаючої клітини у рослин французького сорту 'Колонія' є найменшою на обох поверхнях листка.

На адаксіальній поверхні листової пластини досліджувані зразки пшениці м'якої української селекції 'Зимоярка', 'Богдана', 'Подольянка' та 'Миронівська' достовірно не відрізнялися між собою за значеннями довжини замикаючих клітин. Разом з тим рослини сорту 'Здоба Київська' мала достовірно більшу довжину замикаючих клітин на адаксіальній стороні від рослин сортів 'Зимоярка' та 'Миронівська'. На абаксіальній поверхні листка достовірних відмінностей серед українських сортів знайдено більше ніж на адаксіальній. Так, рослини сорту 'Миронівська' мали достовірно менші значення довжини замикаючої клітини ніж рослини інших українських сортів: 'Зимоярка', 'Богдана', 'Подольянка' та 'Здоба Київська'. Крім того, рослини сорту 'Зимоярка' мали дещо меншу довжину замикаючої клітини на абаксіальній поверхні листка.

За шириною продихової щілини мінімальні значення на обох поверхнях листової пластини характерно для українського сорту 'Богдана'. Також на

абаксіальній стороні менші значення мають сорти ‘Гелубулу’ та ‘Подолянка’, а на адаксіальній поверхні найменшу ширину продихової щілини має сорт французького походження ‘Нордіка’ ($2,5 \pm 0,07$ мкм). Найбільші значення цієї ознаки на адаксіальній поверхні має сорт ‘Реформ’ ($4,8 \pm 0,18$ мкм). На абаксіальній стороні листка найбільшу ширину мали сорти ‘Колонія’ та ‘Корелі’.

Довжина продихової щілини варіювала на адаксіальній поверхні листка від $28,42 \pm 0,63$ мкм до $36,56 \pm 0,69$ мкм від на абаксіальній поверхні - $28,29 \pm 0,54$ мкм до $35,17 \pm 0,63$ мкм. Мінімальні значення довжини продихової щілини на адаксіальній поверхні характерні рослинам сорту ‘Корелі’, а максимальне значення рослинам сорту ‘Паннонікус’. Разом з тим на абаксіальній поверхні листка рослини сорту ‘Корелі’ мали більші значення ширини продихової щілини ніж на адаксіальній стороні.

Обрахувавши площу окремої продихової щілини виявили, що для обох поверхень характерний розкид даних, але для адаксіальної поверхні цей розкид є дещо більшим. Так, найменша площа продихової щілини на адаксіальній стороні листової поверхні визначалася у рослин сорту ‘Нордіка’, а найбільша у сорту ‘Реформ’. При цьому значення площі у пшениці сорту ‘Реформ’ аж 97,5% перевищує значення у рослин сорту ‘Нордіка’. На абаксіальній поверхні найбільша площа окремої продихової щілини зафіксована у пшениці сорту ‘Корелі’, а найменша у сорту ‘Богдана’. Відмінність між максимальним та мінімальним значенням становить 73%.

Варто відзначити, що досліджувані українські сорти ‘Богдана’, ‘Подолянка’, ‘Миронівська’, ‘Зимоярка’ не мали статистично достовірних відмінностей між собою на обох поверхнях листка за площею продихової щілини. Лише рослини пшениці сорту ‘Здоба Київська’ достовірно мала на 31,5% більшу площу ніж сорт ‘Богдана’ на адаксіальній стороні листка. На абаксіальній поверхні рослини сорту ‘Здоба Київська’ достовірно перевищує значення площі продихової щілини серед всіх сортів пшениці м’якої української

селекції. Наприклад, різниця цієї ознаки між сортом ‘Здоба Київська’ та ‘Богдана’ становить 34,9 %.

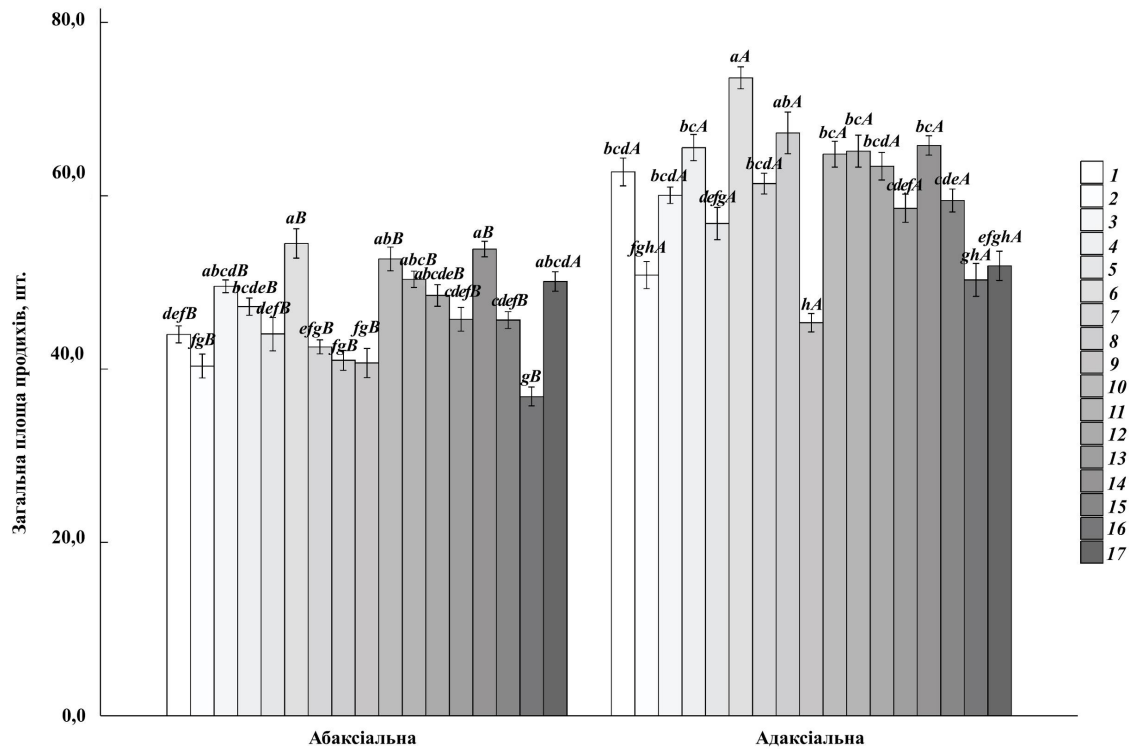


Рисунок 3.14. Діаграма кількості продихів на квадратний міліметр листка для сортів пшениці м'якої української та іноземної селекції. *Примітка:* 1 – ‘Богдана’; 2 – ‘Дрогана’; 3 – ‘Етана’; 4 – ‘Гелубулу’; 5 – с/л «Карликова»; 6 – ‘Колонія’; 7 – ‘Корелі’; 8 – с/л «Короткоостиста»; 9 – с/л «Остиста, короткостеблова»; 10 – ‘Миронівська’; 11 – ‘Нордіка’; 12 – ‘Паннонікус’; 13 – ‘Подольська’; 14 – ‘Реформ’; 15 – ‘Тобак’; 16 – ‘Здоба Київська’; 17 – ‘Зимоярка’; різними буквами позначені вірогідні відмінності.

За кількістю продихів на одиницю листової пластинки на адаксіальній поверхні спостерігалась більша міра розсіювання значень ніж на абаксіальній (рис. 3.14). Серед всіх досліджуваних сортів кількість продихів на абаксіальній є достовірно меншою ніж для адаксіальної поверхні. Лише рослини сорту ‘Зимоярка’ не мають достовірної відмінності в кількості продихів між адаксіальною та абаксіальними поверхнями листової пластини. Максимальне значення кількості подихів на адаксіальній поверхні має сорт ‘Колонія’ –

$74 \pm 1,26$ шт/мм², а також слід відмітити сорт ‘Реформ’ – $66 \pm 1,11$ шт/мм². Мінімальне значення для цієї сторони листка зберігається для описаних вище пшениці селекційної лінії «Остиста, короткостеблова» ($45 \pm 1,07$ шт/мм²). Також низькі значення на адаксіальній поверхні має сорт ‘Здоба Київська’ – $50 \pm 1,9$ шт/мм². З огляду на це, у рослин сорту ‘Реформ’ кількість продихів на адаксіальній поверхні на 64,4% є більшою ніж у селекційної лінії «Остиста, короткостеблова», і на 48% більшою від пшениці українського сорту ‘Здоба Київська’. На абаксіальній поверхні найвищу кількість продихів мають листки рослин сорту ‘Реформ’ – $54 \pm 1,69$ шт/мм², ‘Колонія’ – $54 \pm 0,69$ шт/мм², а найменша кількість характерна у сорту ‘Здоба Київська’ – $37 \pm 1,9$ шт/мм² й сорту ‘Дрогана’ – $40 \pm 1,38$ шт/мм². Так, значення кількості продихів на одиницю листової пластинки на абаксіальній поверхні у пшениці сортів ‘Колонія’ та ‘Реформ’ на 46% вище ніж для українського сорту ‘Здоба Київська’.

Слід підкреслити, що на абаксіальній поверхні рослини сорту ‘Здоба Київська’ достовірно відрізняється за кількістю продихів серед всіх досліджуваних українських сортів. На адаксіальній поверхні кількість продихів у рослин сорту ‘Здоба Київська’ достовірно відрізняється від українських сортів ‘Миронівська’, ‘Подільська’, ‘Богдана’.

Найбільш цікавим параметр є загальна площа продихових щілин на одиницю площі листової пластини, оскільки він враховує як кількість продихів, так і розмір щілини, які є важливими структурами для фізіологічного функціонування продихового апарату (рис. 3.15). Більші значення загальної площі продихових щілин є характерними для адаксіальної поверхні ніж для абаксіальної. Мінімальне значення на адаксіальній, як і в попередньому аналізі, мають рослини селекційної лінії «Остиста, короткостеблова». Найбільше значення загальної площі продихових щілин на адаксіальній поверхні листової пластини притаманне рослинам сорту ‘Реформ’ – 10247 ± 525 мкм², а також слід відмітити рослини сортів: ‘Паннонікус’ – 8505 ± 349 мкм², ‘Колонія’ – 8791 ± 576 мкм², ‘Етана’ – 7269 ± 467 мкм². Це сорти пшениці м’якої з Австрії, Франції та Німеччини, відповідно. Наприклад, значення загальної площі продихових щілин

у рослин сорту 'Реформ' на 144% більше від значення цієї характеристики у рослин досліджуваної селекційної лінії «Остиста, короткостеблова» та на 84,5% більше від значення цього параметру у поширеного українського сорту 'Подільська'. Найвище значення сумарної площі продихових щілин на абсаксіальній поверхні зберігається у рослин сорту 'Реформ', а мінімальна площа визначалася у пшениці українського сорту 'Богдана'. Так, загальна площа продихових щілин абсаксіальної поверхні листка сорту 'Реформ' на 79,4 % є більшою ніж значення цього параметру у рослин сорту 'Богдана'.

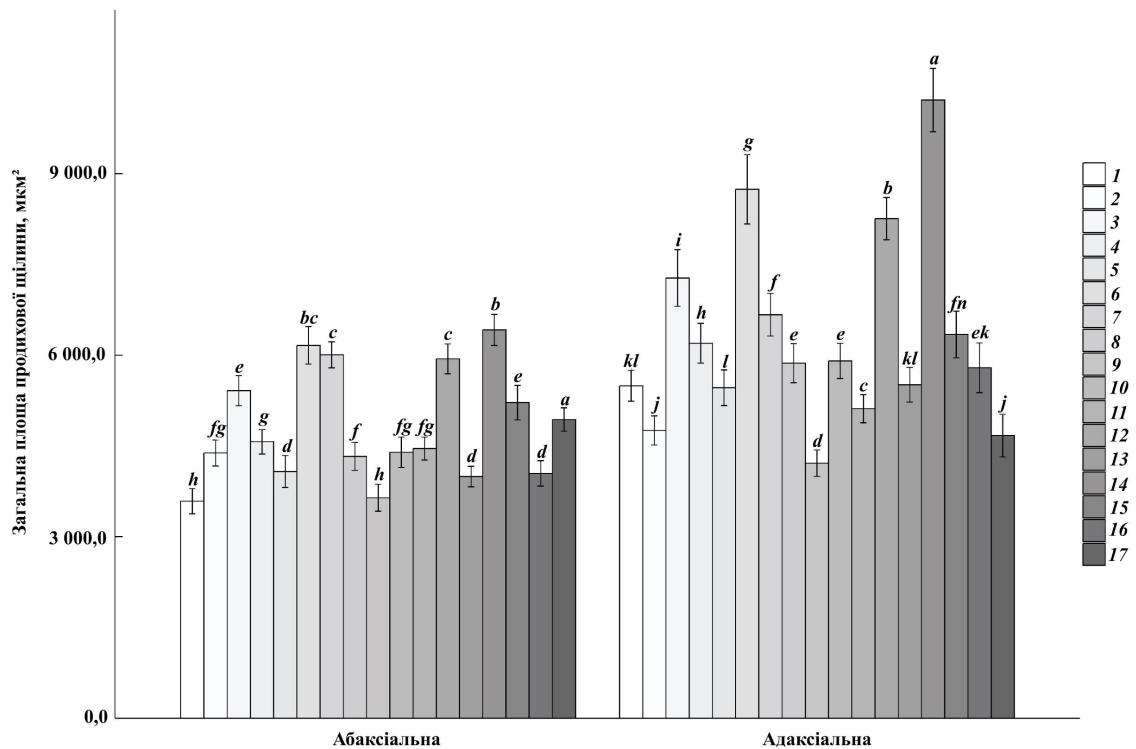


Рисунок 3.15. Діаграма загальної площі продихових щілин на квадратний міліметр листка для сортів пшениці м'якої української та іноземної селекції.
Примітка: 1 – 'Богдана'; 2 – 'Дрогана'; 3 – 'Етана'; 4 – 'Гелубулу'; 5 – с/л «Карликова»; 6 – 'Колонія'; 7 – 'Корелі'; 8 – с/л «Короткоостиста»; 9 – с/л «Остиста, короткостеблова»; 10 – 'Миронівська'; 11 – 'Нордіка'; 12 – 'Паннонікус'; 13 – 'Подільська'; 14 – 'Реформ'; 15 – 'Тобак'; 16 – 'Здоба Київська'; 17 – 'Зимоярка'; різними буквами позначені вірогідні відмінності.

У підсумку можна зазначити наступне:

1. Серед досліджуваних сортів та селекційних ліній рослин пшениці м'якої знайдено достовірні відмінності для всіх вивчених 7 морфологічних ознак продихового апарату, але найбільш контрастні відмінності відмічені за кількістю продихів на одиницю площі і загальною площею продихових щілин на одиницю площі листкової пластини. При цьому для адаксіальної поверхні спостерігається більша міра розсіювання значень кількості продихів та загальною площею продихових щілин на мм^2 листкової пластини.

2. Кількість продихів на одиницю площі на адаксіальній поверхні листкової пластини у рослин генотипу 'Колонія' є найбільшою, а генотип «Корткоостиста» проявляє найменше значення. У відсотковому еквіваленті на 64,4% рослини генотипу 'Колонія' мають більшу кількість продихів. На абаксіальній поверхні кількість продихів рослин генотипів 'Колонія' та 'Реформ' на 46% вища ніж в українського сорту 'Здоба Київська'.

3. Загальна площа продихових щілини на одиницю площі адаксіальної поверхні листка у рослин генотипу 'Реформ' є найбільшою серед досліджуваних зразків, а пшениця селекційної лінії «Остиста, короткостеблова» мала мінімальні значення. На абаксіальній поверхні найменша загальна площа щілин визначалася у рослин українського сорту 'Богдана', а масимальне значення значення залишалось у сорту 'Реформ'. Тобто, діапазон екстремальних значень склав 144 % на адаксіальній поверхні листка, а для абаксіальної – 79,4%.

Знайдено морфологічно відмінні генотипи за параметрами продихового апарату, що є надзвичайно цінним дослідним матеріалом для поглибленого молекулярно генетичного вивчення біогенезу продихів пшениці. У подальшому слід звернути увагу на зразки, які контрастно різняться між собою за морфологією продихового апарату, а саме сорти 'Колонія', 'Реформ', 'Здоба Київська' та селекційні лінії «Корткоостиста» та «Остиста, короткостеблова».

3.5.3. Особливості морфології продихового апарату різних видів пшениць

Для того, щоб порівняти морфологію продихового апарату серед різних видів рослин роду *Triticum* обрано такі види: *T. dicoccum* (var. *aeruginosum*), *T. sinkajae* (var. *sinskajae*), *T. spelta* (var. *album*), *T. sphaerococcum* (var. *rubiginosum*, 'Л 322-15' та 'Донор Київський'). Для порівняння із пшеницею м'якою використовували поширений український сорт 'Подільська'. Вибрані зразки рослин роду *Triticum* відрізняються морфобіологічними характеристиками рослин і за своїм походженням. Через обрані зразки рослин представляють інтерес для порівняльної оцінки морфології продихового апарату.

Варто наголосити, що у зразках рослин *T. dicoccum*, *T. sinkajae*, *T. sphaerococcum* вперше обраховані параметри морфології продихів: кількість продихів на мм² поверхні листової пластини, ширину та довжину продихової щілини, ширину та довжину замикаючої клітини, площу однієї продихової щілини та загальну площу продихових щілин на мм² поверхні листка. Крім того листки рослини *T. dicoccum* були вкриті великою кількістю трихом, на адаксіальній поверхні їх кількість значно перевищувало, що заважало при створенні препаратів відбитків продихів і подальшому їх аналізі. Через це для рослин *T. dicoccum* була адаптована методика створення відбитків продихів для більш якісного вимірювання параметрів морфології продихового апарату. Отримані результати наведені в таблиці 3.6. За всіма досліджуваними ознаками продихового апарату (довжина та ширина продихової щілини, довжина та ширина замикаючої клітини, площа окремої продихової щілини, загальна площа продихових щілин і кількість продихів) спостерігається достовірна відмінність між різними видами рослин роду *Triticum* при $p < 0,05$

Таблиця 3.6. Характеристика морфології продихового апарату використаних сортів озимої пшениці.

Вид (підвид / сорт)	Довжина продихової щілини, мкм	Ширина продихової щілини, мкм	Площа продихової щілини, мкм ²	Довжина замикаючої клітини, мкм	Ширина замикаючої клітини, мкм
Адаксіальна поверхня					
<i>T. aestivum</i> , 'Подільська'	31,05±0,57	3,02±0,11	94,14±4,14	48,70±0,75	4,24±0,12
<i>T. dicoccum</i> , var. <i>aeruginosum</i>	30,60±0,48	2,57±0,10	78,40±2,67	45,19±0,49	3,83±0,13
<i>T. sinkajae</i> , var. <i>sinskajae</i>	34,66±0,65	2,87±0,14	99,80±5,77	50,40±0,82	3,84±0,12
<i>T. spelta</i> , var. <i>album</i>	29,73±0,57	3,39±0,15	100,71±4,93	43,84±0,62	4,74±0,14
<i>T. sphaerococcum</i> , 'Донор Київський'	30,90±0,88	3,06±0,14	95,05±5,37	48,89±1,18	4,57±0,15
<i>T. sphaerococcum</i> , 'Л 322-15'	28,76±0,75	2,87±0,09	82,09±2,64	44,69±1,02	3,58±0,11
Абаксіальна поверхня					
<i>T. aestivum</i> , 'Подільська'	30,04±0,43	2,91±0,09	87,31±2,65	48,43±0,40	4,33±0,14
<i>T. dicoccum</i> , var. <i>aeruginosum</i>	28,11±0,91	2,36±0,06	66,54±2,84	41,32±1,28	2,87±0,09
<i>T. sinkajae</i> , var. <i>sinskajae</i>	36,70±0,71	2,89±0,12	106,25±5,08	53,14±0,82	3,95±0,10
<i>T. spelta</i> , var. <i>album</i>	31,70±0,67	3,00±0,10	95,38±4,30	48,90±0,75	4,78±0,13
<i>T. sphaerococcum</i> , 'Донор Київський'	30,05±0,46	3,55±0,11	106,20±2,99	48,11±0,64	4,59±0,11
<i>T. sphaerococcum</i> , 'Л 322-15'	31,69±0,71	2,49±0,09	79,47±3,86	48,92±0,74	3,44±0,13

Встановлено, що достовірні відмінності довжини замикаючої клітини між абаксіальної та адаксіальною поверхнями листової пласти серед досліджуваних видів мали рослини *T. dicoccum*, *T. sinkajae*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum* 'Л 322-15'. Максимальна довжина замикаючих клітин на обох сторонах листка виявлена у рослин пшениці сімської, на адаксіальній - 50,40±0,82 мкм, на абаксіальній – 53,14±0,82 мкм. Найменші розміри довжини замикаючої клітини на адаксіальній поверхні листка мали рослини спельти

($43,84 \pm 0,62$ мкм), на абаксіальній стороні - рослини полби ($41,32 \pm 1,28$ мкм). На адаксіальній поверхні листка довжини замикаючих клітин у рослин сорту 'Подільська', 'Л 322-15' та пшениці сінської були близькими, але достовірно відрізнялися за цим параметром від рослин сорту 'Донор Київський', полби, спельти. На адаксіальній стороні серед зразків рослин пшениці м'якої сорту 'Подільська', спельти, пшениці шарозерної сортів 'Донор Київський' та 'Л 322-15' не виявлено достовірних відмінностей за довжиною замикаючих щілин, але рослини цих 4 зразків достовірно відрізнялися від полби та пшениці сінської, які мали найменшу і найбільшу довжину замикаючих клітин, відповідно.

Серед досліджуваних зразків рослин ширина замикаючих клітин не мала значущої різниці між сторонами листової пластини, окрім рослин полби (менша ширина замикаючих клітин на абаксіальній поверхні). На адаксіальній поверхні рослини *T. spelta* мали найбільше значення – $4,74 \pm 0,14$ мкм, а рослини *T. sphaerococcum* 'Л 322-15' найменше значення – $3,58 \pm 0,11$ мкм. Крім того, значення ширини замикаючих клітин на адаксіальній у рослин полби та пшениці сінської є схожими й статистично менші від рослин спельти та сорту 'Донор Київський'. На абаксіальній поверхні найбільшу ширину замикаючих клітин знову мали рослини *T. spelta* ($4,78 \pm 0,13$ мкм), а найменшу - рослини *T. dicoccum* ($2,87 \pm 0,09$ мкм).

Ширина продихових щілин має достовірні відмінності між обома поверхнями листової пластини у рослин спельти та пшениці шарозерної 'Л 322-15'. На адаксіальній поверхні листка найбільша ширина продихових фіксувалася у рослин *T. spelta* – $3,39 \pm 0,15$ мкм, а на адаксіальній поверхні у рослин сорту 'Донор Київський'. Хоча у спельти ширина продихових щілин на адаксіальній достовірно не відрізнялася від рослин пшениці м'якої і пшениці шарозерної 'Донор Київський', але за цим параметром рослини спельти мали достовірно більші значення ніж зразки полби, пшениці сінської та пшениці шарозерної 'Л 322-15'. Мінімальне значення ширини продихових щілин на обох поверхнях листка зареєстровано у рослин *T. dicoccum* ($2,57 \pm 0,15$ мкм - на

адаксіальній стороні; $2,36 \pm 0,06$ мкм - на абаксіальній). Значення ширини продихових щілин на адаксіальній поверхні у рослин сорту 'Подільська' достовірно не відрізнялося від інших досліджуваних зразків. Також у пшениці сорту 'Донор Київський' ширина замикаючих клітин на абаксіальній поверхні листка була достовірно більшою від зразків всіх інших досліджуваних зразків рослин. Так само рослини полби мали достовірно меншу ширину продихових щілин на абаксіальній поверхні ніж інших 4 вивчених зразків злаків (пшениці сорту 'Подільська', пшениці шарозерної сорту 'Донор Київський', спельти, та пшениці сімської).

Довжина продихової щілини достовірно відрізнялася між сторонами листка у рослин полби, пшениці сімської, спельти та пшениці шарозерної 'Л 322-15'. Серед досліджуваних видів злаків найбільша довжина продихової щілини характерна рослинам *T. sinkajae* на обох поверхнях листової пластинки ($34,66 \pm 0,65$ мкм на адаксіальній та $36,70 \pm 0,71$ мкм на абаксіальній поверхнях). Рослини *T. sphaerococcum* 'Л 322-15' мали найменшу довжину продихових щілин на адаксіальній поверхні листка ($28,76 \pm 0,75$ мкм), а рослини виду *T. dicoccum* - на абаксіальній ($28,11 \pm 0,91$ мкм). Крім того, на обох поверхнях листка рослини *T. sinkajae* достовірно відрізнялися за довжиною продихових щілин від інших 5 вивчених видів роду *Triticum*. На абаксіальній стороні листка менші значення довжини продихової щілини у полби достовірно відрізнялися від *T. sinkajae* та *T. spelta*. Так, зразки рослин *T. sinkajae* найбільше відрізнялися за довжиною продихових щілин серед всіх проаналізованих видів.

Як і варто було очікувати площа окремої продихової щілини на адаксіальній поверхні листка є найбільшою у рослин спельти ($100,71 \pm 4,93$ мкм²) й пшениці сімської ($99,80 \pm 5,77$ мкм²), а найменша - у рослин полби ($78,40 \pm 2,67$ мкм²). Так само на абаксіальній поверхні листка найменша площа продихової щілини визначена у рослин полби і становить $66,54 \pm 2,84$ мкм², а найбільша - у рослин пшениці сімської і пшениці шарозерної сорту 'Донор Київський' ($106,25 \pm 5,08$ мкм² й $106,20 \pm 2,99$ мкм², відповідно). Також на адаксіальній поверхні значення площі продихових щілин рослин

T. dicoccum є достовірно меншим від значень цього параметру рослин *T. sinkajae* та *T. spelta*. На абаксіальній поверхні значення площі продихових щілин рослин полби є достовірно меншим від значень всіх досліджуваних рослин, окрім зразка рослин пшениці шарозерної ‘Л 322-15’. Рослини виду *T. sinkajae* достовірно відрізняються за площею продихової щілини на адаксіальній стороні листка, окрім рослин полби, ще і від рослин пшениці шарозерної ‘Л 322-15’. На абаксіальній поверхні листка площа продихових щілин у пшениці сінської є достовірно більшою від значень площі лише рослин сорту ‘Подольанка’ і полби. За площею продихової щілини рослини *T. dicoccum* найбільше вирізняються серед вивчених зразків злаків.

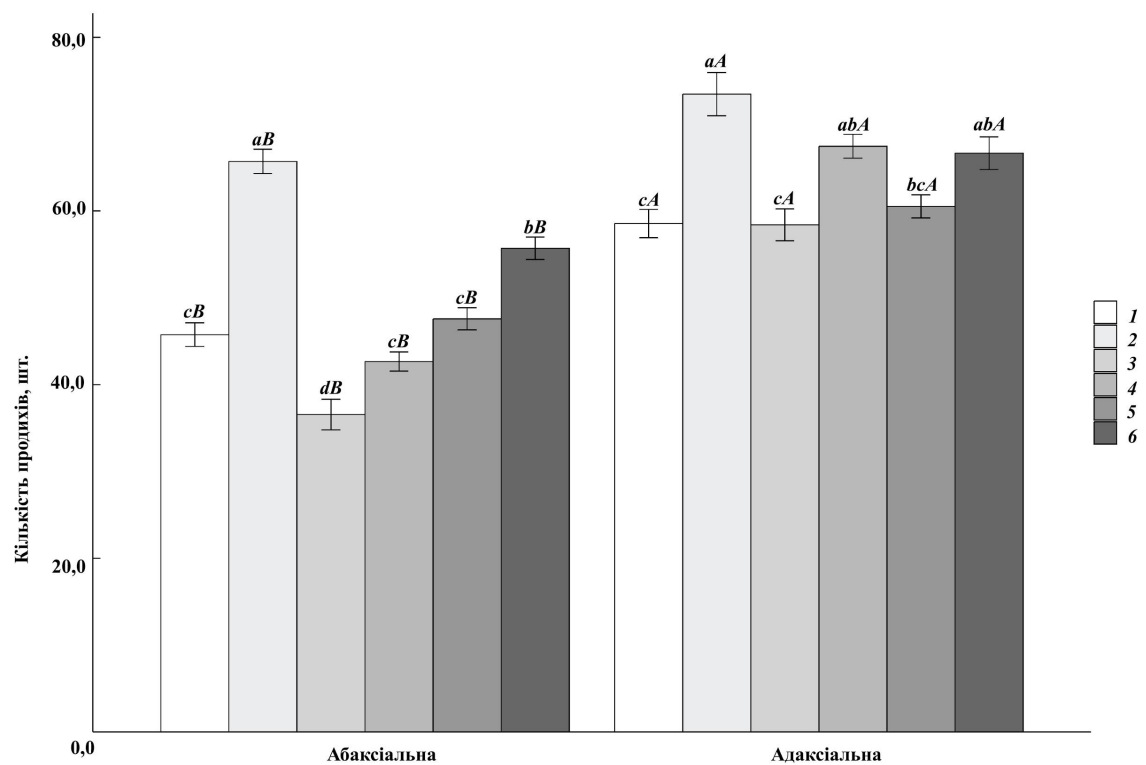


Рисунок 3.16. Діаграма загальної кількості продихів на квадратний міліметр листка для різних видів роду *Triticum*. Примітка: 1 – *T. aestivum*, ‘Подольанка’; 2 – *T. dicoccum*; 3 – *T. sinkajae*; 4 – *T. spelta*; 5 – *T. sphaerococcum*, ‘Донор Київський’; 6 – *T. sphaerococcum*, ‘Л 322-15’; різними буквами позначені вірогідні відмінності.

Кількість продихів на квадратний мм листової пластинки для всіх досліджуваних зразків рослин (*T. dicoccum*, *T. sinkajae*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, 'Л 322-15' та *T. sphaerococcum* 'Донор Київський') є достовірно більшою на адаксіальній поверхні листка ніж на абаксіальній (рис. 3.16). На адаксіальній поверхні найбільша кількість продихів встановлена у рослин полби (73,45±2,48 продихів/мм² листка), а найменша – у рослин пшениці сіньської та пшениці м'якої сорту 'Подольнка' (58,40±1,84 продихів/мм² листка та відповідно 58,55±1,63). При цьому рослини полби достовірно відрізнялися більшою кількістю продихів на адаксіальній поверхні від усіх інших вивчених рослин. Так само рослини *T. sinkajae* та сорту 'Подольнка' достовірно мали меншу кількість продихів від інших досліджуваних видів (полби, спелти та пшениці шарозерної). Разом з тим на абаксіальній поверхні спостерігається більша міра розсіювання значень кількості продихів серед досліджуваних зразків рослин ніж адаксіальній.

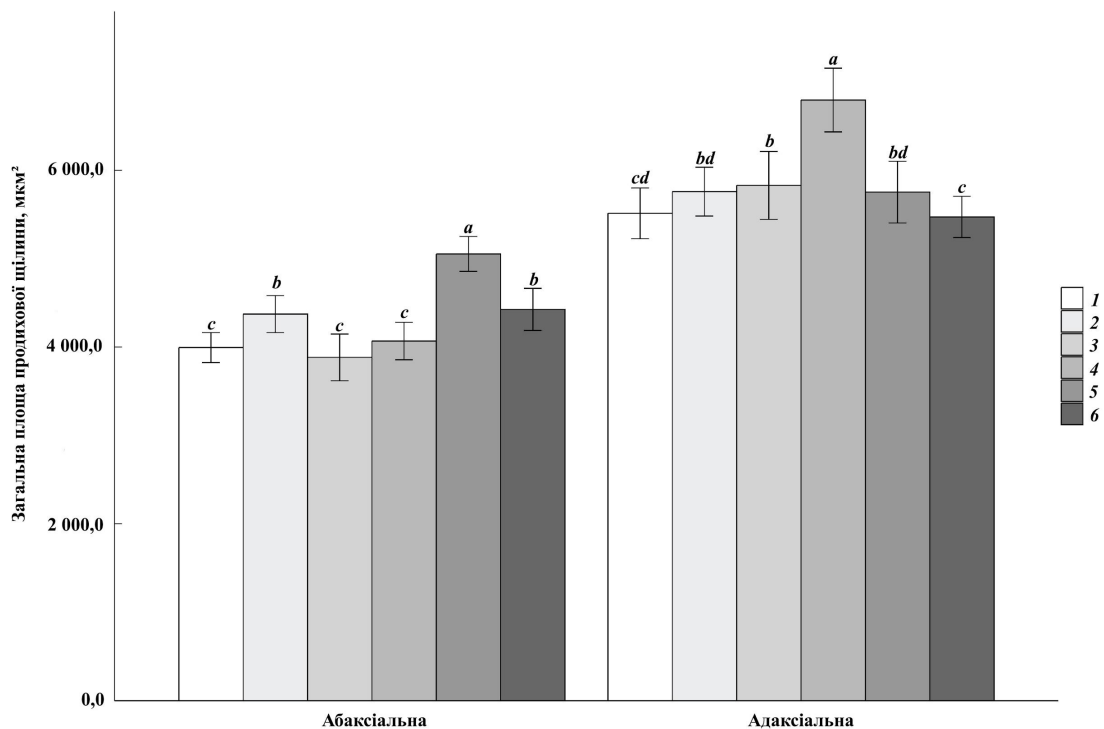


Рисунок 3.17. Діаграма загальної площі продихових щілин на квадратний міліметр листка для різних видів роду *Triticum*. Примітка: 1 – *T. aestivum*, 'Подольнка'; 2 – *T. dicoccum*; 3 – *T. sinkajae*; 4 – *T. spelta*; 5 – *T. sphaerococcum*, 'Донор

Київський'; 6 – *T. sphaerococcum*, 'Л 322-15'; різними буквами позначені вірогідні відмінності.

Найбільш цікавим є параметр загальної площі продихових щілин на одиницю площі листкової пластини, оскільки він враховує як кількість продихів, так і розмір щілини, які є важливими параметрами для фізіологічного функціонування продихового апарату. Найбільші значення загальної площі продихових щілин на адаксіальній поверхні листка спостерігається у рослин *T. spelta* (6793 ± 360 мкм²), а найменші значення – у *T. sphaerococcum*, 'Л 322-15' (5471 ± 234 мкм²) (рис. 3.17). При цьому значення загальної площі продихових щілин на адаксіальній поверхні у рослин пшениці м'якої сорту 'Подільська' достовірно відрізняється як від спельти, так й від пшениці шарозерної 'Л 322-15'. Також загальна площа продихових щілин на адаксіальній стороні серед рослин *T. dicoccum*, *T. sinkajae*, *T. sphaerococcum* сорту 'Донор Київський' не має достовірних відмінностей. У рослин спельти достовірно більша площа продихових щілин на абаксіальній поверхні серед усіх досліджуваних видів рослин. Найменша листка загальна площа продихових щілин адаксіальній поверхні листка спостерігалася у рослин *T. sinkajae* (3889 ± 264 мкм²), а найбільша – у рослин *T. sphaerococcum* сорту 'Донор Київський'. Як бачимо різко відмінні значення розмірів замикаючих клітин, кількість продихів та площа однієї продихової щілини у рослин *T. dicoccum* та *T. sinkajae* нівелюються за параметром загальної площі продихових щілин на поверхні листка.

Таким чином, серед всіх вивчених злакових рослин роду *Triticum* для всіх обрахованих параметрів морфології продихів знайдені достовірні відмінності. Серед проаналізованих різних видів роду *Triticum* найбільше відрізняються рослини *T. dicoccum* та *T. sinkajae*. Найбільш суттєві відмінності у рослин рослини *T. dicoccum* та *T. sinkajae* виявлені за розміром замикаючих клітин, площею однієї продихової щілини та їх кількість на поверхні листка. Спостерігається закономірність, що невеликі розміри замикаючих

клітин/продихової щілини компенсуються за рахунок більшої кількості продихів на одиницю площі поверхні листка. Так, у рослин пшениці сінської найменша кількість продихів, проте найбільший розмір замикаючих клітин і площа однієї замикаючої клітини. Навпаки у рослин полби найменша площа продихової щілини компенсується найбільшою кількістю продихів, тому загальна площа продихових щілин у рослин полби немає таких суттєвих відмінностей серед інших вивчених видів.

3.5.4. Висновки до підрозділу 3.5.

Встановлено, що три досліджувані селекційних лінії пшениці м'якої, які походять з Північної Америки: «Карликова», «Остиста, короткостеблова» та «Короткоостиста», суттєво відрізняються від поширених українських сортів 'Богдана', 'Зимоярка', 'Подольська' за кількістю продихів, сумарною площею продихових щілин на одиницю площі поверхні листової пластинки. Селекційна лінія «Короткоостиста» відрізняється кількістю продихів на адаксіальній поверхні листка, «Карликова» характеризується зростанням сумарної площі продихових щілин на одиницю площі поверхні листової пластинки на адаксіальній стороні, а форма «Остиста, короткостеблова» має менший показник на абаксіальній стороні й одночасно проявляє тенденцію до зниження сумарної площі продихів абаксіальної поверхні листка.

Серед досліджуваних українських та іноземних сортів та селекційних ліній рослин пшениці м'якої знайдено контрастні генотипи за кількістю продихів і загальною площею продихових щілин на одиницю площі поверхні листка. Максимальна кількість продихів як на адаксіальній так і на абаксіальній поверхні мали рослини сорту 'Колонія'. Рослини сорту 'Реформ' мали максимальну загальну площу продихових щілин на одиницю площі продихових щілин адаксіальної та абаксіальної поверхні листка.

Вперше виміряно параметри морфології продихового апарату в рослин *T. sinskajae*, *T. dicoccum* та *T. sphaerococcum*. Серед проаналізованих видів роду

Triticum найбільше вирізняються рослини *T. sinskajae* та *T. dicocum*, особливо за кількістю продихів на одиницю площі поверхні листка. У рослин виду *T. sinskajae* кількість продихів на одиницю площі поверхні листка є найменшою, але розміри замикаючих клітин і площа продихової щілини – найбільші. У рослин *T. dicocum* навпаки – найбільша кількість продихів, але найменші розміри замикаючих клітин та площа окремої продихової щілини.

Публікації до підрозділу 3.5.

1. **Римар Ю.Ю.,** Проніна О.В., Дуплій В.П., Моргун Б.В. Особливості морфології продихового апарату пшениці м'якої. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2023. Т. 32, С. 120–124, <https://doi.org/10.7124/FEEO.v32.1547> (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, здійснила аналіз отриманих даних, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку).
2. **Римар Ю.Ю.,** Проніна О.В., Моргун Б.В. (2023) Характеристика морфологічних параметрів продихів селекційних ліній пшениці м'якої. *Матеріали XVI конференції молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів»*. 12 травня 2023 р., Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, С. 50–52. (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, здійснила аналіз отриманих даних, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку).
3. **Римар Ю.Ю.,** Проніна О.В., Лахнеко О.Р., Степаненко А.І., Моргун Б.В. (2022) Морфологія продихового апарату пшениці шарозерної сорту Донор Київський. *Матеріали Міжнародної наукової конференції з нагоди 125-річчя від дня народження доктора сільськогосподарських наук,*

професора, академіка ВАСГНІЛ Бориса Павловича Соколова, 15–16 вересня 2022 р., Дніпро – с. 23–24. (Здобувачка брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних та їх статистичну обробку, підготувала матеріал до друку).

3.6. Взаємозв'язок морфології продихового апарату з інтенсивністю газообміну та впливом ґрунтової посухи

Порівняння морфології продихового апарату в різних видах злакових рослин роду *Triticum* дало можливість обрати найбільш цікаві зразки для подальших досліджень. Вивчення не тільки особливостей морфології продихів різних видів злакових, а й їх фізіологічне функціонування на організмовому рівні дало поглиблене розуміння щодо стратегій адаптацій в умовах недостатнього водозабезпечення. Розуміння взаємозв'язку між структурою продихового апарату та його функціонуванням дозволить розробити новітні стратегії та моделі для більш ефективного використання води рослиною.

3.6.1. Морфологічні особливості досліджуваних зразків рослин роду *Triticum* L.

Враховуючи те, що полба та спельта є менш одомашненими видами і можуть демонструвати відмінні механізми адаптації від пшениці м'якої, тому саме ці зразки рослин обрали для вивчення фізіологічного функціонування продихового апарату. Дослідження проводили на рослинах ярої пшениці м'якої (*T. aestivum* L.) сорту 'Зимоярка' (геном AABBDD), а також спельти (*T. spelta* var. *album*, UA0300304, геном AABBDD) і полби (*T. dicoccum* var. *aeruginosum*, UA0300040, геном AABB). Досліджені зразки рослин *Triticum spelta* L., *T. dicoccum* відрізнялися від *T. aestivum* L. (сорт 'Зимоярка') за морфологічними ознаками.



Рис. 3.18. Зображення колосу досліджуваних зразків (ліворуч – *T. spelta* var. *album*; праворуч – *T. dicoccum* var. *aeruginosum*).

Дані структурно-морфологічного аналізу представлені в таблиці 3.7, на рисунку 3.18 представлені відмінності рослин спельти та полби за розміром та формою колосу. За висотою рослин всі зразки достовірно відрізнялися між собою, найбільша висота зафіксована для спельти, а найменша для полби. Довжина стебла спельти була в середньому на 9,7 % більшою, ніж у пшениці та на 38,3% більша ніж довжина стебла полби. За продуктивною куцистістю між спельтою та пшеницею м'якої не знайдено суттєвих відмінностей, а у полби кількість продуктивних була достовірно меншою від досліджуваних генотипів пшениці м'якої та спельти. Також й за довжиною головного колоса рослини спельти майже не відрізнялися від пшениці м'якої сорту 'Зимоярка'. На відміну від досліджуваних зразків спельти та пшениці м'якої у полби наявні остюки на колоскових лусках, але значення довжини головного колоса без урахування остюків у полби були найменші. За кількістю колосків у суцвітті головного

колоса всі досліджувані види відрізнялися між собою. Також варто зазначити, що для листків полби досліджуваного зразка є характерною особливістю наявність трихом, при цьому їх кількість є значно більшою на адаксіальній поверхні листка. За морфологічними ознаками, рослин як спельти, так і полби відрізнялися від пшениці м'якої сорту 'Зимоярка', але для полби відмінності були більшими ніж для спельти.

Таблиця 3.7. Структурно-морфологічні показники рослин за умов оптимального поливу

Зразки	Висота рослини, см	Продуктивна кущистість, шт.	Довжина головного колоса, см*	Кількість колосків головного колоса, шт.
'Зимоярка'	67,8 ±1,3 ^a	2,7±0,2 ^a	10,25±0,44 ^a	17,7±0,6 ^a
Спельта	74,4±2,0 ^b	2,8±0,2 ^a	10,38±0,35 ^a	16,0±0,2 ^b
Полба	53,8±2,8 ^c	1,5±0,2 ^b	4,00±0,0 ^b	9,3±0,4 ^c

Примітка: різними буквами позначені вірогідні відмінності при $p \leq 0,05$; *- довжина вказана без урахування остюків.

3.6.2. Порівняння морфології продихового апарату досліджуваних зразків рослин роду *Triticum* L.

Продихи є найголовнішими структурами рослинного організму, які регулюють рівень транспірації і, тим самим, водний режим рослини загалом, тому в роботі вивчалася особливості морфології продихового апарату різних видів пшениці як один з шляхів адаптації рослин до несприятливих умов. Основні обраховані параметри продихового апарату наведені на рис. 3.19.

Розміри (довжина та ширина) замикаючих клітин визначають розміри продихів у цілому. Вдалося виявити достовірні відмінності між досліджуваними зразками *T. aestivum*, *T. spelta* та *T. dicoccum* як за довжиною, так і за шириною замикаючих клітин. За довжиною замикаючих клітин пшениця м'яка мала найбільші значення, а полба найменші як на адаксіальній, так і на

абаксіальній поверхні листка, тоді як у спельти зафіксовані проміжні значення. Так, для адаксіальної поверхні довжина замикаючих клітин у сорту 'Зимоярка' була майже на 8,1 % більшою, а для абаксіальної – на 18,7 % , ніж у полби. У сорту 'Зимоярка' та спельти довжина замикаючих клітин є достовірно більшою на абаксіальній поверхні порівняно з адаксіальною. У полби достовірних відмінностей між повернями листової пластини не було.

За шириною замикаючих клітин найбільші значення виявлені в спельти, а найменші в полби. Відмінності між ними становили майже 36,4 % на абаксіальній і 23 % на адаксіальній поверхні листка. Ширина замикаючих клітин у пшениці була близькою до значень спельти. Різниця між повернями для цієї характеристики детектувалася лише для полби, значення для адаксіальної поверхні були дещо більшими.

Для ширини й довжини продихової щілини також виявлені достовірні відмінності. Як для довжини, так й для ширини найменші значення спостерігали для полби. Найбільші значення довжини продихової щілини зафіксовані для сорту 'Зимоярка' , а ширини – для спельти. Довжина продихової щілини досліджуваного зразка полби була меншою, ніж в сорту 'Зимоярка' , майже на 20,8 % на абаксіальній і 9,4 % на адаксіальній поверхні. Відповідно ширина продихової щілини у полби була меншою, ніж у спельти на адаксіальній та абаксіальній поверхнях на 20,6 та 12,4 %. Довжина продихової щілини на адаксіальній поверхні листка у спельти та полби мали близькі значення. Також за цим параметром для спельти не виявлено відмінностей між різними повернями листової пластини, а для пшениці та полби такі відмінності зафіксовані. При цьому 'Зимоярка' на абаксіальній поверхні мала більшу довжину продихової щілини ніж на адаксіальній, а полба навпаки мала більші значення довжини на адаксіальній і менші значення на абаксіальній поверхні. Ширина продихової щілини достовірно відрізняється серед усіх досліджуваних зразків з обох сторін листової пластини, проте різниця між адаксіальною та абаксіальною поверхнями є лише для зразка полби.

За кількістю продихів на одиницю площі листової пластинки для всіх трьох досліджуваних генотипів знайдена достовірна різниця між адаксіальною та абаксіальною поверхнями листової пластини. При цьому для адаксіальної поверхні кількість продихів у всіх зразках є більшою ніж для абаксіальної. Також для адаксіальної поверхні виявлена достовірна різниця між всіма досліджуваними зразками за кількістю продихів. Полба на 18,5 % мала більшу кількість продихів ніж пшениця м'яка (за значень $73,45 \pm 2,48$ шт/мм² для полби та $61,98 \pm 0,95$ шт/мм² для пшениці м'якої), а на абаксіальній поверхні цей параметр у полби був на 52,3 % більший у порівнянні із сортом 'Зимоярка' (за значень $67,32 \pm 1,21$ шт/мм² для полби $44,21 \pm 0,65$ шт/мм² для пшениці м'якої). Достовірної відмінності за кількістю продихів на абаксіальній поверхні між спельтою та пшеницею м'якою не відмічалось.

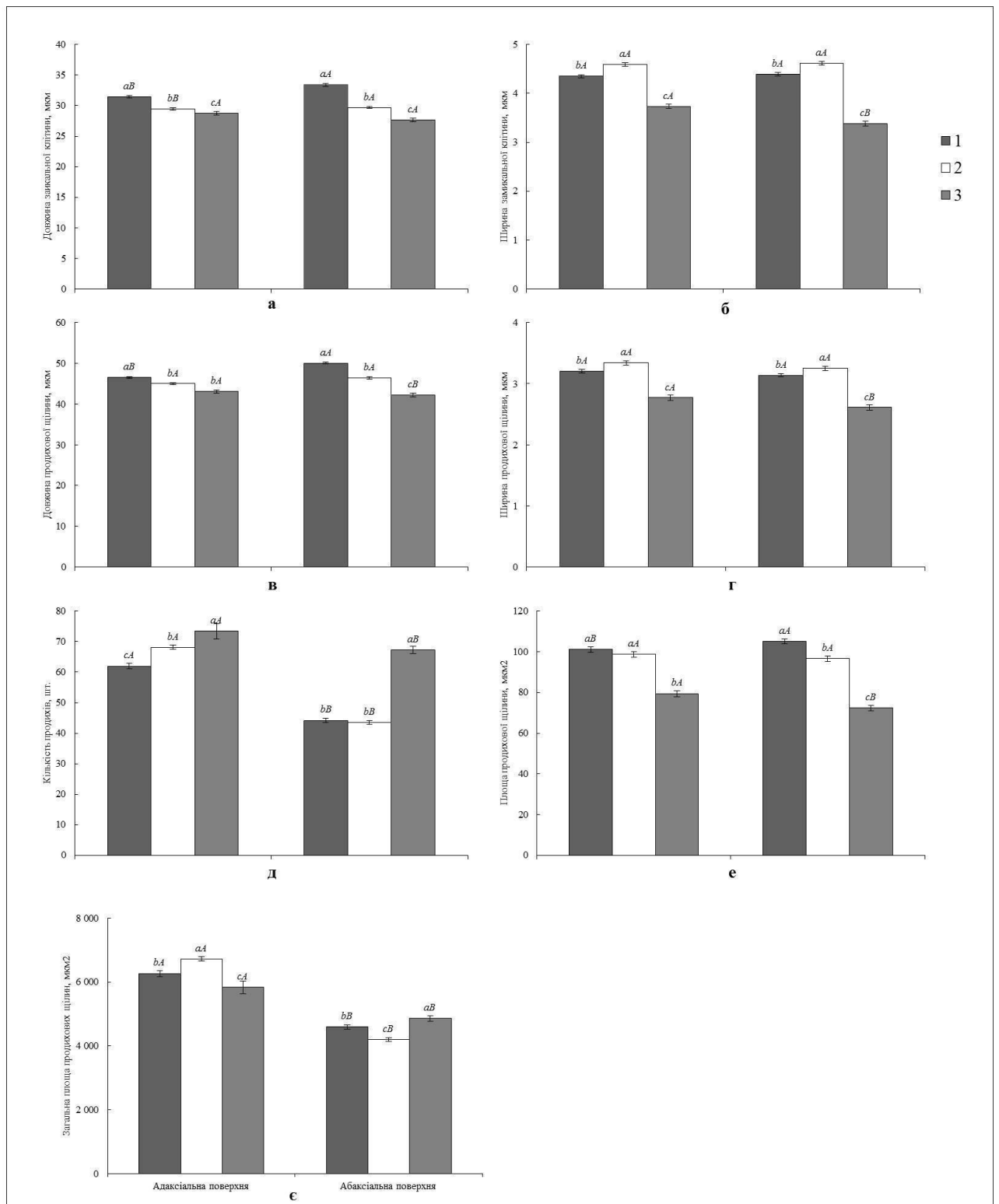


Рис. 3.19. Характеристика морфологічних ознак продишового апарату злаків роду *Triticum*. 1 *T. aestivum* сорт 'Зимоярка'; 2 *T. spelta* var. *album*; 3 *T. dicoccum* var. *aeruginosum*. Примітка: буквами а, б, с позначено достовірні відмінності серед досліджуваних зразків при $p \leq 0,05$; буквами А, В позначено вірогідні відмінності між адаксіальною та абаксіальними поверхнями листка; а – довжина замикаючих клітини, б – ширина замикаючих клітини, в – довжина продишової щілини, г – ширина

продихової щілини, d – кількість продихів на одиницю площі листка, e – площа продихової щілини, e – загальна площа продихових щілин.

Як і варто було очікувати найменша площа продихової щілини зафіксована для *T. dicocum*, а найбільша для *T. aestivum*. Значення площі продихової щілини на адаксіальній поверхні листка в досліджуваного зразку полби становило $79,48 \pm 1,51$ мкм², у сорту ‘Зимоярка’ воно було на 27,3 % більшим ($101,15 \pm 1,26$ мкм²). На абаксіальній поверхні листка перевага Зимоярки за площею продихової щілини була ще більшою – близько 45,2 % (за значень $72,35 \pm 1,42$ мкм² для полби та $105,02 \pm 1,21$ мкм² для пшениці м’якої). Зазначимо, що цим параметром на абаксіальній поверхні виявлені достовірні відмінності між усіма досліджуваними генотипами, на адаксіальній поверхні між досліджуваними зразками пшениці м’якої та спельти достовірної різниці не було.

Для того, щоб оцінити площу поверхні листка, яка задіяна в процесах газообміну рослини обраховували сумарну площу продихових щілин на мм² листової пластини. Незважаючи на те, що площа продихової щілини на адаксіальній поверхні була найбільшою для пшениці м’якої сорту ‘Зимоярка’, сумарна площа продихових щілин була найбільшою у зразка спельти $6722,98 \pm 66,89$ мкм²/мм², а найменшою у полби $5837,41 \pm 197,43$ мкм²/мм². На цій поверхні значення загальної площі продихових щілин у полби було близьким до сорту ‘Зимоярка’.

Цікавий результат отриманий для абаксіальної поверхні. У цілому значення сумарної площі продихових щілин на цій поверхні були меншими, ніж на адаксіальній. Відмінності між дослідженими генотипами пшениці за величиною цього показника визначалися обома факторами: кількістю продихів і площею продихової щілини. Площа продихової щілини у полби була найменшою, а в сорту ‘Зимоярка’ найбільшою (рис. 3.19е), проте, внаслідок значно більшої кількості продихів у полби (рис. 3.19д), загальна площа продихових щілин у полби була найбільшою, перевищуючи значення для

пшениці м'якої на 5,7 %, а для спельти на майже 15,7 %. Таким чином, перевага генотипу за якимось із компонентів – кількістю продихів чи розмірами продихової щілини певною мірою нівелювалася.

Серед вибраних зразків пшениці м'якої, спельти і полби кількість продихів та їх розміри залежали від виду. При цьому між цими характеристиками продихового апарату спостерігався негативний зв'язок. У *T. dicoccum* var. *aeruginosum* розміри продихової щілини й замикаючих клітин були найменшими, проте кількість продихів на мм² була найбільшою, що в результаті призводило до зменшення відмінностей за сумарною площею продихових щілин у досліджених видів. Цікаво відзначити, що довжина продихів у сорту 'Зимоярка' була дещо вищою, ніж у спельти, що забезпечувало перевагу і за площею продихової щілини, незважаючи за дещо більшу ширину продихової щілини в останньої.

3.6.3. Інтенсивність газообміну та фотосинтезу у досліджуваних зразках рослин роду *Triticum* L.

Для з'ясування зв'язку відмінностей в характеристиках продихового апарату з активністю фотосинтетичної асиміляції CO₂ і регуляцією транспіраційних витрат води в близькоспоріднених видів пшениці за оптимального поливу рослин та за дії короткочасної посухи визначали інтенсивність процесів CO₂- і H₂O-газообміну, продихову провідність та ефективність використання води при фотосинтезі у прапорцевих листках. Отримані дані наведені в табл. 3.8.

Таблиця 3.8. Інтенсивність газообміну листків ярих пшениць різних генотипів за умов оптимального поливу (70 % ПВ, контроль) та тижневої посухи (30 % ПВ) ($n = 4$, $\bar{x} \pm SE$).

Варіант	Фотосинтез	Фотодихання	Темнове дихання	Транспірація, ммоль H ₂ O/(м ² · с)	Фотодихання / фотосинтез	Продихова провідність, g _s ммоль/(м ² · с)	WUE _i , мкмоль CO ₂ / ммоль H ₂ O
	мкмоль CO ₂ /(м ² · с)						
‘Зимоярка’							
Контроль	16,3±0,5 ^a	3,90±0,24 ^a	2,06±0,05 ^a	2,09±0,06 ^b	0,24	487±15 ^b	7,79±0,23 ^{ab}
Посуха	12,9±0,4 ^b	4,04±0,25 ^a	1,71±0,10 ^b	1,57±0,05 ^c	0,31	302±9 ^c	8,23±0,25 ^a
% контролю	79,1	100	81,0	75,0	129,2	62,0	106
Спельта							
Контроль	15,1±0,5 ^a	4,07±0,16 ^a	1,14±0,08 ^c	2,05±0,06 ^b	0,27	473±14 ^b	7,38±0,22 ^b
Посуха	10,9±0,3 ^c	4,02±0,03 ^a	1,03±0,07 ^c	1,47±0,04 ^c	0,37	274±8 ^{cd}	7,44±0,22 ^{ab}
% контролю	72,2	97,6	91,1	71,7	137,0	57,9	100
Полба							
Контроль	16,7±0,5 ^a	2,01±0,10 ^c	0,77±0,08 ^d	2,39±0,07 ^a	0,12	660±20 ^a	7,01±0,21 ^b
Посуха	11,1±0,3 ^c	3,15±0,27 ^b	0,79±0,03 ^d	1,43±0,04 ^c	0,28	265±8 ^d	7,76±0,23 ^{ab}
% контролю	66,5	160	100	60,1	233,3	40,2	111

Примітка: буквами а, b, с позначено достовірні відмінності серед досліджуваних зразків при $p \leq 0,05$;

За інтенсивністю фотосинтезу контрольні рослини ярих пшениць трьох досліджених генотипів істотно не різнились. Можна лише відзначити, що у спельти цей показник був дещо нижчий, ніж у Зимоярки і полби, але в межах статистичної похибки. Посуха призвела до пригнічення інтенсивності фотосинтезу, хоча і в різному ступені. Так, у рослин сорту ‘Зимоярка’ цей показник зменшився на 20,9 % відносно контролю, у спельти – на 27,8 %, у полби – на 33,5 %. При цьому в першого генотипу інтенсивність фотосинтезу за дії стресора була помітно вищою, ніж у інших двох, різниця між якими була не істотною.

За інтенсивністю фотодихання листків рослини сорту ‘Зимоярка’ і спельти практично не різнились як за умов оптимального поливу, так і посухи. У рослин полби цей показник був значно менший, а посуха спричинила його

істотне підвищення, в результаті чого відношення фотодихання/фотосинтезу у цього генотипу зросло в 2,3 рази. У дослідних рослин інших генотипів воно підвищилось в 1,3–1,4 рази, проте цей ефект був зумовлений переважно зменшенням інтенсивності фотосинтезу.

Інтенсивність темного дихання листків рослин сорту ‘Зимоярка’ була істотно вищою, ніж спельти і полби як за умов оптимального поливу, так і посухи. Дефіцит зволоження призвів до деякого зменшення цього показника у Зимоярки і практично не вплинула на нього у двох інших генотипів.

За інтенсивністю транспірації рослини сорту ‘Зимоярка’ і спельти за умов оптимального поливу істотно не різнились, а значення показника в полби були дещо вищими. Посуха спричиняла зниження цього показника, а різниця між генотипами практично нівелювалася. Разом з тим, оскільки контрольні значення були неоднакові, ступінь зменшення порівняно з умовами оптимального поливу різнився: у сорту ‘Зимоярка’ – на 25 %, у спельти – на 28,3 %, а у полби – на 39,9 %.

Аналогічні закономірності спостерігалися і для продихової провідності (g_s), проте ступінь впливу посухи на цей показник був ще сильніший. Так, у рослин сорту ‘Зимоярка’ він зменшився на 38 % порівняно з контролем, у спельти – на 42,1 %, у полби – на 59,8 %. Такий ефект зумовлений нелінійним характером зв’язку між продиховою провідністю та інтенсивністю випаровування води листком. Якщо розрахувати відношення інтенсивності фотосинтезу до транспірації, отримаємо параметр, який характеризує ефективність використання води при фотосинтезі в момент вимірювання (instantaneous water use efficiency, WUE_i), тобто, скільки мкмоль CO_2 асимілюється на 1 ммоль випаруваної води (Liang et al., 2023). Цей показник був найбільший у рослин сорту ‘Зимоярка’ як за умов оптимального поливу, так і посухи, хоча для контрольного варіанту різниця зі спельтою була неістотною. В останнього генотипу WUE_i за умов посухи практично не змінилася, у сорту ‘Зимоярка’ спостерігалася тенденція до підвищення, а у полби ця тенденція була сильніше вираженою. В результаті, за умов недостатнього зволоження

різниця за цим показником між полбою і Зимояркою була незначною. При цьому WUEi у рослин сорту 'Зимоярка' було на 10,6 % вищим, ніж у спельти, проте різниця також була статистично не доведеною за $p \leq 0,05$. Підвищення WUEi за умов посухи у полби і Зимоярки відбулося завдяки сильнішому зменшенню продихової провідності, ніж інтенсивності фотосинтезу.

Отже, досліджені генотипи пшениці виявилися достатньо близькими за активністю фотосинтетичної асиміляції CO_2 за оптимального поливу рослин з деякою перевагою у посухостійкості за цим показником у сорту 'Зимоярка'. Водночас, у полби короткотривала посуха найбільш істотно знижувала інтенсивність випаровування води з поверхні листка (транспірації) внаслідок різкого зменшення продихової провідності, що можна розглядати як адаптивну властивість, яка сприяє збереженню вологи за недостатнього її забезпечення. Саме завдяки зниженню продихової провідності та інтенсивності транспірації в полби за умов стресу зафіксовано найбільше зростання величини WUEi. Підвищення ефективності використання води вважають основним чинником посухотолерантності за тривалого водного дефіциту (Liang et al., 2023).

Варто також відзначити зростання рівня фотодихання відносно фотосинтезу в листках усіх досліджених генотипів, яке є типовою складовою реакції C_3 -рослин на посуху (Стасик, 2007). У рослин полби зафіксовано найбільше підвищення відношення фотодихання/фотосинтез і при цьому навіть доволі значне збільшення абсолютного рівня фотодихання, що було очевидно важливим чинником зниження інтенсивності фотосинтезу за умов посухи. Вважається, що основною причиною підвищення відносного рівня фотодихання за дефіциту зволоження є зниження продихової провідності, що зменшує надходження CO_2 в листок і, відповідно, співвідношення концентрацій CO_2/O_2 в стромі хлоропластів, яке, в свою чергу, є основним регулятором співвідношення карбоксилазної і оксигеназної активностей ферменту Рубіско (Ferne et al., 2014; Stasik, 2012). Крім того, фотодихання може підвищуватися внаслідок індукованих стресом порушень гліколатного метаболізму, зокрема

неензиматичного декарбоксилювання окремих його інтермедіатів, зменшення спряженості гліколатного циклу і циклу Кальвіна-Бенсона.

Водночас, зниження інтенсивності асиміляції CO_2 спричинює енергетичний дисбаланс в хлоропластах, який сприяє посиленню утворення токсичних активних форм кисню (АФК) і вільних радикалів внаслідок надлишку поглинутої світлової енергії і надмірного відновлення компонентів електронтранспортного ланцюга хлоропластів (Zahra et al., 2023). У зв'язку з цим погіршення енергетичної ефективності фотосинтезу в результаті активізації фотодихання вважається важливим протекторним механізмом, що захищає фотосинтетичний апарат від фотоінгібування і фотопшкоджень (Walker et al., 2024).

3.6.4. Зернова продуктивність у досліджуваних зразках рослин роду *Triticum* L. за умов ґрунтової посухи

Досліджувані генотипи істотно різнилися за зерною продуктивністю рослин за умов оптимального поливу і дії короткочасної посухи (рис. 3.20). Найбільша маса зерен, отриманих з усієї рослини, спостерігалася у спельти, а найменша у полби, проте достовірної різниці між спельтою та сортом 'Зимоярка' не було. Маса зерен рослин при дії короткочасної посухи у пшениці Зимоярки зменшилася на 10,7 % у порівнянні з оптимальним поливом, у спельти на 11,2 %, а у полби на 9 %. Вплив семидобової ґрунтової посухи на зернову продуктивність окремої рослини у всіх досліджуваних видів проявлявся у виді тенденції, оскільки достовірної різниці між варіантами з оптимальним поливом та короткочасною посухою не зафіксовано.

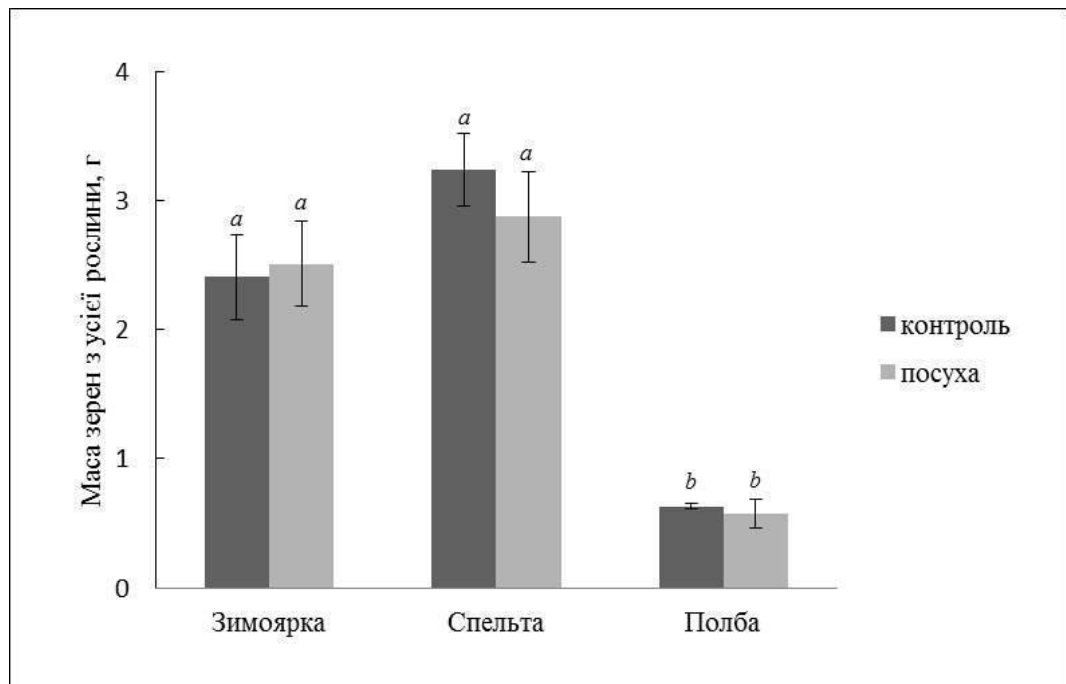


Рис. 3.20. Зернова продуктивність рослини в різних генотипів ярої пшениці за умов оптимального поливу та після семидобової ґрунтової посухи в фазу цвітіння.

3.6.5. Результати кореляційних залежностей між морфологією продихового апарату і показниками газообміну зразків рослин роду *Triticum*

Для з'ясування залежностей між морфологічними особливостями продихового апарату листків, фотосинтетичною активністю і посухостійкістю досліджених генотипів пшениці були розраховані коефіцієнти лінійного кореляційного зв'язку для цих показників (табл. 3.9 і 3.10). Розрахунки представлені лише для характеристик продихового апарату абаксіальної поверхні листка, яка в наших дослідженнях забезпечувала основний потік газообміну, оскільки верхня поверхня листка використовувалася для контролю температури. Також зазначимо, в даній роботі вивчалися лише три доволі контрастні за біологічними характеристиками генотипи, тому розраховані коефіцієнти кореляції слугують, головним чином, для ілюстрації залежностей між окремими показниками саме для досліджених видів і можуть не

відображати загальних закономірностей, для з'ясування яких необхідні дослідження з використанням значного більшої вибірки зразків.

Таблиця 3.9. Коефіцієнти лінійної кореляції Пірсона між характеристиками продихового апарату абаксіальної поверхні листка і показниками CO_2 - та H_2O -газообміну і зерною продуктивністю у генотипів ярої пшениці (I – довжина замикаючих клітин; II – площа продихової щілини; III – сумарна площа продихів; IV – інтенсивність фотосинтезу; V – інтенсивність транспірації; VI – продихова провідність; VII – WUE_i ; VIII – інтенсивність фотодихання; IX – маса зерна з рослини.

Показник	Кількість продихів	Довжина замикаючих клітин	Площа продихової щілини	Сумарна площа продихів	Фотосинтез	Транспірація	Продихова провідність	WUE_i	Фотодихання
I	-0,874								
II	-0,962	0,973							
III	0,818	-0,436	-0,630						
IV	0,724	-0,298	-0,509	0,989					
V	0,996	-0,829	-0,935	0,864	0,781				
VI	0,999	-0,852	-0,950	0,842	0,753	0,999			
VII	-0,824	0,995	0,947	-0,348	-0,206	-0,772	-0,799		
VIII	-0,999	0,849	0,947	-0,846	-0,758	-0,999	-1,000	0,795	
IX	-0,992	0,805	0,920	-0,884	-0,806	-0,999	-0,996	0,745	0,997

Дослідження морфології продихового апарату багатьох видів наземних рослин виявили сильну негативну кореляцію між кількістю продихів на одиницю площі поверхні листка та їх розмірами (Drake et al., 2018). Здебільшого еволюційні чи онтогенетичні зміни одного параметру компенсується протилежно направленою зміною іншого параметру. У нашому дослідженні полба мала найбільшу кількість продихів на обох поверхнях листової пластини, але розміри замикальних клітин і відповідно площа окремої продихової щілини у полби були найменшими. Зразки пшениці м'якої та спельти навпаки мали більші за розмірами продихової клітини, але меншу кількість продихів. Цю закономірність відображають високі коефіцієнти

негативної кореляції між кількістю продихів та їх розмірами (довжиною та площею продихової щілини) на абаксіальній поверхні (табл. 3.9). Останні два параметра тісно позитивно корелювали між собою. Незважаючи на компенсаторні залежності між кількістю і розмірами продихів, сумарна площа продихових щілин достовірно відрізнялася у досліджуваних видів. При цьому кількість продихів мала значно сильніший вплив на загальну площу продихових щілин ніж їх розміри, про що свідчить доволі високий коефіцієнт кореляції для цього показника і слабка негативна кореляція з сумарною площею для показників розміру продихів.

Високі значення коефіцієнтів кореляції кількості продихів з продиховою провідністю та інтенсивністю транспірації вказують, що перевага полби за інтенсивністю газообміну зумовлювалась більшою кількістю продихів, тоді як їх більші розміри навпаки негативно корелювали з швидкістю газообміну листків. Схожі результати отримані також для мутантів рису із зміненими кількістю і розмірами продихів (Pitaloka et al., 2022). Слід зазначити, що за літературними даними за нормальних природних умов ступінь відкритості продихів складає близько 20 % від максимально можливої, що пов'язано як з оптимізацією енергетичної ефективності контролю продихової апертури, так і з довільною орієнтацією листка в просторі, яка не забезпечує максимального поглинання світлової енергії (Harrison et al., 2019). Орієнтація листової пластинки перпендикулярно до світлового потоку в листовій камері газометричної установки при вимірюванні газообміну за насичуючого рівня освітлення сприяє більшому розкриванню продихів, що, очевидно, посилює кореляційний зв'язок інтенсивності газообміну з кількістю продихів. Аналіз опублікованих результатів експериментальних досліджень, які охоплювали близько 2000 видів рослин, показали превалюючу роль кількості продихів порівняно з їх розмірами в детермінуванні продихової провідності за оптимальних природних умов і повністю визначальну за умов, що сприяють максимальній продиховій провідності (Ochoa et al., 2024). Негативна залежність

кількості і розмірів продихів значною мірою зумовлює і негативну кореляцію між розмірами продихів і інтенсивністю газообміну.

Слабша кореляція характеристик продихового апарату з інтенсивністю видимого фотосинтезу порівняно з транспірацією чи продиховою провідністю зумовлена впливом протилежно направленого потоку CO_2 – фотодихання. Інтенсивність фотодихання сильно негативно корелювала з продиховою провідністю, що, очевидно, спричинювалося згаданою вище залежністю фотодихання від співвідношення концентрацій CO_2/O_2 .

Таблиця 3.10. Коефіцієнти лінійної кореляції Пірсона між характеристиками продихового апарату абаксіальної поверхні листка і показниками CO_2 - і H_2O -газообміну та зернової продуктивності підданих посуші рослин відносно контрольних у генотипів ярої пшениці

Показник	Фотосинтез	Транспірація	Продихова провідність	WUEi	Фотодихання	Маса зерна з рослини
Кількість продихів	-0,823	-0,972	-0,981	0,834	0,999	0,980
Довжина замикальних клітин	0,995	0,964	0,952	-0,461	-0,849	-0,761
Площа продихової щілини	0,946	0,999	0,997	-0,652	-0,947	-0,889

Водночас за оптимальних умов поливу відзначено позитивну кореляцію показників розміру продихів з WUEi і зерновою продуктивністю, яка базується на перевазі сорту Зимоярки і спельти над полбою за цими характеристиками. Ці відмінності пов'язують із збільшенням плоїдності геному (Harrison et al., 2019). Варто зазначити, що негативна кореляція між інтенсивністю фотосинтезу і продуктивністю, яка спостерігалася в наших дослідях, є типовою для досліджень вибірок генотипів, що включають культурні види і слабоокультурені види пшениць із ксероморфною структурою листків (Стасик, 2007). Навпаки, інтенсивність фотодихання позитивно корелює з продуктивністю різних видів і

сортів пшениці незалежно від варіацій інтенсивності фотосинтезу, що зумовлено важливими регулярними і протекторними функціями фотодихання в продукційному процесі рослин за змінних умов довкілля (Стасик, 2009).

Характеристики продихового апарату тісно і різнонаправлено корелювали із ступенем збереження функціональної активності (рівня показника) за впливу посухи порівняно з контролем за оптимального поливу, відображаючи особливості досліджених генотипів (табл. 3.10). У листках полби з більшою кількістю продихів продихова провідність зменшувалася сильніше ніж в інших генотипів, посилюючи продихове лімітування фотосинтез, але при цьому сильніше підвищуючи WUE_i і фотодихання. Протилежна залежність відзначалася для показників розміру продихів. Загалом показано, що менші розміри замикаючих клітин сприяють швидшій реакції на зміни навколишнього середовища (Harrison et al., 2019). Крім того, листки полби є ксероморфними із великою кількістю трихом (опушенням листових пластинок). Така особливість сприяє зменшенню швидкості дифузії у примежовому шарі листків і відповідно листової провідності та інтенсивності транспірації у рослин *T. dicoccum* за умов посухи. Інгібування фотосинтезу при цьому було трохи меншим, ніж транспірації, що сприяло ефективнішому використанню води рослиною.

Кількість продихів позитивно, а показники їх розміру негативно, корелювали із ступенем збереження зернової продуктивності рослин. Дещо ліпша ефективність використання вологи, підвищена активність фотодихання як важливого регуляторного і захисного механізму за умов посухи зумовлювали тенденцію до трохи меншого зниження зернової продуктивності у рослин полби порівняно з іншими генотипами. Цьому сприяли менші розміри продихів і їх більша кількість завдяки можливості забезпечувати швидшу адаптацію до змінних умов довкілля та ефективне використання світлової енергії і наявних ресурсів вологи.

3.6.6. Висновки до підрозділу 3.6.

Виявлено, що рослини полби *T. dicoccum* var. *aeruginosum* мають найбільшу кількість продихів на одиницю площі з обох поверхонь листової пластини. Проте розміри замикаючих клітин і площа продихової щілини є найменшими у порівнянні із *T. spelta* var. *album* та *T. aestivum* сорту 'Зимоярка'. Такі особливості у морфології продихового апарату *T. dicoccum* впливають на продихову провідність та інтенсивність CO₂- і H₂O-газообміну. Встановлено, що більша кількість продихів на одиницю площі листка у *T. dicoccum* сприяє вищим продиховій провідності й інтенсивності транспірації, але дещо меншій ефективності використання води при фотосинтезі за умов високої інтенсивності світла та оптимального поливу. Внаслідок сильної негативної кореляції між кількістю продихів та їх розмірами більші розміри замикаючих клітин у *T. spelta* та *T. aestivum* негативно корелюють із інтенсивністю газообміну за оптимальних умов. За дії короткочасної ґрунтової посухи більша кількість менших за розмірами продихів у *T. dicoccum* асоціювалася із значним зниженням продихової провідності, але водночас підвищенням ефективності використання води та інтенсивності фотодихання, які є важливими компонентами адаптації до умов обмеженого вологозабезпечення.

Публікації по розділу 3.6.

1. Римар Ю.Ю., Проніна О.В., Кірзій Д.А., Дуплій В.П., Моргун Б.В., Стасик О.О. Характеристика продихового апарату прапорцевого листка у зв'язку з інтенсивністю газобміну і посухостійкістю у споріднених видів ярої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 57 (1), 64–82. <https://doi.org/10.15407/frg2025.01.064> (Здобувачка опрацьовувала літературні джерела, брала участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, проаналізувала первинний матеріал, брала участь у написанні статті, підготувала матеріал до друку).

3.7. Взаємозв'язок поліморфізму алелів генів з морфологією продихового апарату

Дослідження морфології продихового апарату є фундаментальними для розуміння адаптивних стратегій пшениці м'якої та її споріднених видів. Особливості морфології продихів безпосередньо впливають на ефективність транспірації та асиміляції CO₂, що є критично важливим для посухостійкості та продуктивності рослин. Однак, для глибокого і всебічного розуміння біогенезу та функціонування продихового апарату недостатньо лише морфологічних даних. Повноцінний аналіз вимагає інтеграції фенотипових спостережень у відмінностях параметрів морфології продихів з молекулярно-генетичними даними, зокрема з вивченням поліморфних алелів у генах, що контролюють розвиток продихів, зокрема *EPF1*, *EPF2* та *MUTE*. Ідентифікація та характеристика таких алелів у пшениці м'якої дозволила встановити взаємозв'язки між конкретними генетичними варіантами та змінами у морфології продихів.

Для встановлення потенційного зв'язку відмінностей в генетичних послідовностях важливих генів біогенезу продихів був проведений статистичний аналіз. Для цього взяті отримані дані морфології продихового апарату для пшениці м'якої та дані молекулярно-генетичного аналізу, які включають 11 ДНК-маркерів на виявлення поліморфізму у кодуючих та промоторних нуклеотидних послідовностях. Результати представлені в таблиці 3.11.

Крім розроблених ДНК-маркерів, що визначають поліморфізм в промоторах генів *EPF1* та *EPF2* використовували ДНК-маркери (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1), які визначають поліморфізм в кодуючій частині генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* (E1A1, E1B1, E1B2, E1D1, E1D2, E2A1 і MD1). Детектований поліморфізм в нуклеотидних послідовностях промотора генів *EPF1*, *EPF2* описаний в підрозділі 3.3. ДНК-маркер E1A1 визначає одонуклеотидний поліморфізм T→G в позиції +274 гена *EPF1-A*, який

характерний для сорту 'Подільянка'. Система ДНК-маркера E1B1 використана для детекції одонуклеотидної заміни C→T в позиції +273 гена *EPF1-B1*. E1B2 дозволяє детектувати одонуклеотидну заміну T→C в положенні +273, або інсерцію довжиною 6 пн в положенні +276. За допомогою ДНК-маркера E1D1 визначали наявність делеції розміром 4 пн в промоторі гена *EPF1-D1* (в положенні -9 від старту транскрипції). За допомогою ДНК-маркера E1D2 детектували інсерцію в нуклеотидній послідовності гена *EPF1-D1* в позиції +250 від початку транскрипції. Система E2A1 використана для визначення одонуклеотидної заміни G→A гена *EPF2-A1* в позиції +451 від старту транскрипції. ДНК-маркер MD1 використовувався для детекції SNP A→T *MUTE-D1* в позиції +652 від старту транскрипції (Римар, 2025).

Таблиця 3.11. Результати однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) взаємозв'язку детектованих поліморфізмів у кодуєчих і промоторних частинах генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* з морфологічними ознаками продихового апарату.

Локус	Кількість продихів	Довжина замикаючої клітини	Ширина замикаючої клітини	Довжина щілини	Ширина щілини	Площа продихових щілин
E1.1	7,06e-01	4,25e-01	9,74e-01	5,62e-04	2,98e-09	4,54e-10
E1.2	9,16e-04	4,20e-02	8,41e-07	5,40e-06	2,54e-15	1,05e-18
E1.3	4,97e-09	1,21e-10	6,12e-01	4,27e-09	1,39e-04	8,69e-10
E1.4	1,86e-03	8,21e-01	5,10e-01	3,83e-02	5,30e-06	2,00e-06
E1.5	1,07e-07	1,06e-06	1,70e-02	6,40e-01	4,27e-05	9,09e-04
E2.1	7,56e-05	1,07e-02	2,88e-01	8,16e-01	1,82e-01	3,16e-01
M1	1,33e-01	9,50e-05	6,00e-01	9,84e-03	1,92e-01	8,53e-01
E1.6	6,67e-01	1,49e-01	6,39e-01	1,67e-02	5,58e-08	2,55e-08
E1.7	1,39e-06	1,30e-14	6,03e-07	7,24e-13	4,58e-03	1,87e-06
E1.8	1,26e-09	2,68e-27	1,45e-01	1,58e-12	6,27e-07	2,76e-01
E2.2	5,08e-20	2,84e-27	1,92e-01	1,91e-10	4,12e-07	1,87e-01

Примітка: світло-сірим – дані значущості при $p < 0,05$; сірим – при $p < 0,01$; темно-сірим – $p < 0,001$.

Наразі нами зібрано об'ємні дані виборок для 19 культурних сортів та селекційних ліній пшениці м'якої. Мінімум 20 клітин обмірювалися для кожної поверхні листка. Така кількість даних уможливила ґрунтовні статистичні

обрахунки методом однофакторного дисперсійного аналізу кожної характеристики продихового апарату в залежності від детектованого поліморфізму. Отримані показники значущості градуйовано за трьома рівнями: $p < 0,05$; $p < 0,01$ і $p < 0,001$. Тож, результати статистичної обробки цього набору даних свідчать про наявний високий взаємозв'язок дослідженого поліморфізму нуклетидних послідовностей із морфологічними характеристиками продихового апарату, особливо для продихової щілини та кількості продихів на одиницю площі листової пластини, а також на розміри замикаючої клітини. Безпосередньо, у промоторних частинах найсильніше зміни нуклеотидної послідовності у локусі E2.2 гена *EPF2* впливають на формування кількості продихів і довжину замикаючої клітини ($p < 2,84 \times 10^{-27}$ і $p < 5,08 \times 10^{-20}$ відповідно), а у гена *EPF1* – на довжину замикаючої клітини ($p < 2,68 \times 10^{-27}$). Стосовно кодуючої частини, то поліморфізм локусу E1.2 має найсильніший ($p < 2,54 \times 10^{-15}$ і $p < 1,05 \times 10^{-18}$) вплив на ширину щілини і площу продихових щілин, відповідно. Разом з тим, варто відмітити, що вплив локусів E1.8 та E2.2 скоріш за все взаємно компенсується і тому площа щілини в решті решт не змінюється. Саме такий інтегрований аналіз морфологічних особливостей продихів у поєднанні з ідентифікацією асоційованих генетичних маркерів забезпечує всебічне розуміння механізмів адаптації рослин до абіотичного стресу.

Отже, виявлена кореляція між генетичними змінами та морфологією продихового апарату стає підґрунтям для подальших досліджень особливостей біогенезу продихового апарату з використанням сучасних, інноваційних біотехнологічних підходів. У випадку маніпулюванням дії продихового апарату, досліджені локуси ДНК були б перспективними пріоритетними цілями для направленої редагування геному.

3.7.1. Висновки до підрозділу 3.7.

Досліджено вплив відмінностей нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* на формування структур продихового апарату пшениці

м'якої. У цілому 11 поліморфних локусів порівняли з 7 параметрами морфології дихалець. Завдяки використанню однофакторного статистичного аналізу вдалося встановити високий кореляційний зв'язок для більшості досліджуваних локусів з розмірами продихової щілини, кількістю продихів на одиницю площі листової пластини тощо.

Публікації по розділу 3.7.

1. Lakhneko, O., Stepanenko, A., **Rymar, Yu.**, Yaroshko, O., Velykozhan, L., Morgun, B. (2025). PCR analysis of stomata biogenesis genes in common wheat varieties. *«Біотехнологія XXI століття»: Матеріали XIX Міжнародної науково-практичної конференції.* (16 травня 2025 р., м. Київ) – Київ: КПІ ім. Сікорського, 2025. – с. 139–140. (Здобувачка проводила частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, підготувала матеріал до друку);
2. Stepanenko A., Lakhneko O., **Rymar Y.**, Morgun B., Borysyuk M. (2024) Modulation of leaf surface features for improved wheat drought tolerance. *10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology.* Kyiv, Ukraine, 25-26 June, 2024, P. 26. (Здобувачка провела частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, описала їх).
3. Stepanenko A., Lakhneko O., **Rymar Y.**, Morgun B., Borisjuk N. (2023) Leaf surface features, composition of cuticle and frequency of stomata, affect drought tolerance in wheat. *У: Translational Research in Crops*, 22–23 червня 2023 р., Ghent, Belgium. (Здобувачка провела частину експериментальних досліджень, здійснила аналіз отриманих даних, описала їх).

ВИСНОВКИ

Зібрана колекція злаків роду *Triticum* дозволила вивчити і порівняти морфологію та функціонування продихового апарату, встановити наявність поліморфізму в промоторах генів біогенезу продихів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE*; виявити взаємозв'язок особливостей морфології продихового апарату з його функціонуванням і кореляцію з поліморфними алелями генів біогенезу продихів. Серед досліджуваних злакових рослин виявлені зразки, які мають стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя, що має практичне значення.

1. Для аналізу продихового апарату і молекулярно-генетичного скринінгу алельних варіантів генів біогенезу продихів зібрано колекцію (214 зразків) пшениці, споріднених видів та міжвидових гібридів, включаючи унікальні зразки злаків. Зразки колекції охарактеризовані за морфологічними, агрономічними характеристиками і стійкістю до збудників грибних інфекцій.

2. Встановлено, що найвища стійкість до збудників борошнистої роси та септоріозу листя серед озимих злаків притаманна рослинам, які поєднують пшенично-житні геноми (ABR чи ABDR), та з двома субгеномами AB (*T. durum*); серед ярих злакових найвища стійкість притаманна *T. dicoccum* (геном AB) та *T. spelta* var. *album* (геном ABD).

3. Вперше вивчено нуклеотидні послідовності й анотовано поліморфні та консервативні локуси у промоторних ділянках генів біогенезу продихів пшениці м'якої. У нуклеотидних послідовностях промоторів генів *EPF1*, *EPF2* і *MUTE* виявлено численні одонуклеотидні заміни й інсерції/делеції, більшість з яких мають вплив на *цис*-регуляторні елементи. Найбільшу кількість відмінностей спостерігали у промоторі гена *EPF1* з субгеному D. Проте, між нуклеотидними послідовностями промоторів генів *EPF2-A1*, *EPF2-D1* і *MUTE-B1* посухостійкого сорту 'Подольська' і посухочутливого сорту 'Наталка' не було виявлено відмінностей.

4. Вперше розроблено й апробовано 5 ДНК-маркерів й оптимізовано параметри ПЛР для визначення поліморфізму в промоторних ділянках генів *EPF1* та *EPF2* (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE1D2, prE2B1). Визначено частоти зустрічання поліморфних алелів у колекціях злакових: найчастіше зустрічаються дві однонуклеотидні заміни A→G та A→C в промоторній ділянці гена *EPF1* з субгеному A. Частота цих замін є найвищою в українських сортів пшениці м'якої і складає 0,89; у колекції CIMMYT – 0,81; а серед співродичів пшениці та міжвидових гібридів – 0,56. Інсерція у промоторному регіоні гена *EPF2* з субгеному B найрідше детектується у диких співродичів пшениці та зовсім не виявляється у колекції CIMMYT. За частотою поширення поліморфних алелів (prE1A1, prE1B1, prE1D1, prE2B1) співродичі пшениці найбільше відрізняються від пшениці м'якої української й іноземної селекції.

5. Вперше вивчено морфологічні параметри продихового апарату в рослин *T. sinskajae*, *T. dicoccum* та *T. sphaerococcum*. Серед проаналізованих видів роду *Triticum* найбільше вирізняються рослини *T. sinskajae* та *T. dicoccum*, особливо за кількістю продихів на одиницю площі поверхні листка і їх розмірами. У рослин виду *T. sinskajae* кількість продихів на одиницю площі поверхні листка є найменшою, а у *T. dicoccum* – найбільшою.

Уточнено морфологічні параметри продихового апарату *T. aestivum* озимого типу розвитку – знайдено морфологічно відмінні генотипи. Встановлено, що три досліджувані селекційні лінії, які походять з Північної Америки: «Карликова», «Остиста, короткостеблова» та «Короткоостиста», суттєво відрізняються за одним із параметрів продихового апарату: «Короткоостиста» – за більшою кількістю продихів на адаксіальній поверхні листка; «Карликова» – зростанням сумарної площі продихових щілин на одиницю площі поверхні листової пластинки на адаксіальній стороні; «Остиста, короткостеблова» – має меншу сумарну площу продихових щілин на абаксіальній стороні й одночасно проявляє тенденцію до зниження сумарної площі продихів абаксіальної поверхні листка.

Серед досліджуваних іноземних сортів рослин пшениці м'якої знайдено контрастні генотипи за кількістю продихів і загальною площею продихових щілин на одиницю площі поверхні листка. Максимальну кількість продихів як на адаксіальній, так і на абаксіальній поверхні мали рослини сорту 'Колонія'. Рослини сорту 'Реформ' мали максимальну загальну площу продихових щілин на одиницю площі адаксіальної та абаксіальної поверхні листка.

6. Визначено фізіологічні параметри транспірації та фотосинтезу для різних видів роду *Triticum* за умов оптимального поливу і ґрунтової посухи. Встановлено, що більша кількість продихів на одиницю площі листка у *T. dicoccum* сприяє підвищенню продихової провідності й інтенсивності транспірації та дещо меншій ефективності використання води при фотосинтезі за умов високої інтенсивності світла й оптимального поливу. Разом з тим, більші розміри замикаючих клітин у *T. spelta* та *T. aestivum* негативно корелюють з інтенсивністю газообміну за оптимальних умов. За дії короткочасної ґрунтової посухи більша кількість менших за розмірами продихів у *T. dicoccum* асоціюється зі значним зниженням продихової провідності, але підвищенням ефективності використання води й інтенсивності фотодихання, які є важливими компонентами адаптації до умов обмеженого вологозабезпечення.

7. Вперше показана кореляція між відмінностями досліджених нуклеотидних послідовностей генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* і морфологією продихів у пшениці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

A guide to photosynthetic gas exchange measurements: Fundamental principles, best practice and potential pitfalls / F. A. Busch та ін. *Plant, Cell & Environment*. 2024. URL: <https://doi.org/10.1111/pce.14815>.

Acevedo-Hernández G. J., León P., Herrera-Estrella L. R. Sugar and ABA responsiveness of a minimal RBCS light-responsive unit is mediated by direct binding of ABI4. *The Plant Journal*. 2005. Т. 43, № 4. С. 506–519. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2005.02468.x>.

Ancient wheat species and human health: Biochemical and clinical implications / M. Dinu та ін. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2018. Т. 52. С. 1–9. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.09.001>.

Ausubel S., Frederick M., Roger B., Kingston R., Moore D., Seidman J., Smith John A. (2001). *Current Protocols in Molecular Biology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc

Babenko, L. M., Hospodarenko, H. M., Rozhkov, R. V., Pariy, Y. F., Pariy, M. F., Babenko, A. V., & Kosakivska, I. V. (2018). *Triticum spelta*: Origin, biological characteristics and perspectives for use in breeding and agriculture. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(2), 250–257. <https://doi.org/10.15421/021837>

Babenko, L. M., Rozhkov, R. V., Pariy, Y. F., Pariy, M. F., Vodka, M. V., & Kosakisvska, I. V. (2017). *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl.: Origin, biological characteristics and perspectives of use in breeding and agriculture. *Visnik Harkivs'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu. Seriâ Biologiâ*, 2017(2), 92–102. <https://doi.org/10.35550/vbio2017.02.092>

Balla, M. Y., Gorafi, Y. S. A., Kamal, N. M., Abdalla, M. G. A., Tahir, I. S. A., & Tsujimoto, H. (2022). Harnessing the diversity of wild emmer wheat for genetic improvement of durum wheat. *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik*, 135(5), 1671–1684. <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04062-7>

Berry J. A., Beerling D. J., Franks P. J. Stomata: key players in the earth

system, past and present. *Current Opinion in Plant Biology*. 2010. T. 13, № 3. C. 232–239. URL: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.013>.

Bertolino Lígia T. , Caine Robert S. , Gray Julie E. Impact of Stomatal Density and Morphology on Water-Use Efficiency in a Changing World. *Frontiers in Plant Science*. Volume 10 (2019) DOI:10.3389/fpls.2019.00225

Buckley, T. N., & Mott, K. A. (2013). Modelling stomatal conductance in response to environmental factors. *Plant, Cell & Environment*, 36(9), 1691–1699. <https://doi.org/10.1111/pce.12140>

Caine, R. S., Chater, C. C., Kamisugi, Y., Cuming, A. C., Beerling, D. J., Gray, J. E., & Fleming, A. J. (2016). An ancestral stomatal patterning module revealed in the non-vascular land plant *Physcomitrella patens*. *Development (Cambridge, England)*, 143(18), 3306–3314. <https://doi.org/10.1242/dev.135038>

Chambers, J. M. and Hastie, T. J. (1992) Statistical Models in S, Wadsworth & Brooks/Cole.

Cis-Regulatory Elements for Mesophyll-Specific Gene Expression in the C4 Plant *Flaveria trinervia*, the Promoter of the C4 Phosphoenolpyruvate Carboxylase Gene / U. Gowik та ін. *The Plant Cell*. 2004. T. 16, № 5. C. 1077–1090. URL: <https://doi.org/10.1105/tpc.019729> .

Consensus genomic regions associated with multiple abiotic stress tolerance in wheat and implications for wheat breeding / M. J. Tanin та ін. *Scientific Reports*. 2022. T. 12, № 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18149-0>.

Dietrich P., Sanders D., Hedrich R. The role of ion channels in light-dependent stomatal opening. *Journal of Experimental Botany*. 2001. T. 52, № 363. C. 1959–1967. URL: <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.363.1959>.

Differential Effects of the Peptides Stomagen, EPF1 and EPF2 on Activation of MAP Kinase MPK6 and the SPCH Protein Level / P. K. Jewaria та ін. *Plant and Cell Physiology*. 2013. T. 54, № 8. C. 1253–1262. URL: <https://doi.org/10.1093/pcp/pct076>.

Direct interaction of ligand-receptor pairs specifying stomatal patterning / J. S. Lee та ін. *Genes & Development*. 2012. T. 26, № 2. C. 126–136. URL:

<https://doi.org/10.1101/gad.179895.111>.

Dow, G. J., Bergmann, D. C., & Berry, J. A. (2014). An integrated model of stomatal development and leaf physiology. *The New phytologist*, 201(4), 1218–1226. <https://doi.org/10.1111/nph.12608>

Drake, J.E., Tjoelker, M.G., Vårhammar, A., Medlyn, B.E., Reich, P.B., Leigh, A., Pfautsch, S., Blackman, C.J., López, R., Aspinwall, M.J., Crous, K.Y., Duursma, R.A., Kumarathunge, D., De Kauwe, M.G., Jiang, M., Nicotra, A.B., Tissue, D.T., Choat, B., Atkin, O.K., Barton, C.V.M. Trees tolerate an extreme heatwave via sustained transpirational cooling and increased leaf thermal tolerance. *Glob. Change Biol.* 2018. No. 6. P. 2390–2402. <https://doi.org/10.1111/gcb.14037>

Drought Tolerance in Plants: Physiological and Molecular Responses / M. Haghanah та ін. *Plants*. 2024. Т. 13, № 21. С. 2962. URL: <https://doi.org/10.3390/plants13212962>.

Dutton, C., Hörak, H., Hepworth, C., Mitchell, A., Ton, J., Hunt, L., & Gray, J. E. (2019). Bacterial infection systemically suppresses stomatal density. *Plant, cell & environment*, 42(8), 2411–2421. <https://doi.org/10.1111/pce.13570>

Editorial: Linking Stomatal Development and Physiology: From Stomatal Models to Non-model Species and Crops / S. A. M. McAdam та ін. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Т. 12. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.743964>.

Edwards D., Kerp H., Hass H. Stomata in early land plants: an anatomical and ecophysiological approach. *Journal of Experimental Botany*. 1998. Т. 49, Special. С. 255–278. URL: https://doi.org/10.1093/jxb/49.special_issue.255.

Ensembl genome database for Triticum aestivum https://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Info/Index

Epidermal Cell Density is Autoregulated via a Secretory Peptide, EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 2 in Arabidopsis Leaves / K. Hara та ін. *Plant and Cell Physiology*. 2009. Т. 50, № 6. С. 1019–1031. URL: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp068>

EPIDERMAL PATTERNING FACTOR LIKE5 peptide represses stomatal development by inhibiting meristemoid maintenance in *Arabidopsis thaliana* / T. Niwa

та іН. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2013. Т. 77, № 6. С. 1287–1295. URL: <https://doi.org/10.1271/bbb.130145>

Erenstein, O., Jaleta, M., Sonder, K. *et al.* Global maize production, consumption and trade: trends and R&D implications. *Food Sec.* 14, 1295–1319 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12571-022-01288-7>

Evaristo J., Jasechko S., McDonnell J. J. Global separation of plant transpiration from groundwater and streamflow. *Nature*. 2015. Т. 525, № 7567. С. 91–94. URL: <https://doi.org/10.1038/nature14983>

Evolutionary Relationship and Structural Characterization of the EPF/EPFL Gene Family / N. Takata та іН. *PLoS ONE*. 2013. Т. 8, № 6. С. e65183. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065183>

Fernie, A.R., Bauwe, H., Eisenhut, M., Florian, A., Hanson, D.T., Hagemann, M., Keech, O., Mielewczik, M., Nikoloski, Z., Peterhänsel, C., Roje, S., Sage, R., Timm, S., von Cammerer, S., Weber, A.P.M., Westhoff, P. Perspectives on plant photorespiratory metabolism. *Plant Biol. J.* 2012. No 4. P. 748–753. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00693.x>

Guo X., Wang L., Dong J. Establishing asymmetry: stomatal division and differentiation in plants. *New Phytologist*. 2021. Т. 232, № 1. С. 60–67. URL: <https://doi.org/10.1111/nph.17613>

Guo, X., Wang, L., & Dong, J. (2021). Establishing asymmetry: stomatal division and differentiation in plants. *New Phytologist*, 232(1), 60–67. <https://doi.org/10.1111/nph.17613>

H. Bi та іН. Overexpression of the TaSHN1 transcription factor in bread wheat leads to leaf surface modifications, improved drought tolerance, and no yield penalty under controlled growth conditions. *Plant, Cell & Environment*. 2018. Т. 41, № 11. С. 2549–2566. URL: <https://doi.org/10.1111/pce.13339>

Han, S.-K., Qi, X., Sugihara, K., Dang, J. H., Endo, T. A., Miller, K. L., ... Torii, K. U. (2018). MUTE Directly Orchestrates Cell-State Switch and the Single Symmetric Division to Create Stomata. *Developmental Cell*, 45(3), 303–315.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.04.010>

Harrison, E.L., Arce Cubas, L., Gray, J.E. and Hepworth, C. The influence of stomatal morphology and distribution on photosynthetic gas exchange. *Plant J.* 2019. No. 4. P. 768–779. <https://doi.org/10.1111/tpj.14560>

Harrison, E.L., Arce Cubas, L., Gray, J.E., Hepworth, C. The influence of stomatal morphology and distribution on photosynthetic gas exchange. *The Plant J.* 2019. No 4. C. 768–779. <https://doi.org/10.1111/tpj.14560>

Haworth, M., Marino, G., Loreto, F., Centritto, M. Integrating stomatal physiology and morphology: evolution of stomatal control and development of future crops. *Oecologia.* 2021. P. 867-883. <https://doi.org/10.1007/s00442-021-04857-3>

Hetherington A.M., Woodward F.I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature.* 2003. No 6951. P. 901–908. <https://doi.org/10.1038/nature01843>

Higo, K., Ugawa, Y., Iwamoto, M. and Korenaga, T. "Plant cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database: 1999" *Nucleic Acids Research*, Volume 27, Issue 1, 1999, Pages 297-300. <https://doi.org/10.1093/nar/27.1.297>

Hsu, J.C. Multiple comparisons theory and methods. Department of Statistics, Ohio State University. USA, 1996. Chapman Hall/CRC.

Hughes, J.*et al.*(2017). Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiol.*, 174(2), pp. 776–787.

Hunt L., Gray J. E. The Signaling Peptide EPF2 Controls Asymmetric Cell Divisions during Stomatal Development. *Current Biology.* 2009. T. 19, № 10. C. 864–869. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.069>

Hunt, L., Fuksa, M., Klem, K., Lhotáková, Z., Oravec, M., Urban, O., & Albrechtová, J. (2021). Barley Genotypes Vary in Stomatal Responsiveness to Light and CO₂ Conditions. *Plants* (Basel, Switzerland), 10(11), 2533. <https://doi.org/10.3390/plants10112533>

Identification and characterization of wheat drought-responsive MYB transcription factors involved in the regulation of cuticle biosynthesis / H. Bi та ін. *Journal of Experimental Botany.* 2016. T. 67, № 18. C. 5363–5380. URL: <https://doi.org/10.1093/jxb/erw298>

Identification of a plastid response element that acts as an enhancer within the *Chlamydomonas* HSP70A promoter / E. D. von Gromoff та ін. *Nucleic Acids Research*. 2006. Т. 34, № 17, С. 4767–4779. URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkl602>

Increasing water-use efficiency directly through genetic manipulation of stomatal density / P. J. Franks та ін. *New Phytologist*. 2015. Т. 207, № 1. С. 188–195. URL: <https://doi.org/10.1111/nph.13347>

Influencing factors for transpiration rate: A numerical simulation of an individual leaf system / Y. Zhu та ін. *Thermal Science and Engineering Progress*. 2022. Т. 27. С. 101110. URL: <https://doi.org/10.1016/j.tsep.2021.101110>

Integrating genomic resources to present full gene and putative promoter capture probe sets for bread wheat / L.-J. Gardiner та ін. *GigaScience*. 2019. Т. 8, № 4. URL: <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz018>

Khan, A., Ahmad, M., Ahmed, M., & Iftikhar Hussain, M. (2020). Rising Atmospheric Temperature Impact on Wheat and Thermotolerance Strategies. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(1), 43. <https://doi.org/10.3390/plants10010043>

Lakhneko, O., Stepanenko, A., Rymar, Y., Borysyuk, M., Morgun, B. (2024). Sequence comparison of MUTE promoters between two wheat cultivars revealed both conservative and diverged regions. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 13(6). <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9662>

Lakhneko, O., Stepanenko, A., Rymar, Y., Borysyuk, M., Morgun, B. (2022) Variability of promoter regions of MUTE homeologous genes in bread wheat. Book of reviewed from the 15th International Scientific Conference FOOD|BIO|TECH, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, 5-6 October 2022, Nitra, Slovak Republic – p. 52. <https://doi.org/10.15414/2022.9788055225173>

Lakhneko, O., Stepanenko, A., Rymar, Yu., Yaroshko, O., Velykozhon, L., Morgun, B. (2025). PCR analysis of stomata biogenesis genes in common wheat varieties. «Біотехнологія XXI століття»: Матеріали XIX Міжнародної науково-практичної конференції. (16 травня 2025 р., м. Київ) – Київ: КПП ім. Сікорського, 2025. – с. 139–140. <http://conf.biotech.kpi.ua/article/view/329856>

Larkin J. C., Brown M. L., Schiefelbein J. Lessons from epidermal patterning

in arabidopsis. *Annual Review of Plant Biology*. 2003. T. 54, № 1. C. 403–430. URL: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134823>

Lawson, T., & Matthews, J. (2020). Guard Cell Metabolism and Stomatal Function. *Annual review of plant biology*, 71, 273–302. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100251>

Le, J., Liu, X.-G., Yang, K.-Z., Chen, X.-L., Zou, J.-J., Wang, H.-Z., ... Sack, F. (2014). Auxin transport and activity regulate stomatal patterning and development. *Nature Communications*, 5(1), 3090. <https://doi.org/10.1038/ncomms4090>

Liang, J., Krauss, K.W., Finnigan, J., Stuart-Williams, H., Farquhar, G.D., Ball, M.C. Linking water use efficiency with water use strategy from leaves to communities. *New Phytol.* 2023. No 9. P. 1735-1742. <https://doi.org/10.1111/nph.19308>

Lisova, H., Rymar, Y., Morgun, B. (2024) Wheat genome and resistance to powdery mildew and septoria leaf spot. National Conference with International Participation ‘Natural Sciences in the Dialogue of Generations’, Chisinau, Moldova, September 12-13, 2024. P. 73. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/215333

Managing drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) production: strategies and impacts / M. Mutanda та ін. *South African Journal of Plant and Soil*. 2025. C. 1–12. URL: <https://doi.org/10.1080/02571862.2025.2497229>

Manipulating stomatal density enhances drought tolerance without deleterious effect on nutrient uptake / C. Hepworth та ін. *New Phytologist*. 2015. T. 208, № 2. C. 336–341. URL: <https://doi.org/10.1111/nph.13598>

Mellander P.-E., Bishop K., Lundmark T. The influence of soil temperature on transpiration: a plot scale manipulation in a young Scots pine stand. *Forest Ecology and Management*. 2004. T. 195, № 1-2. C. 15–28. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.02.051>

Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., & He, S. Y. (2006). Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 126(5), 969–980. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.054>

Melotto, M., Zhang, L., Oblessuc, P. R., & He, S. Y. (2017). Stomatal Defense

a Decade Later. *Plant physiology*, 174(2), 561–571.
<https://doi.org/10.1104/pp.16.01853>

Mobile MUTE specifies subsidiary cells to build physiologically improved grass stomata / M. T. Raissig та ін. *Science*. 2017. T. 355, № 6330. C. 1215–1218.
 URL: <https://doi.org/10.1126/science.aal3254>

Moore, C. E., Meacham-Hensold, K., Lemonnier, P., Slattery, R. A., Benjamin, C., Bernacchi, C. J., Lawson, T., & Cavanagh, A. P. (2021). The effect of increasing temperature on crop photosynthesis: From enzymes to ecosystems. *Journal of Experimental Botany*, 72(8), 2822–2844. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab090>

Morgun, V. V., Sichkar, S. M., Pochinok, V. M., Ninieva, A. K., & Chugunkova, T. V. (2016). Characterization of spelt collection samples (*Triticum spelta* L.) by elements of plant productivity structure and baking quality. *Fiziologia rastenij i genetika*, 48(2), 112–119. <https://doi.org/10.15407/frg2016.02.112>

Morhun V. V., Sanin Ye. V., Schwartz V. V. Klub 100 tsentneriv. Suchasni sorty ta systemy zhyvlennia i zakhystu ozymoi pshenytsi. 8-me vyd. Kyiv : Lohos, 2014. 150 s. [in Ukrainian]

Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 1980. T. 8, № 19, C. 4321–4326. URL: <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>

Nadeau J. A. Control of Stomatal Distribution on the Arabidopsis Leaf Surface. *Science*. 2002. T. 296, № 5573. C. 1697–1700. URL: <https://doi.org/10.1126/science.1069596>

Nunes T. D. G., Zhang D., Raissig M. T. Form, development and function of grass stomata. *The Plant Journal*. 2019. T. 101, № 4. C. 780–799. URL: <https://doi.org/10.1111/tpj.14552>

Nunes T. D. G., Zhang D., Raissig M. T. Form, development and function of grass stomata. *The Plant Journal*. 2019. T. 101, № 4. C. 780–799. URL: <https://doi.org/10.1111/tpj.14552>

Ochoa, M.E., Henry, C., John, G., Medeiros, C., Pan, R., Scoffoni, C., Buckley, T.N., Sack, L. Pinpointing the causal influences of stomatal anatomy and behavior on

minimum, operational, and maximum leaf surface conductance. *Plant Physiol.* 2024. No. 1. P. 51-66. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiae292>

Panchal, S., & Melotto, M. (2017). Stomate-based defense and environmental cues. *Plant signaling & behavior*, 12(9), e1362517. <https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1362517>

Pillitteri L. J., Torii K. U. Mechanisms of Stomatal Development. *Annual Review of Plant Biology*. 2012. T. 63, № 1. C. 591–614. URL: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105451>

Pillitteri, L. J., & Torii, K. U. (2012). Mechanisms of stomatal development. *Annual review of plant biology*, 63, 591–614. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105451>

Pitaloka, M.K., Caine, R.S., Hepworth, C., Harrison, E.L., Sloan, J., Chutteang, C., Phunthong, C., Nongngok, R., Toojinda, T., Ruengphayak, S., Arikitt, S., Gray, J.E., Vanavichit, A. Induced genetic variations in stomatal density and size of rice strongly affects water use efficiency and responses to drought stresses. *Front. Plant Sci.* 2022. P. 801706. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.801706>

Plesch G., Ehrhardt T., Mueller-Roeber B. Involvement of TAAAG elements suggests a role for Dof transcription factors in guard cell-specific gene expression. *The Plant Journal*. 2002. T. 28, № 4, C. 455–464. URL: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113x.2001.01166.x>

Qu X., Peterson K. M., Torii K. U. Stomatal development in time: the past and the future. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2017. T. 45. C. 1–9. URL: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2017.02.001>

R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing_. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Rapid identification of homozygosity and site of wild relative introgressions in wheat through chromosome-specific KASP genotyping assays / S. Grewal та ін. *Plant Biotechnology Journal*. 2019. T. 18, № 3. C. 743–755. URL: <https://doi.org/10.1111/pbi.13241>

Ren S., Qin Q., Ren H. Contrasting wheat phenological responses to climate change in global scale. *Science of the Total Environment*. 2019. Vol. 665. P. 620–631. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.394>

Ricardo H. Ramirez-Gonzalez, Cristobal Uauy, Mario Caccamo, PolyMarker: A fast polyploid primer design pipeline, *Bioinformatics*, Volume 31, Issue 12, June 2015, Pages 2038–2039, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv069>

Richardson L. G. L., Torii K. U. Take a deep breath: peptide signalling in stomatal patterning and differentiation. *Journal of Experimental Botany*. 2013. T. 64, № 17. C. 5243–5251. URL: <https://doi.org/10.1093/jxb/ert246>

Rico, C., Pittermann, J., Polley, H.W., Aspinwall, M.J., Fay, P.A. The effect of subambient to elevated atmospheric CO₂ concentration on vascular function in *Helianthus annuus*: implications for plant response to climate change. *New Phytol.* 2013. No 4. C. 956–965. <https://doi.org/10.1111/nph.12339>

Roth-Nebelsick A., Hassiotou F., Veneklaas E. J. Stomatal Crypts Have Small Effects on Transpiration: A Numerical Model Analysis. *Plant Physiology*. 2009. T. 151, № 4. C. 2018–2027. URL: <https://doi.org/10.1104/pp.109.146969>

Rymar, Y., Lakhneko, O., Stepanenko, A., Morgun, B. (2024) DNA markers to detect polymorphisms in stomatal biogenesis genes EPF1 and EPF2. У: 10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology, 25–26 червня 2024 р., Kyiv, Ukraine. c. 37. https://icbge.org.ua/eng/RAPB_2024

Sambrook, J., Fritsch, E. and Maniatis, T. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3th ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sandetska N. V., Dubrovna O. V. Current state of research on wheat grain quality. *Fiziologîa roslin i genetika*. 2025. T. 57, № 3. C. 187–222. URL: <https://doi.org/10.15407/frg2025.03.187>

Sequences responsible for the tissue specific promoter activity of a pea legumin gene in tobacco / A. Shirsat та ін. *Molecular and General Genetics MGG*. 1989. T. 215, № 2. C. 326–331. URL: <https://doi.org/10.1007/bf00339737>

Serna L. Stomatal development in Arabidopsis and grasses: differences and commonalities. *The International Journal of Developmental Biology*. 2011. T. 55, №

1. C. 5–10. URL: <https://doi.org/10.1387/ijdb.103094ls>

Serna L. The Role of Grass MUTE Orthologs in GMC Progression and GC Morphogenesis. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 12. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.678417>

Shewry P. R. Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat?. *Journal of Cereal Science*. 2018. T. 79. C. 469–476. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.11.010>

Shiferaw, B., Smale, M., Braun, HJ. *et al.* Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Sec.* 5, 291–317 (2013). <https://doi.org/10.1007/s12571-013-0263-y>

Shpak E. D. Stomatal Patterning and Differentiation by Synergistic Interactions of Receptor Kinases. *Science*. 2005. T. 309, № 5732. C. 290–293. URL: <https://doi.org/10.1126/science.1109710>

Stasik O.O. Photorespiration: Metabolism and the Physiological Role. In *Modern Photosyn. Prob.* 2014. No. 2. P. 505–535.

Steel, R.G.D., Torrie, J.H., Dicky, D.A. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. Third Edition, 1997.

Stepanenko, A., Lakhneko, O., Rymar, Y., Morgun, B., Borisjuk, N. (2023) Leaf surface features, composition of cuticle and frequency of stomata, affect drought tolerance in wheat. V: Translational Research in Crops, 22–23 червня 2023 р., Ghent, Belgium. <https://www.vibconferences.be/abstract/2421>

Stepanenko, A., Lakhneko, O., Rymar, Y., Morgun, B., Borysyuk, M. (2024) Modulation of leaf surface features for improved wheat drought tolerance. 10th International Meeting on Recent Advances in Plant Biotechnology. Kyiv, Ukraine, 25-26 June, 2024, P. 26. https://icbge.org.ua/eng/RAPB_2024

Stewart, C. N., Jr. & Via, L. E. (1993). A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. *BioTechniques*, 14(5), 748–750.

Stomatal and pavement cell density linked to leaf internal CO₂ concentration / J. Šantrůček та ін. *Annals of Botany*. 2014. T. 114, № 2. C. 191–202. URL:

<https://doi.org/10.1093/aob/mcu095>

Stomatal Closure, Basal Leaf Embolism, and Shedding Protect the Hydraulic Integrity of Grape Stems / U. Hochberg та ін. *Plant Physiology*. 2017. Т. 174, № 2. С. 764–775. URL: <https://doi.org/10.1104/pp.16.01816>

Tateda, C., Obara, K., Abe, Y., Sekine, R., Nekoduka, S., Hikage, T., Nishihara, M., Sekine, K. T., & Fujisaki, K. (2019). The Host Stomatal Density Determines Resistance to *Septoria gentianae* in Japanese Gentian. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI*, 32(4), 428–436. <https://doi.org/10.1094/MPMI-05-18-0114-R>

The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century / E. Zeiger та ін. *New Phytologist*. 2002. Т. 153, № 3. С. 415–424. URL: <https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.nph328.doc.x>

The Impact of Drought in Plant Metabolism: How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production / D. Kapoor та ін. *Applied Sciences*. 2020. Т. 10, № 16. С. 5692. URL: <https://doi.org/10.3390/app10165692>

The novel Myb transcription factor LCR1 regulates the CO₂-responsive gene *Cah1*, encoding a periplasmic carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii* / S. Yoshioka та ін. *The Plant Cell*. 2004. Т. 16, № 6, С. 1466–1477. URL: <https://doi.org/10.1105/tpc.021162>

The Wheat MYB Transcription Factor TaMYB31 Is Involved in Drought Stress Responses in Arabidopsis / Y. Zhao та ін. *Frontiers in Plant Science*. 2018. Т. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01426>

The WRKY superfamily of plant transcription factors / T. Eulgem та ін. *Trends in Plant Science*. 2000. Т. 5, № 5, С. 199–206. URL: [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01600-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01600-9)

Tjaden G., Edwards J. W., Coruzzi G. M. Cis elements and trans-acting factors affecting regulation of a nonphotosynthetic light-regulated gene for chloroplast glutamine synthetase. *Plant Physiology*. 1995. Т. 108, № 3, С. 1109–1117. URL: <https://doi.org/10.1104/pp.108.3.1109>

Underwood W. (2012). The plant cell wall: a dynamic barrier against pathogen invasion. *Frontiers in plant science*, 3, 85. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00085>

Underwood, W., Melotto, M., & He, S. Y. (2007). Role of plant stomata in bacterial invasion. *Cellular microbiology*, 9(7), 1621–1629. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.00938.x>

Unique spelt wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.) with dark-purple grain color / О. І. Rybalka та ін. *Fiziologia rastenij i genetika*. 2024. Т. 56, № 5. С. 419–430. URL: <https://doi.org/10.15407/frg2024.05.419>

Walker B., Schmiede S.C., Sharkey T.D. Re-evaluating the energy balance of the many routes of carbon flow through and from photorespiration. *Plant Cell & Environment*. 2024. No. 9. P. 3365-3374 <https://doi.org/10.1111/pce.14949>

Wheat drought-responsive WXPL transcription factors regulate cuticle biosynthesis genes / H. Bi та ін. *Plant Molecular Biology*. 2017. Т. 94, № 1-2. С. 15–32. URL: <https://doi.org/10.1007/s11103-017-0585-9>

Willmer C., Fricker M. *Stomata*. Dordrecht : Springer Netherlands, 1996. URL: <https://doi.org/10.1007/978-94-011-0579-8>.

Zahra, N., Hafeez, M.B., Kausar, A., Al Zeidi, M., Asekova, S., Siddique, K.H.M., Farooq, M. Plant photosynthetic responses under drought stress: Effects and management. *Journ. Agron. Crop Scie.* P. 651-672. 2023. <https://doi.org/10.1111/jac.12652>

Zeng, W., & He, S. Y. (2010). A prominent role of the flagellin receptor FLAGELLIN-SENSING2 in mediating stomatal response to *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000 in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 153(3), 1188–1198. <https://doi.org/10.1104/pp.110.157016>

Акініна Г. Е., Дударь Ю. Н., Попов В. Н. Статистический анализ генетических данных с использованием компьютерных программ ARLEQUIN, PHILYP, CLANN, STRUCTURE : Метод. рек. Харків : Нац. аграрна акад. наук України Ін-т рослинознавства ім. В.Я. Юр., 2014. 100 с.

Бабаянц Л., Мештерхази А., Вехтер Ф. и др. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. Прага, 1988. 322 с.

Бабаянц О.В., Бабаянц Л.Т. Основы селекции и методология оценок

устойчивости пшеницы к возбудителям болезней. Одесса: ВМВ; 2014. 401 с.

Васильєв, С. В. (2017). Характеристика полби як перспективної зернової культури та основні проблеми її після збирального оброблення. *Grain Products and Mixed Fodder's*, 17(1). <https://doi.org/10.15673/gpmf.v17i1.309>

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с. <https://studfile.net/preview/5051840/>

Римар Ю., Лахнеко О., Степаненко А., Борисюк М., Моргун Б. (2022) Аналіз промоторів генів EPF1, залучених в процес біогенезу продихів пшениці. Матеріали Міжнародної науково–практична конференція «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети», 30 вересня 2022 р., Одеса, Україна – с. 183–184. <https://ovoch.com.ua/publiczna-informaciya/novini/mizhnarodna-naukovopraktichna-online-konferenciya-selekciya-agrokultur-v-umovah-zmin-klimatu-napryami-taprioriteti/>

Римар Ю., Лахнеко О., Степаненко А., Моргун Б. (2023) Оцінка поліморфізму в промоторній ділянці гена біогенеза продихів EPF1. Збірник тез доповідей XIX Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», м. Львів, 26–28 квітня 2023 р., Львівський національний університет імені Івана Франка, С. 97–98. <https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2023/04/Youth-and-Progress-of-Biology-Abstracts-of-XIX-International-Scientific-Conference-for-Students-and-PhD-Students-Lviv-April-26-28-2023..pdf>

Римар Ю., Лахнеко О.Р. (2025) ДНК-маркери для детекції поліморфізму генів біогенезу продихів EPF1, EPF2 та MUTE пшениці. Біомедична інженерія і технологія. Т. 3, № 18, С. 1–17. <https://doi.org/10.20535/2025.18.333019>

Римар Ю.Ю., Лісова Г.М., Проніна О.В., Сливка Л.В., Рябчун В.К., Моргун Б.В. (2023) Стійкість видів пшениці з різними геномами до збудників борошнистої роси та септоріозу листя. Тези доповідей Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми генетики, біотехнології та біохімії рослин».

19 жовтня 2023 р., СГІ–НЦНС НААН України. Одеса, С. 81–82.
http://www.sgi.in.ua/data/documents/vidannya-institutu/materiali-konferencii/materiali_konferencii_8.pdf

Римар Ю.Ю., Проніна О.В., Дуплій В.П., Моргун Б.В. (2023) Особливості морфології продихового апарату пшениці м'якої. Фактори експериментальної еволюції організмів. Т. 32, С. 120–124, <https://doi.org/10.7124/FEEO.v32.1547>

Римар Ю.Ю., Проніна О.В., Кірізій Д.А., Дуплій В.П., Моргун Б.В., Стасик О.О. (2025) Характеристика продихового апарату прапорцевого листка у зв'язку з інтенсивністю газобміну і посухостійкістю у споріднених видів ярої пшениці. Фізіологія рослин і генетика. Т. 57, № 1, С. 64–82.
<https://doi.org/10.15407/frg2025.01.064>

Римар Ю.Ю., Проніна О.В., Лахнеко О.Р., Степаненко А.І., Моргун Б.В. (2022) Морфологія продихового апарату пшениці шарозерної сорту Донор Київський. Матеріали Міжнародної наукової конференції з нагоди 125–річчя від дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора, академіка ВАСГНІЛ Бориса Павловича Соколова, 15–16 вересня 2022 р., Дніпро – с. 23–24.

<https://institut-zerna.com/library/repozitariy/docs/materialy-konf/materiali-naukovoi-konferentsii-15-16-veresnya-2022-r.pdf>

Римар Ю.Ю., Проніна О.В., Моргун Б.В. (2023) Характеристика морфологічних параметрів продихів селекційних ліній пшениці м'якої. Матеріали XVI конференції молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів». 12 травня 2023 р., Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, С. 50–52.
https://drive.google.com/file/d/1KCFg2LqdceFQRlgvu-BPaEA_-oQK5Z4-/view

Стасик О. О. Роль фотодихання в регуляції фотосинтезу, продуктивності та стійкості рослин до абіотичних стресів : автореф. Автореферат дисертації доктора біологічних наук. Київ, 2009.

Стасик О.О. Реакція фотосинтетичного апарату С3-рослин на водний дефіцит. Физ. биох. культ. раст. 2007. No 1. С. 14–27.

Степаненко А. І., Лахнеко О. Р., Зборівська О. В., Моргун Б. В., Кіщенко О. М., Лопато С.В., Борисюк М. В. (2021). Молекулярні чинники регуляції поверхні листя пшениці у зв'язку із посухостікістю.

Чуприна Ю.Ю., Головань Л.В., Клименко І.В. Екологічна оцінка зразків пшениці ярої за стійкістю до листових грибних хвороб в умовах Лісостепу України. Таврійський науковий вісник. 2020. № 116. Ч. 2. С. 192-202.
<https://doi.org/10.32851/2226-0099.2020.116.2.29>

ДОДАТКИ

Додаток А

Таблиця 1. Перелік детектованих відмінностей у промоторах генів *EPF1-A1*, *EPF1-B1*, *EPF1-D1* пшениці та результати *in silico* аналізу впливу відмінностей на *cis*-регуляторні елементи

Таблиця 2. Перелік детектованих відмінностей у промоторах генів *EPF2-A1*, *EPF2-B1*, *EPF2-D1* пшениці та результати *in silico* аналізу впливу відмінностей на *cis*-регуляторні елементи.

Таблиця 3. Перелік детектованих відмінностей у промоторах генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1*, *MUTE-D1* пшениці та результати *in silico* аналізу впливу відмінностей на *cis*-регуляторні елементи.

Додаток Б

Таблиця 4. Виявлений поліморфізм нуклеотидних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* серед зразків пшениці, її співродичей та їх міжвидових гібридів

Таблиця 5. Виявлений поліморфізм промоторних генетичних послідовностей *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* серед зразків міжнародної колекції CIMMYT

Таблиця 6. Виявлений поліморфізм нуклеотидних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* серед українських сортів

Додаток В. Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження, наданий Інститутом фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

Додаток Г. Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження, наданий Інститутом захисту рослин Національної академії аграрних наук України

Додаток А

Таблиця 1. Перелік детектованих відмінностей у промоторах генів *EPF1-A1*, *EPF1-B1*, *EPF1-D1* пшениці та результати *in silico* аналізу впливу відмінностей на *cis*-регуляторні елементи.

Ген	Тип поліморфізму	Заміна	Позиція заміни	Вплив на утворення/елімінацію <i>cis</i> -регуляторних елементів за інструментом New PLACE	Послідовність <i>cis</i> -регуляторного елементу	Функція <i>cis</i> -регуляторного елементу
<i>EPF1-A1</i>	SNP	A→G	-1993	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	G→A	-1690	Елімінація SBOXATRBCS	CACCTCCA	Елемент залежний від рівня цукру та АБ
	SNP	G→T	-1624	Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Елемент мезофіл-специфічної експресії
				Елімінація ACGTABOX	TACGTA	«A-box»; Елемент, що відповідає за репресію цукру
				Елімінація ACGTATERD1	ACGT	Елемент ранньої реакції на зневоднення
	SNP	A→G	-1438	Утворення REALPHALGLHCB21	AACCAA	Елемент регуляції фітохрому
	SNP	A→G	-1427	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	A→G	-1334	Зміщення CAATBOX1 на 3 пн у бік транскрипційного старту	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції
				Утворення RAV1AAT	CAACA	Елемент тканинно-специфічної експресії
	SNP	A→G	-1223	Утворення DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof
				Утворення TAAAGSTKST1	TAAAG	Елемент регуляції експресії генів специфічних для змикаючих клітин проростків

	SNP	A→C	-1221	Елімінація TATABOX5	TTATTT	«TATA box»; функціональний елемент TATA
	SNP	C→A	-1182	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	G→A	-1109	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	C→G	-1099	Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Елемент мезофіл-специфічної експресії
				Утворення CURECORECR	GTAC	Елемент відповідь на кисень
				Елімінація WBOXNTCHN48	CTGACY	«W box», елемент відповіді на еліситор
				Елімінація WBOXHVISO1	TGACT	Елемент цукор-опосередкованої регуляції
				Елімінація WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну
				Елімінація WBOXNTERF3	TGACY	«W box», поранення-залежна експресія
	SNP	T→C	-1076	Утворення DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків DoF
				Елімінація ACGTTBOX	AACGTT	"T-box", елемент, необхідний для максимальної активації транскрипції
				Елімінація ACGTATERD1	ACGT	Елемент ранньої реакції на зневоднення
	SNP	A→G	-1069	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	G→A	-1067	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	T→G	-651	Елімінація WBOXNTCHN48	CTGACY	«W box», елемент відповіді на еліситор
				Елімінація WBOXHVISO1	TGACT	Елемент цукор-опосередкованої регуляції
				Елімінація WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну
				Елімінація WBOXNTERF3	TGACY	«W box», поранення-залежна експресія

	SNP	C→A	-41	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії
--	-----	-----	-----	------------------------	------	--

EPF1-B1	SNP	T→C	-2250	–	–	–
	SNP	T→C	-2182	Утворення PRECONSCRHSP70A	SCGAYNRNNNNN NNNNNNNNNNH D	Елемент MgProto- та світло-залежної експресії
	SNP	C→T	-2157	Утворення GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії
				Утворення GT1GMSCAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості
				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії
				Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof
	SNP	A→G	-2140	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії
	SNP	T→C	-1816	–	–	–
	SNP	G→C	-1730	Елімінація LTRE1HVBLT49	CCGAAA	Елемент, що реагує на низькі температури
	SNP	C→T	-1597	–	–	–
	127 пн інсерція	TGCAGGTT TTAAGAAATG GCTTGTAAGA AGAAAACAAT TTAATAGATT GCTCCCTAGC GCAGAGAAGC AGTCGCCTAG ACGATCGCCT CCTGCCGCCT TAGCGTTTCA CGTCCTAGGA TGCATCAGT	-1486...-1487	Утворення PRECONSCRHSP70A	SCGAYNRNNN NNNNNNNNNN NHD	Елемент MgProto- та світло-залежної експресії
				Утворення GCCCORE	GCCGCC	Ядро GCC-box, елемент відповіді на дію патогенів та дію жасмонату
				Утворення ABRELATERD1	ACGTG	Елемент ранньої реакції на зневоднення
				Утворення ACGTATERD1	ACGT	Елемент ранньої реакції на зневоднення
				Утворення EBOXBNNAPA	CANNTG	Регуляція експресії генів запасних білків

				Утворення MYCCONSUSAT	CANNTG	Елемент механізму дії абсцизової кислоти
				Утворення MYB2CONSUSAT	YAACKG	Елемент відповіді на водний стрес
				Утворення MYBCORE	CNGTTR	Регуляція на відповідь на водний стрес
				Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді
				Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції
	SNP	C→T	-1403	–	–	–
	SNP	G→A	-1276	–	–	–
	SNP	C→G	-1066	Утворення CGACGOSAMY3	CGACG	Активація під час цукрового голодування
	SNP	A→T	-698	Утворення SITEPATCYTC	TGGGCT	Частина механізму окисного фосфорилування [62]
	SNP	G→C	-691	Утворення GCCCORE	GCCGCC	Ядро GCC-box, елемент відповіді на дію патогенів та дію жасмонату[55]
	SNP	T→G	-440	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	C→T	-322	Утворення SURECOREATSULTR11	GAGAC	Елемент відповіді на дефіцит сірки [63]
				Утворення GT1GMSCAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
EPF1-D1	SNP	C→T	-1874	Елімінація O2F2BE2S1	GCCACCTCAT	Елемент орган-специфічної експресії (насіння) [64]
				Елімінація SORLIP1AT	GCCAC	Елемент світло-регульованої та орган-специфічної експресії[65]
	SNP	T→C	-1856	–	–	–
	7 пн делеція	TAGTATC	-1838...-1844	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]

				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
	SNP	C→T	-1780	–	–	–
	SNP	G→C	-1771	Утворення CAREOSREP1	CAACTC	Елемент гіберелін-залежної та орган-специфічної (насіння) експресії [66]
	1 пн інсерція	T	-1742...-1743	–	–	–
	SNP	C→T	-1650	Елімінація CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано [67]
	SNP	C→A	-1615	–	–	–
	SNP	C→A	-1611	–	–	–
	2 пн делеція	CC	-1650...-1651	–	–	–
	SNP	A→G	-1590	–	–	–
	11 пн інсерція	GACCACTACTT	-1584...-1585	Утворення WBOXPCWRKY1	TTTGACY	«WB-бокс»; елемент специфічного зв'язування WRKY білків [47]
				Утворення ELRECOREPCRPI	TTGACC	Елемент, що реагує на еліситори[68]
				Утворення WBOXATNPR1	TTGAC	«W-бокс», елемент, що реагує на саліцилову кислоту [69]
				Утворення WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
				Утворення WBOXNTERF3	TGACY	«W box», поранення-залежна експресія [48]
				Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	T→C	-1574	Утворення MYBCORE	CNGTTR	Регуляція на відповідь на водний стрес [59]
				Елімінація MYB1LEPR	GTTAGTT	Регулює експресію генів, пов'язаних із захистом [55]

	SNP	A→T	-1529	–	–	–
	SNP	G→T	-1527	Утворення RAV1AAT	CAACA	Елемент тканинно-специфічної експресії [40]
	1 пн делеція	G	-1524	Утворення GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Утворення GT1GMSCAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
	SNP	T→C	-1505	Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
	1 пн делеція	A	-1502	–	–	–
	1 пн інсерція	T	-1457...-1458	–	–	–
	SNP	C→G	-1452	Утворення PYRIMIDINEBOXOSRA MY1A	CCTTTT	Елемент, що бере участь у репресії цукру [70]
				Утворення DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
				Елімінація ACGTATERD1	ACGT	Елемент ранньої реакції на зневоднення[37]
	SNP	A→T	-1444	Утворення GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
				Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
				Елімінація LTRE1HVBLT49	CCGAAA	Елемент, що реагує на низькі температури [54]
	1 пн інсерція	T	-1403...-1404	Елімінація CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
				Елімінація CCAATBOX1	CCAAT	«CCAAT box», підвищення активності промотора[71]
	1 пн інсерція	A	-1383...-1384	–	–	–
	SNP	C→G	-1346	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]

				Елімінація TAAAGSTKST1	TAAAG	Елемент регуляції експресії генів специфічних для змикаючих клітин продохів [42]
	SNP	T→C	-1343			
	1 пн делеція	A	-1330	–	–	–
	SNP	A→G	-1327	Утворення MYCCONSENSUSAT	CANNTG	Елемент механізму дії абсцизової кислоти [57]
				Утворення MYB2CONSENSUSAT	YAACKG	Елемент відповіді на водний стрес [58]
	SNP	G→A	-1314	–	–	–
	SNP	T→C	-1297	Утворення ANAERO2CONSENSUS	AGCAGC	Елемент промоторів генів, анаеробних ферментативних шляхів [72]
				Елімінація RAV1AAT	CAACA	Елемент тканинно-специфічної експресії [40]
	SNP	T→C	-1291	–	–	–
	SNP	G→T	-1287	Утворення ROOTMOTIFTAPOX1	ATATT	Елемент орган-специфічної експресії [73]
	SNP	A→T	-1285			
	25 пн делеція	AAAACAATTTA ACAGGTTGCCG AAG	-1259...-1283	Елімінація POLLEN1LELAT52	AGAAA	Елемент, характерний для пилку [74]
				Елімінація CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
				Елімінація MYBCORE	CNGTTR	Регуляція на відповідь на водний стрес [59]
				Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	A→G	-1252	Утворення DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
				Утворення PYRIMIDINEBOXOSRA MY1A	CCTTTT	Елемент, що бере участь у репресії цукру [70]

	SNP	A→G	-1251			
	3 пн делеція	CAT	-1246...-1248	Утворення PYRIMIDINEBOXHV EPB1	TTTTTTCC	Елемент необхідний для індукції гіберелінової кислоти[75]
				Утворення GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Утворення GT1GMSCAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
	SNP	G→T	-1241	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	A→T	-1240	–	–	–
	SNP	A→G	-1133	Елімінація INRNTPSADB	YTCANTYY	«Inr (ініціатор)», елемент світло-залежної транскрипції [76]
	SNP	G→T	-1131	Елімінація PREATPRODH	ACTCAT	Елемент, що реагує на про- або гіпоосмолярність[77]
	SNP	C→T	-1126	Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
				Елімінація CURECORECR	GTAC	Елемент відповідь на кисень [44]
				Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	A→G	-1124	–	–	–
	SNP	A→T	-1122	Елімінація S1FBOXSORPS1L21	ATGGTA	Негативний елемент генів, що пов'язані з пластидами [78]
	SNP	A→C	-1119			
	SNP	A→T	-1115	Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	A→C	-1110	ЕлімінаціяTAAAGSTKST 1	TAAAG	Елемент регуляції експресії генів специфічних для змикаючих клітин продихів [42]

				Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	G→A	-1108	Елімінація NTBBF1ARROLB	ACTTTA	Елемент, необхідний для тканино-специфічної експресії та індукції ауксину [79]
	SNP	T→G	-1107	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	A→C	-1106	Елімінація CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
	SNP	T→C	-1104			
	SNP	G→T	-1103			
	SNP	A→C	-1102	–	–	–
	SNP	A→G	-1099	Елімінація ACGTTBOX	AACGTT	"T-box", елемент, необхідний для максимальної активації транскрипції [49]
				Елімінація ACGTATERD1	ACGT	Елемент ранньої реакції на зневоднення[37]
				Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	6 пн інсерція	TCCTAC	-1085...-1086	Елімінація TBOXATGAPB	ACTTTG	Елемент світло-залежної регуляції [80]
	SNP	A→T	-1081	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	A→G	-1080	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
				Утворення S1FBOXSORPS1L21	ATGGTA	Негативний елемент генів, що пов'язані з пластидами [78]
	SNP	C→T	-1063	Елімінація TGACGTVMAMY	TGACGT	Елемент тканинно-специфічної експресії [81]
				Елімінація HEXMOTIFTAN3H4	ACGTCA	Роль у регуляції залежної від реплікації [82]

				Елімінація ASF1MOTIFCAMV	TGACG	Елемент відповіді на ауксин та/або саліцилову кислоту; Може мати відношення до регулювання світлом[83]
				Елімінація WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
				Утворення WBOXATNPR1	TTGAC	«W-бокс», елемент, що реагує на саліцилову кислоту [69]
				Утворення GARE2OSREP1	TAACGTA	«Реагуючий на гіберелін елемент GARE» [66]
	SNP	G→C	-1079	Утворення DRECRTCOREAT	RCCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [84]
				Утворення CBFHV	RYCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [85]
				Утворення LTRECOREATCOR15	CCGAC	Ядро чутливого до низьких температур елемента (LTRE); участь у холодовій індукції [86]
	SNP	G→A	-1050	–	–	–
	SNP	T→C	-1045	Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	11 пн делеція	CAGTAGGAGTA	-1034...-1044	Елімінація EECRCAN1	GANTTNC	"ЕЕС"; CO ₂ -залежна транскрипційна активація [87]
				Елімінація ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
	SNP	T→C	-1032	Утворення нового і елімінація 2-х CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	C→T	-1031	–	–	–
	SNP	G→A	-1028	Утворення LECPLEACS2	TAAAATAT	Основний елемент зв'язування цистеїнової протеази [88]

	14 пн делеція	GGCGCCTTCAT TTT	-1014...-1027	Елімінація INRNTPSADB	YTCANTYY	«Inr (ініціатор)», елемент світло-залежної транскрипції [76]
	SNP	T→C	-1007	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Елемент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	A→G	-1003	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Елемент мезофіл-специфічної експресії [35]
	1 пн інсерція	T	-998...-999	Утворення EECRCAN1	GANTTNC	"EEC"; CO ₂ -залежна транскрипційна активація [87]
	SNP	C→T	-974	Утворення DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	10 пн інсерція	CCATGTTATG	-966...-967	–	–	–
	SNP	C→G	-962	–	–	–
	SNP	A→G	-959	–	–	–
	SNP	T→C	-930	–	–	–
	SNP	C→T	-917	Елімінація MYB1AT	WAACCA	Елемент відповіді на дегідратацію у сигнальних шляхах АБК[58]
				Утворення EECRCAN1	GANTTNC	"EEC"; CO ₂ -залежна транскрипційна активація [87]
				Утворення GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
	3 пн інсерція	AAA	-912...-913	Утворення GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Утворення GT1GMSCAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
	SNP	C→T	-907	–	–	–
	SNP	A→G	-869	–	–	–
	SNP	T→G	-855	Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Елемент мезофіл-специфічної експресії [35]
				Елімінація ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]

	SNP	T→C	-831	Утворення RAV1AAT	CAACA	Елемент тканинно-специфічної експресії [40]
	10 пн інсерція	TTCCACGGGA	-814...-815	Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
				Зміщення і утворення нового PRECONSCRHSP70A	SCGAYNRNNNNN NNNNNNNNNNH D	Елемент MgProto- та світло-залежної експресії [50]
	SNP	G→T	-801	Утворення GCCCORE	GCCGCC	Ядро GCC-box, елемент відповіді на дію патогенів та дію жасмонату[55]
				Утворення LTRECOREATCOR15	CCGAC	Ядро чутливого до низьких температур елемента (LTRE); участь у холодовій індукції [86]
				Утворення DRECRTCOREAT	RCCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [84]
				Утворення CBFHV	RYCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [85]
	SNP	A→G	-794	Елімінація CANBNNAPA	CNAACAC	Ембріо- та ендосперм-специфічна транскрипція [89]
				Елімінація RAV1AAT	CAACA	Елемент тканинно-специфічної експресії [40]
				Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
	SNP	A→G	-778	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Елемент мезофіл-специфічної експресії [35]
				Елімінація GTGANTG10	GTGA	«GTGA-мотив», елемент характерний для пилку [90]
	SNP	C→A	-773	–	–	–
	2 пн делеція	AT	-759...-760	–	–	–
	SNP	G→A	-751	Елімінація MYBCORE	CNGTTR	Регуляція на відповідь на водний стрес [59]

				Елімінація MYB2AT	TAAC TG	Елемент відповіді на водний стрес [91]
				Елімінація MYB2CONSENSUSAT	YAACKG	Елемент відповіді на водний стрес [58]
				Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
	1 пн делеція	A	-713	Утворення DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	A→C	-712			
	SNP	C→A	-708	–	–	–
	SNP	T→A	-652	Утворення MYCCONSUSAT	CANNTG	Елемент механізму дії абсцизової кислоти [57]
				УтворенняMYCATERD1	CATGTG	Відповідь на стрес зневоднення [92]
				УтворенняMYCATRD22	CACATG	Відповідь на стрес зневоднення [93]
	SNP	C→T	-636	Утворення ABRERATCAL	MACGYGB	Регулювання експресії Ca ²⁺ -чутливих генів [94]
				Утворення CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано[67]
	SNP	A→G	-615	Елімінація DPBFCOREDCDC3	ACACNNG	Елемент ембріо-специфічної та АБК-залежної транскрипції [95]
	SNP	C→G	-614	–	–	–
	SNP	C→G	-612	–	–	–
	SNP	G→A	-611	Утворення EECRCAN1	GANTTNC	"EEC"; CO ₂ -залежна транскрипційна активація [87]
	SNP	G→T	-609			
	SNP	G→T	-608			
	SNP	G→T	-607			
	6 пн інсерція	ACTCTC	-605...-606	Утворення INRNTPSADB	YTCANTYY	«Inr (ініціатор)», елемент світло-залежної транскрипції [76]
				Утворення CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]

				Елімінація CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca^{2+} -опосередковано[67]
	SNP	G→A	-602	–	–	–
	SNP	G→A	-599	–	–	–
	SNP	T→G	-580	–	–	–
	SNP	C→G	-569	Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
	SNP	T→A	-563	–	–	–
	SNP	C→G	-562	–	–	–
	SNP	C→G	-560	Елімінація CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca^{2+} -опосередковано[67]
	SNP	G→A	-557	–	–	–
	SNP	C→G	-556	–	–	–
	SNP	G→C	-554	Елімінація WBOXNTERF3	TGACY	«W box», поранення-залежна експресія[48]
				Елімінація WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
	SNP	G→C	-549	Елімінація CGACGOSAMY3	CGACG	Активація під час цукрового голодування [61]
	34 пн інсерція	ATCACCTCCATC G ACCGGCGGCCT CA CGCGCGCG	-544...-545	Елімінація HEXAMERATH4	CCGTCTG	Гексамерний мотив промотора H4 гістону[96]
				Елімінація CGACGOSAMY3	CGACG	Активація під час цукрового голодування [61]
				Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
				Утворення 2-х GTGANTG10	GTGA	«GTGA-мотив», елемент характерний для пилку [90]
				Утворення SBOXATRBCS	CACCTCCA	Елемент залежний від рівня цукру та АБК [34]
				Утворення CBFHV	RYCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [85]

				Утворення GCCCORE	GCCGCC	Ядро GCC-box, елемент відповіді на дію патогенів та дію жасмонату[55]
				Утворення ABRERATCAL	MACGYGB	Регулювання експресії Ca^{2+} -чутливих генів [94]
				Утворення 3-х CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca^{2+} -опосередковано[67]
	SNP	C→T	-537	Елімінація SORLIP2AT	GGGCC	Елемент світло-індукованої транскрипції [97]
				Утворення LTRECOREATCOR15	CCGAC	Ядро чутливого до низьких температур елемента (LTRE); участь у холодовій індукції [86]
				Утворення DRE2COREZMRAB17	ACCGAC	Елемент АБК-залежної та ембріогенез-специфічної транскрипції [98]
				Утворення DRECRTCOREAT	RCCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [84]
	SNP	C→T	-533	Утворення CBFHV	RYCGAC	Елемент, що реагує на дегідратацію [85]
	SNP	C→T	-532			
				Утворення MYBCORE	CNGTTR	Регуляція на відповідь на водний стрес [59]
				–	–	–
	SNP	T→A	-523	–	–	–
	SNP	T→C	-519	–	–	–
	3 пн делеція	AGG	-515...-517	–	–	–
	SNP	A→G	-487	Утворення MYBCOREATCYCB1	AACGG	Активация експресії незалежно від фази клітинного циклу [99]
	SNP	G→A	-482	Утворення DPBFCOREDCDC3	ACACNNG	Елемент ембріо-специфічної та АБК-залежної транскрипції [95]
	SNP	T→A	-478			
				Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії[35]

	SNP	G→C	-473	Утворення MYBCOREATCYCB1	AACGG	Активация експресії незалежно від фази клітинного циклу [99]
	SNP	A→G	-464	Елімінація 2-х CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано[67]
				Утворення UPRMOTIFIAT	CCNNNNNNNNNN NNCCACG	Елемент регуляції розгорнутою білковою відповіді (UPR) [100]
	SNP	G→A	-459	–	–	–
	SNP	T→A	-453	–	–	–
	12 пн інсерція	CGTGGCCGT GCC	-449...-450	Елімінація GCCCORE	GCCGCC	Ядро GCC-box, елемент відповіді на дію патогенів та дію жасмонату[55]
	SNP	C→G	-371	Елімінація CTRMCA MV35S	TCTCTCTCT	Може посилювати експресію генів[101]
				Утворення SEBFCONSSTPR10A	YGTCTWC	Елемент експресії пов'язаної з патогенезом [102]
				Утворення ARFAT	TGTCTC	Сайт зв'язування ARF (фактора відповіді на ауксин) [103]
				Утворення SURECOREATSULTR11	GAGAC	Елемент відповіді на дефіцит сірки [63]
	6 пн делеція	ATTCGA	-268...-273	Елімінація EECRCAN1	GANTTNC	"EEC"; CO ₂ -залежна транскрипційна активація [87]
	SNP	C→G	-220	–	–	–
	12 пн інсерція	GCGCGCGCG CGC	-196...-197	Утворення 4-х CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано[67]
	SNP	C→G	-183	Утворення CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано[67]
	SNP	A→G	-179	–	–	–

	SNP	A→G	-174	Елімінація LTRECOREATCOR15	CCGAC	Ядро чутливого до низьких температур елемента (LTRE); участь у холодовій індукції [86]
	SNP	G→T	-161	–	–	–
	SNP	G→T	-140	–	–	–
	SNP	C→A	-120	–	–	–
	SNP	A→C	-108	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
	SNP	A→C	-79	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	A→G	-74	Утворення ANAERO2CONSENSUS	AGCAGC	Елемент промоторів генів, анаеробних ферментативних шляхів [72]
	SNP	A→T	-72			
	SNP	G→T	-63	Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
				Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
	SNP	C→T	-62	Елімінація ASF1MOTIFCAMV	TGACG	Елемент відповіді на ауксин та/або саліцилову кислоту; Може мати відношення до регулювання світлом [83]
				Утворення SEBFCONSSTPR10A	YTGTCWC	Елемент експресії пов'язаної з патогенезом [102]
				Утворення BIHD1OS	TGTCA	Елемент пов'язаний зі стійкістю до хвороб[104]
	4 пн інсерція	GGGG	-10...-11	–	–	–

Таблиця 2. Перелік детектованих відмінностей у промоторах генів *EPF2-A1*, *EPF2-B1*, *EPF2-D1* пшениці та результати *in silico* аналізу впливу відмінностей на *cis*-регуляторні елементи.

Ген	Тип зміни	Заміна	Положення заміни	Вплив на утворення/елімінацію <i>cis</i> -регуляторних елементів за інструментом NewPLACE	Послідовність <i>cis</i> -регуляторного елементу	Функція <i>cis</i> -регуляторного елементу
<i>EPF2-A1</i>	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено
<i>EPF2-B1</i>	297 пн інсерція	GCCTCCTTTGGTTTG TAGGAATTTTAGAGG ATAGGATTCCTTAG GATTTTTTCTTTAGA GTCCTTTGGTTCATA GGAATGGATTCSTAT TCSTATATAGGATTG GTTCCSTATCCTCCGCA TTTCATAGGAAAATA AAAATGAGCCTAGAC TCAATGAAAAAATTC CTTTGGTGTCAACCA AATGACATCTCGTTC CTATTCCTACTCATAG GATTTGAGATACATGT CATCTCATTTCTATA AAATTCCTATTCCTA CAATAATCCTATCCTA TGAACCAAAAGAGGCC TCAG	-963...-964	Утворення 5-хDOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
				Утворення 5-х REALPHALGLHCB21	AACCAA	Елемент регуляції фітохромом [38]
				Утворення MYB1AT	WAACCA	Елемент відповіді на дегідратацію у сигнальних шляхах АБК[58]
				Утворення 3-х MYBST1	GGATA	Основний мотив сайту зв'язування MybSt1 [105]
				Утворення 4-х GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
				Утворення 6-х ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
				Утворення PYRIMIDINEBOXHVEPB1	TTTTTTCC	Елемент необхідний для індукції гіберелінової кислоти[75]
				Утворення 6-х GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Утворення 2-х GT1GMSCAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
				Утворення TAAAGSTKST1	TAAAG	Елемент регуляції експресії генів специфічних для змикаючих клітин продохів [42]

				Утворення 3-х СААТВОХ1	СААТ	Консенсусна послідовність промотора СААТ; активація транскрипції [39]
				Утворення ССААТВОХ1	ССААТ	«ССААТ box», підвищення активності промотора[71]
				Утворення ТАТАВОХ5	ТТАГТТ	«ТАТА box»; ТАТА box, знайдений в 5'-верхній області гена глутамінсинтезагороху (<i>Pisumsativum</i>); функціональний елемент ТАТА шляхом аналізу <i>in vivo</i> [43]
				Утворення 2-х ІNRNTPSADB	YTCANTYY	«Іnr (ініціатор)», елемент світло-залежної транскрипції [76]
				Утворення 3-х ВІHD1OS	TGTCA	Елемент пов'язаний зі стійкістю до хвороб[104]
				Утворення WBOXATNPR1	TTGAC	«W-бокс», елемент, що реагує на саліцилову кислоту [69]
				Утворення 3-х WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
				Утворення2-х MYCCONSENSUSAT	CANNTG	Елемент механізму дії абсцизової кислоти [57]
				УтворенняCACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії[35]
				УтворенняPREATPRODH	ACTCAT	Елемент, що реагує на про- або гіпоосмолярність[77]
EPF2-D1	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено

Таблиця 3. Перелік детектованих відмінностей у промоторах генів *MUTE-A1*, *MUTE-B1*, *MUTE-D1* пшениці та результати *in silico* аналізу впливу відмінностей на *cis*-регуляторні елементи.

Ген	Тип зміни	Заміна	Положення заміни	Вплив на утворення/елімінацію <i>cis</i> -регуляторних елементів за інструментом NewPLACE	Послідовність <i>cis</i> -регуляторного елементу	Функція <i>cis</i> -регуляторного елементу
<i>MUTE-A1</i>	SNP	A→G	-3142	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	C→A	-3111	Утворення TATAPVTRNALEU	TTTATATA	Сайт зв'язування TATA-зв'язуючого білка (TBP) [106]
				Утворення TATABOX4	TATATAA	«TATA бокс»; активація транскрипції [107]
				Утворення LECPLEACS2	TAAAATAT	Основний елемент зв'язування цистеїнової протеази [88]
				Елімінація GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Елімінація IBOXCORE	GATAA	«I box»; елемент світло-регульованої експресії [108]
				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
	SNP	T→G	-3065	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	A→T	-3030	—	—	—
	SNP	T→C	-2854	Елімінація IBOXCORE	GATAA	«I box»; елемент світло-регульованої експресії [108]
				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
				Елімінація MYBST1	GGATA	Основний мотив сайту зв'язування MybSt1 [105]
				Елімінація SREATMSD	TTATCC	«цукоррепресивний елемент (SRE)» [109]

	1 пп делеція	T	-2735	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	A→G	-2674	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	C→T	-2669	Елімінація CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
				Утворення GT1GMSAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
	SNP	C→G	-2443	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	G→A	-2307	Елімінація REALPHALGLHCB21	AACCAA	Елемент регуляції фітохромів [38]
	SNP	C→T	-2264	Елімінація ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
	276 пп делеція	GCTGGTCACAATGGGGA GGAACCTAGGAGTAACA TCACACACTCCAATACA ACTTTGCTTATGTGGCA CATATTTAATGAAGAGA GAGGTGCTTGTGGTAAC TAGCTAAGTTACCGGAA CATCACACACTCCAAGA AACAATGAGTCTATAAC СТААТААТАСАТСТТ GCATGACACTACATAGA TGTTCCCTACCCACTATGG AGATAGTAACATAGTCTA GGGAAGTGTGTAAGTTAC TAGCTTATGTTCTTGCCCA TTGTGACCAGCCTAAG	-1865...-214 0	Елімінація WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
				Елімінація 2-х WBOXNTERF3	TGACY	«W-box», поранення-залежна експресія[48]
				Елімінація 4-х CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
				Елімінація 8-х CACTFTPPCA1	YACT	Ключовий компонент мезофіл-специфічної експресії [35]
				Елімінація CCAATBOX1	CCAAT	«CCAAT box», підвищення активності промотора[71]
				Елімінація TBOXATGAPB	ACTTTG	"Тбох", елемент світло-залежної регуляції [80]
				Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
				Елімінація SORLIP1AT	GCCAC	Елемент світло-регульованої та орган-специфічної експресії [65]

				Елімінація TATABOXOSPAL	TATTTAA	Активация транскрипції [110]
				Елімінація PREATPRODН	ACTCAT	Елемент, що реагує на про- або гіпоосмолярність [77]
				Елімінація CPBCSPOR	TATTAG	Елемент цитокінін-опосередкованої експресії [111]
				Елімінація BIHD1OS	TGTCA	Елемент пов'язаний зі стійкістю до хвороб [104]
				Елімінація 2-х WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
				Елімінація MYBPZM	CCWACC	Елемент орган-специфічної експресії [112]
				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
	SNP	A→G	-1814	Елімінація CIACADIANLELHC	CAANNNNATC	Елемент циркадної експресії [113]
				Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активация транскрипції [39]
	SNP	T→C	-1732	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	T→G	-1607	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	T→C	-1445	Елімінація CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активация транскрипції [39]
				Елімінація ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]
	SNP	T→G	-1391	Утворення MYBCORE	CNGTTR	Регуляція на відповідь на водний стрес [59]
	SNP	T→C	-1136	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof [41]
				Утворення IBOXCORENT	GATAAGR	Елемент світло-регульованої експресії [114]
	SNP	C→T	-1134			

				Утворення IBOXCORE	GATAA	«I box»; елемент світло-регульованої експресії [108]
				Утворення IBOX	GATAAG	«I-бокс»; елемент світло-регульованої експресії [115]
				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
	SNP	A→G	-1091	Утворення SEF3MOTIFGM	AACCCA	Елемент насіння-специфічної експресії [116]
	SNP	G→T	-1048	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	C→T	-1045	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	C→T	-1010	Елімінація CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано[67]
	SNP	A→G	-967	Утворення PRECONSCRHSP70A	SCGAYNRNNNNNNNNNNNNNNNN	Елемент MgProto- та світло-залежної експресії [50]
				Утворення GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
				Елімінація CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
	SNP	C→T	-901	Елімінація CGCGBOXAT	VCGCGB	«CGCG box», елемент, що регулює експресію Ca ²⁺ -опосередковано[67]
	SNP	A→G	-824	Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
	інсерція	A	-715...-716	Утворення CAATBOX1	CAAT	Консенсусна послідовність промотора CAAT; активація транскрипції [39]
				Утворення ARR1AT	NGATT	Елемент регуляції відповіді [60]

				Утворення MYCCONSENSUSAT	CANNTG	Елемент механізму дії абсцизової кислоти [57]
	SNP	C→T	-618	Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Do1[41]
	SNP	G→A	-585	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	A→G	-550	Утворення UP1ATMSD	GGCCCAWWW	Елемент орган-специфічної експресії [109]
				Утворення SORLIP2AT	GGGCC	Елемент світло-індукованої транскрипції [97]
	SNP	T→C	-410	Елімінація RBCSCONSENSUS	AATCCAA	«Загальний консенсус Сичуань RBCS» [117]
	SNP	G→A	-391	Утворення WBOXATNPR1	TTGAC	«W-бокс», елемент, що реагує на саліцилову кислоту [69]
				Утворення WBOXHVIS01	TGACT	Елемент цукор-опосередкованої регуляції[46]
				Утворення WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
				Утворення WBOXNTERF3	TGACY	«W box», поранення-зелезна експресія [48]
				Елімінація CCAATBOX1	CCAAT	«CCAAT box», підвищення активності промотора[71]
	1 пп інсерція	T	-338	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	SNP	C→T	-174	Утворення ZDNAFORMINGATCAB1	ATACGTGT	Елемент світло-залежної експресії [118]
				Утворення ASF1MOTIFCAMV	TGACG	Елемент відповіді на ауксин та/або саліцилову кислоту; Може мати відношення до регулювання світлом[83]
				Утворення WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]

				Елімінація CURECORECR	GTAC	Елемент відповідь на кисень [44]
				Елімінація CGACGOSAMY3	CGACG	Активация під час цукрового голодування [61]
				Елімінація GATABOX	GATA	«GATA box»; елемент світло-регульованої, тканинно-специфічної експресії [53]
				Елімінація MYBST1	GGATA	Основний мотив сайту зв'язування MybSt1 [105]
	SNP	C→G	-121	Елімінація REBETALGLHCB21	CGGATA	Елемент світло-залежної експресії [38]
				Елімінація GT1CONSENSUS	GRWAAW	Елемент світло-регульованої експресії [51]
				Елімінація GT1GMSAM4	GAAAAA	Елемент відповіді на дію патогенів та засоленості [52]
				Елімінація DOFCOREZM	AAAG	Сайт зв'язування білків Dof[41]
	SNP	AAG	1...-1	Не впливає	Не впливає	Не впливає
	He виявлено	He виявлено	He виявлено	He виявлено	He виявлено	He виявлено
MUTE-B1	SNP	T→C	-590	Утворення UPRMOTIFIAT	CCNNNNNNNNNNNNNCCACG	Елемент регуляції розгорнутою білкової відповіді (UPR) [100]
MUTE-D1				Утворення LRENPCABE	ACGTGGCA	"LRE"; Елемент світло-залежної експресії [119]
				Утворення BOXIIPCCHS	ACGTGGC	Елемент світло-залежної експресії[120]
				Утворення ACGTABREMOTIFA2OSEM	ACGTGKC	Елемент АБК-залежної експресії [121]
				Утворення SORLIP1AT	GCCAC	Елемент світло-регульованої та орган-специфічної експресії[65]
				Елімінація BIHD1OS	TGTCA	Елемент пов'язаний зі стійкістю до хвороб[104]

				Елімінація WRKY71OS	TGAC	«W-бокс», елемент патоген-залежної експресії в сигнальних шляхах гібереліну [47]
--	--	--	--	---------------------	------	--

Додаток Б

Таблиця 4. Виявлений поліморфізм нуклеотидних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* серед зразків пшениці, її співродичей та їх міжвидових гібридів

Вид	Підвид, сорт	ІН	Геном	prE1 A	prE1 B	prE1 D	prE2 B
<i>T. sphaerococcum</i>	<i>var. spicatum</i> , 'Шарада'	UA0106239	ABD	380	480	-	-
<i>T. aestivum</i>	<i>var. erythrospermum</i> , 'Вигадка'	UA0122879	ABD	-	353	-	-
<i>T. aestivum</i>	<i>var. erythrospermum</i> , 'Метелиця Харківська'	UA0122901	ABD	-	353	-	-
<i>T. aestivum</i>	<i>var. erythrospermum</i> , 'Спадщина Одеська'	IR 17344W	ABD	380	353	280	267
<i>T. durum</i>	<i>var. leuicurum</i> , 'Континент'	UA0201359	AB	380	353	н/а	-
<i>T. durum</i>	<i>var. leuicurum</i> , 'Шульдинка'	UA0201437	AB	380	353	н/а	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. griseoturanorecens</i>	UA0300075	ABD	380	480	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. duhamelianum</i> , 'Baulaender'	UA0300101	ABD	-	353	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. duhamelianum</i> , 'Frankenkorn'	UA0300103	ABD	-	353	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. duhamelianum</i> , 'Зоря України'	UA0300340	ABD	380	353	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. arduini</i> , 'Європа'	UA0300487	ABD		353	-	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. atratum</i>	UA0300081	AB	380	-	н/а	-
<i>T. macha</i>	<i>var. palaeoimereticum</i>	UA0300250	ABD	-	-	-	-
<i>T. vavilovii</i>	<i>var. vavilovii</i>	UA0300533 IR00364	ABD	380	353	-	-
<i>T. sphaerococcum</i>	<i>var. rubiginosum</i> , Л 322-15	UA0300654	ABD	-	-	-	-
<i>Triticosecale</i>	<i>var. ferrugineum</i> , 'Borislav'	UA0602792	ABR	380	353	н/а	-
<i>Triticosecale</i>	<i>var. suberythrospermum</i> , 'Глона'	IR 06331	ABR	380	353	н/а	-
<i>Secale</i>	<i>subsp. cereale</i> (Typus) <i>var.</i> <i>vulgare</i> , 'Пам'яті Дерев'яно'	UA0700412	RR	-	-	-	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. dicoccum</i>	UA0300002	AB	380	-	н/а	
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. semicanum</i>	IR00293	AB	380	353	н/а	
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. vasconicum</i> , 'Crjunella'	UA0300129	AB	-	353	н/а	
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. rufum</i>	UA0300087	AB	-	-	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. rufum</i>	UA0300001	AB	-	-	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. semicanum</i>	UA0300159	AB	380	353	н/а	-
<i>Triticosecale</i>	<i>var. erithrospermum</i> , 'Борівітер Харківський'	UA0604401	ABDR	380	353	-	-
<i>Triticosecale</i>	<i>var. erithrospermum</i> , 'Свобода Харківська'	UA0605030	ABDR	380	353	-	-
<i>T. aestivum</i>	<i>var. lutescens</i> , 'Улюблена'	UA0111002	ABD	-	353	-	-
<i>T. durum</i>	<i>var. leuicurum</i> , 'Ксантия'	UA0201580	AB	380	353	н/а	-

<i>T. durum</i>	<i>var. hordeiforme</i> , ‘Спадщина’	UA0201075	AB	-	-	н/а	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. caeruleum</i> , ‘Tridentina’	UA0300218	ABD	-	-	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. album</i>	UA0300304	ABD	-	480	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. caeruleum</i> , ‘CDC Zorba’	UA0300392	ABD	380	353	280	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. arduini</i>	UA0300587	ABD	-	480	-	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. rufum</i>	UA0300004	AB	-	-	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. aeruginosum</i>	UA0300006	AB	-	480	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. serbicum</i>	UA0300009	AB	380	353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. muticovolgense</i>	UA0300012	AB	380	-	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. volgense</i> , ‘Полба кокчетавська’	UA0300021	AB	380	353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. volgense</i> , ‘Vernal’	UA0300026	AB	380	480 353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. aeruginosum</i>	UA0300040	AB	-	481 353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. haussknechtianum</i>	UA0300044	AB	-	353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. nigroajar</i>	UA0300208	AB	380	480	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. nudirufum</i> , ‘Голіковська’	UA0300406	AB	380	480	н/а	-
<i>T. ispahanicum</i>	<i>var. ispahanicum</i>	UA0300070	AB	380	-	н/а	-
<i>T. sinskajae</i>	<i>var. sinskajae</i>	UA0300224	AA	380	н/а	н/а	-
<i>T. sphaerococcum</i>	<i>var. tumidum</i>	UA0300244	ABD	380	353	-	-
<i>Secale</i>	<i>subsp. cereale</i> (Typus) <i>var. vulgare</i> , ‘Gazelle’	UA0700080	RR	-	-	-	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. album</i>	UA0300111	ABD	-	480	-	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. aeruginosum</i> ‘Руно’	UA0300327	AB	380	480	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. serbicum</i> ‘Полба 3’	UA0300183	AB	380	-	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. aeruginosum</i>	UA0300008	AB	-	353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. serbicum</i> , ‘Червоноколоса’	UA0300053	AB	-	480	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. serbicum</i>	UDS00003	AB	380	353	н/а	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. volgense</i>	UA0300022	AB	-	480	н/а	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. caeruleum</i>	UA0300074	ABD	380	353	-	-
<i>T. dicoccum</i>	<i>var. haussknechtianum</i> , сорт ‘Велика головка’	UA0300056	AB	-	480	н/а	-
<i>T. spelta</i>	<i>var. duhamelianum</i>	UA0300071	ABD	-	480	-	-
<i>T. dicoccum</i>		UA0300087-K	AB	380	-	н/а	-
Гібриди							
Назва	Схрещування	Ідентифікацій ний №	Геном	prE1 A	prE1 B	prE1 D	prE2 B
АД (Міоза)	<i>T. aestivum/Ae. comosa</i>	UA0500057	ABD/M	380	353	-	-
ПАГ-31	<i>T. dicoccum/T. monococcum</i>	UA0500008	AB / A ^b	380	-	н/а	-
АД	<i>Ae. ventricosa/T. dicoccum</i>	UA0500021	M/AB	380	353	н/а	267
ПЕАГ	<i>T. dicoccum/Ae. tauschii</i>	UA0500010	AB/D	380	-	-	-
AD 1	<i>T. dicoccum/Ae. speltoidea</i>	UA0500012	AB/S	380	480	н/а	-
АД 217	<i>T. timopheevii/Ae. umbellulata</i>	UA0500017	AG/U	-	н/а	н/а	н/а

AD 221-4	<i>T. persicum/Ae. tauschii</i>	UA0500029	AB/D	-	353	-	-
АД 7	<i>T. ispahanicum/Ae. cylindrical</i>	UA0500030	AB/DC	380	480	-	-
АД 8	<i>T. dicoccum/Ae. triuncialis</i>	UA0500022	AB/UC	380	353	280	
Тритордеум 1199/09	<i>T. durum/Hordeum chilense</i>		AB / H ^{ab}	380	353	н/а	-
<i>Aegilotriticum cylindroaestivum</i>	<i>Ae. cylindrical/T. aestivum</i>	UA0500028	DC/ABD	-	353	-	-
<i>Haynaticum</i>	<i>T. dicoccum/Dasyphyrum villosum</i>	UA0500018	AB/V	-	480	н/а	-
<i>T. x palmovae</i>	<i>T. boeoticum/Ae. tauschii</i>	UA0500054	A/D	-	н/а	-	н/а
<i>T. x hexaplonicum</i>		UA0500048	A(U)B+D	380	353	-	-
<i>T.xkiharae</i>	<i>T. timopheevii × Ae. tauschii</i>	UA0500014	AGD	-	н/а	-	н/а

Примітка: ІН – ідентифікаційний номер в колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України; н/а – не аналізувалося; «-» – не виявлено досліджуваного поліморфізму.

Таблиця 5. Виявлений поліморфізм промоторних генетичних послідовностей *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* серед зразків міжнародної колекції CIMMYT

Назва сорту/селекційної лінії	prE1 A	prE1 B	prE1 D1	prE1 D2	prE2 B
INIA-F-66	380	353	-	-	-
AC VISTA	380	353	-	-	-
ANZA	380	353	-	-	-
D-12	380	353	-	-	-
GRANDE-DEL-MONTE	380	-	-	-	-
KLEIN FAVORITO	-	-	-	-	-
ZAMBESI	380	-	-	-	-
SAKHA 69	380	-	-	-	-
MILLALEAU INIA	-	-	280	-	-
SAFED LERMA	380	353	280	-	-
TSELINNAYA-YUBILEINAYA	380	-	280	-	-
ZERDAKIA	-	-	-	-	-
KIMMO	380	-	-	-	-
CARIBO	380	353	-	-	-
CENAD-512	380		-	-	-
EXCALIBUR	380	353	-	-	-
JANZ	380	353	-	-	-
KULIN	-	353	-	-	-
GLENLEA	-	353	-	-	-
COMANCHE	-	353	-	-	-
TOBARITO M 97	-	353	280	-	-

V-17	-	353	-	-	-
MANITAL	-	-	-	-	-
SVENNO	380	353	-	-	-
ALBIS	380	353	-	-	-
TALIMKA	-	353	-	-	-
ISKAMISH-K-2-LIGHT	-	480	-	-	-
KE FENG 2	380	353	-	-	-
RECITAL	380	480	-	-	-
ROKYCANSKA SAMETKA	380	353	-	-	-
ZIRKA	-	480	-	-	-
BOLESLAVSKA BELKA	-	353	-	-	-
GODOLLOI 15	380	353	280	-	-
PI 610750/SASIA	380	353	-	-	-
RICHMOND	380	353	-	-	-
BRUNETA	380	353	280	-	-
W-67	380	353	-	-	-
VALDOR	380	353	-	-	-
ZEMUNKA	380	353	-	-	-
GRAY JD1447	380	353	-	-	-
PRINCE-LEOPOLD	380	353	-	-	-
PI 610750/SASIA	380	353	-	-	-
HGO94.9.2.29	380	353	280	-	-
Cltr 4901	380	353	-	-	-
RUFUS	-	353	-	-	-
JENKIN	380	353	-	-	-
KING-HING-1	380	353	-	-	-
CAROL	380	353	-	-	-
BLANC-PRECOCE	380	353	280	-	-
GRAY JD1032	380	353	-	-	-
ADMIRAL	380	353	-	-	-
RUMSKA-CERVENKA	380	353	-	-	-
MURAS	380	353	-	-	-
NL90.15.2.11	380	353	280	-	-
HXL7573/2*BAU	380	353	-	-	-
B-262	380	353	-	-	-
HOLDFAST	380	353	-	-	-
ARENDANY	380	353	-	-	-
OTOFTE-56	380	353	-	-	-
VAL	380	353	-	-	-
CHAPEI KILASHIKA	380	353	-	-	-
WW425	380	353	-	-	-
ROI-ALBERT	380	353	-	-	-
LAMMAS	380	353	-	-	-

VIERNY	380	353	-	-	-
CHIBIA/4/PGO//CROC_1/AE.SQUARROSA (224)/3/2*BORL95	380	353	-	-	-
NING CHUN 20/3/MYNA/VUL//JUN/6/FILIN/IRENA/5/CNDO/R143//ENTE/MEXI 2/3/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)/4/WEAVER	380	353	-	-	-
CHEN/AE.SQ//2*OPATA/3/FINSI	380	353	-	-	-
RED SCHLANSTETTER RIMPAU	380	353	-	-	-
NORM.2-A BC178/3/CHEN/AE.SQ//2*OPATA	380	353	-	-	-
BJY/COC//PRL/BOW/3/MILAN/KAUZ/4/BAV92	380	353	-	-	-
FALCIN/AE.SQUARROSA (312)/3/THB/CEP7780//SHA4/LIRA/4/	380	353	-	-	-
RUPERT J CAR 882 (26882)	380	353	280	-	-
MUNIA/3/RUFF/FGO//YAV79/4/PASTOR	380	353	-	-	-

Примітка: н/а – не аналізувалося; «-» – не виявлено досліджуваного поліморфізму.

Таблиця 6. Виявлений поліморфізм нуклеотидних послідовностей промоторів генів *EPF1*, *EPF2* та *MUTE* серед українських сортів

Сорт	prE1A	prE1B	prE1D1	prE2B
‘Богдана’	-	353	-	-
‘Смуглянка’	380	353	-	-
‘Золотоколоса’	380	353	-	-
‘Добриня’	380	353	-	267
‘Хуртовина’	380	353	-	-
‘Ятрань 60’	380	353	-	-
‘Фаворитка’	380	353	280	-
‘Зимоярка’	380	353	-	-
‘Переясловка’	380	353	280	267
‘Нива Одеська’	380	353	-	-
‘Альботрос Одеський’	380	353	280	267
‘Антонівка’	380	353	280	267
‘Бунчук’	380	353	280	267
‘Ватажок’	380	353	280	267
‘Гармонія одеська’	380	353	280	-
‘Годувальниця одеська’	-	353	-	267
‘Гурт’	-	353	-	267
‘Жайвір’	380	353	-	267
‘Журавка одеська’	-	353; 480	-	267
‘Зиск’	380	353	-	-
‘Кірія’	380	353	-	267
‘Княгиня Ольга’	380	353	280	-
‘Ліра одеська’	380	353	-	-
‘Мелодія одеська’	-	353	-	267
‘Місія одеська’	380	353	-	-
‘Мудрість одеська’	380	353	280	267

‘Наснага’	380	353; 480	-	267
‘Нива Одеська’	380	353	-	-
‘Одеська 267’	380	353	-	267
‘Панна’	380	353; 480	280	267
‘Соната одеська’	380	353; 480	-	267
‘Ужинок’	380	353; 480	280	267
‘Українка одеська’	380	353	280	267
‘Херсонська безоста’	380	353	-	-
‘Шестопапівка’	380	353	-	-
‘Небокрай’	380	353	-	-
‘Єдність’	380	353	-	267
‘Смуглянка’	380	353	-	-
‘Борія 85’	380	353	-	-
‘Відрада’	380	353	280	-
‘Досконала’	380	353	-	-
‘Збруч’	380	353	-	-
‘Збруч №3’	380	353	-	-
‘Здоба Київська’	380	353	-	-
‘Злука’	380	353	280	-
‘Золотоколоса, УК 823’	380	353	-	-
‘Каланча’	380	353	-	-
‘Київська остиста’	380	353	-	-
‘Крижинка’	380	353	280	-
‘Лимарівка’	380	353	280	267
‘Миронівська 65’	380	353; 480	280	267
‘Наталка’	380	480	280	267
‘Новокиївська’	-	353	-	-
‘Поліська 90’	380	353	280	-
‘Снігурка’	-	353	-	-
‘Сотниця’	380	353	-	-
‘Спасівка’	380	353	-	-
‘Ювіляр миронівський’	380	353	-	-
‘Царівна’	380	353	280	-
‘Чародійка білоцерківська’	380	353	-	267
‘Дарунок поділля’	380	353	-	-
‘Красуня’	380	353	280	-
‘Даринка Київська’	380	353	280	-
‘Ладжінка’	380	353	280	-
‘Жадана’	380	353	-	-
‘Подольнянка’	-	353	-	-
‘Куяльник’	380	353	-	-
‘Білява’	380	480	-	-
‘Господарка’	380	353	н/а	-

Примітка: н/а – не аналізувалося; «-» – не виявлено досліджуваного поліморфізму.

Додаток В



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ
(ІФРГ НАН України)

вул. Васильківська, 31/17, Київ – 22, 03022,
тел. 38 (044) 257 51 60, факс 38 (044) 257 51 50
e-mail: plant@ifrg.kiev.ua
код ЄДРПОУ: 05417242

24.04.2025 № 106/142 На № _____ від _____.20__

АКТ

впровадження результатів дисертаційного дослідження
«Особливості біогенезу продихового апарату у пшениці»

Римар Юлії Юріївни

Цим актом засвідчується, що складені здобувачкою молекулярно-генетичні характеристики найбільш поширених та нових сортів пшениці м'якої селекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України на наявність поліморфізму нуклеотидних послідовностей гена транскрипційного фактору *MUTE* та генів біогенезу продихів *EPF1* і *EPF2* використані ІФРГ НАН України для вивчення фізіологічного стану рослин і відбору бажаних генотипів для проведення селекційних програм. Розроблені технології молекулярної оцінки пшениці та її співродичів за генами адаптивності до посухи дозволили значно скоротити час і підвищити ефективність генетичного поліпшення рослин. Результати впровадження цього дослідження були оприлюднені у спільному науковому друці Римар Ю.Ю., Проніна О.В., Кірізій Д.А., Дуплій В.П., Моргун Б.В., Стасик О.О. (2025) Характеристика продихового апарату прапорцевого листка у зв'язку з інтенсивністю газобміну і посухостійкістю у споріднених видів ярої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. Т. 57, № 1, С. 64–82. <https://doi.org/10.15407/frg2025.01.064>.

Заступник директора з
наукової роботи
Інституту фізіології рослин і
генетики НАН України
чл.-кор. НАН України



Олег СТАСИК

Додаток Г

ІНСТИТУТ ЗАХИСТУ РОСЛИН
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

03022, Київ-22, вул. Васильківська, 33
Тел.: (044) 257-11-24, факс: (044) 257-21-85
plant_prot@ukr.net Код ЄДРПОУ 05523406



INSTITUTE OF PLANT PROTECTION
OF NATIONAL ACADEMY
OF AGRARIAN SCIENCES
OF UKRAINE

33, Vasilkovskaya str., Kyiv-22, Ukraine, 03022
Tel.: (044) 257-11-24, fax: (044) 257-21-85
plant_prot@ukr.net

“ 28 ” липня 20 25 р. № 1/388

На № _____ від _____

АКТ

впровадження результатів дисертаційного дослідження
«Особливості біогенезу продигового апарату у пшениці»
Римар Юлії Юріївни

Цим актом засвідчується, що складені здобувачкою молекулярно-генетичні характеристики рослин роду *Triticum* різної плоїдності на наявність поліморфізму нуклеотидних послідовностей генів транскрипційного фактору *MUTE* та генів біогенезу продигов *EPF1* і *EPF2* використані Інститутом захисту рослин НААН України для аналізу селекційних ліній, відбору бажаних генотипів, стійких до збудників септоріозу листя пшениці і борошнистої роси, а також як у фундаментальних так і прикладних дослідженнях Інституту. Розроблені технології молекулярної оцінки пшениці м'якої за генами стійкості дозволили значно скоротити час та підвищити ефективність генетичного поліпшення стійкості рослин до грибних захворювань, ініціація інфікування у котрих відбувається через продиhi. Результати впровадження цього дослідження, яке проводилося впродовж чотирьох років, були оприлюднені у спільних наукових друках: Lisova, H., Rymar, Y., Morgun, B. (2024) Wheat genome and resistance to powdery mildew and septoria leaf spot. *National Conference with International Participation 'Natural Sciences in the Dialogue of Generations'*, Chisinau, Moldova, September 12-13, 2024. P. 73. https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/215333; Римар Ю.Ю., Лісова Г.М., Проніна О.В., Сливка Л.В., Рябчун В.К., Моргун Б.В. (2023) Стійкість видів пшениці з різними геномами до збудників борошнистої роси та септоріозу листя. *Тези доповідей Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми генетики, біотехнології та біохімії рослин»*. 19 жовтня 2023 р., СГІ-НЦНС НААН України. Одеса, С. 81–82. http://www.sgi.in.ua/data/documents/vidannya-institutu/materiali-konferencii/materiali_konferencii_8.pdf

Директор Інституту
захисту рослин НААН України
академік НААН України д.с.-б.н.



Олександр БОРЗИХ