Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

# The Effect of Photoperiod and Vernalization Genes on Phenology of Bread Wheat (*Treaticum aestivum* L.) in Three Genetic Backgrounds Using Near-isogenic Lines (NILs)

**Maryam Dorrani-Nejad**

*Corresponding author. Ph.D. Plant Breeding, Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: m.dorraninejad@agr.uk.ac.ir

**Ali Kazemi Pour**

Assistant Professor, Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: ali.kazemi@uk.ac.ir

**Ali Akbar Maghsoudi Moud**

Associate Professor, Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: maghsoudi.aa@uk.ac.ir

**Roohollah Abdoshahi**

Professor, Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: abdoshahi@uk.ac.ir

## *Abstract*

### Objective

Flowering time in bread wheat is controlled by three groups of genes including photoperiod (*Ppd*), vernalization (*Vrn*) and earliness per se (*Eps*). The objective of the present study was to assess the effect of photoperiod and vernalization genes on phenology of bread wheat using near-isogenic lines (NILs) in three genetic backgrounds.

### Materials and methods

Genomic DNA was extracted from parents, the earliest and the latest heading genotypes of each $BC_5F_2$ population obtained from backcrossing three Iranian cultivars including Roshan, Mahdavi and Kalheydari (recurrent parents) with Australian cultivar, Excalibur (donor parent). PCR was performed using specific primers for *Ppd* and *Vrn* genes.

**Results**

Excalibur and Mahdavi had *Ppd-D1a* allele whereas Kalheydari and Roshan were carrying *Ppd-D1b* allele. As it was expected, early and late heading progeny of Mahdavi were similar to parents. Late heading progeny of Roshan was homozygote and similar to recurrent parent whereas early heading progeny was heterozygote. Early and late heading progeny of Kalheydari were heterozygote. The reason for this could be the presence of modifier genes that are influenced by genetic background. Excalibur, Kalheydari and Mahdavi were possessed *Vrn-B1a* and *vrn-D1* alleles, while Roshan carried *vrn-B1* and *Vrn-D1a* alleles in *Vrn-B1* and *Vrn-D1* loci, respectively. Since Excalibur, Kolhaydari and Mahdavi did not show genetic diversity, as it was expected, early and late heading progeny were similar to their parents. In Roshan background, since *vrn-B1* and *Vrn-D1a* improve earliness, early and late heading progeny were similar to recurrent parent.

**Conclusions**

The *Ppd-D1a* allele discriminated early and late heading progeny of Roshan genetic background. This result showed the importance and role of this gene on earliness. Early and late heading progeny of Roshan were similar to *Vrn-B1* and *Vrn-D1* loci. The reason is phenotypic selection for earliness in backcrossing program, where genes controlling late maturity have not selected during phenotypic selection.

**Keywords:** Bread wheat, Earliness, Near-isogenic Lines, Photoperiod genes, Vernalization genes.

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Dorrani-Nejad M, Kazemi Pour A, Maghsoudi Moud AA, Abdoshahi R (2023) The Effect of Photoperiod and Vernalization Genes on Phenology of Bread Wheat (*Treaticum aestivum* L.) in Three Genetic Backgrounds Using Near-isogenic Lines (NILs). *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (3), 295-310.

---

*Agricultural Biotechnology Journal* 15 (3), 295-310. DOI: 10.22103/jab.2023.21093.1462

Received: July 06, 2023. Received in revised form: August 31, 2023.

Accepted: September 01, 2023. Published online: September 30, 2023.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

---

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

# تأثیر ژن‌های بهاره‌سازی و دوره نوری بر گلدهی گندم نان (*Treaticum aestivum* L.) با استفاده از لاین‌های ایزوژن نزدیک در سه زمینه ژنتیکی

**مریم درانی نژاد**

*نویسنده مسئول: دکتری اصلاح نباتات، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: m.dorraninejad@agr.uk.ac.ir

**علی کاظمی پور**

استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: ali.kazemi@uk.ac.ir

**علی اکبر مقصودی مود**

دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: maghsoudi.aa@uk.ac.ir

**روح اله عبدالشاهی**

استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: abdoshahi@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۵ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۶/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۰

## چکیده

**هدف:** زمان گلدهی در گندم توسط سه گروه ژنی شامل ژن‌های مسئول دوره نوری، بهاره‌سازی و زودرسی ذاتی کنترل می‌شود. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ژن‌های بهاره سازی و دوره نوری بر گلدهی گندم نان با استفاده از لاین‌های ایزوژن نزدیک در سه زمینه ژنتیکی بود.

**مواد و روش‌ها:** از زود سنبله‌دهترین و دیر سنبله‌دهترین ژنوتیپ‌های سه جمعیت نسل $BC_5F_2$ حاصل از تلاقی برگشتی ارقام ایرانی کل‌حیدری، مهدوی و روشن (والدین تکراری) با رقم استرالیایی اکسکلیبر (والد بخشنده زودرسی) به همراه والدین تلاقی‌ها (ارقام کل‌حیدری، مهدوی، روشن و اکسکلیبر) استخراج DNA ژنومی صورت گرفت. از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر ژن‌های *Ppd* و *Vrn* استفاده شد.

**نتایج:** دو رقم اکسکلیبر و مهدوی در مکان ژنی *Ppd-D1* دارای آلل *Ppd-D1a* و ارقام رو شن و کل‌حیدری دارای آلل *Ppd-D1b* بودند. در این مکان ژنی مطابق انتظار، نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده زمینه ژنتیکی رقم مهدوی شبیه والدین بودند. در زمینه ژنتیکی رقم روشن، نتاج دیرسنبله‌ده هموزیگوت و شبیه والد تکراری اما نتاج زودسنبله‌ده هتروزیگوت بود. در زمینه ژنتیکی رقم کل‌حیدری نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده هر دو هتروزیگوت بودند. دلیل این امر می‌تواند وجود یک سری ژن‌های تغییردهنده باشد که تحت تأثیر زمینه ژنتیکی هستند. ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی در مکان ژنی *Vrn-B1* دارای آلل *Vrn-B1a* و در مکان ژنی *Vrn-D1* دارای آلل *vrn-D1* بودند. رقم روشن در مکان ژنی *Vrn-B1* دارای آلل *vrn-B1* و در مکان ژنی *Vrn-D1* دارای آلل *Vrn-D1a* بود. از آنجایی‌که ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی تنوع ژنتیکی نداشتند، مطابق انتظار نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده در زمینه‌های ژنتیکی ارقام کل‌حیدری و مهدوی در هر دو مکان ژنی شبیه والدین بودند. در زمینه ژنتیکی رقم روشن، از آنجا که آلل زمستانه مکان ژنی *Vrn-B1* و آلل بهاره مکان ژنی *Vrn-D1* ایجاد زودرسی می‌نمایند، نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده شبیه والد تکراری بودند.

**نتیجه‌گیری:** آلل *Ppd-D1a* در زمینه ژنتیکی رقم روشن به خوبی توانست نتاج زودسنبله‌ده را از دیرسنبله‌ده تفکیک نماید، این نتیجه اهمیت و نقش این آلل را در زودرسی نشان می‌دهد. نتاج زود سنبله‌ده و دیر سنبله‌ده زمینه ژنتیکی رقم رو شن از لحاظ دو مکان ژنی *Vrn-B1* و *Vrn-D1* تفاوت نداشتند. دلیل این امر آن است که این نتاج حاصل تلاقی برگشتی پنجم ارقام رو شن و اکسکلیبر می‌باشند و تا این نسل فقط گزینش فنوتیپی برای زودرسی انجام شده بود و ژن‌های مسئول دیررسی در این مکان‌های ژنی طی گزینش فنوتیپی حذف شده‌اند.

**کلیدواژه‌ها:** زودرسی، ژن‌های بهاره‌سازی، ژن‌های دوره نوری، گندم نان، لاین‌های ایزوژن نزدیک.

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** درانی نژاد مریم، کاظمی پور علی، مقصودی مود علی اکبر، عبدالشاهی روح اله (۱۴۰۲) تأثیر ژن‌های بهاره‌سازی و دوره نوری بر گلدهی گندم نان (*Treaticum aestivum* L.) با استفاده از لاین‌های ایزوژن نزدیک در سه زمینه ژنتیکی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۳)، ۲۹۵-۳۱۰.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

**مقدمه**

زمان گلدهی در گندم توسط سه گروه ژنی شامل ژن‌های مسئول فتوپریود[۱] (*Ppd*)، ورنالیزاسیون[۲] (*Vrn*) و زودرسی ذاتی[۳] (*Eps*) کنترل می‌شود (Kamran et al. 2014). سازگاری گندم با طیف وسیعی از شرایط محیطی عمدتاً به دلیل تنوع اللی در ژن‌های کنترل‌کننده دوره نوری و بهاره‌سازی می‌باشد (Royo et al. 2020). شناسایی و آگاهی از ژن‌های کنترل‌کننده نیاز به بهاره‌سازی و حساسیت به دوره نوری در تعیین عادت رشدی و میزان تحمل در دماهای پایین گندم و همچنین تعیین سازگاری ارقام مختلف گندم به شرایط آب و هوایی متفاوت ضروری می‌باشد. ارقام گندم از لحاظ عکس‌العمل به دوره نوری به دو دسته حساس و عدم حساس به طول روز تقسیم می‌شوند. حساسیت به دوره نوری در گندم نان توسط سه مکان ژنی *Ppd-A1*، *Ppd-B1* و *Ppd-D1* که به‌ترتیب بر روی کروموزوم‌های 2A، 2B و 2D قرار دارند کنترل می‌شود (Beales et al. 2007). حضور آلل غالب در این مکان‌های ژنی باعث عدم حساسیت به دوره نوری و آلل مغلوب حساسیت به دوره نوری را باعث می‌شود. ژن‌های مسئول دوره نوری مهم‌ترین ژن‌های مؤثر در زودرسی گندم می‌باشند (Langer et al. 2014). از بین سه مکان ژنی کنترل‌کننده دوره نوری، مکان ژنی *Ppd-D1* مهم‌ترین مکان ژنی می‌باشد و پس از آن به‌ترتیب دو مکان ژنی دیگر *Ppd-B1* و *Ppd-A1* می‌باشند (Shcherban et al. 2015). حذف ناحیه ۲۰۸۹ جفت بازی در مکان ژنی *Ppd-D1* آلل *Ppd-D1a* را ایجاد کرده است که باعث عدم حساسیت به دوره نوری می‌شود، این آلل بیشترین اثر ژنتیکی را در بروز عدم حساسیت به دوره نوری دارد (Beales et al. 2007). در گزارش‌های بسیاری آمده است که ارقام گندم غیرحساس به طول روز زودتر از ارقام حساس وارد مرحله رشد رویشی می‌شوند (Worland 1996; Worland et al. 1998; Cane et al. 2013).

گیاه گندم از لحاظ زمان گلدهی دارای سه تیپ رشدی زمستانه، بینابین و بهاره می‌باشد. تیپ رشدی زمستانه جهت ورود به مرحله گلدهی نیاز به یک دوره سرمایی دارد. این تیپ رشدی معمولاً در پاییز کشت و در اواخر بهار تا اواسط تابستان برداشت می‌گردد. تیپ رشدی بهاره بدون نیاز و یا نیاز کمی به گذراندن دوره سرمایی جهت ورود به مرحله گلدهی می‌باشد که معمولاً در فصل پاییز تا بهار می‌تواند کشت و در اواسط بهار تا اوایل تابستان همان سال برداشت گردد (Distelfeld et al. 2009). تیپ رشدی زمستانه و بهاره توسط سه مکان ژنی *Vrn-A1*، *Vrn-B1* و *Vrn-D1* که به‌ترتیب بر روی کروموزوم‌های 5A، 5B و 5D قرار دارند کنترل می‌شود (Galiba et al. 1995; Dubcovsky et al. 1998; Yan et al. 2004; Zhang et al. 2008). مجموع این سه مکان ژنی به‌عنوان مکان ژنی *VRN-1* شناخته می‌شوند (Yan et al. 2004). بین سه مکان ژنی کنترل‌کننده ورنالیزاسیون، مکان ژنی *Vrn-D1* بیشترین تأثیر بر گلدهی و عملکرد دانه را دارا می‌باشد و پس از آن به‌ترتیب دو مکان ژنی دیگر *Vrn-B1* و *Vrn-A1* قرار دارند (Ogbonnaya et al. 2017). وجود یک آلل غالب در این مکان‌های ژنی باعث بروز تیپ رشدی

[۱] Photoperiod

[۲] Vernalization

[۳] Earliness *per se*

بهاره می‌گردد و برای تیپ رشدی زمستانه این سه مکان ژنی بایستی به صورت هموزیگوت مغلوب باشند (Snape et al. 2001; Chen & Dubcovsky 2012). تفاوت آللی در مکان ژنی *VRN-1* تیپ رشدی گندم را مشخص می‌کند. بیان ژن *VRN-1* در ارقام گندم تیپ زمستانه مستلزم قرار گرفتن در معرض دمای پایین می‌باشد اما در ارقام گندم تیپ بهاره، برای بیان این ژن نیازی به بهاره سازی و قرار گرفتن در معرض دمای پایین نیست (Zaitseva and Lemesh 2015). مراکز واکنش به ورنالیزاسیون در نوک ساقه قرار دارند (Amasino 2004). مکان ژنی *VRN-1* در جوانه انتهایی و برگ‌ها به شیوه‌ای خاص عمل می‌کند، به این ترتیب که بیان این ژن در جوانه انتهایی، رشد رویشی را متوقف و ورود به مرحله زایشی را سبب می‌شود (Hemming et al. 2009) و در برگ‌ها بیان این ژن پاسخ گلدهی به طول روز بلند را سبب می‌شود که با افزایش طول روز افزایش گلدهی را به دنبال خواهد داشت (Trevaskis et al. 2007). *Eps* جزو ژن‌های مستقل از دو گروه قبلی هستند که زودرسی را تحت تأثیر قرار می‌دهند اما کم‌اهمیت‌تر از دو گروه قبلی هستند.

در بررسی ۳۴ ژنوتیپ گندم دوروم مشخص شد وجود آلل‌های حساس به فتوپریود باعث گلدهی دیرهنگام و عملکرد پایین می‌شود (Royo et al. 2018). در مطالعه‌ای دیگر آلل غالب مکان ژنی *Ppd-D1* که باعث عدم حساسیت به طول روز می‌شود عملکرد و اجزای عملکرد دانه در گندم نان را افزایش داد (Chen et al. 2018). در گزارشی تأثیر مثبت الل *Ppd-D1a* بر صفات زراعی گندم از جمله بنیه اولیه گیاه، وزن خشک گیاهچه و ارتفاع بوته بیان شده است (Addisu et al. 2009). در مطالعه‌ای دیگر عملکرد بالاتر ارقام گندم غیر حساس به طول روز در شرایط آب و هوایی مدیترانه‌ای گزارش شده است (Flohr et al. 2018). اهمیت الل *Ppd-D1a* در زودسنبله‌دهی و زودرسی گندم نان در بررسی‌های متعددی گزارش شده است (Mondal et al. 2013; Langer et al. 2014; Foroodi safat et al. 2020; Aminizadeh et al. 2022). در یک بررسی دیگر فراوانی بیشتر آلل غالب *Ppd-D1a* نسبت به آلل مغلوب *Ppd-D1b* در ارقام ترکیه‌ای گندم نان گزارش شده است (Andeden et al. 2011). در جنوب و مرکز اروپا بیشتر ارقام گندم اصلاح‌شده از نوع غیر حساس به طول روز می‌باشند (Foulkes et al. 2004). نتایج بررسی مولکولی ۸۲ رقم گندم از لحاظ ژن‌های کنترل‌کننده نیاز به بهاره سازی و حساسیت به طول روز، تنوع اللی را برای مکان‌های ژنی *Vrn-A1*، *Vrn-B1*، *Vrn-D1* و *Ppd-D1* و عدم وجود تنوع را برای مکان‌های ژنی *Ppd-A1* و *Ppd-B1* نشان داد (Chen et al. 2016). بررسی‌ها نشان داده که الل‌های *Vrn-B1* در زمینه‌های ژنتیکی مختلف باعث ۲/۶ روز تغییر در زمان گلدهی و افزایش معنی‌دار پتانسیل عملکرد می‌شود (Iqbal et al. 2007; Nitcher et al. 2014). در بررسی مکان ژنی *Vrn-D1* با استفاده از آغازگرهای Intr1/D/F و Intr1/D/R3 در ۵۹ رقم و لاین گندم نان، ۳۵ ژنوتیپ باند ۱۶۷۱ جفت بازی که تیپ رشدی بهاره را بروز می‌دهد نشان دادند (Iqbal et al. 2011). پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ژن‌های کنترل‌کننده دوره نوری و بهاره‌سازی بر گلدهی در گندم نان با استفاده از لاین‌های ایزوژن نزدیک انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی ژن‌های دوره نوری و بهاره‌سازی در والدین و لاین‌های ایزوژن نزدیک[1] در سه جمعیت نسل $BC_5F_2$ حاصل از تلاقی برگشتی ارقام ایرانی کل‌حیدری، مهدوی و روشن (والدین تکراری) با رقم استرالیایی اکسکلیبر (والد بخشنده زودرسی)، اولین و آخرین ۲۰ بوته‌ای که به مرحله سنبله‌دهی وارد شدند به‌ترتیب به‌عنوان زودسنبله‌ده‌ترین و دیرسنبله‌ده‌ترین ژنوتیپ‌های هر جمعیت در نظر گرفته و با برچسب مشخص شدند (شکل ۱). در این مطالعه صفت تعداد روز تا سنبله‌دهی بررسی شد. بدین ترتیب که در هر جمعیت ۲۰ بوته‌ای که سنبله‌شان زودتر از بقیه بوته‌ها از غلاف برگ پرچم خارج شد به عنوان زودسنبله‌ده‌ترین و۲۰ بوته‌ای که سنبله‌شان دیرتر از بقیه بوته‌ها از غلاف برگ پرچم خارج شد به عنوان دیرسنبله‌ده‌ترین ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند به‌طوریکه در نهایت سه گروه ایزوژن وجود داشت. فاصله زمانی بین دو فنوتیپ زودسنبله‌ده‌ترین و دیرسنبله‌ده‌ترین ژنوتیپ در سه زمینه ژنتیکی ارقام روشن، کل‌حیدری و مهدوی به ترتیب ۱۴، ۱۱ و ۷ روز بود. از این شش جمعیت و والدین (ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری، مهدوی و روشن) به صورت بالک نمونه برگی تهیه شد. نمونه‌های برگ ده ژنوتیپ برای استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل و در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. استخراج DNA ژنومی از برگ با ایجاد کمی تغییرات در روش ژانگ (۱۹۹۸) صورت گرفت. ابتدا نمونه‌های برگ به صورت جداگانه در هاون‌های چینی ضدعفونی شده با استفاده از ازت مایع به خوبی پودر و در میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد. به ازای هر ۵۰ میلی‌گرم نمونه پودر برگی، ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر استخراج حاوی CTAB (۲ درصد)، PVP (۲ درصد)، EDTA (۲۰ میلی‌مولار)، NaCl (۱/۴ مولار) و Tris Base (۱۰۰ میلی‌مولار) که قبلاً در حمام آب گرم به دمای ۶۵ درجه رسیده بود به هر میکروتیوب افزوده شد. پس از افزودن ۴ میکرولیتر مرکاپتانول، به منظور یکدست شدن مخلوط، نمونه‌ها چندین بار به آرامی تکان داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۶۵ درجه قرار داده شد و هر ۱۰ دقیقه یک‌بار به آرامی تکان داده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از تفکیک فازها، فاز رویی با سمپلر برداشته شد (۸۰۰ میکرولیتر) و با ترکیب کلروفرم ایزوآمیل (با نسبت ۲۴ به ۱) به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری اضافه و محلول را با ورتکس هم‌زده شد (حدود ۵ دقیقه) تا خوب ترکیب شوند. میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، در این مرحله سه فاز تشکیل شد. فاز رویی را که حاوی DNA بود برداشته (۲۰۰ میکرولیتر) و هم‌حجم نمونه برداشتی، ایزوپروپانول سرد افزوده شد. بعد از نگهداری نمونه‌های حاوی ایزوپروپانول به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد، جهت ته‌نشین شدن رسوب DNA، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس با مشاهده رسوب‌ها، مایع رویی حذف و ۵۰۰ میکرولیتر الکل ۷۶٪ به هر میکروتیوب اضافه و جهت تکمیل فرآیند شست و شو و جدا شدن پلت از دیواره به آرامی ورتکس شد. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در ثانیه سانتریفوژ شد. بعد از تخلیه الکل، تیوب حاوی DNA را به مدت ۲۰ دقیقه زیر هود گذاشته شد تا کاملاً خشک شود. بعد از اتمام مرحله خشک شدن، ۵۰

[1] Near-isogenic lines (NILs)

میکرولیتر آب مقطر روی رسوب DNA ریخته و به مدت ۲۴ ساعت داخل یخچال، سپس در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

| سال<br>Year | تلاقی‌ها<br>Crosses | توضیحات<br>Comments |
|---|---|---|
| 2012 | والد تکراری × اکسکلیبر | تلاقی<br>Crossing |
| 2013 | $F_1$ × والد تکراری | تلاقی برگشتی اول<br>Backcross 1 |
| 2014 | $BC_1F_1$ | گزینش زودسنبله‌ده ترین ژنوتیپ‌ها و خودگشنی<br>Selection of earliest heading genotypes and selfing |
| 2015 | $BC_1F_2$ × والد تکراری | گزینش زودسنبله‌ده ترین ژنوتیپ‌ها و تلاقی برگشتی دوم<br>Selection of earliest heading genotypes and Backcross 2 |
| 2016 | $BC_2F_1$ × والد تکراری | تلاقی برگشتی سوم<br>Backcross 3 |
| 2017 | $BC_3F_1$ | گزینش زودسنبله‌ده ترین ژنوتیپ‌ها و خودگشنی<br>Selection of earliest heading genotypes and selfing |
| 2018 | $BC_3F_2$ × والد تکراری | تلاقی برگشتی چهارم<br>Backcross 4 |
| 2019 | $BC_4F_1$ × والد تکراری | تلاقی برگشتی پنجم<br>Backcross 5 |
| 2020 | $BC_5F_1$ | گزینش زودسنبله‌ده ترین ژنوتیپ‌ها و خودگشنی<br>Selection of earliest heading genotypes and selfing |
| 2021 | $BC_5F_2$ | تهیه نمونه برگی از زودسنبله‌ده‌ترین و دیرسنبله‌ده‌ترین ژنوتیپ‌های هر جمعیت<br>Preparing a leaf sample of the earliest and latest heading genotypes of each population |

**شکل ۱. ایجاد لاین‌های ایزوژن نزدیک در سه زمینه ژنتیکی روشن، کل‌حیدری و مهدوی**
**Figure 1. Development of near isogenic lines (NILs) in three genetic backgrounds named Roshan, Kalhaydari and Mahdavi**

کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده، با استفاده از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد. پس از تعیین کمیت، نمونه‌های DNA برای رسیدن به غلظت ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

(PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی جدول ۱ برای دو آغازگر Ppd و چهار آغازگر Vrn انجام شد.

**جدول ۱. توالی آغازگرهای اختصاصی ژن‌های دوره نوری و بهاره‌سازی**

**Table 1. Sequence of specific primers of photoperiod and vernalization genes**

| منبع Reference | اندازه باند Band size (bp) | آلل‌های هدف Target alleles | توالی آغازگر(′۳—′۵) Primer sequence | نام نشانگر Primer name | نام ژن Gene name |
|---|---|---|---|---|---|
| Beales et al., (2007) | – | - | ACGCCTCCCACTACACTG | *Ppd-D1_F* | *Ppd-D1* |
| | 414 | *Ppd-D1b* | GTTGGTTCAAACAGAGAGC | *Ppd-D1_R1* | |
| | 288 | *Ppd-D1a* | CACTGGTGGTAGCTGAGATT | *Ppd-D1_R2* | |
| Shcherban et al., (2015) | 1149 | *vrn-B1* | CAAGTGGAACGGTTAGGACA<br>CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA | *Intr1/B/F*<br>*Intr1/B/R4* | *Vrn-B1* |
| | 1124 | *Vrn-B1a* | ATCATCTTCTCCACCAAGGG<br>CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA | *Intr1*<br>*Intr1/B/R3* | |
| Fu et al., (2005) | 997 | *vrn-D1* | GTTGTCTGCCTCATCAAATCC<br>AAATGAAAAGGAACGGAGCG | *Intr1/D/F*<br>*Intr1/D/R4* | *Vrn-D1* |
| | 1671 | *Vrn-D1a* | GTTGTCTGCCTCATCAAATCC<br>GGTCACTGGTGGTCTGTGC | *Intr1/D/F*<br>*Intr1/D/R3* | |

واکنش‌ها در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر DNA، ۰/۵ میکرومولار آغازگر پیشرو، ۰/۵ میکرومولار آغازگر معکوس، ۶ میکرولیتر آب و ۱۰ میکرولیتر مستر پارس) در دستگاه ترموسایکلر (analytikjena, Biometra Tone, Germany) انجام شد. برای کنترل مراحل PCR یک نمونه کنترل منفی که شامل تمام اجزا PCR، به غیر از DNA بود استفاده شد. شرایط بهینه واکنش PCR برای آغازگرهای اختصاصی ژن‌های دوره نوری و بهاره‌سازی در جدول ۲ ارایه شده است.

**جدول ۲. شرایط بهینه پی سی آر برای آغازگرهای اختصاصی ژن‌های دوره نوری و بهاره‌سازی**

**Table 2. Optimum PCR conditions for specific primers of photoperiod and vernalization genes**

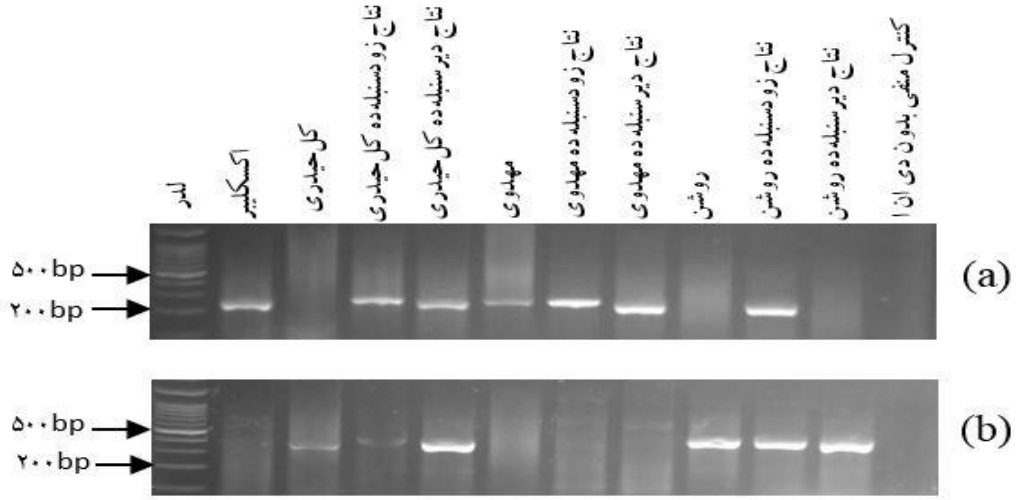
| آلل‌های مورد بررسی Studied alleles | شرایط پی سی آر PCR conditions | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | واسرشته سازی اولیه (دقیقه) Initial denaturation (Minute) | واسرشته سازی (ثانیه) Denaturation (Second) | مرحله اتصال (ثانیه) Annealing (Second) | مرحله تکثیر (ثانیه) Elongation (Second) | مرحله تکثیر نهایی (دقیقه) Final elongation (Minute) | تعداد چرخه Number of cycle |
| *Ppd-D1b* | 94 (2) | 94 (30) | 57 (30) | 72 (45) | 72 (5) | 36 |
| *Ppd-D1a* | 94 (2) | 94 (30) | 59 (30) | 72 (45) | 72 (5) | 36 |
| *Vrn-D1a* | 94 (2) | 94 (60) | 60 (60) | 72 (60) | 72 (10) | 35 |
| *vrn-D1* | 94 (2) | 94 (60) | 58 (60) | 72 (60) | 72 (10) | 36 |
| *Vrn-B1a* | 94 (2) | 94 (60) | 58 (60) | 72 (60) | 72 (10) | 36 |
| *vrn-B1* | 94 (2) | 94 (60) | 56 (60) | 72 (60) | 72 (10) | 36 |

## نتایج و بحث

به منظور ارزیابی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ حساسیت به طول روز از جفت آغازگر *Ppd-D1a* و *Ppd-D1b* استفاده شد. اندازه باند موردانتظار محصول PCR برای ژن‌های *Ppd-D1a* و *Ppd-D1b* به‌ترتیب ۲۸۸ و۴۱۴ جفت باز می‌باشد که به ترتیب عدم حساسیت و حساسیت به دوره نوری را کنترل می‌کنند (Beales et al. 2007). در رقم روشن و کل‌حیدری باند ۴۱۴ جفت بازی (*Ppd-D1b*) و در ارقام اکسکلیبر و مهدوی باند ۲۸۸ جفت بازی (*Ppd-D1a*) تکثیر شد (شکل ۲). در بررسی نتاج برای این مکان ژنی، نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده رقم مهدوی، باند ۲۸۸ جفت بازی و نتاج دیرسنبله‌ده رقم روشن، باند ۴۱۴ جفت بازی را تکثیر کردند. نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده رقم کل‌حیدری و همچنین نتاج زودسنبله‌ده رقم روشن هر دو قطعه ۲۸۸ و ۴۱۴ جفت بازی را تکثیر کردند. با مشاهده باند ۲۸۸ جفت بازی در مکان ژنی *Ppd-D1* برای دو رقم اکسکلیبر و مهدوی، نتیجه‌گیری می‌شود این ارقام با دارا بودن آلل غالب، غیر حساس به دوره نوری و ارقام روشن و کل‌حیدری که باند ۴۱۴ جفت بازی را دادند به دلیل داشتن الل مغلوب، حساس به دوره نوری هستند. در مطالعه دیگری نتایج متناقضی با پژوهش حاضر گزارش شده و رقم روشن همانند رقم اکسکلیبر قطعه ۲۸۸ جفت بازی را تکثیر کرده است (Nazari et al. 2016). در زمینه ژنتیکی رقم مهدوی، مطابق انتظار نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده شبیه والدین بودند و باند ۲۸۸ جفت بازی (*Ppd-D1a*) را تکثیر کردند. در زمینه ژنتیکی رقم روشن، نتاج دیرسنبله‌ده هموزیگوت بوده و مشابه والد تکراری (روشن) باند دادند و اما نتاج زودسنبله‌ده هر دو باند ۲۸۸ و ۴۱۴ جفت بازی را تکثیر کردند، چون زودرسی بر دیررسی غالب است. لذا نتاج زودسنبله‌ده هتروزیگوت شدند و هر دو قطعه را تکثیر کردند. در زمینه ژنتیکی رقم کل‌حیدری نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده هر دو هتروزیگوت بودند و هر دو الل *Ppd-D1a* و *Ppd-D1b* را داشتند. علت این امر می‌تواند وجود یک سری ژن‌های تغییردهنده باشدکه تحت تأثیر زمینه ژنتیکی هستند بنابراین در زمینه ژنتیکی ارقام مهدوی و کل‌حیدری نتاج زودسنبله‌ده از نتاج دیرسنبله‌ده تفکیک نشدند.

به منظور بررسی مکان ژنی *Vrn-B1* در ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از دو ترکیب آغازگری (*Intr1* و *Intr1/B/R3*) و (*Intr1/B/F* و *Intr1/B/R4*) استفاده شد. ترکیب آغازگری *Intr1* و *Intr1/B/R3* قطعه ۱۱۲۴ جفت بازی و ترکیب آغازگری *Intr1/B/F* و *Intr1/B/R4* قطعه ۱۱۴۹ جفت بازی را تکثیر می‌کند (Shcherban et al. 2015). باند ۱۱۲۴ جفت بازی عادت رشدی بهاره و باند ۱۱۴۹ جفت بازی عادت رشدی زمستانه را کنترل می‌کند. در ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی، قطعه ۱۱۲۴ جفت بازی و در رقم روشن قطعه ۱۱۴۹ جفت بازی تکثیر شد. نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده در زمینه‌های ژنتیکی کل‌حیدری و مهدوی باند ۱۱۲۴ جفت بازی و در زمینه ژنتیکی روشن، باند ۱۱۴۹ جفت بازی را تکثیر کردند (شکل ۳). برای مکان ژنی *Vrn-B1* در ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی، قطعه ۱۱۲۴ جفت بازی تکثیر شد بنابراین این ارقام در این مکان ژنی دارای آلل غالب (*Vrn-B1a*) بودند که عادت رشدی بهاره را کنترل می‌نماید. در رقم روشن قطعه ۱۱۴۹ جفت بازی تکثیر شد، لذا این رقم در این

مکان ژنی دارای آلل مغلوب (*vrn-B1*) بوده که عادت رشدی زمستانه را کنترل می‌کند. نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده در زمینه‌های ژنتیکی ارقام کل‌حیدری و مهدوی مطابق انتظار شبیه والدین بودند و باند ۱۱۲۴ جفت بازی را نشان دادند.



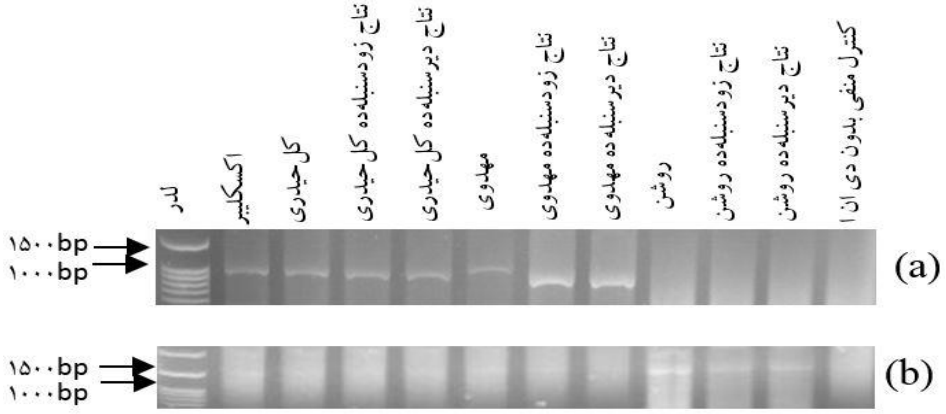

**شکل ۲. الکتروفورز ژل آگارز برای مکان ژنی *Ppd-D1*. (a) محصول پی سی آر الل *Ppd-D1a* با طول باند ۲۸۸ جفت باز.(b) محصول پی سی آر الل *Ppd-D1b* با طول باند ٤١٤ جفت باز**

**Figure 2. Agarose gel electrophoresis for *Ppd-D1* locus. (a) PCR product for *Ppd-D1a* allele with band size 288 bp. (b) PCR product for *Ppd-D1b* allele with band size 414 bp**

بین والدین تلاقی‌ها (اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی) در این مکان ژنی تنوع ژنتیکی وجود نداشت. در زمینه ژنتیکی روشن، تفاوتی بین نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده مشاهده نشد و هر دو شبیه والد تکراری (رقم روشن) قطعه ۱۱۴۹ جفت بازی را تکثیر کردند. با توجه به اینکه نتاج مورد بررسی حاصل تلاقی برگشتی پنجم ارقام روشن و اکسکلیبر می‌باشند و تا این نسل فقط گزینش فنوتیپی برای زودرسی انجام شده بود، ژن‌های مسئول بهاره‌سازی به دلیل ایجاد دیررسی طی گزینش فنوتیپی حذف شده‌اند. مشخص شده که در این مکان ژنی عادت رشدی زمستانه باعث زودرسی می‌شود.

برای بررسی مکان ژنی *Vrn-D1* از دو ترکیب آغازگری (*Intr1/D/F* و *Intr1/D/R3*) و (*Intr1/D/F* و *Intr1/D/R4*) استفاده شد. ترکیب آغازگری *Intr1/D/F* و *Intr1/D/R3* قطعه ۱۶۷۱ جفت بازی و ترکیب آغازگری *Intr1/D/F* و *Intr1/D/R4* قطعه ۹۹۷ جفت بازی را تکثیر می‌کنند (Fu et al. 2005). باند ۱۶۷۱ جفت بازی عادت رشدی بهاره و باند ۹۹۷ جفت بازی عادت رشدی زمستانه را کنترل می‌کند. در ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی، قطعه ۹۹۷ جفت بازی و در رقم روشن قطعه ۱۶۷۱ جفت بازی تکثیر شد. نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده در زمینه‌های ژنتیکی کل‌حیدری و مهدوی باند ۹۹۷ جفت بازی و در زمینه ژنتیکی روشن، باند ۱۶۷۱ جفت بازی را تکثیر کردند (شکل ۴). برای مکان ژنی *Vrn-D1* در ارقام اکسکلیبر، کل‌حیدری و مهدوی، قطعه ۹۹۷ جفت بازی تکثیر شد بنابراین این ارقام در مکان ژنی *Vrn-D1* دارای آلل *vrn-D1*

بوده که عادت رشدی زمستانه را کنترل می‌نماید. در رقم روشن قطعه ۱۶۷۱ جفت بازی تکثیر شد، لذا این رقم در این مکان ژنی دارای آلل *Vrn-D1a* بوده که عادت رشدی بهاره را کنترل می‌نماید.




**شکل ۳. الکتروفورز ژل آگارز برای مکان ژنی *Vrn-B1*. (a) محصول پی سی آر الل *Vrn-B1a* با طول باند ۱۱۲٤ جفت باز. (b) محصول پی سی آر الل *vrn-B1* با طول باند ۱۱٤۹ جفت باز**

**Figure 3. Agarose gel electrophoresis for *Vrn-B1* locus. (a) PCR product for *Vrn-B1a* allele with ban size 1124 bp. (b) PCR product for *vrn-B1* allele with band size 1149 bp**

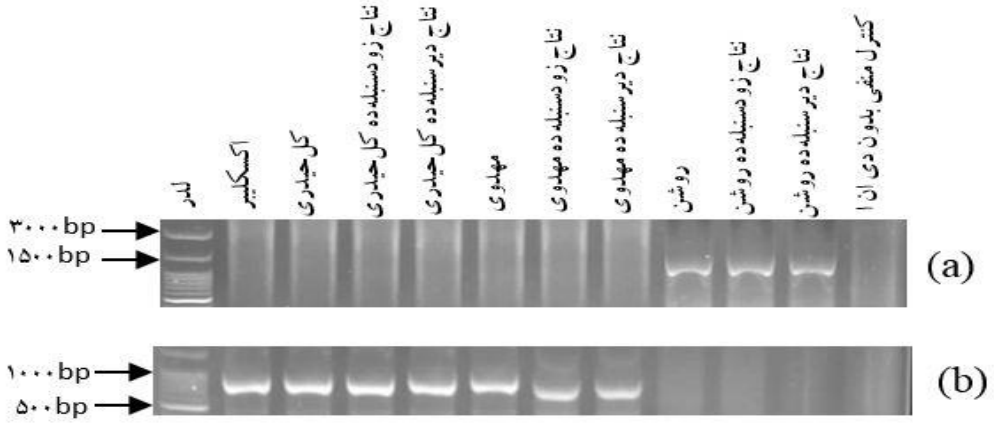
در بررسی Nazari et al. (2016) برای این مکان ژنی نتایجی مشابه نتایج پژوهش حاضر گزارش شد، رقم روشن در مکان ژنی *Vrn-D1* دارای آلل غالب *Vrn-D1a* و اکسکلیبر آلل مغلوب این مکان ژنی را دارا بود. نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده در زمینه‌های ژنتیکی ارقام کل‌حیدری و مهدوی مطابق انتظار شبیه والدین بودند و باند ۹۹۷ جفت بازی را نشان دادند اما در زمینه ژنتیکی روشن، نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده هر دو شبیه والد تکراری (رقم روشن) بودند و قطعه ۱۶۷۱ جفت بازی را تکثیر کردند. دلیل این امر آن است که آلل‌های زمستانه در خلال تلاقی برگشتی‌های متعدد حذف شده‌اند و در نتاج تلاقی برگشتی پنجم نتاج دیرسنبله‌ده نیز آلل زمستانه را نداشتند.

**نتیجه‌گیری:** آلل *Ppd-D1a* تحت تاثیر زمینه ژنتیکی قرار گرفت، طوری که در زمینه ژنتیکی رقم روشن به خوبی توانست نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده را تفکیک نماید اما در زمینه ژنتیکی رقم کل‌حیدری، این آلل نتوانست به خوبی نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده را از هم جدا نماید. عدم تفاوت بین نتاج زودسنبله‌ده و دیرسنبله‌ده در زمینه ژنتیکی رقم روشن در دو مکان ژنی *Vrn-B1* و *Vrn-D1* به این علت می‌باشد که در خلال نسل‌های تلاقی برگشتی، فقط گزینش فنوتیپی برای زودرسی انجام شده بود و ژن‌های مسئول بهاره‌سازی در این مکان‌های ژنی در خلال گزینش فنوتیپی حذف شده‌اند. در مکان ژنی *Vrn-B1* عادت رشدی زمستانه باعث زودرسی می‌شود. به همین دلیل آلل بهاره در طی گزینش فنوتیپی حذف شده است. از طرف دیگر در مکان ژنی *Vrn-*



Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

*D1* آلل‌های زمستانه که باعث دیررسی می‌شود در خلال تلاقی‌های برگشتی حذف شده و در نتاج تلاقی برگشتی پنجم نتاج دیرسنبله‌ده نیز این آلل را نداشتند.




**شکل ٤. الکتروفورز ژل آگارز برای مکان ژنی *Vrn-D1*. (a) محصول پی سی آر الل *Vrn-D1a* با طول باند ۱٦۷۱ جفت باز. (b) محصول پی سی آر الل *vrn-D1* با طول باند ۹۹۷ جفت باز**

**Figure 4. Agarose gel electrophoresis for *Vrn-D1* locus. (a) PCR product for *Vrn-D1a* allele with band size 1671 bp. (b) PCR product for *vrn-D1* allele with band size 997 bp**

**سپاسگزاری:** نگارندگان از خانم دکتر پورتبریزی به خاطر مطالعه متن مقاله حاضر و ارایه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری می‌نمایند.

## منابع

امینی‌زاده سمیه، عبدالشاهی روح اله، پورسیدی شهرام و همکاران (۱۴۰۱) تأثیر ژن‌های *VRN1* و *Ppd1* بر صفات مهم زراعی گندم نان. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۴(۱)، ۱۳۴-۱۱۷.

فرودی‌صفات شهرزاد، عبدالشاهی روح اله، مهیجی مهدی (۱۳۹۹) تاثیر گزینش ژن *Ppd-D1a* و زودسنبله‌دهی بر صفات مهم زراعی گندم نان (*Triticum aestivum* L.). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۳)، ۴۴-۲۵.

نظری محسن، ایزانلو علی، قادری محمدقادر، علیزاده زهره (۱۳۹۵) بررسی تنوع آللی ژن‌های *VRN1* و *Ppd1* در ارقام مختلف گندم نان. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۸(۱)، ۱۲۴-۱۱۱.

## References

Addisu M, Snape JW, Simmonds JR, Gooding MJ (2009) Reduced height (*Rht*) and photoperiod insensitivity (*Ppd*) allele associations with establishment and early growth of wheat in contrasting production systems. Euphytica 166, 249-267.

Amasino R (2004) Vernalization, competence, and he epigenetic memory of winter. Plant cell 16, 2553-2559.

Aminizadeh S, Abdolshahi R, Pourseyedi S et al. (2022) Effect of *Ppd* and *Vrn* genes on important agronomic traits of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Agric Biotechnol J 14(1), 117-134.

Andeden E, Yediay F, Baloch F et al. (2011) Distribution of vernalization and photoperiod genes (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn-B3*, *Ppd-D1*) in Turkish bread wheat cultivars and landraces. Cereal Res Commun 39(3), 352-364.

Beales J, Turner A, Griffiths S et al. (2007) A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor Appl Genet 115, 721-733.

Cane K, Eagles HA, Laurie DA et al. (2013) *Ppd-B1* and *Ppd-D1* and their effects in southern Australian wheat. Crop Pasture Sci 64(2), 100-114.

Chen A, Dubcovsky J (2012) Wheat TILLING mutants show that the vernalization gene *VRN1* down-regulates the flowering repressor *VRN2* in leaves but is not essential for flowering. PLoS Genet 8, e1003134.

Chen H, Moakhar NP, Iqbal M et al. (2016) Genetic variation for flowering time and height reducing genes and important traits in western Canadian spring wheat. Euphytica 208, 377-390.

Chen L, Yang Y, Cui C et al. (2018) Effects of *Vrn-B1* and *Ppd-D1* on developmental and agronomic traits in *Rht5* dwarf plants of bread wheat. Field Crops Res 219, 24-32.

Distelfeld A, Li C, Dubcovsky J (2009) Regulation of flowering in temperate cereals. Curr Opin Plant Biol 12(2), 178-184.

Dubcovsky J, Lijavetzky D, Appendino L, Tranquilli G (1998) Comparative RFLP mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement. Theor Appl Genet 97, 968-975.

Flhor BM, Hunt JR, Kirkegaard JA et al. (2018) Fast winter wheat phenology can stabilise flowering date and maximise grain yield in semi-arid Mediterranean and temperate environments. Field Crops Res 223, 12-25.

Foroodi safat Sh, Abdolshahi R, Mohayeji M Maghsodi-mod A (2020) Effect of selection for *Ppd-D1a* gene and early heading on important agronomic trait of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Agric Biotechnol J 12(3), 25-44 (In Persian).

Foulkes MJ, Sylvester-Bradley R, Worland AJ, Snape JW (2004) Effects of a photoperiod-response gene *Ppd-D1* on yield potential and drought resistance in UK winter wheat. Euphytica 135(1), 63-73.

Fu D, Szűcs P, Yan L et al. (2005) Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. Mol Genet Genomics 273, 54-65.

Galiba GQ, Quarrie SA, Sutka J et al. (1995) RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat. Theor Appl Genet 90, 1174-1179.

Hemming MN, Fieg S, James Peacock W et al. (2009) Regions associated with repression of the barley (*Hordeum vulgare*) vernalization1 gene are not required for cold induction. Mol Genet Genomics 282, 107-117.

Iqbal M, Navabi A, Salmon DF et al. (2007) Genetic analysis of flowering and maturity time in high latitude spring wheat: genetic analysis of earliness in spring wheat. Euphytica 154, 207-218.

Iqbal M, Shahzad A, Ahmed I (2011) Allelic variation at the *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, *Vrn-B3* and *Ppd-D1a* loci of Pakistani spring wheat cultivars. Electron J Biotechnol 14(1), 1-2.

Kamran A, Iqbal M, Spaner D (2014) Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability. Euphytica 197, 1-26.

Langer SM, Longin CFH, Würschum T (2014) Flowering time control in European winter wheat. Front Plant Sci 5, 537.

Mondal S, Singh RP, Crossa J et al. (2013) Earliness in wheat: a key to adaptation under terminal and continual high temperature stress in South Asia. Field Crops Res 151, 19-26.

Nazari M, Izanlou A, Qaderi MQ, Alizadeh Z (2016) Evaluation of allelic diversity of *VRN1* and *Ppd1* genes in different bread wheat cultivars. Agric Biotechnol J 8(1), 111-124 (In Persian).

Nitcher R, Pearce S, Tranquilli G et al. (2014) Effect of the Hope *FT-B1* allele on wheat heading time and yield components. J. Hered. 105(5), 666- 675.

Ogbonnaya FC, Rasheed A, Okechukwu EC (2017) Genome-wide association study for agronomic and physiological traits in spring wheat evaluated in a range of heat prone environments. Theor Appli Genet 130, 1819-1835.

Royo C, Ammar K, Alfaro C et al. (2018) Effect of *Ppd-1* photoperiod sensitivity genes on dry matter production and allocation in durum wheat. Field Crops Res 221, 358-367.

Royo C, Dreisigacker S, Soriano JM et al. (2020) Allelic variation at the vernalization response (*Vrn-1*) and photoperiod sensitivity (*Ppd-1*) genes and their association with the development of durum wheat landraces and modern cultivars. Front Plant Sci 11, 838.

Shcherban AB, Börner A, Salina EA (2015) Effect of *VRN1* and *PPDD1* genes on heading time in European bread wheat cultivars. Plant Breed 134(1), 49-55.

Snape JW, Butterworth K, Whitechurch E, Worland AJ (2001) Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. In Wheat in a Global Environment: Proceedings of the 6th

International Wheat Conference, 5–9 June 2000, Budapest, Hungary (pp. 67-74). Springer Netherlands.

Trevaskis B, Hemming MN, Dennis ES, Peacock WJ (2007) The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. Trends Plant Sci 12(8), 352-357.

Worland AJ (1996) The influence of flowering time genes on environmental adaptability in Europ wheats Euphytica 89, 49-57.

Worland AJ, Börner A, Korzun V et al. (1998) The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats. Euphytica 100, 385-394.

Yan L, Helguera M, Kato K et al. (2004) Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat. Theor Appl Genet 109, 1677-1686.

Zaitseva OI, Lemesh VA (2015) Allelic composition in the *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, and *Vrn-B3* genes of double haploid lines of hexaploid triticale. Russ J Genet 51, 653-660.

Zhang XK, Xiao YG, Zhang Y et al. (2008). Allelic variation at the vernalization genes *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, and *Vrn-B3* in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit. Crop Sci 48(2), 458-470.

Zhang YP, Uyemoto JK, Kirkpatrick BC (1998) A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. J. Virol Meth 71(1), 45-50