

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА**

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ
ТА ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЖАРІКОВА ДАР'Я ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 577.2: 633.34

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПОЛІМОРФІЗМ ЗА ЛОКУСАМИ, АСОЦІЙОВАНИМИ З
ГЕНАМИ *E*, В УКРАЇНСЬКИХ СОРТАХ ТА
ЛІНІЯХ СОЇ (*GLYCINE MAX* (L.) MERR.)**

03.00.22 – молекулярна генетика
091 – біологічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

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

_____ Д.О. Жарікова

Науковий керівник: Чеботар Сабіна Віталіївна, професор, доктор біологічних наук, член-кореспондент НААН

Одеса – 2021

АНОТАЦІЯ

Жарікова Д.О. Поліморфізм за локусами, асоційованими з генами *E*, в українських сортах та лініях сої (*Glycine max.* (L.) Merr.). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 – молекулярна генетика. – Міністерство освіти і науки України, Одеський національний університет імені І.І.Мечникова. – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2021.

Дисертація присвячена вивченню алельного стану генів фотоперіодичної чутливості *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* в генотипах сортів і селекційних ліній сої, створених у різних селекційних центрах України, та оцінці впливу алелів генів *E* на агрономічні ознаки рослин сої, при вирощуванні в Правобережному Лісостепу України.

За допомогою молекулярно-генетичного аналізу за мікросателітними та алель-специфічними маркерами визначено поліморфізм за генами фотоперіодичної чутливості *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* для 22 сортів вітчизняної та іноземної селекції і 29 ліній сої, з яких 19 ліній, створені шляхом гібридизації, 10 ліній, створені з використанням хімічного мутагенезу. У дослідженому матеріалі генотипування за МС-локусами *Sat_038*, *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365* продемонструвало високий рівень генетичного поліморфізму; виявлено 28 алелів (4,7 алелі/локус), що свідчить про високе генетичне різноманіття за дослідженими локусами зчепленими з генами *E*.

За результатами наших досліджень панель з вказаних шести МС-локусів може бути запропонована для диференціації і ідентифікації сучасних сортів сої української селекції та створення їх генетичних паспортів. ПЛР-аналіз з алель-специфічними маркерами до алелів локусів *E3* і *E4* показав, що

більшість сортів і ліній сої української селекції характеризується домінантними алелями – 70% за геном *E3* і 75% за *E4*.

Мутагени – похідні тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-піридину – призводили до генетичної мінливості у геномі сої, до збільшення алельної різноманітності за локусами, зчепленими з *E* генами, та впливали на алельний стан гена *E3* в генотипах ліній сої, отриманих шляхом хімічного мутагенезу.

Сорти сої з генотипами з рецесивними алелями *e1 e2 e3 e4 e7*, порівняно з генотипами, в яких присутні певні домінантні алелі – *e1 e2 E3 E4 E7*, характеризуються коротшим вегетаційним періодом за вирощування в умовах Правобережного Лісостепу України. Детектовано вплив алелів за локусами *Satt100* і *Satt319*, що визначають домінантний алель гена *E7*, наявність яких призводить до подовження тривалості періоду вегетації (на 10-11 діб довше) у порівнянні з носіями рецесивного *e7*, за вирощування в Правобережному Лісостепу.

За біохімічними маркерами (пероксидазою, супероксиддисмутазою, НАДФ•Н-оксидазою), виявлено зв'язок експресивності досліджених ензимів з алелями генів *E3*, *E4*, *E7*.

Рекомендовано застосування генотипу мутантної, ранньостиглої лінії 'Золотиста М16' як донора генів для створення ранньостиглих сортів сої, а також використовувати МС-маркери, як інструмент маркерної селекції для відбору ліній сої з алелями *Satt365*₂₇₀, *Sat_038*₂₄₇, *Satt229*₂₃₀, *Satt354*₁₇₈, *Satt100*₁₃₁, *Satt319*₁₇₈, як таких, що мають прискорені темпи розвитку, зокрема раннє цвітіння та дозрівання.

Маркер асоційованна селекція може вдосконалити систему диференціації сортів сої за групами стиглості і використання генетичного поліморфізму за локусами *E* може допомогти у пошуку оптимальних генотипів сої для певних зон вирощування.

Ключові слова: соя, *Glycine max* (L.) Merr., гени *E*, ПЛР-аналіз, мікросателітні маркери, чутливість до фотоперіоду, генетичний поліморфізм, алель-специфічні ДНК-маркери

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Охримович О.В., **Жарікова Д.О.**, Чеботар С.В., Чеботар Г.О. Молекулярна будова *E*-генів сої та їх функціональні мутації. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2020. Т. 82. С. 3-13. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2020.82.01> *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, та написано оглядову статтю)*

2. **Жарікова Д.О.**, Аксьонова О.А., Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Використання мікросателітних локусів, зчеплених з генами *E*, для ідентифікації та паспортизації сортів сої. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2019. Т. 24. С. 80-86. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1083> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено аналіз літературних даних, узагальнення власних експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

3. **Zharikova D.O.**, Chebotar G.O., Aksyonova E.A., Temchenko I.V., Chebotar S.V. Polymorphisms in SSR-loci associated with *E* genes in soybean mutant lines offer perspective for breeding. Agricultural science and practice. 2019. Vol. 6 (3). P.45-55. <https://doi.org/10.15407/agrisp6.03.045> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено узагальнення експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

4. **Zharikova D.**, Ivanyuk S., Chebotar G., Korniychuk O., Chebotar S. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus, that involved in determination of time to flowering / Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics. Lithuania, Vilnius: Springer Nature, 2018. P. 220-225. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89578-9_40

(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, узагальнення деяких власних експериментальних даних та написано розділ до монографії)

5. **Жарікова Д.О.**, Чеботар Г.О., Вільгота М.В., Темченко І.В., Чеботар С.В. Характеристика мутантних ліній сої за локусами *Satt100* та *Satt319*, зчеплених з геном *E7*. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2018. Т. 23 С. 50-56. <https://doi.org/10.7124/FEEО.v23.989> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено узагальнення експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

6. Топтиков В.А., **Жарікова Д.А.**, Г.А. Чеботарь, Темченко И.В., Чеботарь С.В. Генетико-биохимические особенности мутантных линий сои. Вісник Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова. Серія біологія. 2018. Т.23, №2 (43). С. 73-94. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2\(43\).147013](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2(43).147013) *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, узагальнення експериментальних даних та написано статтю)*

7. **Zharikova D.O.**, Chebotar G.O., Temchenko I.V., Aksyonova E.A., Chebotar S.V. Polymorphisms of microsatellite loci, associated with photoperiod sensitive *E* genes, in Ukrainian soybean varieties and perspective lines for breeding. theses presented at the Biological Session of Conference “The Importance of G. Gamow's Ideas for Biology of the 21st Century” (13-th of August 2020, Odesa) Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa. Вісник ОНУ. Серія біологія. 2020. Т. 25, № 2 (47). С.203-205.

8. Chebotar S., **Zharikova D.**, Chebotar G., Aksyonova E., Korniychuk O. Polymorphism in SSR-loci associated with *E* genes in soybean mutant lines perspective for breeding. Theses presented at the 3rd Global Congress on Plant Biology and Biotechnology (March 11-13, 2019, Singapore). 2019. P. 63.

9. **Жарікова Д.О.**, Чеботар Г.О., Аксьонова О.А., Чеботар С.В. Визначення алельного стану генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4* та *E7* за допомогою

зчеплених з ними мікросателітних локусів у сортів сої сучасної селекції. Еколого-генетичні аспекти в селекції польових культур в умовах змін клімату: тези представлені на Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченої 90- річчю з дня народження генетика, селекціонера, професора М.М. Чекаліна (18-19 квітня 2019 р.). Полтавська державна аграрна академія. Полтава, 2019. С. 29.

10. **Жарікова Д.О.**, Темченко І.В., Аксьонова О.А., Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Асоціації алельних варіантів за МС-локусами, зчепленими з *E* генами сої, з агрономічними ознаками у ліній отриманих шляхом хімічного мутагенезу. Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур: тези представлені на VII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів (с. Центральне, 19 квітня 2019 р.). НААН ім. В.М. Ремесла, М-во аграр. політики та прод. України, Укр. Ін-т експертизи сортів рослин. Вінниця: ТОВ «Твори», 2019. С. 48-49.

11. **Zharikova D.**, Ivanyuk S., Chebotar G., Korniychuk O., Chebotar S. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus. “Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics” Book of abstracts of the Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section. September 11-14, 2017, Vilnius, Lithuania. P. 60.

12. **Жарікова Д.**, Войткова В., Чеботар С., Корнійчук О.. Поліморфізм селекційних ліній сої визначений за молекулярним маркером *Satt100* до гена *E7* фотоперіодичної чутливості. Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату: матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет конференції (м. Херсон, 9 грудня 2016). Херсон, 2016. С. 52-54

ABSTRACT

Zharikova D.O. Polymorphism at loci associated with *E* genes in Ukrainian cultivars and breeding lines of soybean (*Glycine max.* (L.) Merr.). - Qualifying scientific paper. – Manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences, specialty 03.00.22 – molecular genetics. – Odesa I.I. Mechnikov National University. – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine. Kyiv, 2021.

This thesis presents the study of the alleles of photoperiodic sensitivity genes *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* in genotypes of soybean varieties and lines that have been created in different breeding centers of Ukraine, and the evaluation of the effects of alleles of *E* genes on agronomic traits of soybean plants that have grown in Right-Bank Forest-Steppe zone of Ukraine.

Molecular genetic analysis by using microsatellite and allele-specific markers permitted to reveal polymorphism in photoperiod sensitivity genes *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* genes for 22 varieties and 29 soybean lines, among which 19 lines created by crossing, 10 lines created using chemical mutagenesis. Genotyping at MS loci *Sat_038*, *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365* we have shown a high level of genetic polymorphism in the studied material. There were detected 28 alleles (4,7 alleles / locus), that indicated a high genetic diversity at microsatellite loci linked with *E* genes.

According to our results, the panel of these six MS-markers can be proposed for the differentiation and passportization for modern ukrainian soybean varieties. PCR analysis with allele-specific markers for alleles of *E3* and *E4* genes showed that most of ukrainian soybean varieties and lines characterized by dominant alleles for *E3* gene 70% and 75% for *E4* gene.

Mutagens - derivatives of tetrahydrothiophene-N-dioxide3,4-diamine and tetrahydrothiophene-N-dioxide3,4-pyridine - led to the increase of genetic

variability in the soybean genome and allelic diversity at loci linked to *E* genes, and affected the alleles of *E3* gene in genotypes of soybean lines that have been obtained by chemical mutagenesis.

Genotypes of soybean varieties with recessive alleles *e1 e2 e3 e4 e7*, compared to genotypes with alleles *e1 e2 E3 E4 E7*, have been characterized by the shorter growing period in the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine. We detected the effects of alleles at *Satt100* and *Satt319* loci, that linked to the *E7* gene. The dominant allele of the *E7* gene led to the prolongation of the growing season (for 10-11 days longer) in comparison with genotypes-carriers of recessive *e7* cultivated in the Right-Bank Forest-Steppe zone.

We have revealed correlations between of the expression of the enzymes and some alleles of genes *E3*, *E4*, *E7* according to analysis of biochemical markers (peroxidase, superoxide dismutase, NADP H-oxidase).

We recommended the genotype of the mutant early-maturing line ‘Zolotyzta M16’ as a gene donor for creation of early-maturing soybean varieties. The MS-markers *Satt365*₂₇₀, *Sat_038*₂₄₇, *Satt229*₂₃₀, *Satt354*₁₇₈, *Satt100*₁₃₁, *Satt319*₁₇₈ can be useful for marker assisted selection of soybean lines with accelerated rate of development, including early flowering and ripening.

The usage of the marker-assisted selection can be usefull to improve the system of differentiation soybean varieties according to maturity groups and the knowledge of the genetic polymorphism at *E* loci can help in searching the optimal genotypes of soybean for specific growing areas.

Key words: soybean, *Glycine max* (L.) Merr., *E* genes, PCR analysis, microsatellite markers, photoperiod sensitivity, genetic polymorphism, allele-specific DNA-markers

ЗМІСТ

	ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	12
	ВСТУП.....	14
РОЗДІЛ 1.	ГЕНЕТИЧНА ДЕТЕРМІНАЦІЯ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ ЧУТЛИВОСТІ СОЇ (<i>GLYCINE MAX</i> (L.) MERR.)	
	(огляд літератури).....	24
1.1.	Род <i>Glycine</i> та розповсюдження <i>Glycine max</i> (L.) Merr. у світі...	25
1.1.1.	Характеристика геному <i>Glycine max</i> (L.) Merr.....	30
1.1.2.	Основні напрями селекції сої в Україні та в світі.....	32
1.2.	Фотоперіодична чутливість у рослин сої.....	42
1.2.1.	Генетичний контроль фотоперіодичної чутливості у рослин сої.....	44
1.2.2.	Структура генів <i>E1</i> , <i>E2</i> , <i>E3</i> , <i>E4</i> , <i>E7</i> , їх локалізація та продукти експресії.....	47
1.2.3.	Вплив генів серії <i>E</i> на кількісні ознаки сої. Цвітіння, дозрівання, тривалість вегетаційного періоду, масу 1000 насіння та врожайність.....	58
1.2.4.	Молекулярно-генетичний поліморфізм генів <i>E</i> у світовому генофонді сої.....	61
РОЗДІЛ 2.	МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	
2.1.	Опис генетичного матеріалу.....	66
2.2.	Молекулярно-генетичні методи дослідження.....	70

2.2.1.	Метод виділення ДНК з лізуючим буфером зі ЦТАВ.....	72
2.2.2.	Метод виділення ДНК за допомогою NeoPrep100DNA_plant.....	72
2.2.3.	Визначення концентрації ДНК.....	74
2.2.4.	ПЛР аналіз за допомогою МС-маркерів.....	74
2.2.5.	Алель-специфічна ПЛР з ДНК-маркерами.....	77
2.2.6.	Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі.....	78
2.2.7.	Електрофорез продуктів ПЛР в поліакриламідному гелі.....	79
2.2.8.	Аналіз продуктів ПЛР на генетичному аналізаторі ABI PRISM Genetic Analyzer 3500 (капілярний фореz)	80
2.2.9.	Фарбування гелів та візуалізація продуктів ПЛР.....	80
2.2.10.	Програмний аналіз фотодокументації з фрагментами ПЛР.....	81
2.3.	Проведення алозимного аналізу НАДФ-Н-оксидази (NOX), пероксидази (POX) и супероксиддисмутази (SOD).....	82
2.4.	Методи статистичної обробки даних.....	83
2.5.	Польові дослідження.....	85
РОЗДІЛ 3.	АЛЕЛЬНИЙ СТАН ЛОКУСІВ <i>E</i> , ЩО ДЕТЕРМІНУЮТЬ ЧУТЛИВІСТЬ СОЇ ДО ФОТОПЕРІОДУ, В УКРАЇНСЬКИХ СОРТАХ ТА ЛІНІЯХ СОЇ	
3.1.	Використання мікросателітних локусів, асоційованих з генами <i>E</i> для ідентифікації та паспортизації сортів сої.....	89

3.2.	Алельний стан локусів <i>E</i> за мікросателітними і алельспецифічними маркерами у сортах сої, створених в різних селекційних центрах України.....	96
3.3.	Поліморфізм за локусами асоційованими з генами <i>E</i> у перспективних для селекції мутантних ліній сої.....	111
3.4.	Генетико-біохімічні особливості сортів і ліній сої та їх кореляції з генами чутливості до фотоперіоду.....	128
3.5.	Характеристика за мікросателітними та алель-специфічними маркерами локусів <i>E</i> ліній сої, отриманих шляхом гібридизації.....	148
	УЗАГАЛЬНЕННЯ	176
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	189
	ВИСНОВКИ	190
	СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	192
	ДОДАТОК А	214
	ДОДАТОК Б	217
	ДОДАТОК В	218
	ДОДАТОК Г	219
	ДОДАТОК Д	220
	ДОДАТОК Е	221
	ДОДАТОК Ж	223
	ДОДАТОК З	225
	ДОДАТОК К	228
	ДОДАТОК Л	229
	ДОДАТОК М	230

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- ДНК** – дезоксирибонуклеїнова кислота (DNA)
- Д-6, ДМССО-11, ДМССО- 12** – хімічні мутагени похідні від тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-діаміну
- ДМСНПІР-11, ДУДМС12, Д12ДМС-11Б** – хімічні мутагени похідні від тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-піридину
- дНТФ** – суміш дезоксирибонуклеотидтрифосфатів (dNTP)
- ЕДТА** – етилендіамінтетраацетат
- МС** – мікросателіти
- НАДФ·Н** – нікотинаденіндіфосфат Н⁺
- н. п.** – нуклеотидна пара (bp)
- ПААГ** – поліакриламідний гель (PAGE)
- ПЛР** – полімеразна ланцюгова реакція (PCR)
- РНК** – рибонуклеїнова кислота (RNA)
- ЦТАБ** – цетилтриметиламоній бромід (CTAB)
- AFLP** — поліморфізм довжини ампліфікованих фрагментів (Amplified Fragment Length Polymorphism)
- FAO** – Продовольча сільськогосподарська організація (Food and Agriculture Organization)
- LRR** – лейцин-багаті повтори (leucine-rich-repeat)
- LTR** – Довгий кінцевий повтор (Long Terminal Repeat)
- NCBI** – Національний центр біологічної інформації
- PIС** – індекс поліморфного інформаційного змісту (Polymorphic Information Content)
- QTL** – локуси кількісних ознак або агрономічно-важливі ознаки (Quantitative Trait Loci)
- R1-R8** – репродуктивні стадії розвитку рослин сої, згідно з класифікацією [42]
- RFLP** – поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RAPD – випадково ампліфікована поліморфна ДНК (Random Amplified Polymorphic DNA)

SNP — однонуклеотидний поліморфізм (Single Nucleotide Polymorphism)

SSR – послідовності простих повторів (Simple Sequence Repeats)

Ve-Vn – вегетативні стадії розвитку рослин сої, згідно з класифікацією [42]

UPGMA – незважений парногруповий метод з арифметичним усередненням, (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)

USDA – Міністерства сільського господарства США (United States Department of Agriculture)

UTR – нетрансльовані ділянки генів (untranslated regions)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Україна посідає перше місце в Європі та сьоме в рейтингу світових експортерів сої за даними на 2019 рік [258]. У великій мірі це відбувається завдяки успіхам селекції. Однак, в останні роки глобальні зміни клімату з підвищенням середньорічних температур на території нашої країни (близько 2°C), нерівномірний розподіл вологи та інші зміни факторів навколишнього середовища [228], створюють нові умови для розвитку рослин сої, в основних регіонах її вирощування. Це потребує нових підходів для скорочення термінів проведення селекційної справи та запровадження нових методів отримання селекційного матеріалу.

Досягнення високої урожайності та адаптивності сорту до зміни клімату у заданому регіоні вирощування, нерозривно пов'язано з фотоперіодичною чутливістю, часом цвітіння та дозрівання сої. Генетичним фактором, що впливає на час цвітіння сої – є гени серії *E* (early maturity), які контролюють реакцію рослини на зміну довжини дня, та одночасно зчеплені з низкою інших агрономічно-важливих локусів (QTL), таких, що впливають на час зацвітання, час дозрівання, тривалість вегетаційного періоду, масу 1000 насінин, врожайність та інш [21, 98, 178].

Алельний стан генів фотоперіодичної чутливості в сучасних сортах і лініях сої української селекції наразі є малодослідженим. Питання щодо визначення впливу генотипів з різним алельним станом локусів *E* на ті чи інші агрономічно-важливі ознаки сої залишається відкритим, ґрунтовні дані з поліморфізму за генами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* в сортах і лініях сої в вітчизняних джерелах майже відсутні. Як стверджує [282], соя культурна є досить поліморфною за реакцією на фотоперіод. Добір ефективніших *E*-генотипів в тих, або інших агроекологічних умовах, цілеспрямоване використання у селекційних програмах домінантних та рецесивних алелів генів *E* стримується складністю визначення генотипів за фенотиповим проявом зазначеної ознаки. У зв'язку з цим виникає необхідність використовувати нові методи визначення

алелів генів *E* за допомогою ПЛР-аналізу. Досконале вивчення групи генів фотоперіодичної реакції сої має сприяти розвитку робіт з маркеропосередкованої селекції зі створення сортів із запрограмованим темпом розвитку, зокрема в нашій країні й виявляється дуже актуальним та невідкладним.

Сучасні молекулярно-генетичні методи аналізу генетичного поліморфізму сої із застосуванням мікросателітних маркерів та алель-специфічних до *E*-генів дозволяють, визначати алельний стан цих генів в генотипах сортів сої, дослідити вплив алелів цих генів на агрономічні ознаки сої в певних умовах вирощування та рекомендувати сорти для використання в селекційних програмах з певним періодом дозрівання.

Інформація про алельний стан генів *E* у сучасних українських сортів сої допоможе вдосконалити систему ранжування сортів сої за групами стиглості та визначити оптимальні сорти для певних зон вирощування, допоможе ідентифікувати та диференціювати сорти сої, створювати їх генетичні паспорти, що може бути корисним для захисту авторських прав на сорти рослин. Використання певних донорів з визначеними домінантними чи рецесивними алелями генів *E*, дозволить більш свідомо планувати схрещування й отримувати і добирати лінії з певними алелями, що потенційно надасть можливість створювати сорти із запрограмованими темпами розвитку в певних умовах вирощування.

Останні тенденції щодо зміни кліматичних умов в основних регіонах вирощування сої, зокрема у Вінницькій області, змусили звернути нашу увагу на генетико-біохімічні властивості дослідженої вибірки сортів і ліній, задля визначення цінних генотипів для створення продуктивних сортів, адаптованих до певного регіону, оскільки стабільні за врожайністю сорти що придатні для вирощування у різних кліматичних умовах регіону, мають велике значення для розвитку сільського господарства [236].

Різноманітні системи відповіді організму рослини на абіотичні та біотичні фактори на всіх рівнях структурної організації і зачіпають практично всі функції рослини. Ферменти антиоксидантної системи знижують шкідливу дію вільних радикалів та активних форм кисню, які накопичуються в клітинах, у відповідь на стресові чинники, порушують окислювально-відновлювальний баланс та викликають апоптоз клітини у рослин [72]. Відіграючи важливу роль у багатьох біологічних процесах, активні форми кисню є інтегративними сигнальними молекулами та функціонують разом з іншими сигнальними шляхами [266]. Дані щодо досліджень можливих зв'язків між сигнальними шляхами систем антиоксидантної і фотоперіодичної чутливості у рослин сої в доступних джерелах відсутні.

Дослідження показників активності ферментів антиоксидантної системи у сортах і лініях сої, та аналіз їх кореляцій зі станом алелів, чутливих до фотоперіоду локусів *E*, є наразі актуальними, бо нададуть можливість передбачати генотипи з вищою адаптаційною спроможністю, пластичністю, а отже і з прогнозованою стабільністю врожаю стосовно стресових абіотичних чинників. Таким чином, для пошуку нових підходів щодо скорочення термінів проведення селекційної роботи та запровадження нових методів отримання селекційного матеріалу, спрощення методів для пришвидшення його первинного скринінгу, нами використовувався алозимний аналіз за ферментами антиоксидантної, НАДФ•Н-оксидазної систем у сортах і лініях сої, досліджених нами за алельним станом локусів чутливості до фотоперіоду *E*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі генетики та молекулярної біології біологічного факультету Одеського національного університету імені І.І. Мечникова в межах НДР «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці і сої та залежність їх продуктивності від алельного складу локусів за даними ПЛР-аналізу» (№ ДР 0117U001114, 2017-2019 рр.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було визначити за допомогою мікросателітних та алель-специфічних маркерів алелі генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4* та *E7* в сортах та лініях сої, створених в різних селекційних центрах України, оцінити їх вплив на агрономічно-важливі ознаки сої при вирощуванні в умовах Правобережного Лісостепу України.

Для досягнення мети вирішували наступні завдання:

1. Дослідити поліморфізм за мікросателітними локусами, асоційованими з генами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*, в генотипах сучасних українських сортів та ліній сої та визначити алельний стан вказаних генів.

2. За допомогою алель-специфічних маркерів встановити алельний стан генів *E3*, *E4*, виявити частоти алелів вказаних генів у генотипах сучасних українських сортів та ліній сої.

3. Оцінити вплив алелів генів *E* та асоційованих з ними мікросателітних локусів на агрономічні ознаки сої при вирощуванні в умовах Правобережного Лісостепу України.

4. Оцінити можливість використання панелі застосованих мікросателітних маркерів для диференціювання та паспортизації генотипів сої.

5. Дослідити вплив мутагенів, похідних тетрагідротіофен-N-діоксиду 3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду 3,4-піридину на генетичну мінливість в мікросателітних локусах, що асоційовані з генами *E* сої, в перспективних селекційних лініях, створених за програмою хімічного мутагенезу в ІКСГП.

6. Дослідити експресивність та поліморфізм у сортах і лініях сої за ізоформами ферментів антиоксидантної системи, що приймають участь у відповіді на навколишні чинники і можуть бути пов'язані з генами *E*.

7. Визначити донорів домінантних та рецесивних алелів генів *E* для застосування у схрещуваннях зі створення ранньостиглих / пізньостиглих генотипів сої.

Об'єкт дослідження: генетичний поліморфізм сої (*Glycine max.* (L.) Merr.).

Предмет дослідження: алелі маркерних локусів й генів фотоперіодичної чутливості *E* в сортах і лініях сої української селекції та їх вплив на агрономічні ознаки.

Матеріали і методи. Оцінка поліморфізму алельного стану за локусами *E* в сортах і лініях сої здійснювалася з використанням молекулярно-генетичних методів: екстракція та очищення тотальної геномної ДНК, полімеразна ланцюгова реакція за допомогою мікросателітних і алель-специфічних маркерів, електрофорез продуктів ампліфікації на генетичному аналізаторі ABI PRISM Genetic Analyzer 3500 (США), та в агарозних і поліакриламідних гелях. Аналіз зображень гелів проводили із застосуванням програми GelAnalyzer 2010a та GeneMapper® Software Version 4.1. Для визначення поліморфізму білків і ферментів застосовували алозимний аналіз з білковими маркерами - ензимами обміну активних форм кисню: НАДФ•Н-оксидаза, пероксидаза і супероксиддисмутаза. Для аналізу рівня поліморфізму у різних рослинних зразках, та їх зв'язках з агрономічно-важливими ознаками використовували біоінформатичні і статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше визначено алелі генів *E3* та *E4* в генотипах українських сортів та перспективних ліній сої. Охарактеризовано генотипи за генами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* українських сортів та ліній сої, та цими характеристиками доповнено інформаційну базу даних, що характеризує генофонд українських сортів сої.

У роботі вперше визначено слабку відповідність між наявністю певних алелів генів *E* в генотипі та ранжуванням сортів сої за групами стиглості, які зазначаються у Державному реєстрі сортів рослин, придатних до поширення в Україні.

За допомогою статистичного аналізу було встановлено вплив алелів генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* на агрономічні ознаки сої при вирощуванні в умовах

Вінницької області. Сорти сої з генотипами з рецесивними алелями локусів *E* (*e1 e2 e3 e4 e7* алелі), характеризуються коротшим вегетаційним періодом. Генотипи-носії домінантного алелю гена *E7* мали триваліший період вегетації (10-11 днів довше), ніж носії рецесивного *e7*. Автором роботи встановлено, що мікросателітні маркери *Satt229* і *Satt354*, не можуть бути рекомендованими для ідентифікації алелів генів *E3*, *E4*.

Визначено донорів домінантних та рецесивних генів *E*, які можна застосувати у схрещуваннях для створення селекційних ліній зі зміненими темпами розвитку.

Продемонстровано, що вплив певних мутагенів похідних тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-піридину індукує мінливість мікросателітних локусів в геномі, зокрема асоційованих з генами *E*.

Запропонована панель маркерів, яка дозволяє диференціювати сорти сої та паспортизувати їх генотипи та одночасно доповнювати інформацією базу даних, що характеризує генофонд українських сортів сої, стосовно наявності алелів *E*.

Практичне значення одержаних результатів. Визначені алельні характеристики за локусами *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365*, *Sat_038*, дозволяють паспортизувати низку сортів та ліній сої та рекомендувати використання цих МС-локусів як маркерної панелі для ідентифікації та диференціації сучасних сортів сої української селекції. Проведена оцінка впливу генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* на агрономічно-важливі ознаки: строки цвітіння та дозрівання, тривалість вегетаційного періоду і врожайність за умов вирощування в Вінницькій області. Надано рекомендації щодо добору та створення ранньостиглих сортів сої, згідно яких слід враховувати, що більш короткий вегетаційний період характерний для рослин з алелями 131 п.н. за локусом *Satt100* і 178 п.н. *Satt319*; більш раннє цвітіння характерне для рослин з алелем 247 за локусом *Sat_038*. Слід використовувати маркерну селекцію для

відбору ліній сої з алелями *Satt365*₂₇₀, *Sat_038*₂₄₇, *Satt229*₂₃₀, *Satt354*₁₇₈, *Satt100*₁₃₁, *Satt319*₁₇₈, як таких, що мають прискорені темпи розвитку, зокрема раннє цвітіння та дозрівання, застосовувати генотип мутантної лінії ‘Золотиста М16’ (як ранньостиглий) як донор генів для створення ранньостиглих форм сої. Для селекції направленої на стабільність врожаю в умовах Вінницької області (або наближених до них) рекомендуємо генотипи гібридних ліній ‘ПСВ-I №4001’, ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-II №3045’, ‘КР-II №3014’.

Рекомендації надані за результатами проведеної ПЛР для визначення алельного стану генів фотоперіодичної чутливості (*E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*), у селекційному матеріалі, створеному за допомогою методу хімічного мутагенезу та шляхом гібридизації сортів різних груп стиглості, сучасних сортів української селекції впроваджено у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції сої і зернобобових культур Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН. Акт впровадження додається (Додаток М).

Ця інформація може бути використана селекціонерами країни при постановці схрещувань для отримання нових сортів з прогнозованими темпами розвитку для певного регіону вирощування.

Особистий внесок здобувача. Спільно з науковим керівником обрано тему наукового дослідження, сформульовано мету та основні завдання роботи, проведено обговорення отриманих даних. Результати, викладені у дисертації, автор отримав особисто та за безпосередньої участі у виконанні експериментів. Здобувач самостійно провів пошук та аналіз літератури з тематики дослідження, виконав експериментальну частину роботи, статистичну обробку та попередній аналіз даних. Планування окремих етапів роботи, аналіз отриманих експериментальних даних, обговорення результатів дослідження, висновків дисертаційної роботи та підготовка наукових публікацій проводили спільно з к.б.н., доцентом Г.О. Чеботар, к.б.н., доцентом В.А. Топтіковим, науковим керівником д.б.н., професором С. В. Чеботар, з

якими автор має спільні публікації. Допомогу при виконанні фрагмент-аналізу на генетичному аналізаторі ABI PRISM Genetic Analyzer 3500 (США) надавала провідний науковий співробітник лабораторії цитоплазматичної спадковості Інституту генетики та цитології (Білорусь) к.б.н. О.А. Аксьонова. Дані польових спостережень сортів і ліній сої надані к.с.-г.н. С.В. Іванюком і к.с.-г.н. І.В. Темченко з Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН, які є співавторами опублікованих праць.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені на Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату» (Херсон, 2016), на Міжнародній конференції «Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics» The Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section (Вільнюс, 2017), на Міжнародній науково-практичній конференції «Еколого-генетичні аспекти в селекції польових культур в умовах змін клімату» (Полтава, 2019 р.), на Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Селекція, генетика і технології вирощування сільськогосподарських культур» (Миронівка, 2019 р.), на третьому Міжнародному конгресі «Plant Biology and Biotechnology» (Сінгапур, 2019), на Біологічній секції «The Importance of G. Gamow's Ideas for Biology of the 21st Century» Міжнародної Гамовської конференції в Одеському національному університеті імені І.І. Мечникова (Одеса, 2020). Результати експериментальних досліджень були представлені на наукових семінарах кафедри генетики та молекулярної біології та щорічних звітних конференціях біологічного факультету Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 12 наукових праць, з них 6 статей в українських та зарубіжних наукових виданнях (1 – SCOPUS, 2 – Web of Science, 4 – фахових видання – біологія) та 6 тез

доповідей у збірниках матеріалів всеукраїнських та міжнародних конференцій. Опубліковані роботи відображають основний зміст дисертації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та додатку. Дисертацію викладено на 230 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 47 рисунками та 36 таблицями. Список використаних джерел складає 282 найменування.

Дисертантка висловлює щире подяку науковому керівнику членіні-кореспонденту НААН України, д.б.н., професору Чеботар Сабіні Віталіївні за наукове керівництво та обрання актуальної теми дисертаційної роботи, допомогу при інтерпретації отриманих результатів та коригування рукописів публікацій під час їх підготовки до друку. Автор дякує к.б.н. доценту кафедри генетики і молекулярної біології ОНУ ім. І.І. Мечникова Чеботар Галині Олександрівні за цінні поради та допомогу під час проведення досліджень, аналізу результатів, обробки статистичних даних, коригування тексту рукопису роботи. Здобувач висловлює подяку провідному науковому співробітнику лабораторії цитоплазматичної спадковості Інституту генетики та цитології (Білорусь), к.б.н. Аксьоновій Олені Анатоліївні, к.б.н. доценту кафедри генетики і молекулярної біології ОНУ ім. І.І. Мечникова Топтікову Валентину Анатолійовичу за допомогу в проведенні молекулярно-генетичних і генетико-біохімічних досліджень, а також к.с.-г.н. Іванюку Сергію Васильовичу і к.с.-г.н. Темченко Інні Вікторівні з Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН за проведення польових спостережень і збір цінних даних за дослідженим матеріалом. Автор роботи дякує Керівнику Національного центру генетичних ресурсів рослин України, к.б.н. старшому науковому співробітнику Рябчуну Віктору Кузьмичу за надання сортів сої

української селекції з генетичного банку зародкової плазми України для проведення досліджень.

Пошукач також висловлює подяку рідним та близьким за розуміння, підтримку і віру в перемогу під час виконання дисертаційної роботи.

РОЗДІЛ 1.
ГЕНЕТИЧНА ДЕТЕРМІНАЦІЯ ФОТОПЕРІОДИЧНОЇ ЧУТЛИВОСТІ
СОЇ (*GLYCINE MAX* (L.) MERR.)
(огляд літератури)

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – одна з найбільш економічно важливих рослинних олійних та білкових культур, яка забезпечує понад 25% білка для їжі та кормів для тварин в світі. Широкого використання ця культура набула лише за останні 200 років, хоча її культивування розпочали більше 5000 років тому в Китаї [145].

Спочатку сою вирощували як сидерат, завдяки особливій здатності фіксувати атмосферний азот з повітря за допомогою бульбочкових бактерій (*Bradyrhizobium*), а потім як кормову культуру. З ростом попиту на олію на початку ХХ сторіччя, особливо під час обох світових війн (1914-1918, 1939-1945 р.р.), розкривався потенціал сої як джерела рослинної олії. Зі Сполучених Штатів Америки соя була ввезена та набула широкого використання у Південній Америці [97]. Сьогодні соя вирощується в основному для виробництва олії та багатих білком знежирених шротів, які являються основою різних комбікормів для сільськогосподарських тварин.

Рослини сої здатні за один вегетаційний період формувати високий врожай з білку та соєвої олії, завдяки високому вмісту цих двох компонентів у насінні. Насіння сої містить 38-42% білку та 18-23% олії, вуглеводів 25-30%, а також ферменти, ізофлавоноїди, мінеральні речовини. Значне поширення і використання сої і соєвих продуктів у світі зумовлено насамперед різноманітністю і високою якістю її хімічного складу, універсальністю та ключовою роллю у розв'язанні проблеми продовольчої безпеки в багатьох країнах, завдяки чому соя стала провідною у сільськогосподарському виробництві. Один кілограм сої за кількістю протеїну замінює два кілограми м'яса або риби, чотири кілограми пшениці або ж дванадцять літрів молока

[267]. Харчові продукти на основі сої, такі як тофу, соєве молоко, соєвий соус, місо тощо, були розроблені для споживання людиною. Це важливе джерело сировини для фармацевтичних препаратів, пластмас, паперів, фарб, лаків, пестицидів та косметики.

Соя дуже чутлива до коливань умов навколишнього середовища. Важливими факторами, що мають вплив на її продуктивність, – є вода, температура та фотоперіод. Глибоке та широке розповсюдження кореневої системи сої, щільне та густе листя сприяє зберіганню вологи в ґрунті. За рахунок азотфіксації (155–198 кг/га) соя на 65–80% забезпечує свою потребу в азоті та збагачує ґрунт азотом, завдяки чому вона є одним із кращих попередників у сівозміні. Стійкість до нестачі вологи, позитивний вплив на родючість ґрунту, стійкість до комах-шкідників та інших хвороб, висока адаптаційна здатність зробили сою найпоширенішою та придатною для вирощування в більшості регіонів світу [13].

За обсягами виробництва білка соя займає четверте місце у світі після кукурудзи, пшениці і рису. У світові ресурси рослинного білка з урожаєм сої надходить близько 100 млн т. За обсягами виробництва олії соя займає перше місце у світі серед олійних культур (FAO) [258].

В розрізі світових економічних тенденцій (зростання чисельності населення, зростання споживання продовольства на душу населення, обмеженість земельних і водних ресурсів, зміни клімату) соя є найважливішою бобовою культурою з різноманітним застосуванням у харчовій, кормовій та біопаливній галузях [32, 81, 115].

1.1. Род *Glycine* та розповсюдження *Glycine max* (L.) Merr. у світі

Соя належить до родини *Leguminosae* та підродини *Papilionaceae*. Ріккер та Морс у 1948 р. пропонували правильно назвати культивовану сою як *Glycine max* (L.) Merrill [147]. Рід *Glycine* складається з двох підродин: *Glycine* (багаторічні рослини) та *Soja* (однорічні). Серед багаторічних рослин відомо

22 види, та 2 види серед однорічних, з яких культиген - *G. max* L. Merrill. (соя, яку культивують [13]) та *G. soja* Sieb. & Zucc. (дикі види і нащадки сої [59]). Вважається, що дивергенція на два суміжні види відбулася 5-7 млн років тому [54]. Природне перехресне запилення зазвичай відбувається у менше ніж 1% самозапильних однорічних рослин *G. max*, хоча іноді може доходити до 2-3% [59].

Вперше сою почали вирощувати в Китаї [50, 51, 58, 146], про що свідчить найбільше поширення, кількість та різноманітність видів однорічної дикої сої (*G. soja*) в Китаї, спорідненого пращура сучасної культурної сої (*G. max*), у порівнянні з іншими місцями ареалу її існування (Японією, Кореєю та далеким сходом Росії). На думку [58], 35° північної широти є відправною точкою в чутливості сої до фотоперіоду та, можливо, в цій зоні були отримані перші культурні сорти з дикої сої. Вище перелічене свідчить про те, що культивована соя походить від дикої сої з долини ріки Хуанхе (Жовта ріка). В Китаї соя росте від території Мохе в провінції Хейлунцзян (53° північної широти) до Гуандун в провінції Шаогуань (24° північної широти) [145].

При порівнянні 250 зразків культурної і дикої сої з місцевими культурними сортами сої з шести географічних і екологічних популяцій за 11 морфологічними ознаками, які найменш схильні до впливу штучного відбору, за ізоферментами і ПДРФ маркерами хлоропластної і мітохондріальної ДНК, культурна соя південної частини Китаю, особливо пізньостиглі сорти, виявилась в генетичному відношенні набагато ближчою до дикої сої, ніж до культурної сої північно-східного Китаю або регіону Хуанхуай [46].

Соя, що культивується, і дика соя є палеополіплоїдами з $2n = 2x = 40$ [59]. Геном роду *Glycine* пройшов два основні етапи дуплікації ~ 41,6 та 14,5 млн років тому [16, 138, 173]. Оцінка еволюційних подій показала, що видоутворення сої з палеопращура Люцерни (*Medicago*) відбулася за останньої дивергенції двох гомеологічних регіонів геному сої, відповідно, 60 і 12 мільйонів років тому [173]. Дослідження каріограм свідчить на користь

тетраплоїдної природи сої ($4x = 40$), зокрема, наявність хромосом з ідентичною морфологією дозволяє припустити, що під час видоутворення *G. max* могли мати місце хромосомні перебудови [27]. Дослідження [131] гаплоїдного геному також дозволило припустити, що соя є тетраплоїдом з давньою диплоїдизацією.

За розміром соя має відносно великий геном ($1,15 \times 10^9$ п.н.) [8], і близько 55% її геному складається з високоповторюваних послідовностей [139]. В геномі сої виявлені численні дуплікації, які можуть відображати більш давній етап поліплоїдії [142]. Можливо, «диплоїдні» предки – донори геному сучасної сої були самостійно стабілізованими палеополіплоїдами в результаті більш раннього кола дуплікації геному (90 млн років тому). Згідно [141, 147], геном сої має як ало- (на основі цитогенетичних та молекулярних досліджень), так і автополіплоїдне походження (відповідно філогенетичному аналізу ядерних генів [41, 156]). За допомогою флюоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) показано, що при аналізі десятих пар хромосом геному сої, виявляються два типи центромер CentGm 91 і CentGm 92 (розміром 91 і 92 п.н., відповідно), це дозволяє припустити, що в ядрі є два чіткі та ко-резидентні геноми, які мають походження від двох диплоїдних нащадків [170]. (рис. 1.1)

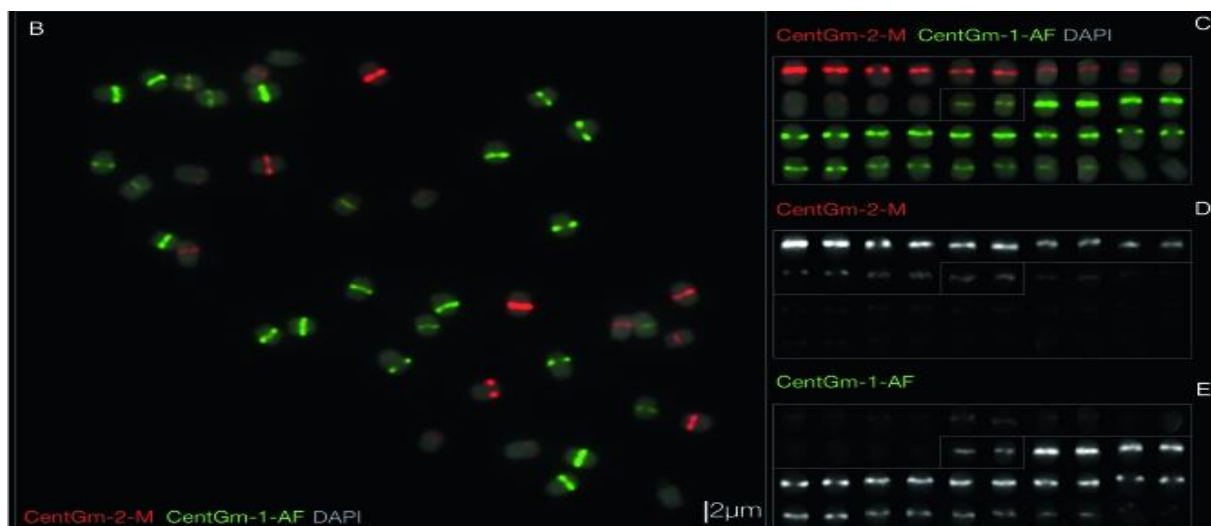


Рис. 1.1. (В – Е): Аналіз хромосом *G. max*. (L.) Merr. сорту ‘Williams 82’ за допомогою *in situ* гібридизації (FISH) з олігонуклеотидними зондами,

міченими флуорохромом, таргетованими на CentGm повтори розміром 91- і 92-п.н., [43].

Приблизно 2000 років тому відбулося розповсюдження сої в усьому світі, зокрема в Кореї, Японії та Південній та Південно-Східній Азії, до Північної Америки рослини сої потрапили в 1765 році, а до Південної Америки на початку минулого століття [182]. Включення нових генетичних ресурсів дозволило поступово розширити комерційне вирощування сої до вищих широт. Ідентифікація локусу *LJ*, асоційованого з геном *J* у 1970-х роках була ключовим проривом у подоланні поганої адаптації сої на широтах нижче 22° півн.ш. [37, 117, 153]. Вперше сорти сої з цим локусом інтродуковано в центральній та західній частині Бразилії, а згодом це дозволило розширити виробництво сої на регіони нижче 15° широти і навіть на екватор [24, 55, 144]. За прогнозами Міністерства сільського господарства США (USDA) 2019/2020 р.р. Бразилія виходить на перше місце за величиною виробництва сої у світі [256], незважаючи на те, що 40% загальної площі вирощування сої в цій країні знаходиться нижче 24° півд. ш., тобто поза межами попередньої зони адаптації сої [23]. Хоча, стабільно перші три місця за обсягами посівних площ і валових зборів сої займають - США в Північній Америці і Бразилія та Аргентина в Південній. Згідно зі статистичними даними FAO, в 2018 році посівна площа сої в світі становила 124,92 млн. га та загальний врожай – 348,712 млн тон [258] (Додаток Б).

За останні 50 років світове виробництво сої зросло в дев'ять разів. Передусім цьому сприяло створення нових більш врожайних сортів та гібридів і покращення технології виробництва й переробки [231]. В Європі країнами-виробниками сої є – Україна, Росія, Італія, Румунія, Сербія, Хорватія і Франція. В цих країнах, посівна площа зросла з 2008 року по 2018 рік з 1 698 369 млн га до 5 659 308 млн га (табл.1.1), а валові збори сої за цей період

збільшилися з 16 125 до 21 302 млн тон. (рис. 1.2) Урожайність сої в Україні у 2018 році становила близько 2,35 тон / га.

Таблиця 1.1

Посівна площа країн-лідерів виробників сої (млн. га)

Країна	Роки			
	2015	2016	2017	2018
США	107	116,9	120,1	123,7
Бразилія	97,5	96,4	114,7	117,7
Аргентина	61,4	58,8	55,0	37,8
Китай	11,8	12,8	13,1	14,2
Індія	8,6	13,1	10,9	13,8
Парагвай	8,8	9,2	10,4	11,0
Канада	6,4	6,6	7,7	7,3
Україна	3,9	4,3	3,9	4,5
Уругвай	3,1	2,2	1,3	1,3
Болівія	3,1	3,2	2,7	2,9

Подальше поширення та збільшення врожаїв сої у світі залежить від багатьох факторів. Стає зрозумілим, що за рахунок збільшення посівних площ та екстенсивних прийомів агротехніки неможливо нескінченно підвищувати врожайність.

Для України соя є стратегічною культурою і, на нашу думку, в майбутньому стане важливим складовим елементом економічної безпеки. Залучення новітніх технологій до селекційного процесу, дослідження з генетики і геноміки сої, розробки нових ефективних методів добору цінних генотипів на молекулярному рівні з селекційного матеріалу сої, дозволить створювати найбільш продуктивні сорти сої, адаптовані для певного регіону.

1.1.1. Характеристика геному *Glycine max* (L.) Merr.

Проект секвенування геному сої (*Glycine max*) був завершений у 2008 році [139]. За результатами цього проекту близько 13 мільйонів секвенованих послідовностей сої було аннотовано у NCBI. У 2010 році секвеновано геном сорту сої 'Williams 82', сиквенс цього геному розміром 1,1-гігабаз інтегрували з фізичними та генетичними картами високої щільності (Додаток В) [26, 60, 61, 150]. За допомогою Arachne v.20071016 було зібрано 15 332 163 зчитувань нуклеотидних послідовностей [65] для утворення 3363 скаффолдів, що покривають 9696 Мега п.н. геному сої. На основі отриманого з геному блоку інформації було побудовано нову генетичну карту. 9373 Мега п.н. було перенесено в масштаб 20 хромосом, в середньому для кожної побудовано 20 скаффолдів, залишок інформації, що охопив 177 Мега п.н. геному склав 1148 некартованих скаффолдів [139].

На основі даних з секвенування передбачено існування 46 430 білок кодуєчих генів сої, що на 70% більше, ніж у геномі *Arabidopsis* і геномі тополі (*Populus*), який, як і соя, є палеополіплоїдом. Близько 78% з прогнозованих генів зустрічаються на кінцях хромосом, та складають менше половини геному, але на них припадають майже всі генетичні рекомбінації. В результаті двох масштабних дуплікацій в геномі сої, майже 75% генів присутні у великій кількості копій. Дуплікації в геномі сої супроводжувалися дивергенцією нуклеотидних послідовностей, втратою генів та численними перебудовами хромосом [139].

На цей час геном сої один з найбільший повно секвенованих рослинних геномів. Показано, що 8 з 20 хромосом мають теломерні повтори (TTTAGGG або CCCTAAA) на обох дистальних кінцях, які представлені у «дистальних скаффолдах», а 11 інших хромосом мають теломерні повтори на одному плечі, в цілому 27 з 40 хромосомних кінців, мають термінальні скаффолди [139].

Особливість геному сої полягає в тому, що 57% геномних послідовностей знаходяться гетерохроматинових областях, в ділянках збагачених повторами,

що оточують центромери, для яких характерний невеликий рівень рекомбінації. В середньому в еухроматинових областях співвідношення генетично-фізичної відстані становить 1 сМ на 197 т.п.н., в гетерохроматинових - 1 сМ на 3,5 Мега п.н. (Додаток Г). Якщо розглядати співвідношення еухроматина до гетерохроматина в геномі сої, то близько 60%, відноситься до останнього [139].

Взагалі, межі гетеро- та еухроматину, визначені на основі супресорної рекомбінації, та корелюють з транспозонною щільністю. Еухроматинові райони бідні на повтори та багаті на гени складають 43% геному. На ці регіони припадає 93% рекомбінацій. Тим не менш, 21,6% генів з високою щільністю (high confidence) знайдено в багатих на повтори і транспозони регіонах хромосом [139]. Показано, що з 46430 тис. локусів 34073 тис. (73%) є ортологами однієї або декількох послідовностей інших покритонасінних рослин і можуть бути віднесені до 12253 тис. родин генів-ортологів. Соя особливо збагачена генами, що містять NBARC (нуклеотид-зв'язуючий сайт-APAF1-R-Ced) та домени лейцин-багатих-повторів LRR (leucine-rich-repeat), які пов'язані з імунною системою рослини [107].

Також було виявлено 38581 тис. повторюваних елементів, які складають 59% геному сої, з них 42% представлені LTR-ретротранспозонами [139]. Завдяки програмному інструменту порівняльної геноміки i-ADHoRe [143] та проведенню точного міжвидового аналізу в межах геному сої ідентифіковано 442 мультикопійних елементів гомологічних блоків (тобто сегменти, які дублюються) [76, 74].

Секвенування повної послідовності геному сої стало ключовим орієнтиром для визначення геномного складу більш ніж 20000 видів бобових [139]. Знання нуклеотидної послідовності геному є основою для вивчення експресії генів та встановлення асоціації даних щодо окремих послідовностей генома з проявом ознак, що беруть участь у формуванні підвищеного врожаю сої в певних еколого-географічних регіонах. Отримання стабільного врожаю

сої є необхідною складовою для сталого виробництва продуктів харчування людини та тварин та екологічного балансу в сільському господарстві у всьому світі.

1.1.2. Основні напрями селекції сої в Україні та в світі

Україна посідає перше місце в Європі та сьоме в рейтингу світових експортерів сої за даними на 2019 рік [213]. В 2019 році загальні посівні площі під соєю сягали 1579,6 тис га, а врожай – склав 3,7 млн тон, за середньої врожайності 2,35 т/га [257]. У великій мірі це відбувається завдяки успіхам селекції. В даний час до Державного реєстру рослин, придатних до поширення на території України на 2019 рік (далі – Реєстр) занесено 247 сортів сої [223], 50,2% з яких складають сорти іноземного походження (Табл.1.2).

Таблиця 1.2

Сорти сої, придатні до поширення в Україні на 2019 рік

Походження сорту	Кількість, шт.				%, від загальної кількості
	роки				
	До 1990	1991-2000	2001-2011	2012-2019	
Сорти української селекції	5	17	88	123	49,8
Сорти іноземної селекції	-	-	35	124	50,2
Всього	5	17	123	247	100

В регіонах нашої країни за багато років сформувалися близько 20 наукових установ – оригінаторів сортів сої. Створені українськими селекціонерами сорти є добре адаптованими до умов певних областей нашої країни. Найбільш поширені сорти в нашій країні відносять до слов'янського підвиду (*ssp. Slavonika Kov.et Prinz*), що вирощується також у європейській частині Росії, Молдові, Північному Кавказі, Румунії, Болгарії, Сербії, Чорногорії та інш. На основі цього підвиду створено український різновид сої

– (*var. ukrainica* Bab.), який характеризується певною архітектонікою рослин – прямостоячі, з обмеженою гіллястістю, потовщеним стеблом та крупним насінням, для висівання рядковим способом з більшою густотою рослин [211].

Згідно [277], в умовах зміни клімату, для кожного регіону потрібне створення добре адаптованих сортів сої, генотипи яких мають певну фотоперіодичну чутливість, вимоги до тепла, вологи, толерантність до стресів у певних еколого-кліматичних умовах.

В сучасну селекцію сої залучають методи гібридизації, мутагенезу, генної інженерії, та їх поєднання. Також у західних країнах, США, Канаді, Китаї широко застосовуються маркер-опосередкована та геномна селекція, які спираються на результати повногеномного секвенування і детектовані гени-кандидати, наприклад, що визначають вміст білка і олії в насінні, крупність насіння, скоростиглість, раннє цвітіння, певну висоту рослини, якість зерна, стійкість до ряду хвороб, толерантність до деяких абіотичних стресорів, вміст вітаміну Е, масу насіння та інші ознаки [237].

До сучасного генофонду сої культурної (*Glycine Max*) входять понад 270 тис. зразків (генотипів), які наявні або які підтримують у 91 країні. Найбільшу у світі добірку ідіоплазми сої має батьківщина цієї культури – Китай: приблизно 26 тис. генотипів, менша кількість – у США – 19 тис. (колекція Міністерства сільського господарства США) [256]. В Україні колекція зразків сої становить 18,1 тис., вона розміщується в основних селекційних центрах: Селекційно-генетичному інституті – Національному центрі насіннізнавства та сортовивчення (далі СГІ – НЦНС), ННЦ «Інституті землеробства НААН», Інституті кормів та сільського господарства Поділля НААН, Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН, Інституті землеробства південного регіону НААН, Полтавській державній аграрній академії, Кіровоградській ДСГДС, Буковинській ДСГДС та ін. У Росії налічують 16,5 тис. зразків, в Бразилії – 18,7 тис., у Японії – 15,2; Тайваню – 19,9; Індії – 10,4; в Австралії – 4,7; Південній Кореї – 3,7; Філіппін – 3,3; Франції – 3,0; Румунії – 2,7; Мексики

– 2,6; Колумбії – 2,4; Зімбабве та Індонезії – 2,2; Сербії – 1,2 тис. зразків та ін. [244].

У Північній та Південній Америці створені сорти інтенсивного типу з підвищеним рівнем стійкості до хвороб. Урожайність кращих із цих сортів перевищує 4 т/га. Канадська селекція базується на створенні ультраскоростиглих сортів сої з мінімальною реакцією на тривалість світлового дня, які здатні давати урожай на рівні 3,0-3,5 т насіння в зонах північніше 53-54°. За цим самим напрямом працюють селекціонери Швеції, Німеччини, Чехії, Австрії та ін. [280]. Створені в цих країнах сорти слугували цінним вихідним матеріалом для селекції скоростиглих сортів і в Україні. Високоадаптивні сорти, які виділяються комплексом цінних господарських ознак, створені також у Китаї, Індії, Японії. Зараз в багатьох країнах світу і в Україні селекція сої спрямована на підвищення врожайності й забезпечення стабільних врожаїв під час змін умов навколишнього середовища, створення генотипів з оптимальною довжиною вегетаційного періоду стійких до хвороб та високим рівнем фіксації азоту [237].

За останні двадцять років середня врожайність сортів в Україні збільшилася з 2,0 т/га до 2,5 т/га, в той же час в Італії цей показник сягає 3,8 т/га, Канаді – 2,8, Аргентині – 2,7 т/га [244].

Нові сорти сої мають формувати ширшу адаптивну здатність. Особливо це стосується скоростиглих форм, у яких фотоперіодична реакція істотно знижена. Для створення таких генотипів потрібно підбирати для схрещування батьківські компоненти, які за реакцією на тривалість світлового періоду близькі до нейтральної. Для цього використовують ультраскоростиглі форми із Швеції, Китаю, Кореї, Японії, Канади [277]. Родовід сортів сої у світовому масштабі є доволі вузьким. Наприклад, сорти груп стиглості 00-IV північних штатів США і Канади походять від 12 інтродукованих із Китаю батьківських форм [155]. Сорти сої США і Канади одержані від схрещування менше ніж 50 колекційних зразків [36]. Понад 50% сортів з північноамериканського генного

пулу сої, мають серед спільних прашурів тільки 4 китайські форми, а для понад 80 % генетичної плазми вихідними стали лише 10 форм. Сучасні південноамериканські сорти сої походять в основному від двох колекційних зразків північно-американського походження. Селекційна робота із соєю в Бразилії, Аргентині, Мексиці та Парагваї переважно базується на американському вихідному матеріалі. Тому родоводи сортів цих країн і США дуже близькі [15].

Велику увагу приділяють вивченню та добору генетичної плазми сої в Китаї. В Інституті селекції та агротехніки польових культур академії сільськогосподарських наук Китаю нараховують понад 1000 місцевих форм *Glycine max.* (L.), близько 200 зразків з Японії та США. В Інституті зародкової плазми польових культур Китаю підтримують 400 форм сої, зібраних у цій країні. Найбільшу колекцію сформовано в Науково-дослідному інституті сої Китаю – близько 1200 високопродуктивних сортів різного походження. В Азіатському науково-дослідному центрі овочевих культур на острові Тайвань вивчають понад 11 тис. зразків культурної і понад 400 форм дикої сої. На Північному Кавказі, інтенсивна селекційна робота зосереджена у Всеросійському науково-дослідному інституті олійних культур (м.Краснодар) [272]. Створені там, як і в Україні, сорти сої, відрізняються доволі широкою генетичною базою і характеризуються різною тривалістю вегетаційного періоду, набором адаптаційних ознак, напрямками використання. В Україні колекція зразків сої становить 18,1 тис. зразків, які зберігаються в різних установах нашої країни: селекційно-генетичний інститут (Національний центр насіннізнавства та сортовивчення (СГІ НЦНС), ННЦ «Інститут землеробства НААН», Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН, Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН (генбанк), Інститут землеробства південного регіону НААН, та ін.

Основні напрями української селекції сої залежать від напрямів використання сої в якості кормової культури, зернофуражної, кормової

укісної, харчової, біосировинної (зерно для використання у технічних цілях) [280]. У зв'язку із цим сформовано декілька відповідних напрямів селекції: селекція на адаптивність, врожайність, скоростиглість, стійкість щодо вилягання, хвороб, шкідників, несприятливих умов середовища (зміни температури та водного режиму), підвищений вміст олії та білка в зерні. За минулі роки визначився новий напрям – на підвищену азотфіксувальну здатність сої [237].

Зоною вирощування сої в Україні до останнього часу слугував так званий «Соевий пояс» (51° та 46° Півн. ш.), де виділяють зону стійкого та нестійкого виробництва цієї культури на незрошуваних землях і зону гарантованого виробництва сої на зрошенні [201, 237]. Український «Соевий пояс» розташований в трьох агро-кліматичних зонах: Полісся, Лісостеп і Степ (52° та 46° Півн. ш.). Такий розподіл на зони було проведено на підставі співвідношення кількості опадів та кількості акумульованого тепла за даними територіями (Додаток Д).

Однак, в останні роки, глобальні зміни клімату на планеті торкнулися і нашої країни, де відбувається зміщення агро-кліматичних зон на Північ, відомо, що у високих широтах температура зростає стрімкіше, ніж на екваторі. За даними наведеними представником Укргідрометцентру Т. Адаменко, середньорічна температура за останні 28 років збільшилася на 2°С (з 7,8°С до 9,5°С) [228]. Таким чином, межа агро-кліматичних зон змістилася на 200км північніше. З врахуванням цього переміщення, зона Полісся майже зникла з карти України, а зона Лісостепу практично розширюється до північних меж країни, займаючи більшість розораних земель. Є прогнози щодо зміщення «Соевого поясу України» на Північ (52° та 48° Півн. ш.) в майбутньому десятиріччі, а нинішня зона Степу за відсутності зрошення може трансформуватися в непридатну для вирощування більшої частини рекомендованих сортів сої для цієї території (Додаток Д).

Це означає, що на території України створюються нові умови для сої, в основних регіонах її вирощування. Для території Полісся та Лісостепу – підвищення температур матиме позитивний вплив та розширить потенційні площі засіву, а для Степу – зatoryжні періоди екстримально високих температур (посухи) безперечно впливатимуть негативно на загальну врожайність культури, оскільки соя рослина вологого клімату [281].

Згідно даних [244], сорти призначені для вирощування у Лісостепу мають бути скоростиглими та фотоперіодично нейтральними, для вирощування на території Полісся мають відрізнятися стійкістю до підвищеної кислотності ґрунтів, для Степу – сорти сої мають бути стійкими до підвищеної температури ґрунту та повітря. Скоростиглі сорти, оптимальні для однієї зони, при переміщенні на 1° (100-150 км по географічній широті), можуть виявитися непридатними для виробництва, отож постає завдання створення сортів для конкретного району вирощування. Для створення оптимальної моделі екотипу сої для кожної кліматичної зони [244] рекомендує обирати батьківські лінії відповідно до морфологічних, біохімічних, технологічних та інших ознак (близько 30), в більшості рецесивних.

Більшість сортових ресурсів сої України створено методами самозапилення (але є і сорти-синтетики, і гібриди F1), з потенційною врожайністю 3,0-4,0 т/га, з невеликим протеїновим вмістом, порівняно с сортами сої США, (фактично вміст білка 28-32%) [274], та лише 0,4% від загальної кількості сортів Реєстру характеризується високим вмістом олії, інші 93,2% - слабо олійні сорти.

Ми проаналізували інформацію, яка представлена у Реєстрі сортів рекомендованих для вирощування в Україні, на предмет того, які сорти сої більшою мірою пропонуються для певних районів вирощування (згідно поділу на агрокліматичні зони). Дані представлені в таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Ареали вирощування сої в Україні

Рекомендована зона вирощування		Географ. ш. зони в градусах (півн. ш.)*	Кількість сортів для кожної зони (шт.)	Частка від загальної кількості сортів, (%)
повністю	скорочено			
Полісся	П	52°-50°	18	7,3
Лісостеп	Л	51° -48°	56	22,7
Степ	С	48° -45°	30	12,1
Полісся-Лісостеп	ПЛ	52° -48°	64	25,9
Лісостеп-Степ	ЛС	51° -45°	25	10,1
Полісся-Степ	ПС	52 -50°, 48° - 45°	8	3,2
Полісся-Лісостеп-Степ	ПЛС	52° -45°	46	18,6
		Загалом:	247	100,0

* - межі зон встановлені за даними сайту [228] <https://landlord.ua/wp-content/page/pid-udarom-stykhii-iak-mihruuiut-klimatychni-zony-v-ukraini/>

Для зони Полісся-Лісостеп у Реєстрі пропонується 64 сорти за чотирма групами стиглості, або 25,9 % від всіх сортів занесених до Реєстру. Розподіл за групами стиглості сортів сої за кліматичними зонами, передбачає для зони Лісостепу максимальну кількість адаптованих сортів – 56 або 22,7% від загальної, за п'ятьма групами стиглості (000, 00, 0, I, II).

Більш пластичні сорти (групи стиглості 000, 00, 0, I) рекомендовано вирощувати в зонах ПЛ, ЛС, С. 30 сортів або 12,1% для зони С (до настання посухи в Степу) – 25 сортів або 10,1% для зони ЛС, та 8 сортів або 3,2% для зони ПС, відповідно.

Наглядно інформація про ареали вирощування сої в Україні представлена на рис.1.2 та в Додатку Е.

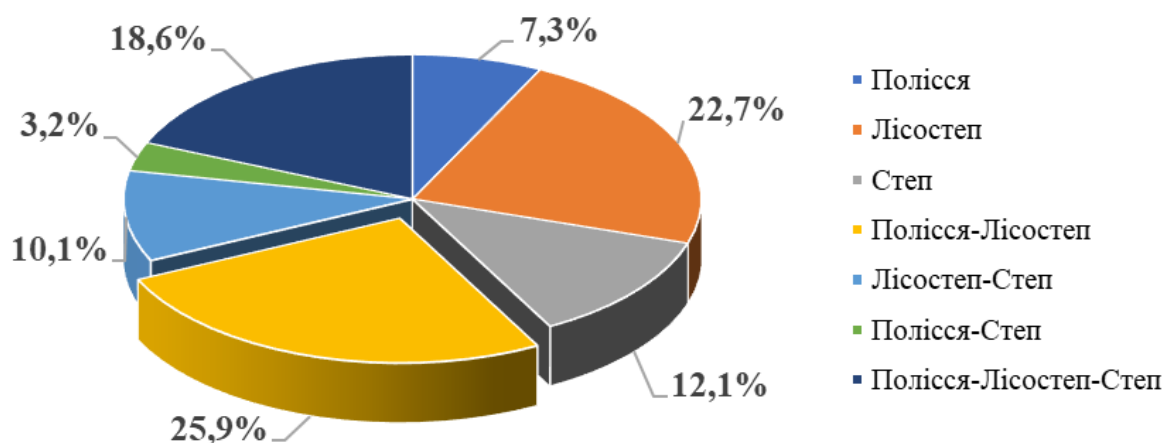


Рис 1.2. Діаграма розподілу сортів сої між агро-кліматичними зонами України

У Реєстрі сортів на 2019 рік, сортовий склад за групами стиглості нараховує 5 груп, з яких переважають скоростиглі сорти (скс – скорочення за українською класифікацією, 000 – за міжнародною класифікацією) – до цієї групи відносяться 32,4% сортів сої з представлених у Реєстрі, ці сорти мають періодом вегетації 81-90 днів. Група ранньостиглих сортів (рс, 00) складає – 28,3%, ці сорти мають період вегетації 91-110 днів. Такі сорти дають можливість отримати дозріле насіння, однак є ризики настання у другій половині липня-серпня посухи, яка може знижувати врожайність вказаних сортів. Слід відмітити, що ранньостиглі сорти зазвичай менш урожайні, через швидкий вегетаційний період.

Сорти сої, що відносяться до середньоранньої (ср, 0) та середньостиглої (сс, I) групи, мають тривалість вегетаційного періоду 111-119 та 120-130 днів, відповідно, за поширеністю таких сортів в реєстрі – це 22,7% та 15,8 % від загальної кількості сортів. Таки сорти мають більше часу на формування вегетативної маси рослини, що є запорукою більшої врожайності за умови

добре організованого збирання. Загальні дані за розподілом сортів сої за групами стиглості, з тих, що представлені у Реєстрі сортів рослин рекомендованих до поширення в Україні, наведено в таблиці 1.4.

Таблиця 1.4

Розподіл сортів сої за групами стиглості згідно Реєстру на 2019 рік

Група стиглості		Група стиглості	Тривалість вег. періоду (днів)	Кількість (шт.)	Відсоток від заг. кількості сортів, (%)
скоростиглі	(скс)*	000	81-90	80	32,4
ранньостиглі	(рс)	00	91-110	[28,3
середньоранні	(ср)	0	111-119	56	22,7
середньостиглі	(сс)	I	120-130	39	15,8
пізньостиглі	(пс)	II	131-150	2	0,8
Загалом				247	100,0

*- скорочені позначення

Пізньостиглі форми (пс, II) з вегетативним періодом більше 131 дня складають всього 0,8 %, мають іноземне походження (заявник Сполучені Штати Америки) та представлені тільки двома сортами Стайн 17Ж32 і Стайн 20Ф26, внесеними до Реєстру у 2019 році [223].

При цьому, заявлена продуктивність пізньостиглих в 1,5 разів вища від скоро- і ранньостиглих груп сортів, потенційно може досягати 4,0 т/га. За оптимальних погодних умов, селекціонери рекомендують висівати пізньостиглі сорти в північній частині зони Лісостепу, а за наявних ризиках та нестабільній кліматичній ситуації – скоростиглі та ранньостиглі сорти (000, 00) можуть потенційно вродити від 2,0 до 3,0 т/га [238] (рис. 1.3).



Рис. 1.3. Рекомендоване районування сортів за групами стиглості згідно з даних Державного реєстру сортів рослин, придатних до поширення на території України на 2019 рік [223]. Кліматичні зони зміщені, за даними сайту <https://landlord.ua/wp-content/page/pid-udarom-stykhii-iak-mihruit-klimatychni-zonu-v-ukraini/> [228] (позначення на рисунку автора роботи)

Досягнення високої урожайності та адаптивності сорту до зміни клімату у заданому регіоні вирощування, нерозривно пов'язано з фотоперіодичною чутливістю, яка у певній мірі детермінує цвітіння та дозрівання сої. Зокрема, генетичним фактором, що впливає на час цвітіння сої – є гени серії *E* (early maturity), які контролюють реакцію рослини на зміну довжини дня, та одночасно зчеплені з низкою інших агрономічно-важливих локусів (*QTL*) [188], таких, що впливають на час зацвітання, час дозрівання, тривалість вегетаційного періоду, масу 1000 насінин, врожайність та інш. Сучасні молекулярно-генетичні методи на основі МС-маркерів до локусів *E*-генів дозволяють, визначати алельний стан *E*-генів, поліморфність генотипів сортів сої, ідентифікувати рівень експресії необхідних генів на різних стадіях

розвитку рослин, та рекомендувати певні сорти для використання в селекційних програмах за різними напрямками.

1.2. Фотоперіодична чутливість у рослин сої

Майже всі види рослин залежать від зміни довжини дня / ночі («довгого» або «короткого» дня) як сигналу для початку цвітіння [112], насправді рослини вимірюють тривалість ночі, а не дня [25]. Для більшості рослин короткого дня, включаючи сою, декілька довгих ночей, довших критичної довжини (8-10 годин) призводить до початку цвітіння [159]. Одні з генів, що визначають чутливість рослин сої до фотоперіоду – *E* (*early maturity*) гени. Механізм регуляції фотоперіодичної чутливості в сої через велику кількість задіяних в ньому генів [21] постійно вивчається. На сьогодні, шість з десяти локусів *E* генів клоновані, та серед клонованих, *E9* підтверджено як *GmFT2a*, ортолог гену *Flowering Locus T* з арабідопсису цей ген кодує гіпотетичний флориген – інтегруючу ланку ланцюга регуляції цвітіння, поширену в генотипах багатьох видів рослин.

Індукція цвітіння відбувається задовго до того, як можна очима спостерігати квіти на рослині [22]. Фітохром РНҮА (кодується генами *E3*, *E4*) – протеїн, знайдений у клітинах листків в хлоропластах на тилакоїдах строми, під дією сонячного світла перетворюється в активну форму і повертається в неактивну форму в темряві, що дозволяє рослині визначати фотоперіод.

При довжині ночі більше 8-10 год найперші хімічні сигнали потрапляють з листя до брунькових меристем пазушних листків, що спонукає меристематичну тканину починати формувати квітку замість гілки в кожній пазусі листу. Евокація квітки означає зростання диференційованої тканини, що призводить до появи видимої квітки, залежить від температури (більш високі температури призводять до більш швидкого зростання). Перша стадія репродуктивного росту (R1) відзначається лише після того, як людське око

може побачити квіти (за класифікацією [42]). Дуже тепла пізня весна може призвести до прискорення термінів настання цвітіння (R1) [25].

Довжина ночі змінюється протягом року, але величина цієї зміни залежить від широти. На більш високих широтах довший період сонячного світла в найдовший день, а отже, і коротша ніч. Соя, вирощена на більш високих широтах, здатна цвісти під ці коротші ночі, оскільки скоростиглі сорти, пристосовані для цих місць, мали меншу чутливість до фотоперіоду [21]. Групи стиглості сої 00 та 0 найкраще підходять до північної частини Полісся та Лісостепу України і проявляють меншу чутливість до фотоперіоду, ніж соя групи стиглості I або II, яка зазвичай вирощується в зоні Степу [238].

E-гени, індивідуально або епістатично, впливають на час початку цвітіння [168]. В умовах довгого дня домінуючі алелі *E*-гена впливають на чутливість до довжини світлового дня, збільшуючи тривалість переходу від вегетативної до репродуктивної фази та затримують цвітіння. В умовах короткого дня, індукція цвітіння спостерігалася вже після двох довгих ночей [3, 75].

Визначено, що час до появи першої квітки сої регулюється довжиною світлового дня і температурою, а генотип детермінує реакцію рослин на ці умови навколишнього середовища [40]. На одній рослині сої протягом репродуктивного розвитку можуть спостерігатися одночасно квіти, боби і боби з насінням, що розвивається на різних вузлах.

Очевидно, що генетичні фактори і фактори навколишнього середовища регулюють репродуктивний розвиток сої навіть після розвитку першої відкритої квітки [18, 78, 195]. Довгі світлові дні, і домінуючі алелі *E*-генів, як правило, продовжують тривалість цвітіння [187, 190]. Уповільнене цвітіння може бути перевагою в ситуаціях, коли це може зменшити шкоду від певних абіотичних чинників і призвести до більшого врожаю через посилене накопичення біомаси до цвітіння [71, 70].

1.2.1. Генетичний контроль фотоперіодичної чутливості у рослин сої

Генетично-сигнальна мережа цвітіння та відповіді на фотоперіод добре охарактеризована у рослин рису та *Arabidopsis thaliana* [14, 57, 181], що дозволяє використовувати отримані дані в якості модельних для розуміння та порівняння перебігу молекулярно-генетичних процесів у рослин короткого дня, в тому числі і сої. Шлях відповіді на тривалість дня у модельних рослин регулюється генами *FLOWERING LOCUS T (FT)*, та фактором транскрипції *CONSTANS (CO)* [90-93]. Білок *FT* є основним компонентом флоригену, який ініціює сигнал цвітіння, що продукується в листках рослини (в хлоропластах) і транспортується через флоему до меристем [64, 104, 119]. У сої через складність геному в генетично-сигнальній мережі відповіді на фотоперіод існує ряд важливих регуляторів – молекулярні модулі регуляції *PHYA-E1*, *GI-CO-FT*, і *miRNA*-залежний модуль, в роботі яких задіяні локуси *E*.

***PHYA-E1* модуль.** Індукція експресії *GmFT2a (E9)* і *GmFT5a* підконтрольна двом генам фітохрому *PHYA2*, *PHYA3* – *E3* і *E4*, відповідно. В умовах довгого фотоперіоду експресія *GmFT2a* і *GmFT5a* пригнічується, але на короткому дні в подвійних гетерозиготах *e3/e3 e4/e4* – пригнічення не відбувається. При цьому гени *E1* та *E1L* (експресуються рано вранці та під час сутінок) виступають генами-репресорами *GmFT2a* і *GmFT5a*. В умовах короткого дня експресія генів *E1* і *E1L* відсутня у генотипів з рецесивними алелями *e3/e3 e4/e4* [187]. Таким чином, [187] зроблено припущення, що домінантні *E3* і *E4* контролюють рівень експресії *E1* і *E1L*, але участі в керуванні циркадними ритмами рослини не беруть. При збагаченому червоному світлі на фоні довгого дня чутливість до фотоперіоду проявлялася частково, навіть за відсутності функціонального гену *E1*, при наявності домінантного алелю *E3* в генотипі рослини [187]. При повному блокуванні генів *EL1a* і *EL1b* вірус-індукованим сайленсингом, рослини ставали нечутливими до фотоперіоду, що підтверджує центральну роль родини генів

E1 в проведенні сигналів фітохромів *PHYA* в системі контролю відповіді на фотоперіод у сої під час цвітіння [21].

GI-CO-FT модуль. У арабідопсису протеїн *CONSTANT CO*, який індукує експресію *FT*-генів, регулюється циркадним годинником, який складається з протеїнів FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX1 (FKF1), GI, та CYCLING DOF FACTOR (CDF) [44, 62, 136, 137, 152, 154]. FKF1 і GI протеїни залежні від синього світла, представляють собою комплекс, який деградує *CDF*-протеїн, що пригнічує транскрипцію *CO* вранці та підвищує експресію *CO* наприкінці дня в умовах довгого фотоперіоду [44, 137, 136]. У сої існують гени *CONSTANS-like (COL)*, з яких дві пари гомологічних генів *GmCOL1a/1b* та *GmCOL2a/2b* мають найближчу спорідненість до генів *CO* арабідопсису [67, 73, 84, 93, 172, 204]. Над-експресія *GmCOL1a* знижує активність *FT2a*, *FT5a* в умовах довгого дня, але підвищує експресію обох на короткому дні. Більше того, над-експресія генів *GmCOL1a* знижує активність *E2 (GmGla)* та *E1* на довгому фотоперіоді. В рослинах з над-активним геном *E1*, активність *GmCOL1a* була вищою, ніж в генотипах дикого екотипу, можливо тому, що *E1* та *GmCOL1a* впливають на експресію один одного та функціонують як частина негативної зворотньої петлі (feedback loop) [19].

miRNA-залежний модуль. В арабідопсисі експресію транскрипційних факторів (родини SQUAMOSA PROMOTER-BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)), що забезпечують перехід від ювенільної до фази дозрівання, регулюють мікроРНК *miR156* [140, 176, 186, 189]. Транскрипційний фактор *SPL3* прямий активатор генів, що впливають на стан меристеми сої: *LEAFY (LFY; GmLFY2)*, *FRUITFULL (FUL)*, та *APETALA 1 (AP1)* [192], та генів транскрипційного фактору *MADS box*, та *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1; GmSOC1a i GmSOC1b)* [176], тоді як *SPL9* та *SPL10* медіатори переходу з високих рівнів експресії *miR156* на високі рівні *miR172*, напряду активують *miR172*, з подальшим переходом з ювенільної у фазу дозрівання. У сої над-експресія *GmmiR156b* затримує

цвітіння в умовах довгого дня, з подальшим зниженням активності *GmmiR172*, але підвищує експресію *GmTOE4a*, ортолога сої *TARGET OF EAT1 (TOE1)* [20]. Разом з цим, *GmGla (E2)* активує над-експресією *GmmiR172* та перехід сої до фази дозрівання, через підвищення регуляції гомологів *DICER-LIKE 1 (GmDCL1)* та *SERRATE (GmSE)* генів, продукти експресії яких є ключовими ензимами в *miRNA* синтезуючому ланцюзі [177, 199]. Важливо, що експресія *GmmiR156b* і *GmTOE4a* контролюється генами локусів *E1-E4*. *GmmiR156b* збільшує активність в присутності доміантних алелів *E1-E4* в умовах довгого дня [20] (рис 1.4).

GmTOE4a експресується опосередковано завдяки впливу фотоперіоду через *E3* і *E4* [199]. *GmmiR156b/GmSPL* та *GmmiR172/GmTOE4a* модулі взаємодіють з PHYA-E1 і GI-CO-FT модулями, виявляючи, що ці взаємодії мають деякі розходження між системами регуляції сої та арабідопсису [20, 199].

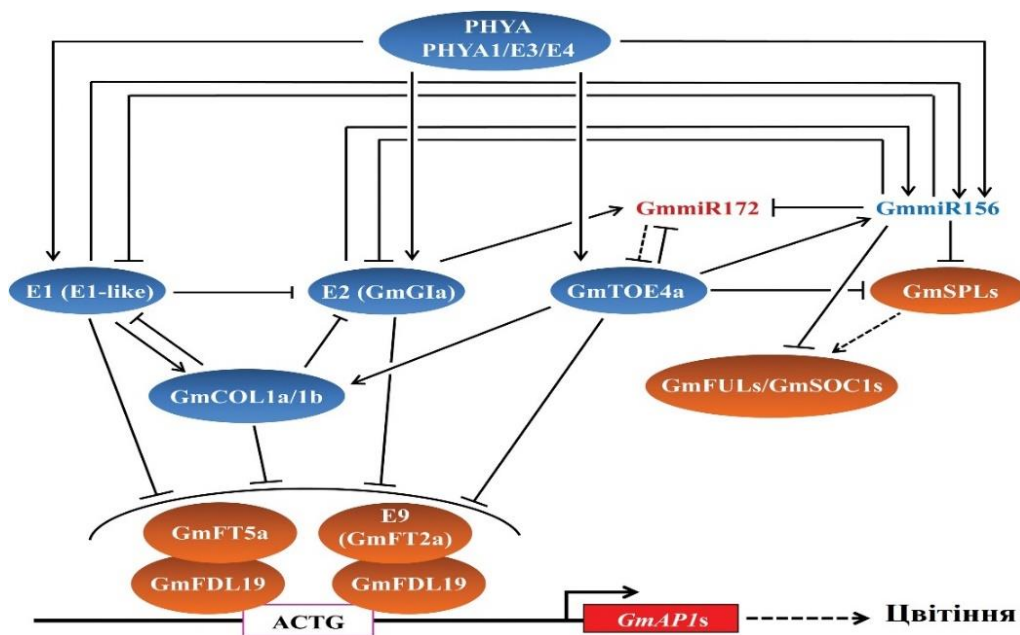


Рис. 1.4. Механізм генетично-сигнальної мережі цвітіння та відповіді на фотоперіод за трьома модулями регуляції за умов довгого фотоперіоду за інформацією Сао з співавт., [21]. Синій колір – репресори цвітіння; помаранчевий – промотори. Взаємодії передбачені за результатами

досліджень модельного об'єкту арабідопсису, позначені пунктирними лініями. ↓ – активація та ⊥ пригнічення експресії генів.

Можливо більш впливовими в генетично-сигнальній мережі відповіді на фотоперіод сої серед трьох описаних модулів регуляції є *PHYA-E1*, *GI-CO-FT* для генотипів з доміантними алелями локусів *E1-E4*, що пригнічують цвітіння в умовах довгого дня. *miRNA*-залежний модуль активується за допомогою алелів *E3* і *E4*, які напевно впливають на усі три модулі, це опосередковано пов'язує в єдиний механізм низку реакцій, що протікають при залученні різних форм алелів *E*-локусів під час зміни світлового дня.

1.2.2. Структура генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*, їх локалізація та продукти експресії

Завдяки генетичному аналізу природних варіацій 11 локусів стиглості *E1-11* та локусу *J*, було виявлено, що за рахунок мутацій в цих та асоційованих з ними *QTL* локусах, підвищуються можливості пристосування сої до широкого діапазону природних умов. Локуси *E* генів та *QTL* взаємодіють один з одним та з навколишнім середовищем суттєво впливаючи не тільки на час цвітіння та дозрівання, а й на морфологію рослини, стресостійкість та врожайність [96].

Наявність доміантного алелю гену *E1*, який локалізований в перичентромерній області хромосоми 6, в генотипі викликає пізніе зацвітання та ймовірно кодує білок, що є фактором транскрипції, двостороннього сигналу ядерної локалізації [30, 168, 171, 187].

Алелі гену *E1*: рецесивний *e1-as* та нуль-алелі *e1-fs* і *e1-nl* призводять до більш раннього цвітіння [187, 190, 168, 197]. Як вже було сказано вище для алеля *e1-as* характерна наявність місенс-мутації у 44 положенні, що призводить до заміни аргініна на треонін (*e1-as*) (рис. 1.5.). Делеція аденіну в положенні 49 алеля *e1-fs* призводить до зсуву рамки зчитування та утворення передчасного стоп-кодона в положенні 124-го нуклеотида. У рослин з нуль-

алелем (*e1-nl*) видалена ділянка 130 т.п.н, в якій знаходиться ген *E1* (рис. 1.5.). Також відомо про існування алелів *e1-re* та *e1-p*.

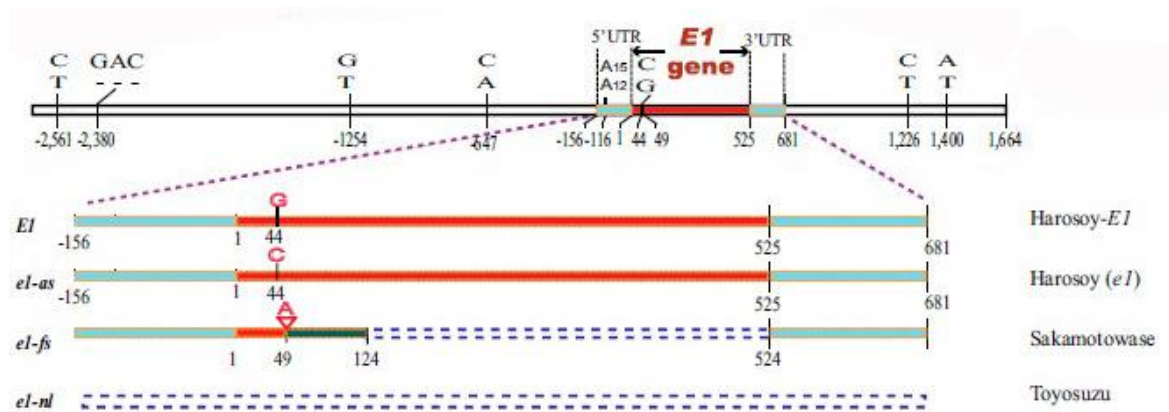


Рис. 1.5. Розташування та схематична будова гену *E1* за результатами позиційного клонування [8378]. Синій та червоний кольори позначають відповідно НТР (нетранслюємі регіони UTR) та області кодування *E1*. Показано відмінності в молекулярній структурі алелів *E1* (з лінії Harosoy-*E1*), *e1-as* (Harosoy-*e1*), *e1-fs* (сорту Sakamotoわせ), *e1-nl* (сорту Toyosuzu)

В геномі сої присутні також два гомологи *E1*, *E1La* (*like-a*) та *E1Lb* (*like-b*), локалізовані на ділянці в 10640 т.п.н. в перицентромерному регіоні на 4 хромосомі, що гомеологічна регіону 6 хромосоми, з розташованим *E1*. Гени *E1* і *E1L* пригнічують цвітіння, знижують експресію генів-ортологів *Arabidopsis FLOWERING LOCUS T (FT)*, *GmFT2a (E9)* і *GmFT5a* в умовах довгого фотоперіоду, при цьому гени *E1L* мають менший вплив на цвітіння [191]. Генотипи з рецесивними *e7* та *e8*, ще більше зменшують чутливість *e1-as* рослин в умовах довгого дня. Припускають, що гени *E1L* можуть бути кандидатами для *E8* [21].

E2 ген (*GmGla*) ідентифікований як ортолог гену *GIGANTEA (GI)* в *Arabidopsis*, [180], має розмір 20 т.п.н. містить 14 екзонів (рис. 1.6. А) [106**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Відомо три ізоформи – функціональний домінуючий *E2*, який кодує протеїн із 1170 або 1177 [177] амінокислот, рецесивний нонсенс-алель *e2-ns* або *ft2* (зміна А на Т в положенні

1561), що призводить до експресії усиченого протеїну розміром 521 амінокислота та алель з несинонімічною-мутацією з делецією нуклеотидів в тому ж екзоні в мутантній лінії E2-mut, в результаті чого експресується білок розміром 735 амінокислот (рис. 1.6. Б). Рецесивний алель *e2-ns* або *ft2* сприяє ранньому цвітінню завдяки активації експресії *GmFT2a*, однак не впливає на експресію *GmFT5a*.

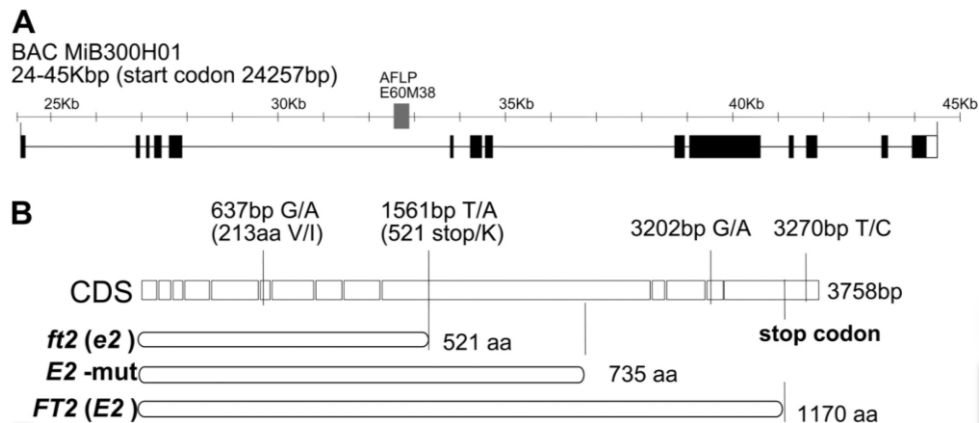


Рис. 1.6. А – схематична структура гена *GmGla* [180]. Екзони позначені прямокутниками. Б – відмінності в молекулярній структурі алелів *ft2*, *E2-mut*, *FT2* (*E2*), та розмір протеїнів різних ізоформ *GmGla* (*E2*)

Штучно індуковані мутанти E2-mut, які продукували усичений протеїн розміром 735 амінокислот, зацвітали раніше, ніж дикий екотип, що свідчить про пригнічення цвітіння геном *GmGla* на довгому дні.

E3 та *E4* – гени фітохрому А сої (*PHYA*) *GmPHYA3* і *GmPHYA2*, відповідно [91], які в умовах довгого дня експресуються в залежності від співвідношення природнього світла червоний:далекий червоний (R (640 нм):FR(780 нм)). *E3* експресується при співвідношенні R:FR $\geq 1,0$ (10 год. день та 14 год. ніч), а *E4* – R :FR $\leq 1,0$ (14 год день та 10 год ніч). Відомо два їхні гомологи: *GmPHYA1* і *GmPHYA4*, проте поки що не відомо як відповідають вони іншим *E*-генам.

Локус *E3* (ген *GmPhyA3*) має декілька алелів: функціональні алелі *E3Ha*, *E3Mi*, та нефункціональні *e3-ns*, *e3-fs*, *e3-tr*, *e3-Mo* [179, 190]. Алель *E3-Ha*

характеризується наявністю великої інсерції схожої на послідовність ретротранспозонів, та кодує ідентичний з алелем *E3-Mi* протеїн розміром 1130 амінокислот [179]. Обидва функціональні гени *E3* кодують фітохром А, що впливає на час цвітіння та дозрівання у сої. Алель *e3-Mo* містить несинонімічну мутацію у третьому екзоні, що призводить до заміни амінокислоти (гліцин на аргінін) та інсерцію 2,5 т.п.н. у четвертому інтроні. [162]. У алельного варіанту *e3-tr* детектована велика делеція (13,33 т.п.н.) після третього екзона (відсутні третій інтрон, та четвертий екзон), в результаті експресується нефункціональний фітохром без гістидинкіназного домену, що відіграє важливу роль в передачі сигналу та ранньому зацвітанні [179]. Алель *e3-fs* має одонуклеотидну делецію в позиції 2525 першого екзону, що зміщує рамку зчитування та вводить передчасний стоп-кодон. Алель *e3-ns*, має точкову мутацію в позиції 5077 в третьому екзоні, та характеризується заміною нуклеотиду (С на Т), що вводить стоп-кодон (Gly to stop), в результаті експресується усічений протеїн розміром 1046 амінокислот [190]. Всі три нефункціональні рецесивні алелі *e3* сприяють ранньому зацвітанню та скоростиглості сої. Структура гена *GmPhyA3* відображена на рис. 1.7.

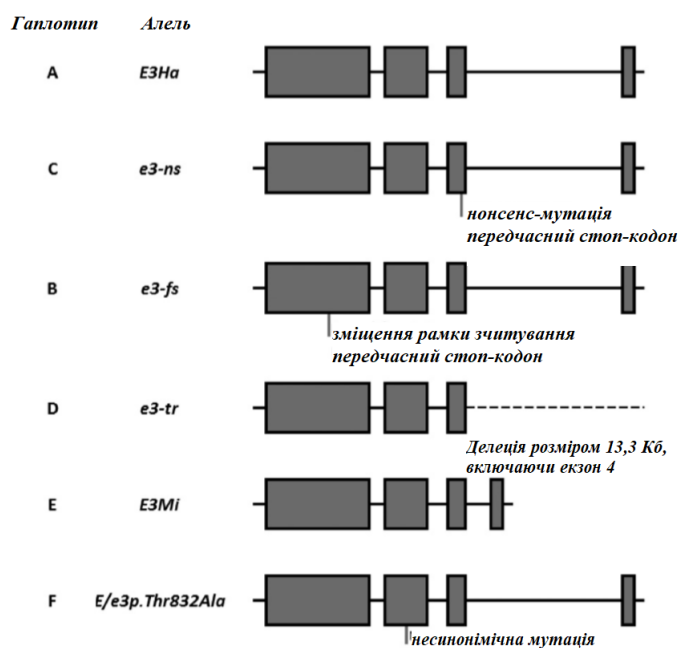
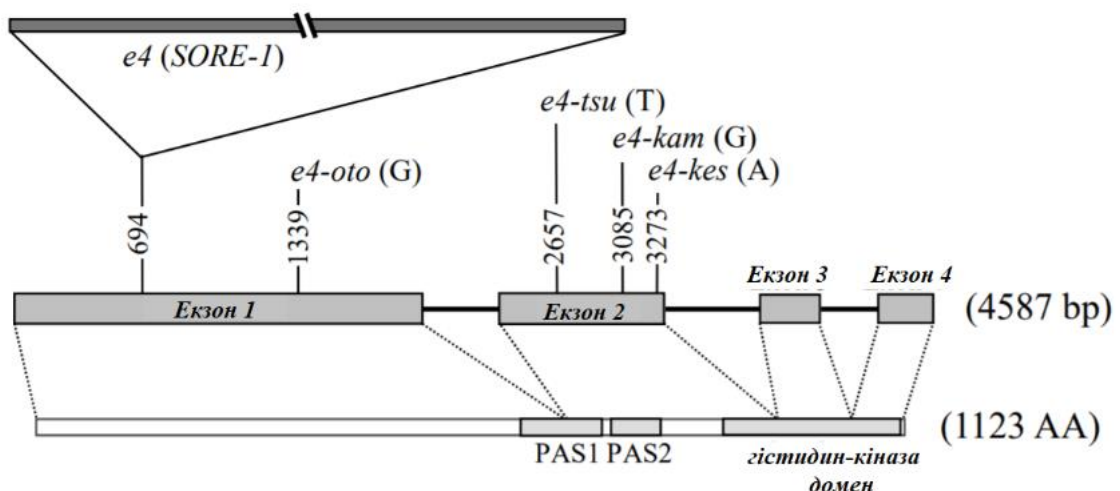


Рис.1.7. Алелі за гену *GmPhyA3* (*E3*). Сірі прямокутники – екзони, чорні непереривні лінії – інтрони, пунктир – делеція (Tardivel et al. [162]).

Локус *E4* знаходиться на 20 хромосомі геному сої [91, 168]. В ньому локалізується ген *GmPhyA2*. Відомо, що цей локус має один функціональний та 5 нефункціональних алелів [91, 83]. У рецесивному алелі (*e4-SORE-1*) наявна інсерція 6238 п.н. (схожа на ретротранспозон (*Ty1/copia*) [158, 167] (рис. 1.8), яка вносить передчасний стоп кодон і в результаті трансляції синтезується білок розміром 237 амінокислот. Це порушує функцію *GmFT5a* гена щодо забезпечення нечутливості до довгих світлових днів з низьким співвідношенням R:FR [91, 161]. Інші чотири дисфункціональні алелі – *e4-oto*, *e4-tsu*, *e4-kam* і *e4-kes*, кожен, має по одному видаленому нуклеотиду в кодуєчій області, що створює зміщення рамки зчитування та експресію усічених білків з 456 амінокислот, 759 амінокислот, 894 амінокислот та 979 амінокислот відповідно [91]. Продукти експресії генів *e4-kam* і *e4-kes*, не мають домену гістидин-кінази, необхідного для фосфорилування, але зберегли два домени PAS (PAS1 і PAS2), які є важливими для подачі сигналу, *e4-oto* – бракує всіх трьох доменів, і *e4-tsu* відсутні домени PAS2 та гістидин-кінази [167] (рис. 1.8).



A

<i>E4</i>	441	VKCDG A ALIKYK NK VWRL	457
<i>e4-oto</i>		VKCDG A PSYIRTRYGD*	456 AA
<i>E4</i>	744	TRIEGDYKAIVQ NR NPL	760
<i>e4-tsu</i>		TRIEGD T RQLYRTAIH*	759 AA
<i>E4</i>	887	SEQTAL K RRL	895
<i>e4-kam</i>		SEQTAL R D*	894 AA
<i>E4</i>	949	SDLDSI I DGYLDLEMAEFTLHEVLVTSLSQVM	980
<i>e4-kes</i>		SDLDSI M MVTWILKWLSSLCKFWLPHLVRS*	979 AA
<i>E4</i>	226	MVQEV F ELTGYDR	238
<i>e4 (SORE-1)</i>		MVQEV F VRTNLF*	237 AA

Б

Рис. 1.8. (А) Ген *GmPhyA2* з сайтами делецій та інсерції *Ty1/copia* ретротранспозону, *SORE-1*. Видалені нуклеотиди представлені в дужках. (Б) Передчасні стоп-кодони (*), що утворюються в результаті делеції або інсерції *SORE-1* [167]

Локус *E5* за даними [106], попередньо вважався локалізованим на 10 хромосомі, близько зчепленим з локусом *E2*, або ж навіть міг бути алельною формою *E2*. У дослідженні [39] ізогеної лінії L64-4830 (*e1-as/e1-as/ e2/e2 E3/E3 E4/E4 E5/E5* - донор алелю *E5*) з алель-специфічним ДНК-маркером не детектовано алелю *E5*. На підставі цього, вчені прийшли висновку, що імовірно гена *E5* не існує.

Гени *E6* та *J* залучені до системи контролю пізнього цвітіння в умовах короткого фотоперіоду. Домінантні алелі обох цих локусів забезпечують раннє цвітіння [17, 126]. Локус *E6*, обумовлює ознаку тривалої ювенільної фази, він розташований на 4 хромосомі поблизу маркера одномолекулярного поліморфізму *HRM101*. Локус *J* (тривала ювенільна фаза) локалізований в області довжиною 239 т. п.н., між маркерами M1 і M3 на 4 хромосомі забезпечує адаптацію сої в низьких географічних широтах. Відомо, що *E6* пригнічує експресію *E1*. За припущенням [97], *E1* має епістатичний вплив на *E6* в умовах короткого фотоперіоду.

E7 зчеплений з *E1* в групі зчеплення C2 на 6 хромосомі, поряд з локусами *E1* і *T*, та картований на ділянці 22,2 сМ між маркерами *Satt100*, *Satt319* та *Satt469* [28, 31, 111].

Локус *E8* локалізований на групі зчеплення C1 між маркерами *Sat_404* та *Satt136* на 4 хромосомі [28], поруч з локалізованими *E1La* і *E1Lb*. Вказані локуси *E7* та *E8* вивчені не достатньо та поки що не секвеновані.

E9 ідентифікований як *GmFT2a*, виявлений при аналізі популяції від схрещування дикого екотипу та культурного сорту сої, знаходиться на 16 хромосомі в регіоні довжиною близько 245 т.п.н. [75, 95]. Рецесивний алель гену *e9*, рідкісний і затримує цвітіння завдяки інсерції в першому інтроні *Ty1/copia-like*-ретротранспозону, алель *SORE-1*, що знижує транскрипційну активність гену [198]. Рецесивний *e9* підтримує вегетаційний розвиток сої (стадія Ve) в генотипах нечутливих до фотоперіоду, та може бути корисним, як алель «тривалої ювенільної фази», який спричиняє пізнє цвітіння в умовах короткої доби, в регіонах з низькими широтами [198].

За допомогою аналізу простих повторюваних послідовностей (SSR) та однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) Samanfar et al. [135] визначив локалізацію гену *E10* на дистальному кінці хромосоми 8 (група зчеплення A2). Ген *FT4* визначили як найбільш вірогідний ген-кандидат, що може бути асоційованим з локусом *E10*. Аналіз послідовності двох алелів *FT4* виявив три однонуклеотидних поліморфізми у 5'UTR, 3'UTR та в четвертому екзоні кодуючого регіону. Скоріш за все заміщення треоніну ізолеїцином в 4-му екзоні призводить до зміни функції білка у рослин з мутантним алелем [135].

Ген *E11* був виявлений на 7 хромосомі в області довжиною 138 т. п.н., між індел маркерами (indel markers) ID7079 та ID7088. Wang et al. [174] розглядають в якості найімовірнішого гена-кандидата для локусу *E11* ген *Glyma.07g48500 LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)*, що кодує білок-активатор пізнього зростання гіпокотилля [5]. *LHY* виступає одним із учасників регулювання циркадних ритмів. Мутація гену *LHY* може порушувати

циркадну регуляцію, знижувати експресію генів та рухи листя, у відповідь на зміну кута падіння сонячних променів, що ймовірно призводить і до зменшення розміру стебла рослин та врожаю [174].

Характеристика *E*-локусів сої та пов'язаних з ними генів за ідентифікаційними номерами, локалізацією, розміром та продуктами експресії представлена в Додатку Ж.

Маркування генів фотоперіодичної чутливості *E* сої із використанням молекулярних маркерів розпочалося до повного секвенування геному. Дрібні хромосоми сої зі слабкими морфологічними відмінностями, ускладнювали цитогенетичні підходи та можливість пов'язати локуси з ознаками на генетичній карті в групі зчеплення з хромосомами [33]. У 2003 році Molnar et al. [111] із застосуванням новоствореної генетичної карти, запропанованої Cregan et al. [33], проводили генотипування 25 майже-ізогенних ліній сої за маркерами SSR, включаючи референсні сорти. Пари майже-ізогенних ліній, похідні від сортів 'Harosoy', 'Maple Presto', 'Maple Arrow', 'Maple Amber', 'Evans', були контрастні за шістьма генами фотоперіодичної чутливості *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E5*, *E7* й локусом *T*, та за ознакою росту головного стебла (*Dt*) (детермінантний та індетермінантний тип росту). У генотипах ліній, похідних від 'Harosoy' – OT93-26, OT94-49, OT94-51, за діагностичним маркером *Satt365* в інтервалі 2,1 сМ між мікросателітними маркерами *Satt277* і *Satt557* у групі зчеплення C2 було локалізовано домінантний алель локусу *E1*, що визначався фрагментом ампліфікації розміром 'С'. Маркер *Satt229* діагностував у 12 ліній – нащадків 'Harosoy' домінантний алель *E3*, та рецесивний алель *e3* у ліній – похідних від сортів 'Maple Arrow', 'Evans'. Локус *E3* було відображено в інтервалі 32,4 сМ між мікросателітним локусом *Satt099* та кінцем групи зчеплення L, в цьому інтервалі також відзначено діагностичний маркер *Satt229*, згідно даних Molnar et al. [111].

Локус *E4* був асоційований з мікросателітним маркером *Satt354* у групі зчеплення I та визначений у 12 ліній похідних від сорту 'Harosoy', але точної

його локалізації не встановлено [111]. Цими ж авторами вперше визначено локалізацію локусу *E7* в інтервалі 22,2 сМ у групі зчеплення С2 між маркерами *Satt100* і *Satt460*, і показано його асоціацію з діагностичним маркером *Satt319*, та встановлена приблизна локалізація локусів *Dt1* і *T*. Таким чином, застосування мікросателітних маркерів, зчеплених з зазначеними локусами, дозволили Molnar et al. [111], уточнити картування локусів *Dt1*, *T*-локусу, співставити *E1* та *E3*, та вперше локалізувати локуси *E4* і *E7*. Отримані результати продемонстрували можливості для застосування вказаних мікросателітних локусів у маркер-асоційованій селекції сої.

Наукові групи Cregan et al. [33] та Molnar et al. [111] достовірно встановили зчеплення *Satt100* та *Satt319* з локусом *E7* на відстані 1-1,2 сМ, відповідно. За інформацією з сайту www.soybase.org [226] мікросателітний локус *Satt365* розміщений на відстані 1,5-1,7 сМ від алелю *E1* в групі зчеплення С2 на 6 хромосомі. Соебер et al. [31] повідомляв, що *E1* знаходиться на відстані 6,2 сМ до *E7*. А мікросателіт *Satt229* зчеплений на відстані 5 сМ з алелем *E3* в групі зчеплення L на 19 хромосомі, мікросателітний локус *Sat_038* локалізовано на відстані 24,23 сМ від *E2* локусу у групі зчеплення O на 10 хромосомі [179], а *Satt354* маркує алель *E4* на відстані близько 10 сМ у групі зчеплення I на 20 хромосомі [1] (рис. 1.9).

Mazkirat et al. [105], вивчав алельний стан казахських сортів та ліній сої за МС-маркерами *Satt100* та *Satt319* зчепленими з локусом *E7*, для порівняння у дослідження були включені і українські сорти сої. За результатами Mazkirat з співавт. [105], з 37 сортів сої та 34 селекційних ліній нащадків від 8 схрещувань ультра-ранніх та ранньостиглих форм, визначено 18 сортів носіїв домінантного алелю *E7* та 16 сортів і 7 ліній – носіїв рецесивного алелю *e7*. Лінії з рецесивним алелем рекомендовано використовувати в подальших селекційних програмах для розробки нових сортів, пристосованих до умов Північного Казахстану.

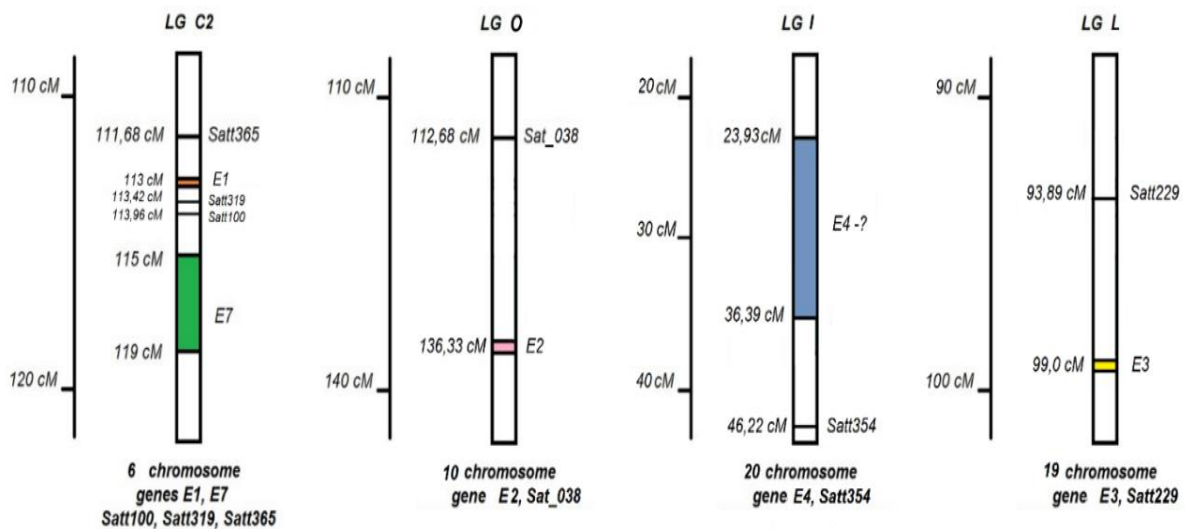


Рис. 1.9. Схема хромосом 6, 10, 19, 20 сої з положенням МС-маркерів в cM і локусів *E*, згідно з інформації сайту <https://soybase.org/> [226]. Схематичне оформлення автора роботи

Присяжнюк з співавт. [260], відзначили, ефективність маркерної системи із чотирьох мікросателітних локусів *Satt063*, *Satt114*, *Satt228*, *Satt726*, для встановлення сортових відмінностей у вибірці з 25 сортів сої, різних країн походження, в тому числі і України. Волкова з співавт. [219] доповідала про поліморфізм у 15 українських та іноземних сортів сої за локусом *Satt100*, асоційованим з *E7* геном чутливості до фотоперіоду, встановивши 6 сортів носіїв домінантного алелю *E7* та 8 сортів – з рецесивним *e7*, один сорт виявився гетерозиготним за цим локусом, та вказувала на взаємозв'язок тривалості вегетаційного періоду з певною формою алелю *E7*. Аксьонова з співавт. [222], проводили молекулярне маркірування генів фотоперіодизму сої із використанням МС-маркерів *Satt100*, *Satt319*, *Satt365* та встановили генетичне джерело гену *E7* в зародковій плазмі Білоруського генбанку сої. За припущенням Аксьонової і співавт. [222], домінантний алель *E7* викликає затримку цвітіння на 3-5 днів, але в умовах помірного клімату раннє цвітіння з подовженою фазою дозрівання має позитивний вплив на врожайність. За

отриманими даними генотипування 87 сортів сої, Аксьонова і співавт. [222], встановили 3 типи алелів для *Satt319* та 4 типи – для *Satt100*, відмітивши, що загалом 33% вибірки генотипів несуть домінантний алель *E7*, доволі рідкий для скоростиглих сортів. У сорті ‘Evans’, позначеному Molnar et al. [111] як джерело домінантного гену *E7*, Аксьонова з співавт. [222] детектували рецесивну форму алелю, тому автори не змогли прийти до однозначних висновків щодо генотипу цього сорту. Сорти ‘Октябрь70’, ‘Вега’, ‘Мрія’, ‘Лада’, ‘Soriano’, ‘Ados’ з генотипами *E7 E7 T T*, які рідко зустрічаються, мають близьке зчеплення *E7* з локусом *T* (на відстані 4,4 сМ). Локус *T* опосередковано корелює з ознакою додаткових суцвіть, що зацвітають на 5-15 добу пізніше квіток на основному стеблі, що також позитивно впливає на збільшення врожайності у високих широтах. Аксьонова з співавт. [222] рекомендує вказані сорти як перспективні похідні форми для селекції на підвищення врожайності в умовах помірного клімату.

Michaljevic et al. [203] проводили генотипування 97 сортів сої, які мають походження з центральної, західної та південної частини Європи, за 47 SSR-маркерами, та прийшли до висновків, що генетична основа європейської зародкової плазми сої є досить вузькою порівняно з азійською та американською, тому для кращої диференціації сортів потрібна більша кількість МС-маркерів. Повідомляючи про структуру сучасної європейської зародкової плазми сої, Michaljevic et al. [203] приходять до думки, що основним лімітуючим фактором щодо різноманіття сої слугувала адаптація до навколишнього середовища, на що вказують групи стиглості. Вказані автори пропонують дані SSR-аналізу з дослідженої вибірки взяти основою для створення публічної бази даних європейських сортів сої.

В нашій роботі було поставлено завдання провести дослідження сортів та ліній сої української селекції за МС-локусами, зчепленими з локусами фотоперіодичної чутливості *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*. Однак, окрім зчеплення з *E*-генами, за даними www.soybase.org [226] відомо про зчеплення цих МС-

локусів з *QTL* часу цвітіння, дозрівання, тривалості вегетаційного періоду, розмірами рослин та їх окремих структур, якості зерна, стійкості до шкідників та хвороб, кількості бобів та врожаю насіння [111, 129, 215, 222].

1.2.3. Вплив генів серії *E* на кількісні ознаки сої. Цвітіння, дозрівання, тривалість вегетаційного періоду, масу 1000 насіння та врожайність

Що стосується визначення та аналізу впливу на агрономічні ознаки алелів різних *E*-генів, що детермінують чутливість рослин до фотоперіоду, то в Україні такі дослідження ще не набули широкого застосування. Дослідження Avksentiieva et al. [9], були виконані на майже-ізогенних лініях сої сорту Clarc. Так, лінія L65-3366 з генотипом *E1E2E3E4e5E7* була дуже чутливою до фотоперіоду та лінія L71-920 (*e1e2e3E4e5E7*) відрізнялася нейтральною чутливістю. Ці дві лінії на дослідних ділянках Харківської області (Україна, 50° півн. ш.), показали, що в умовах довгого дня (16 годин) над-чутлива до фотоперіоду лінія L65-3366 – зацвіла на 50-56 днів пізніше, ніж лінія з нейтральною чутливістю. Цікаво, що на короткому дні (9 годин) лінія L65-3366 скоротила час настання фази цвітіння (R1 [42]) на 46 днів, коли лінія з нейтральною чутливістю, зацвіла в той самий строк.

Слід підкреслити, що час зацвітання, швидкість настання стиглості – ознаки, що мають позитивну кореляцію з врожайністю рослин сої. Подовжена вегетативна фаза сприяє подовженню тривалості вегетаційного періоду, та позитивно корелює з часом до цвітіння та часом дозрівання сої [98]. За інформацією [187], в умовах Японії (35° півн. ш.) рослини сої з мутаціями *e1-as* переходили до стадії R1 на 50 добу, а рослини з *e1-fs* та *e1-nl* на 30 день після проростання, в той час як рослини з алелем дикого типу зацвітали на 70 день.

Щодо тривалості вегетаційного періоду, то Zhai et al. [194], відзначили, що сорти сої з генотипами з рецесивними алелями *e1-nl*, *e1-as* в поєднанні з рецесивними *e2*, *e3*, *e4*, мали найкоротші періоди вегетації, найшвидше

переходили до стадії цвітіння (R1), та зрілості (R7-R8) зі 180 досліджених генотипів вибірки. Аксьонова з співавт. [222] зазначала, що домінантні алелі локусів *E2*, *E4* не зустрічаються у сортів зі строком вегетації менше 100 днів, придатних до вирощування на території Білорусі (52-54° півн. ш.), близької за географічним розташуванням до України, так само, як і домінантній алелю гену *E1*. Аналіз поліморфізму українських сортів сої за локусом *E7*, проведений Волковою із співавт. [219] продемонстрував зв'язок домінантного алелю *E7* з тривалішим вегетаційним періодом сої. Так, генотипи з тривалістю вегетаційного періоду до 100 днів виявилися носіями рецесивного алелю *e7*, та на 10-15 днів достигали раніше, ніж сорти з тривалістю вегетації 120-140 днів, які в більшості демонстрували наявність домінантного алелю *E7* [219].

Ознака маса 1000 насінин залежить від експресії гена *AP2*, на який опосередковано впливає локус *E2*. Аналізуючи роботу Вожегової з співавт., [218], відмітили, що скоростиглий сорт Юг 30, носій генотипу *e1-as/e3/e4* згідно Xu et al. [190], мав масу насіння з рослини – 8,24г, що є істотно нижче від пізньостиглого чутливого до фотоперіоду сорту Витязь 50 (II група стиглості) з масою насіння – 17,21 г. За даними Рябухи з співавт., [264], ранньостиглий сорт Устя, носій генотипу *e1-as/E3/e4* згідно [190], за ознакою «маса 1000 насінин» показав 150,2 г, що перевищує показник повного рецесиву ранньостиглого сорту Юг 30 (з генотипом *e1-as/e3/e4* за даними [190]) на 13,9 г., при цьому, сорт Keshuang (середньостиглий), носій домінантного алелю *E1* (генотип *E1-as/e3/e4* – згідно [190]), демонструє 168,8 г за цією ж ознакою. Можемо припустити, що ознака «маса 1000 насінин» теж має позитивну кореляцію з домінантними алелями генів дозрівання в сої, хоча істотно на врожайність не впливає, як відзначають Розенцвейг з співавт., [262].

Almeida et al. [6], відзначають, що пізнє цвітіння достовірно призводить до більшої врожайності зерна з рослини. Аксьонова з співавт., [222] вказує, що присутність домінантного алелю *E7* гена за умов довгого дня сприяє більшій продуктивності. Тому, можна припустити, що генотипи-донори домінантного

алелю *E7* матимуть позитивну кореляцію зі збільшенням врожайності сої, та знайдуть застосування в майбутніх українських селекційних програмах. Zhao et al. [198] повідомляв, що рецесивний алель *e9* подовжує вегетаційну фазу (*Ve* – за класифікацією [42]), затримуючи цвітіння. Цей алель було детектовано у генотипі з низькою чутливістю до фотоперіоду на фоні дисфункціонального гену *e1-nl*. Було б цікавим визначити адаптаційні можливості цього алелю на тлі домінантних алелів за локусами *E1-E4*, *E7* в умовах Полісся чи Лісостепу України, та його вплив на врожайність у зв'язку з можливістю рослини набрати більшу вегетативну масу за подовжений період до цвітіння.

Підсумовуючи [6, 98, 118, 190, 194, 218, 219, 222, 262, 264], можна дійти висновку, що домінантні алелі *E* локусів мають тенденції до негативної кореляції з підвищенням врожайності сої, при вирощуванні цієї культури у високих географічних широтах, відкладаючи час цвітіння та дозрівання. А за інформацією [237, 222] генотипи з подвійною, потрійною рецесивністю за локусами *E* показують тенденції до скорочення вегетативної стадії, прискорюючи цвітіння, зменшуючи розміри насіння при цьому збільшуючи його кількість з рослини, що забезпечує вищу врожайність.

1.2.4. Молекулярно-генетичний поліморфізм генів *E* у світовому генофонді сої

Оцінка колекції зародкової плазми сої за врожайністю, та адаптивністю має вирішальне значення для відбору батьківських форм, визначення бажаних алелів, а також розвитку спрямованої селекції нових сортів з запрограмованими темпами росту та розвитку [114, 124, 175]. На сьогодні близько 1235 сортів сої різного походження (з різних континентів – Північна та Південна Америки, Європа, Азія, Африка) проаналізовано для зіставлення генотипів за генами серії-*E* (*E1*, *E2*, *E3*, *E4*) з групами стиглості [82, 88, 94, 194]. Загальна тенденція свідчить про присутність рецесивних алелів *e1*, *e2*, *e3*, *e4*, що асоційовані з настанням раннього цвітіння та зрілості, в майже всіх сортах груп ранньої стиглості, та навпаки, сорти більш пізніх груп стиглості несуть домінантні гени *E1*, *E2*, *E3*, *E4* [88]. На рис. 1.10 представлено розповсюдження сортів в залежності від груп стиглості

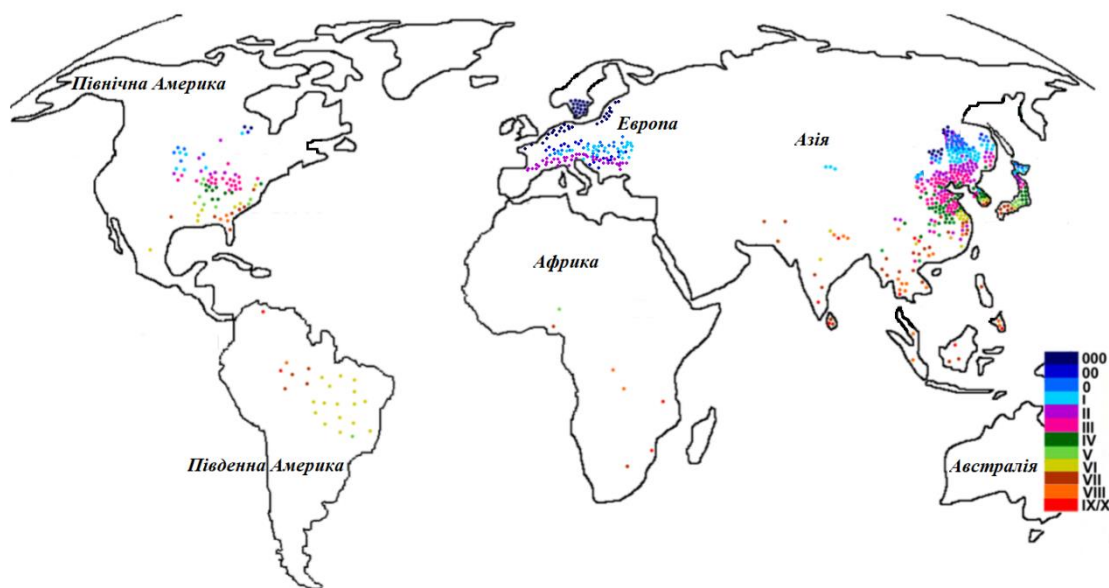


Рис 1.10. Географічне поширення сортів сої за групами стиглості [79, 94].
Оформлення автора роботи.

За групами стиглості (класифікація на 13 груп стиглості 000-X за Norman [118]) сорти сої розподіляються нерівномірно, в залежності від географічної

широти вирощування та генотипу. В групі з 512 сортів, досліджених Liu et al. 2017 [94], більша частина (63,9%) віднесена до 0-IV групи стиглості, до V-VIII групи відноситься 27% сортів, до 000-00 – 6,9% та IX-X групи стиглості – 2,3% від загальної кількості сортів дослідженої вибірки. Із 123 сортів української селекції, занесених в Державний реєстр сортів в 2019 році, більшість відноситься до скоро- і ранньостиглих, групи стиглості 00 і 0 – майже 61 % від загальної кількості придатних до поширення сортів, з яких 43,1 % – 00, 27,6% – 0, інші 22,8% та 6,5% – I і II група стиглості, відповідно. Сучасна геногеографія сортів сої заснована на алельному поліморфізмі локусів *E*: *E1*, *E2*, *E3*, *E4*. Xu et al. [190] визначили 15 алельних варіантів за локусами *E*, аналізуючи 53 ранньостиглих сорти сої, Zhai et al. [194], повідомляє про 25 алельних варіантів серед 180 сортів сої різних груп стиглості. В подальших дослідженнях [88] для 512 сортів, виділили 12 груп генотипів. Langewich et al. [82], виділяє 9 груп генотипів з дослідженої вибірки з 238 сортів та ландрас сої, відзначаючи, відсутність поліморфізму за алелями локусу *E4/e4(SORE-1)*, і всі зразки у виборці були носіями домінантного алелю *E4*. Kurasch et al. [79], досліджували 75 ранньостиглих сортів сої (000-II) європейського походження, визначили 12 комбінацій генотипів. Miladinovic et al. [108] проаналізувавши 445 генотипів сортів і ліній сої різної селекції, виявили 12 (13-?) гаплогруп та унікальних комбінацій алелів за локусами *E*.

Можна переконатися, що в межах однієї групи стиглості можуть знаходитися генотипи з різними алелями за локусами *E*. Для кращої інтерпретації нами були систематизовані данні щодо співвідношення груп стиглості та алельного складу *E*-генів згідно досліджень Zhai et al. [194], Xu et al. [190], Li et al. [88], Langewich et al. [82], Kurasch, et al. [79], Miladinovic et al. [108] (Додаток 3).

Генотипові комбінації та їх кореляції з групами стиглості сортів сої світової селекції наведених вище дослідників представлені в Додатках 3, К.

Географічно сорти віднесені до I групи генотипів – сорти високих широт від 51° до 55° півн. широти і вище, нечутливі до довгого фотоперіоду (групи стиглості 000 і більш ранні). Теоретично I групу можна адаптувати і в високих широтах Південної півкулі. II група складається з генотипів, слабо чутливих до фотоперіоду в більшості ранньостиглих сортів 00, 0, I групи стиглості. Завдяки гіпоморфному алелю *e1-as* та домінантному алелю *E4*, ця група проявляє кращі адаптивні можливості та більшу врожайність у високих широтах, завдяки більш тривалій репродуктивній фазі [88]. До III групи генотипів відносяться сорти ранньостиглі, середньо-ранньостиглі та середньостиглі (0, I, II). Домінантний алель, *E3* розповсюджений в широкому діапазоні географічних широт, тоді як генетичний поліморфізм за локусом *E4*, був визначений лише у сортів високих географічних широт [68, 83]. Найпоширеніша IV група генотипів сортів помірних широт (47-40° півн. ш.). Сюди відносяться сорти середньо-ранньостиглі, середньостиглі, середньо-пізньостиглі (I, II, III, IV). Домінантний алель локусу *E2*, в цій комбінації подовжує вегетативну стадію, зменшуючи шанси досягнути зрілості у високих широтах. Щодо групи V, можливо, домінантний алель локусу-*E1* опосередковано пов'язаний з домінантним алелем будь-якого з інших локусів *E*, тому такий генотип не поширений, відносяться сорти ранньостиглі, середньо-ранньостиглі, середньо-пізньостиглі (0, II, IV). Сорти VI групи відносяться до середньо-пізньостиглих та пізньостиглих (IV, V). Локус *E1* на фоні *e2 e3 E4* подовжує час до цвітіння, а *E4* подовжує ріст основного стебла. Генотипи групи VII представлені майже в усіх групах стиглості від екстра-ранньостиглих до ультра-пізньостиглих (000-X), адаптовані на всіх континентах. Це генотипи пластичних сортів, які і забезпечили географічну експансію сої в світі [94]. Мабуть така сила адаптації генотипів *E1/e2-x/E3/E4* виникла завдяки ефективній нонсенс-мутації (*e2-ns* або *ft2*). Таким чином, рецесивний алель *e2* з делецією нуклеотидів транслює скорочений протеїн GI. Можна припустити, що оскільки мажорний ген *E1* представлений

домінантним алелем, та має більш виражений вплив в ланцюзі контролю цвітіння ніж $E2$, представлений в рецесивній формі, таке поєднання служить найвигіднішим чином для пристосування до нестабільних умов навколишнього середовища та надає пластичності такому генотипу. Можна також припустити, що над-експресуючий $E1$ в умовах подовженого фотоперіоду (більшість сортів вирощується в високих широтах з довгими ночами), та доміантний алель $E3$, який також затримує стадію Ve , в умовах тривалого фотоперіоду, при комбінації з рецесивним алелем $e2$ в північних широтах короткого дня, затримують початок цвітіння та перехід до стадії початок дозрівання – повна стиглість (R7-R8 [42]), забезпечуючи більшу кількість бобів, насіння з рослини та й загалом врожайність сортів сої цього генотипу, що сприяло його розповсюдженню. На нашу думку, доміантний стан всіх алелів локусу E , група VIII ($E1 E2 E3 E4$) додатково посилює тенденції тривалої ювенільної фази, та за рахунок збільшеної Ve -стадії та подовженої R-стадії, сорти цього генотипу можуть наростити вегетативну масу, площу листової поверхні, що збільшить площу вегетативних органів рослини та покращить фотосинтез, що в свою чергу збільшить розмір, кількість бобів, якість насіння й врожаю. XI група складається з генотипу з алелем $e1-as$ та доміантного локусу $E3$, комбінація яких зустрічається в сортах I, II групи стиглості. Цей генотип дозволяє скоротити час до цвітіння та подовжити репродуктивну стадію, що стане оптимальним співвідношенням для підвищення врожайності у високих широтах, до яких відноситься і Україна.

Більшість генотипів сортів української селекції за даними МС-аналізу з праймерами рекомендованими Molnar et al. [111], Rosenzweig et al. [129], зчепленими з E -генами не мають доміантних алелів E -генів в генотипі (41,7% від дослідженої вибірки). Тому можемо припустити, що вони належать до групи I. Один сорт - Геба, (або 8,33% вибірки) можна попередньо віднести до групи V ($E1/e2-x/e3-x/e4-x$). Цей сорт носій доміантного $E1$. Один сорт –

Подільська 416 (8,33% вибірки) ймовірно можна зарахувати до групи IX, з генотипом $e1-?/e2-x/E3/e4-x$, домінантній алель за локусом $E3$.

Langewich et al. [82] запропонували «Молекулярну модель стиглості», яка має бути оптимально адаптованою для кліматичних умов США різних географічних широт. Із моделі для 8 груп стиглості (0, I, I, II, II, III, IV, V), генотип $e1-as/e2-x/E3$ – визначено як оптимальний для групи стиглості I, II. При цьому, Langewich відмічає, що при аналізі 1062 ліній сої ранніх груп стиглості (I, II та III) з 40 селекційних центрів США, генотип $e1-as/e2/E3$ був порівняно рідкісним і становив менше 9% загалом, а майже 80% ліній віднесені до I або II групи стиглості. Сорт Подільська 416 – є можливим носієм цього рідкісного генотипу. Особливості його полягають в адаптивності до вирощування майже в усіх агро-кліматичної зонах України (Полісся, Лісостеп, Степ) 52-48° півн. ш. Вегетаційний період сорту Подільська 416 становить 119-125 днів, що є оптимальним для нарощування вегетативної маси, та проходження всіх стадій розвитку рослини, в наших кліматичних умовах, що в результаті забезпечить оптимальну кількість (2,6-4,0 т/га) та якість врожаю (вміст білку – 38-42,0%).

На думку Langewich et al. [82], сучасній селекційній програмі в Сполучених Штатах Америки не вистачає напрямку з підвищення адаптивності генотипів сої до різних географічних широт. Досягти потрібної швидкості досягання можна за допомогою комбінування різних генотипів E разом, використовуючи нехарактерні гени стиглості.

На нашу думку, було б цікавим запропонувати сорт Подільська 416 в нові селекційні програми для направленої селекції на адаптацію до нестабільних умов зміни клімату в різних агро-кліматичних зонах України.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Опис генетичного матеріалу

Матеріалом для дослідження були 22 сорти сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.): 12 сортів української та 10 іноземної селекції різних груп стиглості та 29 селекційних ліній (табл. 2.1., 2.2).

Таблиця 2.1

Вибірка вітчизняних сортів сої досліджених в роботі

№ п/п	Сорт	Рік реєстрації	Група стиглості	Оригінатор сорту / країна походження
1.	‘Подяка’	2011	рс	Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр’єва НААН / Україна
2.	‘Кобза’	2015	скс	Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр’єва НААН / Україна
3.	‘Криниця’	2017	скс	Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр’єва НААН / Україна
4	‘Гєба’	2016	скс	Товариство з обмеженою відповідальністю «Науково-дослідний інститут сої» / Україна
5.	‘Мавка’	2013	скс	Приватне підприємство «Наукова селекційно-насінницька фірма «Сосвий вік» / Україна
6.	‘Ромашка’	2013	ср	Інститут сільського господарства Степу НААН; Кіровоградська державна сільськогосподарська дослідна станція НААН / Україна
7.	‘Золотиста’	2004	ср	Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН; Інститут зрошувального землеробства НААН / Україна
8.	‘Оксана’	2001	ср	Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН; Інститут зрошувального землеробства НААН / Україна
9.	‘Подільська 416’	2001	ср	Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН; Подільський державний аграрно-технічний університет; Інститут агроєкології і природокористування НААН / Україна

10.	‘Феміда’	2004	сс	Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН; Інститут зрошуваного землеробства НААН/ Україна
11.	‘Полтава’	2009	сс	Товариство з обмеженою відповідальністю «Науково-дослідний інститут сої»; Інститут польовництва та овочівництва м.Нові Сад (Сербія); ІП "НС СЕМЕ УКРАЇНА" / Україна
12.	‘Галина’	2009	сс	Товариство з обмеженою відповідальністю «Науково-дослідний інститут сої»; Інститут польовництва та овочівництва м.Нові Сад (Сербія); ІП "НС СЕМЕ УКРАЇНА" / Україна

рс – ранньостиглі; скс- скоростиглі; ср - середньоранні; сс – середньостиглі

Таблиця 2.2

Сорти іноземного походження, досліджені в роботі

№ п/п	Сорт	Група стиглості*	Країна походження
1.	‘Linia103’	0	Молдова
2.	‘Sreska72’	I	Сербія
3.	‘Labrador’(IR 00406)	0	Франція
4.	‘Maple Belle’	0	Канада
5.	‘Malpe Arrow’	0	
6.	‘Korada’ (IR 01941, UD01813)	0	
7.	‘Cormoran’ AC	0	
8.	‘Horosoy’ OT89-5	00	
9.	‘Вілана’	I	Росія
10.	‘Рось’	00	Білорусь

* - групи стиглості за класифікацією Norman, 1978 [118]

З 29 перспективних селекційних ліній, створених в Інституті кормів та сільського господарства Поділля НААНУ (ІКСГП) які досліджували у роботі, 19 отримано шляхом гібридизації та 10 ліній за допомогою хімічного

мутагенезу. Досліджували 3 родини ліній (F₈₋₁₀), які отримано в результаті схрещувань: ‘Оксана’ х ‘Labrador’ - 5 ліній (родина 1): ‘СР-II №2365’, ‘СР-II №2367’, ‘СР-II №2369’, ‘КР-II №3035’, ‘ПСВ-I №4001’; ‘Maple Belle’ х ‘Sreska72’ - 7 ліній (родина 2): ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘СР-II №2377’, ‘КР-I №3014’, ‘КР-II №3045’, ‘ПСВ-I №4005’, ‘ПСВ-II №4017’; ‘Linia103’ х ‘Korada’ - 7 ліній (родина 3): ‘СР-I №2220’, ‘СР-I №2226’, ‘СР-I №2234’, ‘СР-I №2245’, ‘СР-I №2250’, ‘СР-I №2265’, ‘СР-I №2359’. Батьківські форми обиралися автором матеріалу к.с.-г.н. Іванюком С.В., за показниками тривалості вегетаційного періоду належать до різних груп стиглості. Для кожної пари схрещувань обирали сорт канадської селекції (‘Korada’, ‘Labrador’, Maple Belle’) із скороченим циклом розвитку рослин сої та інший сорт, який має високі показники пластичності та стабільності врожаю (‘Linia103’, ‘Sreska72’, ‘Оксана’). Гібриди відбирали за показниками висоти рослин, висоти прикріплення нижнього бобу, кількості вузлів, вузлів з бобами, кількості бокових гілок, маси цілої рослини, маси 1000 насінин та іншими показниками.

Завдяки індукованому мутагенезу можна збільшувати генетичну мінливість та використовувати мутагенні форми як вихідний матеріал при створенні нових сортів сої [209]. Для збільшення спектру поліморфізму ознак сої, отримання більшої варіації форм, використовували різні хімічні мутагени. Для отримання мутантних ліній в Інституті кормів та сільського господарства Поділля НААН, насіння сортів ‘Феміда’, ‘Оксана’, ‘Подільська 416’, ‘Золотиста’, що належать до різних груп стиглості, піддавали експозиції у водному розчині хімічних мутагенів в концентраціях 0,05 г/л, 0,5 г/л, 5 г/л та 10 г/л протягом 2, 4, 8, 16 годин [214]. В якості мутагенів використовували: Д-6, ДМССО-11, ДМССО-12, ДМСНПІР-11, ДУДМС12 та Д12ДМС-11Б, які є похідними тетрагідротіофен-*N*-діоксиду 3,4-діаміну та тетрагідротіофен-*N*-діоксиду 3,4-піридину.

Сорти, на основі яких створювали нові мутантні лінії, були обрані з

огляду на тривалість вегетаційного періоду та врожайність. Сорти ‘Золотиста’ і ‘Оксана’ виведені шляхом індивідуального відбору із гібридної комбінації сортів ‘Вілкін’ х ‘Білосніжка’, відрізнялися тривалістю вегетаційного періоду 105 і 120 днів, відповідно. Пластичний сорт ‘Подільська 416’ отримано індивідуальним відбором із популяції сорту ‘Подільська 1’, було обрано завдяки стабільним показникам врожайності (до 4,0 т/га) в різних географічних локаціях. Обраний в якості похідної форми сорт ‘Феміда’, нащадок від схрещування батьківських форм ‘Рада’ х ‘Шведська 243334’, теж характеризується високою врожайністю (2,8-3,5 т/га) та адаптивністю до несприятливих природних чинників.

Відбір селекційного матеріалу, ліній отриманих в результаті хімічного мутагенезу, здійснювався за показниками довжини міжвузлів - менше 5 см. Скорочення довжини міжвузлів, за думкою автору матеріалу к.с-г.н. Іванюка С.В., повинно призвести до зменшення вегетаційної маси рослин та збільшення маси насіння та бобів. Вибірка рослин для молекулярно-генетичного дослідження склала 3 лінії ‘Оксана М2’, ‘Оксана М12’, ‘Оксана М13’ – похідних від сорту ‘Оксана’; 2 лінії ‘Феміда М29’, ‘Феміда М32’ – від сорту ‘Феміда’, 2 лінії ‘Золотиста М16’, ‘Золотиста М20’ – від сорту ‘Золотиста’, 3 лінії ‘Подільська 416 М33’, ‘Подільська 416 М38’, ‘Подільська 416 М40’ – від сорту ‘Подільська 416’. Отримані лінії, батьківські та референсні сорти вирощували на експериментальних ділянках ІКСГП в польовому досліді протягом 7-8 вегетаційних періодів. Подальший селекційний процес потребував генетичної ідентифікації генотипів похідних сортів та ліній сої з метою встановлення рівня їхньої типовості та генетичної чистоти. Таким чином, разом з проведенням фенотипового аналізу нами запропоновано використання ДНК-маркерів, тісно зчеплених з генами фотоперіодичної чутливості та іншими кількісними ознаками сої. Такий вид генотипування входить до методів маркер опосередкованої селекції. МС-маркери, тісно зчеплені з цільовими генами [111], є одним із інструментів, що

допомогають ідентифікувати генотипи та передбачати фенотипи досліджуваних ліній [279].

2.2. Молекулярно-генетичні методи дослідження

Метод ПЛР ґрунтується на виявленні специфічних послідовностей ДНК, збільшенню їх концентрації, що значно полегшує детекцію цих специфічних фрагментів ДНК окремих ділянок геному [240]. Оптимальним методом для характеристики та ідентифікації генотипів є МС-аналіз, який дозволяє виявити поліморфізм (алелізм) за специфічними ділянками ДНК (певними локусами) [164, 269]. Робота виконувалась на кафедрі генетики та молекулярної біології ОНУ імені І.І. Мечникова, а також під час стажування на базі Інституту генетики і цитології НАНБ м. Мінськ (Білорусь).

Під час виконання застосовувалися методи виділення ДНК з різних органів рослини (насіння, паростки), з лізуючим буфером зі ЦТАВ [40, 194], та за допомогою NeoPrep100DNA_plant, концентрацію отриманої ДНК вимірювали за допомогою NanoDrop (Thermo Scientific, США). ПЛР аналіз проводили за допомогою мікросателітних і алель-специфічних маркерів на ампліфікаторі FlexCycler (AnalytikJena, Німеччина). Електрофорез проводили в агарозному (1%, 1,5%, 2%), як рекомендовано Kurasch et al. [79], в поліакриламідному (7%) гелі на приладах VE-20 (Helicon, Росія) та на генетичному аналізаторі ABI PRISM Genetic Analyzer 3500 (США) із застосуванням полімеру POP-6® (384). Візуалізацію продуктів ПЛР проводили за допомогою додавання інтеркалюючого у ДНК барвника – бромистого етидію (BrEt $C_{(кінцева)}=0,01$ мкг/мл) до агарозних гелів, та із фарбуванням поліакриламідних гелів в розчині $AgNO_3$. Після фарбування отримані гелі фотографували або сканували. Аналіз зображень гелів проводили із застосуванням програми GelAnalyzer 2010a та GeneMapper® Software Version 4.1. ПЛР виконували з триразовим повторенням для перевірки достовірності відтворюваних результатів за ДНК-маркерами. Після

інтерпретації зображень електрофореграм ПААГ за МС-маркерами, отримані результати за кожним локусом (монолокусні), перекладалися на бінарний код та оформлялися у вигляді матриць алельних варіантів. Наявні фрагменти ампліфікації позначалися (1), відсутні (0). Кластерний аналіз сортів сої проводили із залученням програми MEGA x 10.2.4 [77, 261], використовуючи метод UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) [149].

Чистоту (типовість) та внутрішньосортову гетерогеність рослинного матеріалу ми перевіряли за допомогою ПЛР з МС-маркерами. Для цього за для кожного зразку (сорту чи лінії) ми екстрагували геномну ДНК не менше ніж з 10 насінин. Так, гомогенність кожного сорту чи лінії сої визначали за 10 зразками в ПРЛ-типуванні. Загалом було проаналізовано близько 510 генотипів рослин сої.

Для ідентифікації генотипів сортів та ліній сої в роботі проводили дослідження поліморфізму білків і ферментів. Аналіз білкового поліморфізму надає уявлення про фенотипове вираження взаємодії окремих генетичних детермінант та відображає функціонування елементів геному в цілому [276]. Досліджували дві вибірки сортів і ліній сої. Для першої вибірки, що складалася з 36 зразків сої проводили загальний аналіз та тестували на експресивність ферментів пероксидази і супероксиддисмутази.

За результатами алозимного аналізу індивідуальних рослин другої вибірки, що складалася з сортів 'Феміда' і 'Korada', та мутантних ліній сої, отриманих від похідного сорту 'Феміда', опрацьованими в програмі «АнаіС» (аналізатор зображень спектрів) було проведено порівняльний аналіз. В якості білкових маркерів використовували ензими обміну активних форм кисню: НАДФ•Н-оксидазу, пероксидазу і супероксиддисмутазу. На підставі алозимного аналізу з'ясовували кореляційні відносини між експресивністю досліджуваних ензимів з генами *E* та деякими агрономічно-важливими ознаками.

Математичну обробку отриманих результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики [263] з використанням програм Microsoft Excel та Statistica 12.

2.2.1. Метод виділення ДНК з лізуючим буфером зі ЦТАБ

Виділення ДНК з етиольованих паростків проводили згідно методик запропонованих [40, 113, 194]. В простерилізованих чашках Петрі пророщували по 10 насінин для кожного сорту чи лінії. Після експозиції до 30 хв. у водному розчині Фурациліну 0,02% (1:50000) (розчиняли в дистильованій H₂O), насінини сої викладали зародком догори [254].

П'яти-семиденні паростки заливали лізуючим буфером зі ЦТАБ: 1,4 М NaCl, 20 мМ Na₃ЕДТА, 100 мМ трис-НСІ рН 8,0 при 25 °С, 2% ЦТАБ. Потім паросток гомогенізували в мікропробірці з лізуючим буфером. Лізат інкубували 40 хвилин при температурі 65 °С в твердотілому термостаті «Термо 48» («Біокон», Росія). Після інкубації до лізату додавали з рівним об'ємом суміші хлороформу: ізоаміловий спирт (24:1 за об'ємом), перемішували на вортексі МЦ-2400-В («Neonege», Україна) до утворення білої емульсії. Отриману суміш протягом 5 хвилин центрифугували при 14000 об./хв на центрифuzі MiniSpin (Eppendorf, Німеччина). Надосадну рідину – водну фазу переносили в чисті мікропробірки. До водної фази додавали 500 мкл ізопропілового спирту. Акуратно перемішували, осад, що з'явився осаджували центрифугуванням при 14000 об./хв протягом 5 хвилин. Осад тричі промивали 70 % етанолом, потім підсушували при кімнатній температурі і розчиняли у 400 мкл дистильованої H₂O.

2.2.2. Метод виділення ДНК за допомогою NeoPrep100DNA_plant

Через низьку енергію проростання насіння та незначні мікотичні та бактеріальні ураження, нам було важко домогтися достатньої кількості

етиольованих проростків деяких сортів та ліній сої. Таким чином, вирішили виділяти нативну ДНК з насіння всіх зразків без пророщування.

Виділення ДНК з сухого насіння сої (по 5 насінин на сорт чи лінію) проводили за допомогою набору NeoPrep100DNA_plant. 50 мг сухого подрібненого зразка засипали в пробірку об'ємом 1,5 мл та заливали 400 мкл *Lysing soln.*, і перемішували вміст пробірки перевертанням (5-10 разів). Термостатували пробірку з сумішшю 30 хв. при температурі 65°C в термостаті «Термо 48» («Біокон», Росія). Потім центрифугували пробірку з сумішшю 30 сек. при 5000 об/хв.

Супернатант об'ємом від 200 до 300 мкл ретельно відбирали не зачіпаючи осаду і переносили в чисту пробірку 1,5 мл, з додаванням 20 мкл суспензії сорбенту *NeoSorb (W)* та перемішували на вортексі МЦ-2400-В («Neonege», Україна) чи вручну на протязі 10 хв. З подальшим центрифугуванням 30 сек. при 5000 об/хв. на центрифугу MiniSpin (Eppendorf, Німеччина). Обережно, не зачіпаючи осаду, видаляли супернатант за допомогою вакуумного відсмоктувача, з додаванням в пробірку 1 мл буферу *Buffer soln.* та 200 мкл *Lysing soln.*, перемішували вміст пробірки на вортексі МЦ-2400-В, з подальшим центрифугуванням (10 сек. при 5000 об/хв.). Супернатант видаляли, не зачіпаючи осаду, за допомогою вакуумного відсмоктувача. Тричі повторювали промивання з буфером *Buffer soln.*, з перемішуванням та центрифугуванням. Осад підсушували в термостаті «Термо 48» при температурі 65 °С протягом 3-4 хв. Додавали в пробірку 100 мкл *ExtraDNA soln.* і ретельно перемішували вміст пробірки на вортексі після чого термостатували у тому ж термостаті 7 хв. при 65 °С. Під час інкубації 2-3 рази перемішували на вортексі, по закінченню центрифугували 1 хвилину при 5000об/хв. (MiniSpin (Eppendorf, Німеччина). В результаті 80-90 мкл чистого супернатанту з ДНК переносили в пробірку для зберігання при температурі +4°C або для використання у ПЛР.

2.2.3. Визначення концентрації ДНК

Для кількісного визначення концентрації ДНК використовували спектрофотометр NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США). Для проведення спектрофотометричного аналізу 1 мкл виділеної ДНК зразку наносили на очищений нерухомий модуль приладу. Зверху на краплю опускали рухливий модуль приладу, в результаті чого з зразка формувався стовпчик рідини висотою 0,05-1,00 мм між рухомим і нерухомим модулями. В якості контролю використовували 2-3 мкл чистої деіонізованої води. Прилад вимірює поглинання світла в стовпчику зразка та за допомогою вбудованого програмного забезпечення автоматично обчислює коефіцієнти концентрації та чистоти ДНК. Концентрація ДНК зразків коливалася в інтервалі значень 30,5 нг/мкл до 245,4 нг/мкл (в деяких зразках для подальшого проведення ПЛР-аналізу концентрацію знижували додаванням H_2O). Для точної оцінки якості зразків проаналізовано співвідношення 260нм/280нм (забруднення полісахаридами) або 260нм/230нм (забруднення білками) у співставленні із загальною спектральною якістю [246]. Співвідношення, що дорівнює 1,8 відповідає якісно ізольованій ДНК. Співвідношення 260нм/280нм для виділеної нами ДНК відповідало $\sim 1,8-2,2$, що є достатнім для використання в ПЛР. Якщо коефіцієнт в значно нижчий, це може вказувати на наявність білка, фенолу або інших забруднювачів, які сильно поглинають спектр на рівні або близько 280 нм.

2.2.4. ПЛР аналіз за допомогою МС-маркерів

Застосування молекулярно-генетичних методів, які базуються на полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) є одним зі способів виявити та оцінити генетичний поліморфізм ДНК на рівні окремих ділянок геному. ПЛР проводили з праймерами *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365* та *Sat_038*, які фланкують мікросателітні локуси, за даними [129, 111] асоційовані з генами фотоперіодичної чутливості сої (*E*) та низкою агрономічних ознак

[226] (табл. 3.3). Праймери синтезовані Metabion International AG (Німеччина) використовували у ПЛР згідно з рекомендаціями [111].

При проведенні ПЛР на ампліфікаторі FlexCycler (AnalytikJena, Німеччина) реакційна суміш об'ємом 20 мкл за рекомендаціями [111] містила: 2,0 мкл 10 х ПЛР - буферу (50 мМ КСl, 20 мМ трис-НСl рН 8,4 (25°C), 0,01 % Tween 20), 4 нмоль дНТФ (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ) (ThermoFisher Scientific, США), 1,5 мМ MgCl₂, 250 нМ лівого та правого праймеру, 100 нг ДНК і 1 одиницю DreamTag полімерази (ThermoFisher Scientific, США). У кожену пробірку поверх реакційної суміші додавали 20 мкл мінеральної олії для ПЛР. Ампліфікатор був запрограмований на 1 цикл денатурації 94°C протягом 3 хв., з подальшими 35 циклами денатурації при 95°C протягом 1хв., оптимальною температурою відпалу для різних праймерів від 54°C до 65° С протягом 30 сек., і елонгацією 72° С протягом 1 хв. Заключна елонгація при 72° С протягом 5 хв. Зразки відразу переносили до холодильнику та зберігали при температурі 6-8° С.

В Інституті генетики і цитології НАНБ (м. Мінськ) ПЛР-дослідження проводили на приладах C1000 Touch Thermal Cycler (BioRad, США). За рекомендаціями [129] використовували ДНК-полімеразу ArtMix MM («ArtBioTech», Білорусь). Суміш для ампліфікації об'ємом 12,5 мкл складалася з 20-50 нг геномної ДНК, прямого (50 мкМ) і зворотнього праймеру (50 мкМ) по 0,2 мкл кожного, всього 5 мкМ, зонду ROX (50 мкМ) - 0,15 мкл. Премікс для всіх зразків готували в пробірці Епендорф (1,5 мл). У пробірку для ПЛР додавали 1 мкл проби ДНК, суміш для ампліфікації 14 мкл (премікс). Н₂О додавали до об'єму 25 мкл. Ампліфікація: 1 цикл денатурації - 95 ° С протягом 5 хв, 35 циклів, що включали денатурацію - 95 ° С протягом 45 сек з подальшою оптимальною температурою відпалу, різною для кожної пари праймерів (від 54 ° С до 65°С – див., табл. 2.3.) - 60 сек, елонгація – 72 ° С протягом 1хв. та остаточний цикл елонгації при 72 ° С протягом 10 хв. Зразки зберігали при температурі + 12°С до моменту видалення з ампліфікатору.

Таблиця 2.3

Послідовності праймерів до МС-маркерів, які асоційовані з локусами *E* генів

МС-маркер	Мотив	Зчеплення з <i>E</i> генами*	Хромосома	Група зчеплення/ позиція в сМ*	Послідовність праймерів	Тем-ра гібрид., °С	Флуоресцентні мітки F-праймер 5'	Очікуваний розмір фрагментів ампліф., п.н.
<i>Satt365</i>	(ATT) ₂₆	<i>E1</i>	6	C2/111,68	F: TGCTCCCCTCTGCSTTTTTTCTATTTT R: AAGGATGAGTTTGATAAACATGAATGAAGAA	65	TAMRA (чорний)	215, 270, 288, 301, 305, 307
<i>Sat_038</i>	(AT) ₂₀	<i>E2</i>	10	O/112,16	F: GCGTCGCAACTTTTTTCATTTTTCTTACT R: GCGAGTCTTTTAACAACACTCACTTTT	57	R6G (зелений)	243, 245, 247, 249
<i>Satt229</i>	(ATT) ₂₂	<i>E3</i>	19	L/93,89	F: TGGCAGCACACCTGCTAAGGGAATAAA R: GCGAGGTGGTCTAAAATTATTACSTAT	57	R6G (зелений)	183, 212, 215, 230, 234
<i>Satt354</i>	(ATT) ₁₄	<i>E4</i>	20	I/46,22	F: GCGAAAATGGACACCAAAAGTAGTTA R: GCGATGCACATCAATTAGAAATATACAA	60	FAM (синій)	178, 216, 249, 230, 232
<i>Satt100</i>	(ATT) ₃₃	<i>E7</i>	6	C2/113,96	F: ACCTCATTTTGGCATAAA R: TTGGAAAACAAGTAATAATAACA	54	FAM (синій)	110, 131, 141, 145, 167
<i>Satt319</i>	(ATT) ₁₆	<i>E7</i>	6	C2/113,42	F: CAACTCAGTAGGGTCAATAACAA R: TGAATAGGGAAAATAAGGGAACA	57	ROX (червоний)	175, 178, 180, 182

* - *E*-ген, з яким зчеплений МС-локус

2.2.5. Алель-специфічна ПЛР з ДНК-маркерами

Для визначення точкових мутацій (нонсенс- і місенс-) в нуклеотидній послідовності генів *E* використовували алель-специфічні ДНК-маркери рекомендовані [53, 91, 179, 187, 190]. Послідовності праймерів та очікувані фрагменти ампліфікації наведено в таблиці 2.4. Праймери виготовлені Metabion International AG (Німеччина). Умови проведення ПЛР відтворювали аналогічно запропонованим [79, 190].

Реакційна суміш для проведення ПЛР аналізу об'ємом 10 мкл складалася з 1,0 мкл 10 x ПЛР - буферу (50 мМ КСl, 20 мМ трис-НСl рН 8,4 (25°C), 0,01 % Tween 20), 2 нмоль дНТФ (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ) (ThermoFisher Scientific, США), 0,75 мМ MgCl₂, 125 нМ лівого та правого праймеру, 50 нг ДНК і 0,07 мкл DreamTag полімерази (ThermoFisher Scientific, США). У кожен пробірку поверх реакційної суміші додавали мінеральну олію (до 20 мкл), щоб покривала реакційну суміш. Алель-специфічна ПЛР проходила на ампліфікаторі FlexCycler (AnalytikJena, Німеччина).

Таблиця 2.4

Алель-специфічні праймери до рецесивних і домінантних алелів локусів стиглості *E3*, *E4* сої

Локус	Алель	Праймер (5'-3')	Очікуваний розмір фрагментів ампліфікації, п.н.
<i>E3</i>	<i>e3-tr</i>	F: TGGAGGGTATTGGATGATGC	
		R1: СТААГТССГССТСТГГТТТСАГ	<i>E3-Mi</i> : 1339
		R2: СGGТСААГАССААСАТГАГ	<i>E3-Ha</i> : 558
		R3: ГТССТАТАСААТТСТТТАСГАСГ	<i>e3-tr</i> : 275
<i>E4</i>	<i>e4-SORE-1</i>	F: АGАСГТАГТГСТАГГГСАТ	
		R1: GСАТСТСГАТСАССАГАТСА R2: GCTСАТСССТТССААТТСАГ	<i>E4</i> : 1229 <i>e4-SORE-1</i> : 837

Умови проведення ПЛР для алелів *E3-mi*, *E3-Ha*, *e3-tr* [79] відтворювали з деякими змінами. Програма включала наступні цикли: денатурація – 94 °C протягом 4 хв., 4 цикли: 94 °C – 30 сек., Touchdown: 61°C-52°C – 30 сек., зі зниженням температури відпалу що циклу на 3°C (для гібридизації праймерів), елонгація 72°C – 1 хв. 30 сек., після чого відразу 32 цикли: 94 °C – 30 сек., відпал 55°C протягом 30 сек., елонгація 72°C – 1 хв., заключна елонгація 72°C - 10 хв. Програму проведення ПЛР для генотипування алелів за локусами *E4 / e4-SORE-1*, витримано за рекомендаціями [79], денатурація – 94 °C протягом 4 хв., 35 циклів: 94 °C – 30 сек., відпал 56°C протягом 45 сек., елонгація 72°C – 1 хв. 30 сек., заключна елонгація 72°C - 10 хв.

2.2.6. Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі

Продукти, отримані під час реакції ампліфікації ДНК з алель-специфічними праймерами, фракціонували методом горизонтального електрофорезу в 1%, 1,5%, 2% агарозних гелях. Попередньо підготовлений розчин десятикратний трис-боратний буфер (40 мМ Трис-НСІ рН 8.0, 20мМ ацетат натрію, 1мМ ЕДТА), використовують для заливання гелю необхідної концентрації (1-2%).

Після застигання гелі опускали в камери для горизонтального електрофорезу SE-1 («Helicon», Росія), розмірами 260 x 152 x 90 мм, або камеру розмірами 240 x 200 x 70 мм АЕ 108 «NeoGene» (Україна). В лунки гелю наносили по 5 мкл реакційної суміші з додаванням 3 мкл барвника з бром-феноловим синім (4% сахароза з розчиненим 0,02 % бром-фенолу).

В якості маркера молекулярної ваги на гель наносили 1,5-2,0 мкл Ladder mix (Thermo Fisher Scientific, США), та/або 1,5-2,0 мкл pUC19 DNA/Mspl HpaII (Thermo Fisher Scientific, США), та/або 1,5-2,0 мкл CSL-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU (Cleaver Scientific LTD, Великобританія).

Електрофорез проводили протягом 30хв- 45 хв, при напрузі 180-200V в 1 x ТБЕ буфері [246].

2.2.7. Електрофорез продуктів ПЛР в поліакриламідному гелі

В поліакриламідних гелях проводили фракціонування продуктів ампліфікації за МС-маркерами всіх зразків досліджуваної вибірки на етапі дослідження на кафедрі генетики та молекулярної біології ОНУ ім. І.І. Мечникова.

Для виготовлення 7% ПААГ на два електрофорезних скла розміром 20 x 20 см та товщиною геля 1 мм використовували 16,44 мл 30% розчину акриламідну (0,29 розчин акриламідну з додаванням 0,01 розчину біс акриламідну). 10xТБЕ (40 мМ Трис-НСІ рН 8,0, 20мМ ацетат натрію, 1мМ ЕДТА) – 7,1 мл, змішували з 46,44 мл дистильованної Н₂О. Перша заливка смужки гелю надає міцності конструкції та утримує гель між склом. Смужка містить: 8 мл 30% розчину мономерів; 23,22 мкл дистильованої води; 3,55 мкл 10 x ТБЕ; 20 мкл ТЕМЕД (NNN'N'-тетраметилетилендіамін); 200 мкл свіжовиготовленого 10% ПСА. Смужка застигає протягом 10-15 хв. при кімнатній температурі.

Скло, спейсери та гребінки перед заливанням гелю промивали, протирали етанолом для знежирення, збирали в гелевій рамці. Після збору конструкції, виставляли експозицію на-10 хвилинний префорез на приладі для вертикального електрофорезу VE 20 (Helikon, Росія). Продукти ампліфікації (10-12 мкл) наносили на гель, попередньо перемішуючи з буфером для нанесення - 3 мкл бром-фенолового синього (0,04 сахарози з додаванням 0,02 бромистого фенолу змішували у 30 мл Н₂О). Маркери молекулярної ваги наносили на гель 2-3 мкл, Ladder mix (Thermo Fisher Scientific, США), та 1,5-2,0 pUC19 DNA/Mspl HpaII (Thermo Fisher Scientific, США). Електрофорез проводили при 300-400 V в 1 x ТБЕ буфері протягом 1,5-2 годин, в залежності від молекулярної маси фрагментів, не допускаючи відстані меншої 1 см від нижнього краю гелю. Фарбування гелю відбувалося відразу після проведення електрофорезу.

2.2.8. Аналіз продуктів ПЛР на генетичному аналізаторі ABI PRISM Genetic Analyzer 3500

Аналіз продуктів ампліфікації ДНК всієї дослідженої вибірки сої з праймерами до мікросателітних послідовностей також здійснювали в Інституті генетики та цитології (м. Мінськ, Білорусь) спільно з с.н.с. к.б.н. Аксьоною О.А.. Дослідження проводили на восьмикапілярному генетичному аналізаторі ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems). Для аналізу фрагментів застосовували 50-сантиметрові капіляри та полімер POP-6® (384), згідно з рекомендацій [7, 100].

Кожен зразок, що представляє собою суміш продуктів ПЛР, маркували специфічним флуоресцентним барвником (міткою) виробництва ALC «Primetech» (м. Мінськ, Білорусь). Флуоресцентні мітки були введені в олігонуклеотид під час автоматичного синтезу. Маркувалися лише F-праймери з пари за допомогою флуоресцентних барвників TAMRA (чорний), R6G (зелений), FAM (синій), ROX (червоний). Потім чотири суміші продуктів ПЛР з флуоресцентними мітками змішували з маркером молекулярної маси (стандартом довжини). Премікс складався з 0,25 мкл стандарту та 0,5 мкл кожного зразка (загалом за один пробіг аналізували до 4 ампліконів). Суміш розводили у формаміді до кінцевого об'єму 10 мкл. За стандарт молекулярної маси використовували маркер Orange DNA Size Standard виробництва MCLABs (США), який має 16 фрагментів ДНК розміром від 35; 51,11; 75,71; 100,73; 139,81; 149,0; 160,75; 200,81; 250,78; 300,79; 340,78; 350,78; 400,80; 450,78; 490,82 і 500,90 п.н.

Аналіз результатів електрофорезу здійснювали за допомогою програмного забезпечення GeneMapper ® Software Version 4.1.

2.2.9. Фарбування гелів та візуалізація продуктів ПЛР

Для візуалізації отриманих результатів забарвлення продуктів ПЛР в агарозних гелях відбувалося шляхом додавання до гелестворюючої суміші

бромистого етидію (EtBr; кінцева концентрація 0,01 мг/мкл). [246, 220]. Візуалізацію продуктів ПЛР агарозних гелів проводили на транслюмінаторі Biorad (США), або транслюмінаторі ТІ №1 (Росія) просвічуючи гель УФ-світлом. Фотодокументування гелів здійснювали на цифрову відеокамеру.

Фарбування продуктів ампліфікації в поліакриламідних гелях здійснювали розчином нітрату срібла AgNO_3 у відповідності з протоколом Technical Manual Silver sequence TM DNA Sequencing System (Promega) [165]. Протягом 5 хв ПААГ обробляли 10% етанолом, зливаючи останній після закінчення експозиції. Потім на 5-7 хв гель, занурювали в 1% розчин HNO_3 . Азотну кислоту зливали, гель промивали 2-3 рази дистильованою H_2O . В подальшому проводили експозицію в азотнокислому сріблі (0,012М AgNO_3) протягом 20 хв у затемненому місці, після чого гель промивали тричі дистильованою водою. Для проявлення смуг продуктів ампліфікації гелі на 10-15 хв заливали свіжим відновлюючим розчином 0,28М NaCO_3 з додаванням 0,019 формаміду, з постійним коливанням і перемішуванням. Після проявлення смуг фрагментів ампліфікації, гель промивали 1-2 рази дистильованою водою. По закінченню, гель обробляли 10% розчином оцтової кислоти протягом 2-5 хвилин та промивали дистильованою водою протягом 2 хв. Отримані гелі сканували на мульти-функціональному пристрої brother dcp-1512R та аналіз результатів електрофорезу здійснювали за допомогою програмного забезпечення GelAnalyzer 2010a.

2.2.10. Програмний аналіз фотодокументації з фрагментами ПЛР

Після електрофоретичного розділення продуктів ампліфікації та їх візуалізації отримані фотографії та скановані зображення електрофореграми аналізували за допомогою програми GelAnalyzer 2010a (рис. 2.1). Стадійність опрацювання та методика роботи визначена за посиланням [259]. Після обрання типу зображення (це «світло на темному» або «темне на світлому»), повертали зображення так, щоб смуги були вертикальними, та починалися у верхній

частині зображення. Проводили калібрування фрагментів за абсолютними та відносними піками зображення. Отриманні данні за розмірами фрагментів відного маркера молекулярної ваги експортували до програми Microsoft Excel.

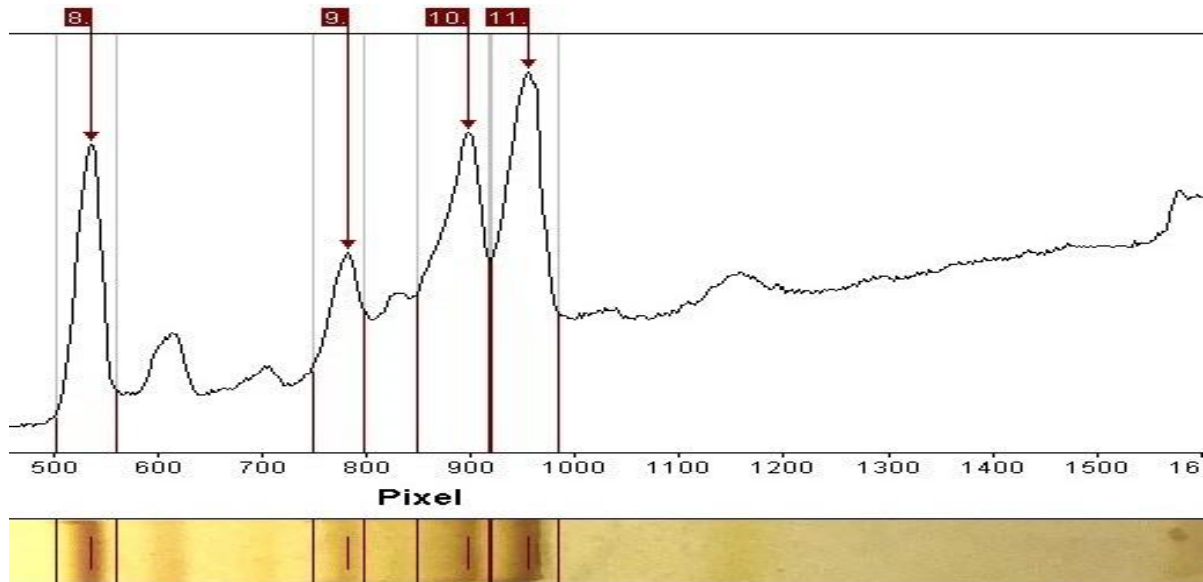


Рис. 2.1. Візуалізація та інтерпретація розмірів фрагментів ампліфікації одновимірних гелів із застосуванням програмного забезпечення GelAnalyzer 2010a. Стрілками відмічені піки фрагментів та їх молекулярна вага відносно маркера молекулярної ваги

2.3. Проведення алозимного аналізу НАДФ-Н-оксидази (NOX), пероксидази (POX) и супероксиддисмутази (SOD)

Алозимний аналіз (дослідження поліморфізму ферментів) сортів та мутантних ліній сої проводили спільно з к.б.н Топтіковим В.А., на кафедрі генетики та молекулярної біології ОНУ ім. І.І. Мечникова. Гомогенати отримували з тижневих етильованих проростків сортів сої, вирощених в чашках Петрі при температурі + 26-27°C. Для отримання екстрактів тканини гомогенізували в буфері наступного складу: 0,05 М Тріс-НСІ (рН 6.8), 0,01% дітіотреїтолу, 0,01% аскорбінова кислота, 0,01% натрієва сіль ЕДТА, 1% тритон Х-100, 15% сахароза. Співвідношення тканина: буфер (маса в мг: об'єм в мкл) становило 1:1. Проби розтирали безпосередньо в центрифужних пробірках, 3

рази піддавали заморожуванню-відтаванню, після чого центрифугували 20 хв при 10000 об/хв. при температурі +4° С. Електрофоретичний поділ білків проводили за системою Девіса [34] в 10% ПААГ на апараті VE-4М («Хелікон», Росія) в пластинах 130 × 110 × 1 мм. Ензими в гелях детектували відповідно до рекомендацій [99]. Визначення активності ферменту супероксиддисмутази здійснювалося шляхом спостереження за аутоокисненням адреналіну та супроводжувалося вимірюванням оптичного поглинання продукту окислення при 347 нм. Спочатку вимірювали зростання оптичної щільності в контрольній пробі, а потім в досліджуваній. До досліджуваної пробі додавали 2 мл бікарбонатного буферу та 50 мкл дослідного ферментного препарату і потім 100 мкл 0,1% розчину адреналіну. Ретельно і швидко перемішували, відразу і через 3 хв. реєстрували на спектрофотометрі величину оптичної щільності при вказаній довжині хвилі. Знаходили різницю між контрольним та дослідним зразками, після чого обчислювали активність супероксиддисмутази за формулою: $X = (A * P * V) / T$, де X – ферментна активність в 1 мл пробі в одиницях оптичної щільності на 1 г тканини / хв; A – різниця між контролем і дослідною пробі; P – коефіцієнт врахування обсягу ферментного препарату; V – розведення ферментного препарату в 11 разів; T – час реакції (3 хв.) [276]. Пероксидазу (POX, КФ. 1.11.1.7) виявляли з використанням бензидіну як субстрата ензиму, НАДФ•Н-оксидазу (NOX, КФ 1.6.2.4) і супероксиддисмутази (SOD, КФ 1.15.1.1) проявляли за відновленням барвника нітротетразолієвого синього.

2.4. Методи статистичної обробки даних

Аналіз генетичних показників досліджуваних груп сої (лінія або сорт) проводили відповідно до загальноприйнятих підходів і формул [10, 35, 77, 86, 116, 148, 183, 184, 206, 208]. Отримані результати алозимного аналізу мутантних ліній, похідних від сорту ‘Феміда’, та для сортів ‘Феміда’, ‘Korada’ для проведення порівняльно-популяційного генетичного аналізу розраховували

частоту алелів і їх помилку, ефективне число алелів – n_e , спостережувану гетерозиготність за окремими локусами – H_O , середню спостережувану гетерозиготність за всіма локусами – H_O^{av} і їх стандартну помилку, очікувану гетерозиготність за кожним окремим локусом – H_E , середню очікувану гетерозиготність за досліджуваними локусами – H_E^{av} і її стандартну помилку, полокусний і середній дефіцит гетерозиготності за досліджуваними локусами (D_H і D_H^{av}), їх помилку і достовірність. Коефіцієнт інбридингу для кожної досліджуваної групи F розраховували через зіставлення спостережуваної і очікуваної гетерозиготності:

$$F' = 1 - (H_O / H_E),$$

де H_O і H_E – спостережувана і очікувана гетерозиготність в окремій групі. Кількісну оцінку ступеня близькоспорідненого схрещування здійснювали за допомогою коефіцієнтів інбридингу Райта: F_{IS} (коефіцієнт інбридингу особини конкретної групи, до якої вона відноситься, показник дефіциту гетерозиготності в окремій групі або гетерогенність окремої групи), F_{IT} (коефіцієнт інбридингу особини щодо всієї сукупності груп або гетерогенність в цілому всіх досліджуваних зразків сої) і F_{ST} (коефіцієнт інбридингу досліджуваної групи щодо всіх досліджуваних зразків, показник диференціації між досліджуваними групами). Оцінку генного різноманіття проводили також за допомогою G_{ST} -статистики згідно з протоколом [35]. Ступінь генетичної спорідненості I і віддаленості D розраховували за H_{eem} (аналіз за частотами алелів) і за індексом генетичної подібності Джеффра-Матусіти (аналіз за частотами генотипів) (GSI). Всі розрахунки показників здійснювали за допомогою матриць, створених в таблицях програми Microsoft Excel. Рівень зв'язку між різними параметрами рослин оцінювали за коефіцієнтом кореляції Пірсона в програмі Microsoft Excel. Для вибірки сортів і ліній, що досліджувалася за азозимним аналізом, обчислення коефіцієнтів кореляції якісні показники (алелі, генотипи) відцифровували, кількісні дані (тривалість вегетаційного періоду, висота

рослини, висота формування нижніх бобів) ранжували, надаючи їм значення 0, 1 і т.д. в залежності від кількості показників і рангів.

Одно- та двохфакторний дисперсійний аналіз, тест Левене для визначення рівномірності дисперсії вибірок, апостеріорний аналіз (post-hoc analysis), для рівномірних та нерівномірних вибірок за критерієм Тьюкі HSD і UHSD тесту та розрахунок кореляцій між агрономічними ознаками виконували в програмі Statistica 12.

Індекс поліморфності маркера (polymorphism information content) розраховували за формулою -

$$PIC_j = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

де i – i -й аллель j -го маркера, n – число алелей j -го маркера, P_i^2 – частота i -го алеля, i виражали в частках одиниці Nei et al. [117]. $PIC \geq 0,25$ – вважається високим індексом поліморфності маркера.

Частоту алелю розраховували як відношення кількості алелів досліджуваного типу у всіх зразків вибірки до загальної кількості проаналізованих зразків (в частках одиниці). Мажорним алелем за маркером i вважається алель, найбільш поширений за частотою зустрічаємості у вибірці. Частоту мажорного алелю за маркером i визначали як відношення кількості ампліконів мажорного алелю до загальної кількості різних розмірів ампліконів.

Для виключення помилок і на підтвердження відтворюваності ДНК-маркерів, ПЛР за кожним локусом проводилася триразово. Для побудови дендрограм використовували програму MEGA x 10.2.4. [77]. Кластерний аналіз за 12 сортами сої проводили за допомогою методу незваженого попарного середнього (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, UPGMA) [133].

2.5. Польові дослідження

Для отримання агрономічних характеристик щодо часу до цвітіння, часу дозрівання, тривалості вегетаційного періоду, маси тисячі насінин, врожайності

та інш., сорти та лінії сої вирощували протягом 2015–2017 рр. на дослідних полях селекційно-технологічної сівозміни, розміщених в Лісостепу правобережної України, Вінницького району, Вінницької області (49° півн.ш.). Зона вирощування характеризується помірно-теплим та вологим кліматом. Гідротермічний коефіцієнт (ГТК) – 1,7–1,8 [268]. Стандартні щоденні форми звітності Вінницької метеорологічної станції за вегетаційний період (квітень – жовтень) використовувалися нами для характеристики гідрометеорологічних умов за всі роки дослідження. Опадів упродовж року випадає 581–634 мм. Із цієї суми близько 70% припадає на теплий період року і 30% на холодний [221, 227]. Основні кліматичні показники центральної зони Вінницької області показані в таблиці 3.6.

Таблиця 2.6

Кліматичні показники центральної зони Вінницької області*

№	Кліматичні показники	Центральна зона
1.	Довжина без морозного періоду, днів	141–147
2.	Сума позитивних температур (> 0°C)	2671–2780
3.	Тривалість вегетаційного періоду, днів	199–205
4.	Сума опадів за рік, мм	581–634
5.	Сума опадів за період вегетації, мм	369–425
6.	Середньорічна температура повітря, °C	6,7–7,0
7.	Середній з абсолютних мінімумів температур повітря, °C	-25
8.	Абсолютний мінімум температури повітря, °C	-32– -34
9.	Абсолютний максимум температури повітря, °C	+38
10.	Сума активних температур (> 10°C)	2320–2440
11.	Середня дата першого приморозку (осіння)	17 вересня
12.	Середня дата останнього весняного приморозку (весняна)	23–25 квітня
18.	Переважаючий напрямок вітру	північно-західний

*- за інформацією з [221, 245].

За 3 років вирощування сої на піддослідних ділянках гідротермічні умови у вегетаційний період мали коливання. З травня по вересень 2015, 2016, 2017 років сумарна кількість опадів складала: 178,2, 164,3 184,4 мм, відповідно. Щодо середньо-добової температури, то за той самий період за 2015, 2016, 2017 роки складала: 17,5° С, 18,0° С, 17,9° С відповідно. В період проростання насіння сої, коли загальна сума позитивних температур має вирішальне значення для подальшого розвитку рослини, оптимальним виявився травень 2016 року, з середньо-добовим показником 17,6° С, що на 3,4° і 3,6° С і вище, порівняно з травнем 2015, 2017 р.р. Тобто, 2016 рік характеризувався значними опадами (на 15,4 мм більше за середньо багаторічні спостереження) та на 2,1° С вище за середньо багаторічну температуру у вказаній локації, що мало певний вплив на досліджувані агрономічні ознаки [227].

Ґрунтовий покрив дослідних ділянок представлений сірими лісовими важко-суглинковими ґрунтами. Вміст рухомого фосфору середній – 16,2 мг/100г ґрунту [255].

Глибина гумусово-елювіального горизонту не перевищує 25–30 см. У цілому фізико-хімічні властивості ґрунту дослідної ділянки є характерними для цього виду ґрунтів. Такий ґрунт є придатним для вирощування сої та одержання високих урожаїв [212].

Польові досліді проводилися спільно з к.с.-г.н. Іванюком С.В., та с.н.с Темченко І.В.. В проведенні фенологічних спостережень керувались “Методикою польового досліді” [225], “Методичними вказівками по селекції та насінництву сої” [251], “Методикою державного сортовипробування сільськогосподарських культур” [249], “Методикою проведення дослідів по кормовиробництву” [250], “Міжнародним класифікатором РЕВ роду *Glycine* Willd (L.)” [248].

Попередник в польових дослідіх – озима пшениця, повторність – двох-чотириразова. Сою висівали при настанні рівня термічного режиму в ґрунті на глибині 10 см – 12 °С, в 2015-2016 рр. - 29-30 квітня, в 2017р. – 7-11 травня.

Спосіб посіву широкорядний з міжряддям 45 см у всіх селекційних розсадниках. Норма висіву 600-650 тис./га схожих насінин. За контроль використовували національні стандарти відповідних груп стиглості, які розміщували рівномірно залежно від кількості номерів.

В ході вирощування рослин сої в польових умовах відмічали: дату сівби, появу сходів, початок та повне цвітіння, початок та повне дозрівання, а також тривалість періоду від появи сходів до дозрівання. Початок кожної фази відмічали тоді, коли в неї вступило 10 % рослин, а повну – 75 % від загальної кількості у варіанті дослідів, згідно [249].

Нетипові рослини вибраковували у фазах цвітіння та дозрівання. Збирання сої проводили в фазу повної стиглості при вологості зерна 14-15%. Облік урожаю зерна проводили методом суцільного збирання і зважування його зі всієї облікової ділянки. Облік насінневої продуктивності сої проводили по мірі дозрівання як з одиниці площі (1 м², 1 га), так і за допомогою застосування методу пробного снопа, який передбачав відбір 15 рослин і більше для структурного аналізу з подальшою оцінкою генотипів за елементами продуктивності.

РОЗДІЛ 3.

АЛЕЛЬНИЙ СТАН ЛОКУСІВ *E*, ЩО ДЕТЕРМІНУЮТЬ ЧУТЛИВІСТЬ СОЇ ДО ФОТОПЕРІОДУ, В УКРАЇНСЬКИХ СОРТАХ ТА ЛІНІЯХ СОЇ

3.1. Використання мікросателітних локусів, асоційованих з генами *E* для ідентифікації та паспортизації сортів сої

За допомогою аналізу шести МС-локусів досліджували широко поширені в нашій країні сорти сої ‘Подяка’, ‘Кобза’, ‘Мавка’, ‘Гєба’, ‘Полтава’, ‘Ромашка’, ‘Галина’, ‘Золотиста’, ‘Криниця’ з Реєстру сортів рослин, придатних до поширення в Україні [223] (наданих Національним центром генетичних ресурсів рослин Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр’єва) та контрольні сорти та лінії сої: ізолінія ‘Harosoy OT89-5’, сорти ‘Вілана’, ‘Maple Arrow’, ‘Cormoran AC’ та ‘Рось’. У дослідженому матеріалі виявили 28 алелів за застосованими МС-маркерами (табл. 3.1). В середньому детектували 4,7 алелів на кожний МС-локус. МС-локус *Satt365* виявився найбільш поліморфним локусом, за цим локусом визначено 6 алелів, найменш поліморфними виявилися локуси *Satt100*, *Satt319* та *Sat_038*, за якими детектовано по 4 алелі, відповідно (рис. 3.1).

Таблиця 3.1

Алельний стан МС-локусів в досліджених сортах сої

Сорти	Мікросателітні локуси, розмір фрагментів п.н.					
	<i>Satt100</i>	<i>Satt229</i>	<i>Satt319</i>	<i>Satt354</i>	<i>Satt365</i>	<i>Sat_038</i>
‘Подяка’	167	212	175	232	307	247
‘Кобза’	141	234	178	230	288	245
‘Мавка’	141	234	182	178	301	245
‘Гєба’	131	230	178	249	270	249
‘Полтава’	141	230	182	230	301	249
‘Ромашка’	167	234	175	230	305	245
‘Галина’	141	230	182	178	301	249
‘Золотиста’	141	234	180	178	301	247
‘Криниця’	167	234	180	230	301	245

Контрольні сорти / лінії	Мікросателітні локуси, розмір фрагментів п.н.					
	<i>Satt100</i>	<i>Satt229</i>	<i>Satt319</i>	<i>Satt354</i>	<i>Satt365</i>	<i>Sat_038</i>
‘Рось’	145	215	178	178	270	243
‘Вілана’	167	234	175	249	301	247
‘Наросоу ОТ89-5’	167	183	175	216	301	247
‘Cormoran AC’	131	183	178	178	270	247
‘Maple Arrow’	131	215	178	178	215	247

В результаті дослідження 8-10 зразків (ДНК виділяли з однієї насіннини) кожного сорту наведеної вибірки нами не детектовано гетерозиготних рослин та гетерогенних сортів сої за МС-локусами, які досліджували. В той же час, використані в роботі МС-локуси є достатньо поліморфними. Індекс поліморфності (PIC) коливався від 0,68 для локусів *Satt365*, *Sat_038* до 0,76 для локусу *Satt229* (табл. 3.2), що дозволяє рекомендувати їх для використання в диференціації, паспортизації та реєстрації сортів сої, при перевірці насінневого матеріалу різного походження та для захисту авторських прав.

Таблиця 3.2

Алелі детектовані в сортах сої української селекції

SSR-маркер	Лок ус	Кількість алелів	Розмір продуктів ампліфікації, п.н.	Частота зустрічності мажорного алелю	Індекс поліморфності маркера (PIC)
<i>Satt 365</i>	<i>E1</i>	6	270, 288, 301, 305, 307, 215	0,5 ₃₀₁ *	0,68
<i>Sat_038</i>	<i>E2</i>	4	245, 247, 249, 243	0,42 ₂₄₇	0,69
<i>Satt 229</i>	<i>E3</i>	5	212, 230, 234, 215, 183	0,35 ₂₃₄	0,76
<i>Satt 354</i>	<i>E4</i>	5	178, 230, 232, 249, 216	0,42 ₁₇₈	0,72
<i>Satt 100</i>	<i>E7</i>	4	131, 141, 145, 167	0,35 _{141, 167}	0,70
<i>Satt 319</i>	<i>E7</i>	4	178, 175, 180, 182	0,35 ₁₇₈	0,73

* - нижній індекс визначає розмір мажорного алелю в п.н.

Для кожного з досліджених в роботі сортів можна запропонувати індивідуальну генетичну формулу за шістьма мікросателітними локусами.

Вважаємо доцільним представляти сорт разом з генетичною формулою паспорту та групою стиглості, визначеної для географічної широти походження сорту (табл. 3.3). Слід відмітити, що для паспортизації сільськогосподарських культур, зокрема, пшениці, ячменю, кукурудзи, соняшника та ін. рекомендують використовувати від 8 до 15 МС-локусів [8].

Таблиця 3.3

Паспорти на досліджені сорти сої української селекції

Сорт	Група стиглості	Геогр. широта	Паспорт сорту
‘Подяка’	рс	50°	<i>Satt100</i> ₁₆₇ , <i>Satt229</i> ₂₁₂ , <i>Satt319</i> ₁₇₅ , <i>Satt354</i> ₂₃₂ , <i>Satt365</i> ₃₀₇ , <i>Sat_038</i> ₂₄₇
‘Кобза’	скс	50°	<i>Satt100</i> ₁₄₁ , <i>Satt229</i> ₂₃₄ , <i>Satt319</i> ₁₇₈ , <i>Satt354</i> ₂₃₀ , <i>Satt365</i> ₂₈₈ , <i>Sat_038</i> ₂₄₅
‘Криниця’	скс	50°	<i>Satt100</i> ₁₆₇ , <i>Satt229</i> ₂₃₄ , <i>Satt319</i> ₁₈₀ , <i>Satt354</i> ₂₃₀ , <i>Satt365</i> ₃₀₁ , <i>Sat_038</i> ₂₄₅
‘Гєба’	скс	49°	<i>Satt100</i> ₁₃₁ , <i>Satt229</i> ₂₃₀ , <i>Satt319</i> ₁₇₈ , <i>Satt354</i> ₂₄₉ , <i>Satt365</i> ₂₇₀ , <i>Sat_038</i> ₂₄₉
‘Мавка’	скс	48°	<i>Satt100</i> ₁₄₁ , <i>Satt229</i> ₂₃₄ , <i>Satt319</i> ₁₈₂ , <i>Satt354</i> ₁₇₈ , <i>Satt365</i> ₃₀₁ , <i>Sat_038</i> ₂₄₅
‘Ромашка’	ср	48°	<i>Satt100</i> ₁₆₇ , <i>Satt229</i> ₂₃₄ , <i>Satt319</i> ₁₇₅ , <i>Satt354</i> ₂₃₀ , <i>Satt365</i> ₃₀₅ , <i>Sat_038</i> ₂₄₅
‘Золотиста’	ср	46°, 49°	<i>Satt100</i> ₁₄₁ , <i>Satt229</i> ₂₃₄ , <i>Satt319</i> ₁₈₀ , <i>Satt354</i> ₂₃₂ , <i>Satt365</i> ₃₀₁ , <i>Sat_038</i> ₂₄₇
‘Полтава’	сс	45°, 49°	<i>Satt100</i> ₁₄₁ , <i>Satt229</i> ₂₃₀ , <i>Satt319</i> ₁₈₂ , <i>Satt354</i> ₂₃₀ , <i>Satt365</i> ₃₀₁ , <i>Sat_038</i> ₂₄₉
‘Галина’	сс	45°, 49°	<i>Satt100</i> ₁₄₁ , <i>Satt229</i> ₂₃₀ , <i>Satt319</i> ₁₈₂ , <i>Satt354</i> ₁₇₈ , <i>Satt365</i> ₃₀₁ , <i>Sat_038</i> ₂₄₉

Вважаємо за необхідне звернути увагу на методичні аспекти досліджень, які проводять для паспортизації сортів. При фракціонуванні продуктів ампліфікації на різних пристроях для електрофорезу в різних лабораторіях можливі розбіжності у розмірах фрагментів ампліфікації для одного і того ж самого

зразка ДНК, тому необхідне використання референсних – контрольних сортів рослин, з визначеними фрагментами ампліфікації. Так, за даними [129], розмір фрагментів ампліфікації для контрольних сортів/ліній ‘Вілана’ та ‘Harosoy OT89-5’ за МС-локусами *Satt100* та *Satt319* складала 168 та 173 п.н., відповідно. В той же час, в нашому дослідженні проведеному на тому ж самому генетичному аналізаторі ABI PRISM® *Genetic Analyzer 3500* (Applied Biosystems) розмір фрагментів ампліфікації при порівнянні цифрових результатів дещо різниться і становить – 167 і 175 п.н. Проте за наявності продуктів ампліфікації ДНК референсних сортів на електрофорезі стає зрозумілим, що наявні фрагменти ампліфікації відповідають контрольним сортам та маркують домінуючий стан алелю *E7*. Отримати результати більшої точності можливо при секвенуванні фрагментів ампліфікації, проте використання цього методу потребує затрат більшої кількості коштів.

Втім, окрім диференціації та ідентифікації сортового матеріалу зазначені мікросателітні маркери, згідно даних літератури (табл. 3.2), можуть бути корисними в селекційних програмах при створенні матеріалу з певними запрограмованими якостями (табл. 3.4) [233, 241, 278]. Однак, практична цінність такого контролю в українській генетичній плазмі та в еколого-географічних умовах України поки що вивчається.

Таблиця 3.4

Асоціації мікросателітних локусів з агрономічними ознаками

МС-локус	QTL зчеплені з локусами, що відповідають за ознаки (за інформацією з [48])
<i>Satt100</i>	Зацвітання, толерантність до затоплення, маса гіпокотіля, форма листа, полягання, висота рослин, число вузлів, гниття насіння викликане фомопсисом, скоростиглість/поздньостиглість бобів, кількість бобів, кількість бобів на вузол, дробіння, колір насіння;

	кількість олії, олігосахаридів, білка в насінні, маса та врожай насіння
<i>Satt319</i>	Зацвітання, полягання, кількість вузлів, висота рослин, врожай насіння, гліцетин насіння
<i>Satt229</i>	Зацвітання, форма квітки та листа, ширина листа, в'янення стебла (соломи), кількість бобів, твердість насіння, кількість та маса насіння, ізофлавоної й олія насіння
<i>Satt354</i>	Довжина та кількість міжвузлів, кількість хлорофілу в листі, кількість бобів, вага кореневих міжвузлів, кількість кальцію в насінні, відношення довжини до товщини насіння; кількість лінолевої кислоти, лізину, олеїнової кислоти, білку в насінні; кількість альфа, дельта, гамма та загального токоферолу в насінні, маса і врожай насіння, відношення ширини насіння до товщини
<i>Satt365</i>	Зацвітання, довжина репродуктивного періоду, відношення довжини репродуктивного до вегетаційного періодів, довжина вегетаційного періоду, загальна тривалість росту, стійкість до кукурудзяного хробака (<i>Helicoverpa zea</i>), площа та ширина листа, полягання, висота рослин, R/V фото-термальна чутливість, врожайність насіння, скоростиглість/пізньостиглість бобів; стеарин, гліцин, гліцинін та бета-конглицинин насіння.
<i>Sat_038</i>	Скоростиглість/пізньостиглість бобів, довжина репродуктивної стадії, висота рослин, гниття насіння викликане фомопсисом, стійкість до <i>Heterodera glycines</i>

Докладніше на діаграмах рис.3.1. представлені частоти зустрічаємості алелів за дослідженими MS-локусами. Показники інформативності маркерів оцінені в процентному співвідношенні до загальної кількості виявлених алелів вибірці з 14 сортів сої різних країн походження.

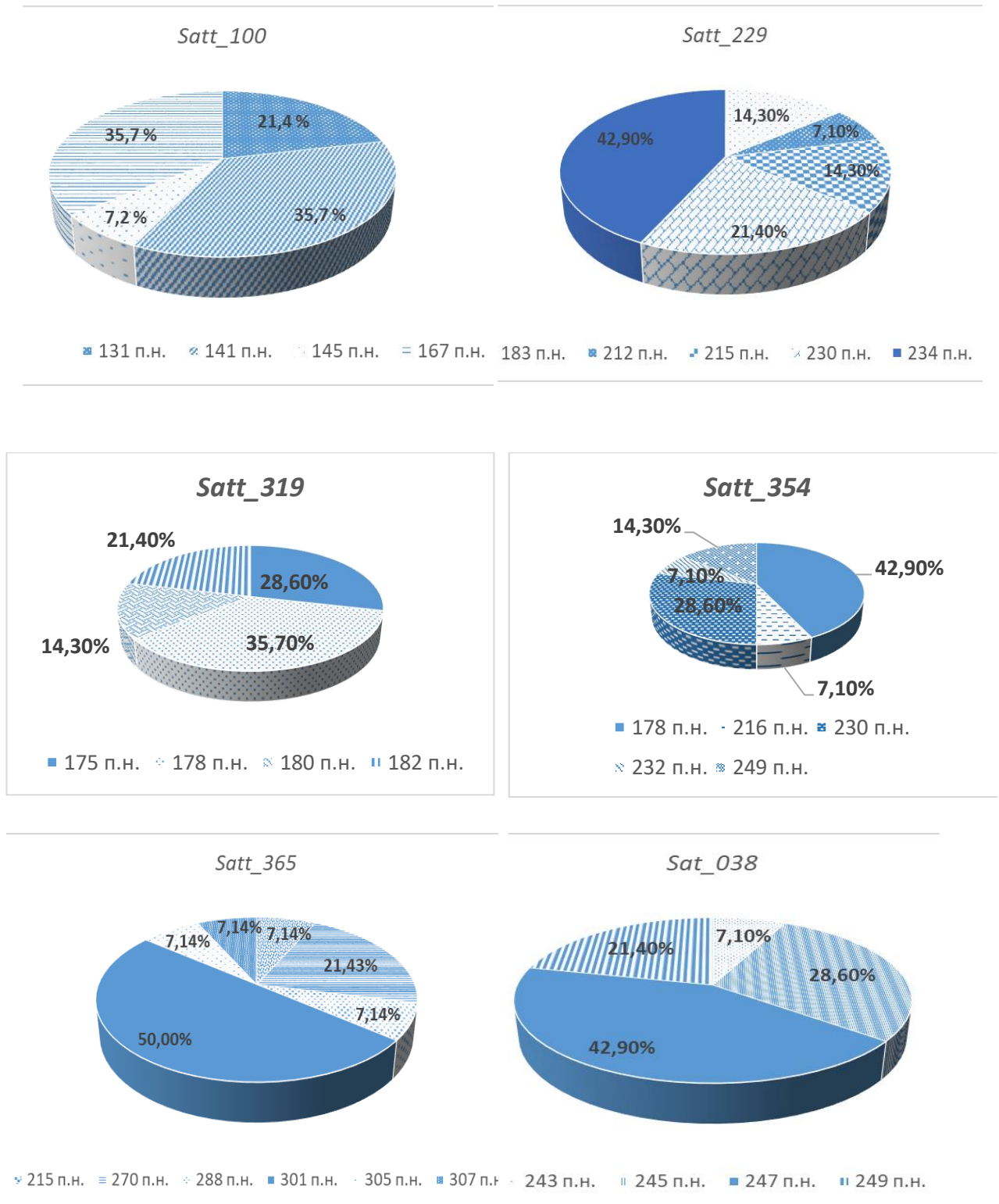


Рис. 3.1. Діаграми розподілу частот алелів за MS-локусами в досліджених сортах сої української селекції

В роботі розраховували генетичні дистанції з метою визначення генетичної подібності сортів сої та проводили кластерний аналіз (рис. 3.2).

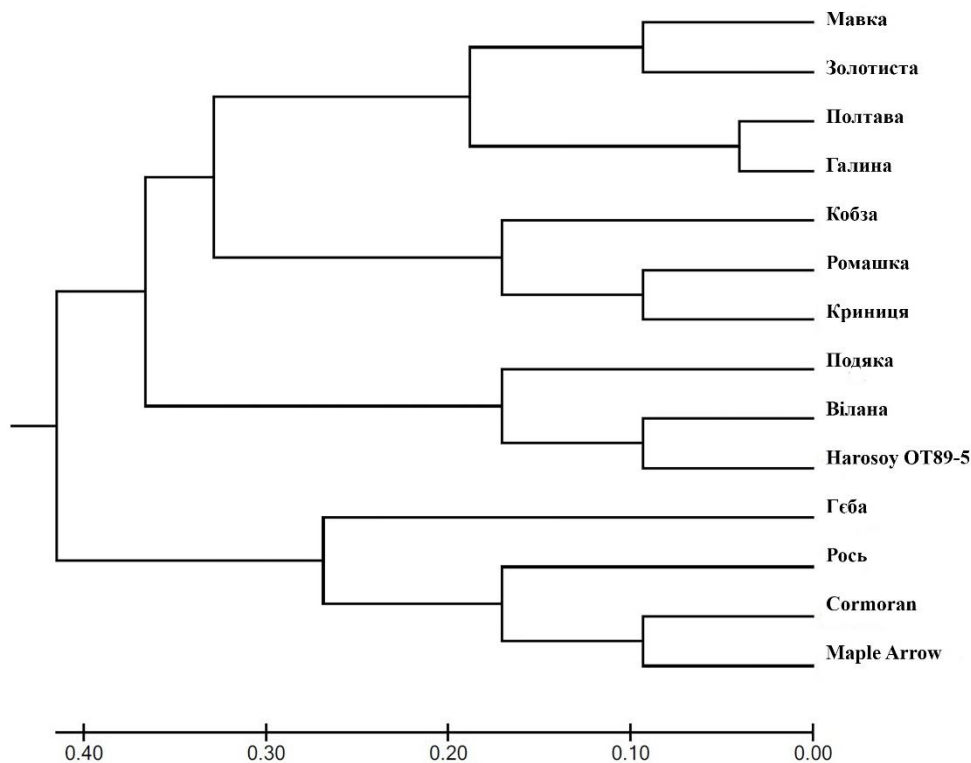


Рис. 3.2. Дендрограма сортів сої, побудована за генетичними дистанціями, розрахованими за даними аналізу 6 МС-локусів, із застосуванням методу кластеризації UPGMA [149, 261]

Дендрограма поділяється на два кластери першого порядку. В основі одного з кластерів першого порядку лежать переважно контрольні сорти/лінії, а саме – ‘Рось’, ‘Maple Arrow’, ‘Cormoran AC’ та сорт ‘Геба’ (оригіатор - ТОВ «Науково-дослідний інститут сої») української селекції. До другого кластеру першого порядку відносяться всі інші сорти. В свою чергу він розділяється на 2 кластери другого порядку, один з яких в подальшому ще раз розділяється на 2 кластери 3 порядку. Сорти ‘Полтава’ та ‘Галина’, що створені ТОВ «Науково-дослідний інститут сої» спільно з Інститутом польовництва та овочівництва, м.Нові Сад Іноземне Підприємство «НС СЕМЕ-Україна» мають найменшу генетичну дистанцію між собою 0,05 та відрізняються між собою тільки алелями

одного МС-локусу *Satt354*, тобто ці сорти мають високий відсоток генетичної подібності, відносяться до однієї групи стиглості II, але мають різну тривалість вегетаційного періоду, який в сорту ‘Галина’ коротше на 10-15 днів. Загалом сорти української селекції є більш подібними, ніж з контрольними сортами, що є логічними. Однак лінія Harosoy OT89-5 виявляється більш подібною до сортів української селекції, ніж до кластеру з контрольними сортами.

Таким чином, використані в роботі мікросателітні локуси дозволяють чітко диференціювати сорти один від одного.

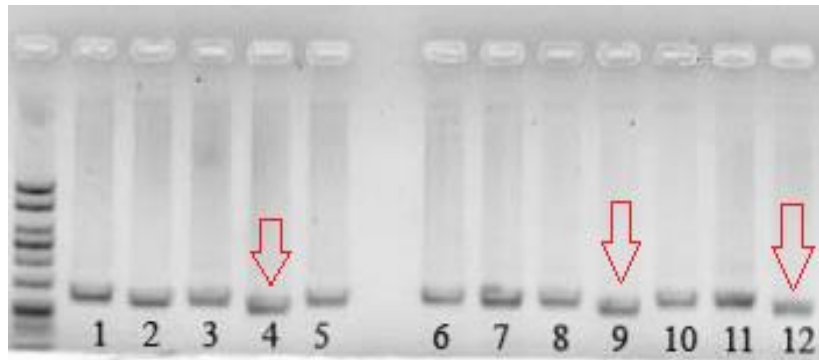
3.2. Алельний стан локусів *E* за мікросателітними і алель-специфічними маркерами у сортах сої, створених в різних селекційних центрах України

Мікросателітні маркери до локусів *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*, розроблені Cregan et al. в 1999 році [33]. На підставі цих МС-маркерів Molnar et al. [111] встановили алельний стан за цими ж локусами 12 близько-ізогенних ліній, похідних від сорту ‘Harosoy’, контрастуючих за фенотиповими проявами чутливості до зміни фотоперіоду.

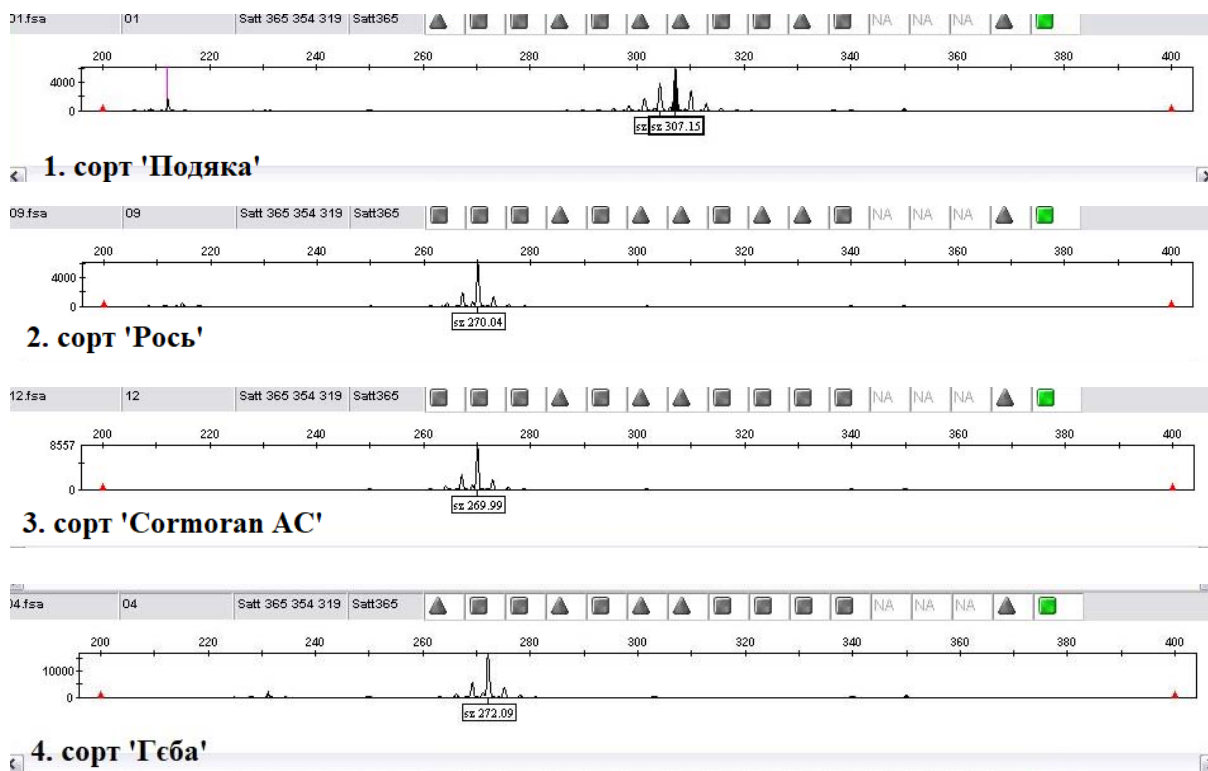
Отже за даними [111, 129], використані в роботі МС-маркери є діагностичними маркерами до *E* генів, тому на основі отриманих в результаті МС-аналізу даних у відповідності до референсних зразків ми намагалися передбачити алелі генів *E1-E4* та *E7* у досліджених сортів.

За даними МС-аналізу за допомогою маркерного локусу *Satt365* у контрольних сортах ‘Рось’ та ‘Cormoran AC’, було виявлено фрагмент ампліфікації 270 п.н. (рис. 3.3), що відповідає домінантному алелю гена *E1* як стверджує Аксьонова з співавт. [222]. У сорті ‘Геба’ нами виявлено алель 272 п.н. Коровим мотивом мікросателітного локусу *Satt365* є триплет АТТ, тож вважаємо, що фрагмент розміром 272 п.н. підлягає уточненню. Аналізуючи тривалість вегетаційного періоду, ми припускаємо, що сорт ‘Геба’ може мати домінантний алель за локусом *E1* в генотипі. Усі інші сорти характеризувалися

різними фрагментами ампліфікації, але згідно з даними літератури [111, 129], виявлені фрагменти не відповідають домінантному алелю гена *E1* у генотипі. Ми припустили, враховуючи розмір фрагментів ампліфікації, що вони відповідають рецесивним алелям.



А)



Б)

Рис. 3.3. А). Електрофорез у 2% агарозному гелі за МС-маркером *Satt365* сортів сої: 1 – 'Подяка', 2 – 'Кобза', 3 – 'Мавка', 4 – 'Гєба', 5 – 'Полтава', 6 – 'Ромашка', 7 – 'Галина', 8 – 'Золотиста', 9 – 'Рось', 10 – 'Вілана', 11 – 'Нароуоу ОТ89-5', 12 – 'Сормоган АС'; Б). Електрофоретичний спектр фрагментів

ампліфікації з MC-маркером *Satt365* сортів сої, виявлений за допомогою генетичного аналізатора ABI PRISM® 3500

Домінантний алель гена *E2* присутній у генотипі сорту ‘Рось’ [129] і зчеплений з алелем 243 п.н. за локусом *Sat_038* [222]. У дослідженій виборці українських сортів сої, нами не було виявлено жодного сорту з фрагментом ампліфікації розмір якого був би тотожним розміру фрагменту ампліфікації характерного для сорту ‘Рось’. Таким чином, ми припускаємо, що в досліджуваних сортах доміантний алель *E2* не присутній [234]. Локус *Sat_038*, розташований на відстані 24,23 сМ від гена *E2* [111, 226] і міг успадковуватися з певним алелем гена *E2* як агрономічно-важлива комбінація алелів або гаплотип корисний для селекції. Наявність рецесивного алелю *e2/e2* призводить до більш раннього цвітіння, що спостерігали в різних умовах вирощування [180]. Avksentiieva et al. [9], наводить дані, що за умови природньої тривалості світлового дня (16 годин), ізогенна лінія ‘L71-920’ нейтральна до зміни фотоперіоду, похідна від сорту ‘Clark’, носій генотипу з *e2* переходила до фази цвітіння раніше на 50 ± 2 доби, ніж лінія ‘L65-3366’, з доміантним алелем *E2* та високою фотоперіодичною чутливістю. За даними Miladinovich et al. [108] доміантний *E2* був виявлений у 75% з 12 досліджених у вказаній роботі європейських сортів, у 14% з 56 сортів та 38% з 229 селекційних ліній, що створені в Інститут польовництва та овочівництва м.Нові Сад (Сербія). Тож можна припустити, що сучасна стратегія селекції сої в цьому Інституті базується на збільшенні використання доміантного алеля гена *E2*.

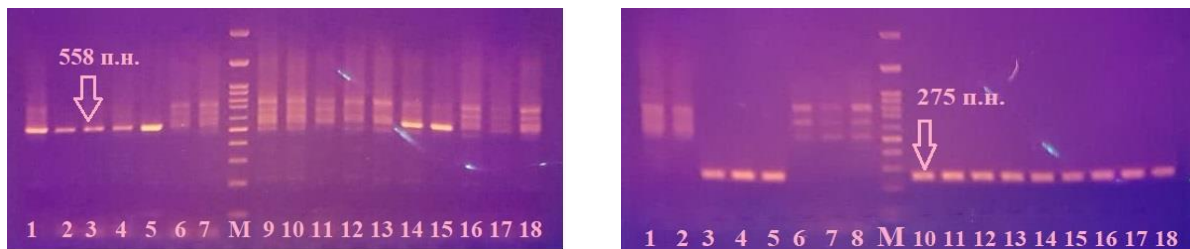
MC-локус *Satt229* за даними Molnar et al. [111] з уточненнями з soybase.org, [226] зчеплений з локусом *E3* на 19 хромосомі сої на відстані 5,1 сМ, в інтервалі розміром в 32,5 сМ між *Satt099* та кінцем групи зчеплення хромосоми де і локалізовано маркер *Satt229*. В якості контролів на наявність доміантного алеля локусу *E3* за рекомендаціями [111] і [129] ми використовувати сорти ‘Marple Arrow’ та ‘Рось’. Для сорту ‘Подільська 416’ ми виявили такий самий фрагмент

ампліфікації, що і у сорту ‘Maple Arrow’, що має свідчити про наявність домінантного алелю *E3* у цьому сорті. Таким чином за даними МС-аналізу, всі інші сорти мали нести рецесивний алель *e3*.

Однак, згідно з підходом генотипування-шляхом-секвенування, Miladinovich et al. [108] та за допомогою молекулярних маркерів, які застосувала Abugalieva et al. [2], у сортах ‘Подяка’, ‘Галина’, ‘Золотиста’ була виявлена домінантна форма алелю *E3*.

Оскільки отримані нами дані за МС-маркерами та співставлення з результатами інших дослідників за локусом *E3*, не давали чіткої картини алельного стану гену *E3* у досліджуваній виборці сортів, ми вирішили провести додаткове генотипування, як це рекомендовано [79, 190] За результатами фракціонування продуктів ампліфікації, проведеної нами алель-специфічної ПЛР, за алелями *E3-Mi/E3-Ha/e3-tr* локусу *E3*, контрольні сорти ‘Maple Arrow’ та ‘Рось’ виявилися носіями фрагменту розміром 275 п.н., який детектує алель *e3-tr* (truncated), з делецією 3' регіону, включаючи четвертий екзон [179]. За допомогою алель-специфічної ПЛР у сортів ‘Подяка’, ‘Галина’ виявлено фрагмент ампліфікації розміром 558 п.н., що за даними [79, 190] відповідає домінантному алелю *E3-Ha*.

Результати проведення генотипування за алель-специфічними маркерами наведено на рис.3.4, де стрілкою позначені розміри фрагментів ампліфікації для сортів ‘Рось’ і ‘Maple Arrow’ для алелів *E3* і *e3-tr*.



а)

б)

Рис. 3.4. Електрофорез в 1% та 1,5 % агарозному гелі фрагментів ампліфікації отриманих в ПЛР з алель-специфічними маркерами а) *E3-Ha*: доріжки 1-5

‘Оксана’ 6, 7, 9, 10 – ‘Maple Arrow’, 11-13 ‘Золотиста’, 14, 15 – ‘Ромашка’, 16-18 – Мавка **6)** *e3-tr*: доріжки 1-2 – ‘Гєба’, 3-5 – ‘Мавка’, 6-8 – ‘Ромашка’, 10-12 ‘Золотиста’, 13-15 – ‘Рось’, 16-18 – ‘Maple Arrow’; М – маркер молекулярної маси - CLS-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU

За інформацією [190], більшість сортів та ліній сої, які спочатку вважалися носіями домінантного алелю *E3*, мали дисфункціональні алелі і, таким чином, продукували усічені білки, як результат експресії гену *GmPНУА3 (E3)*. За результатами секвенування нуклеотидної послідовності локусу *E3* у 18 тестованих сортах [190] виявлено два нових дисфункціональних алеля для гена *E3*, позначені як *e3-ns* та *e3-fs*. Для алелю *e3-ns* характерна наявність нонсенс-мутації (однонуклеотидна заміна С на Т в положенні 3139 п.н. першого кодону в екзоні 3), що створила стоп-кодон замість кодону, якій визначає глутамін. Алель *e3-fs* мав передчасний стоп-кодон в першому екзоні за рахунок вставки Т в позицію 1275 в першому екзоні, що зміщує рамку зчитування. Попередньо відомий як рецесивний алель *e3*, перейменували на *e3-tr* (усічений), оскільки за результатами секвенування в нього наявна делеція розміром у весь 3' регіон гена, включаючи екзон 4 [179].

Тобто, ми зіштовхнулися з такою ж самою ситуацією, як продемонстровано в дослідженнях Хи з співавт. [190], за результатами МС-аналізу більшість генотипів, які попередньо вважалися носіями алелю *E3*, виявилися носіями дисфункціонального алелю *e3-tr*. Сорти, генотипи яких за результатами МС-типуювання були віднесені нами до носіїв домінантного алелю за локусом *E3*, після проведення алель-специфічної ПРЛ виявилися носіями послідовності ДНК з делецією в детектованому локусі з рецесивним алелем *e3-tr*.

Таким чином, МС-маркер *Satt229* не є достатньо ефективним маркерним інструментом для визначення алельного стану за локусом *E3*.

На двох картах групи зчеплення I (20 хромосома), що представлені в soybase.org [226], показано різну відстань між маркером *Satt354* та локусом *E4*,

на одній карті це 20,7 сМ, а на іншій - 0,8 сМ . За даними Molnar et al. [152] мікросателітний маркер *Satt354* виявився ідеальним маркером при аналізі 12 ізоліній-нащадків ‘Harosoy’, а еталонна ізолінія ‘Harosoy OT89-5’ мала рецесивний алель *e4* за локусом *E4*, що визначається за допомогою діагностичного маркеру *Satt354*. В нашому дослідженні у лінії ‘Harosoy OT89-5’ за локусом *Satt354* виявлено фрагмент розміром 216 п.н. Для сорту ‘Галина’ за локусом *Satt354* у нашому експерименті отримано фрагмент ампліфікації розміром 178 п.н. Треба зазначити, що цей сорт, хоча його назва і наводиться у відмінній від наведеного в Державному реєстрі рослин, придатних до поширення на території України на 2019 рік [223] в англійській транслітерації, був також проаналізований Miladinovich et al. [108]. Вказані автори стверджують, що сорт ‘Галина’ має генотип *e1-as e2 E3 E4*. Також Kurasch et al. [79], аналізуючи з алель-специфічними маркерами 75 європейських сортів сої, в тому числі і сорт ‘Галина’, повідомляли, що цей сорт має генотип *e1-as e2 E3-Ha E4*. В нашій роботі аналізували 12 сортів сої. Серед них два сорти ‘Галина’ та ‘Полтава’, які створені у співпраці ТОВ Науково-дослідного інституту сої (Україна) з Інститутом польових та овочевих культур (Нові-Сад, Сербія), мають дуже схожі генотипи за тестованими МС-локусами, окрім одної відмінності за локусом *Satt354*. Для сорту ‘Полтава’ ми виявили фрагмент ампліфікації 230 п.н., а для сорту Галина 178 п.н. за цим локусом. При цьому, сорт ‘Полтава’ має період вегетації 110-125 днів, що на 10-15 днів довше ніж ‘Галина’ (табл. 3.5).

В дослідженні Аbugалієвої з співавторами [205] сорти ‘Галина’ та ‘Полтава’ вирощували в умовах регіону Алма-Ата (43° півн. шир.) де рослини мали однаковий період вегетації 119 днів. В той же час у польовому експерименті Abugaliev et al. [2] були присутні деякі сербські зразки сої з такими ж алелями генів *E*: ‘Ana’ (*e1-as e2 E3 E4*), ‘Venera’ (*e1-as e2 E3 E4*), ‘Vojvodanka’ (*e1-as e2 E3 E4*), у яких вегетаційний період тривав 130 днів.

Таблиця 3.5

Генотипи українських сортів сої за даними ПЛР аналізу за мікросателітними маркерами із зазначенням агрономічних характеристик

Сорт	E-генотип за даними МС-аналізу	Група стиглості		Рекомендована для зони вирощування**	Тривалість вегетаційного періоду, днів	Урожайність, т/га	МТЗ, грам	Протеїн, %
		укр. клас-ція	міжн. клас-ція					
‘Кобза’	<i>e1 e2 e3 e4 e7</i>	рс	00	С П	95-98	1,71-3,5	140-160	37-39
‘Криниця’	<i>e1 e2 E3 E4 E7_{Satt100}</i>	рс	00	ЛС	94-98	1,9-2,3	-	38,7
‘Мавка’	<i>e1 e2 e3 e4 e7</i>	рс	00	С, ЛС, П	98-100	2,8-3,8	170-200	39-41
‘Гєба’	<i>E1 e2 e3 E4 e7</i>	рс	00	ЛС	114- 123	1,9 -3,05	-	-
‘Золотиста’	<i>e1 e2 E3E4 e7</i>	ср	I	С ЛС П	105-115	2,3-3,0	150-162	39,3-40,1
‘Галина’	<i>e1 e2 E3E4 e7</i>	сс	II	С	105-110	1,9 - 3,5	150-170	40-41
‘Полтава’	<i>e1 e2 E3 e4 e7</i>	сс	II	С, ЛС	115-125	2,0-3,9	150-180	38-41
‘Подяка’	<i>e1 e2 E3 E4 E7</i>	рс	0	С	115-119	2,7-4,0	120-130	38-40
‘Ромашка’	<i>e1 e2 e3 e4 E7</i>	сс	II	С	122-129	2,1-3,6	164	40-41,4
‘Оксана’	<i>e1 e2 e3 e4 E7</i>	сс	II	С	120-130	1,8-3,0	138,9	37,6
‘Феміда’	<i>e1 e2 e3 e4 E7_{Satt319}</i>	ср	I	С, ЛС	116-124	2,8-3,5	160-190	36-39
‘Подільська 416’	<i>e1 e2 E3 e4 E7_{Satt319}</i>	ср	I	ЛС	119-125	2,65-4,0	128,7	40-42

Примітки: С- зона Степ, ЛС- зона Лісостеп, П – зона Полісся.

Мабуть вплив алелів генотипу *e1-as e2 E3 E4* на тривалість вегетаційного періоду в умовах регіону Алма-Ата не проявлявся, оскільки за даними Abugalieva et al. [2]. ‘Галина’, ‘Золотиста’ і інші сорти мають однакову тривалість вегетації. Цікаво, що за інформацією Абугалієвої з співавторами [205], різниця в тривалості вегетативного періоду між сортами ‘Подяка’ і ‘Галина’ становить 11 днів (нажаль даних щодо достовірності різниці цього

показника авторами дослідження не зазначено). За даними Abugalieva et al. (2016) [2], сорт ‘Подяка’ має генотип (*e1-as e2 E3 E4*), а його тривалість вегетаційного періоду в умовах України становила 115-119 днів. Для сорту ‘Галина’ тривалість вегетаційного періоду в умовах України довше на 10 днів, ніж для сорту ‘Подяка’, і коротше на 5 днів, ніж для сорту ‘Полтава’. Miladinovich et al. [108] встановлено, що алель *E4* призводить до затримки цвітіння, тоді як рослини носії алелю *e4* характеризувалися раннім цвітінням та нечутливістю до довгого дня. Тож можливо сорт ‘Полтава’ несе рецесивну форму алелю *e4*.

У генотипі сорту ‘Подяка’ за локусом *Satt354* виявлено фрагмент ампліфікації розміром - 232 п.н.

Домінантні алелі *E3* та *E4* також присутні в генотипі ‘Maple Arrow’- *e1-nl e2 E3 E4*, як демонструють Abugalieva et al. [2]. Ми виявили фрагмент ампліфікації розміром 178 п.н. за локусом *Satt354* для сорту ‘Галина’ та такий самий фрагмент ампліфікації для сорту ‘Золотиста’, і для обох Abugalieva et al. [2] визначили генотип *e1-nl e2 E3 E4*. За результатами МС-аналізу ми прогнозували наявність гена *E4* у генотипах українських сортів сої, для яких виявлений фрагмент ампліфікації за локусом *Satt354* складав розмір 178 п.н. Співставляючи результати МС-аналізу з даними Abugalieva et al. [2], ми зробили припущення, що сорти ‘Галина’, ‘Золотиста’ та ‘Мавка’ можуть бути носіями домінантного алеля за локусом *E4*, оскільки вони характеризуються фрагментом ампліфікації 178 п.н. Також, ми висунули гіпотезу, що сорт ‘Подяка’ можливо є носієм домінантного алелю *E4*, навіть якщо для цього сорту виявлено фрагмент ампліфікації за локусом *Satt354* розміром 232 п.н. На користь цієї гіпотези свідчать Abugalieva et al. [2], які визначили алель *E4* за допомогою алель-специфічних маркерів.

Тож, ми проаналізували сорти ‘Галина’, ‘Золотиста’, ‘Мавка’, ‘Подяка’, ‘Полтава’ використовуючи алель-специфічні маркери до алелів *E4/e4-SORE-1*. Виявилось, що домінантний алель *E4* мають генотипи сортів ‘Подяка’,

‘Полтава’, ‘Галина’, для цих сортів визначений розмір фрагментів ампліфікації 1229 п.н., як це відмічено [79, 190], а для сортів ‘Золотиста’, ‘Мавка’ детектовано фрагмент розміром 837 п.н., який є специфічним для рецесивного алеля *e4-SORE-1*. Цей алель містить інсерцію в послідовності кодуючої ДНК в 6238 п.н. (схожу на ретротранспозон (*Ty1/copia*)) (рис. 3.5) [158, 167].

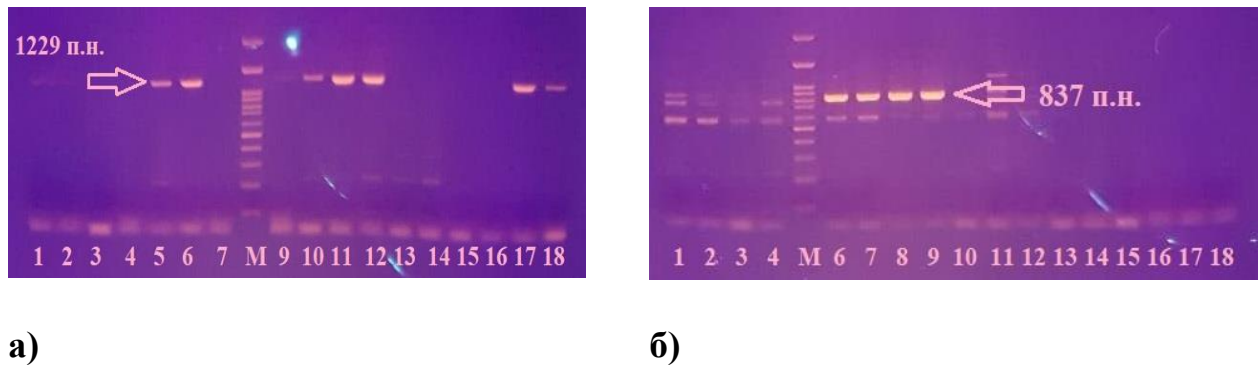


Рис. 3.5. Електрофорез в 1% агарозному гелі фрагментів ампліфікації отриманих в ПЛР з алель-специфічними маркерами для низки сортів і ліній сої : **а)** *E4*, доріжка 1-4 – ‘Мавка’, 5-6 – ‘Подяка’, 7, 9 – ‘Геба’, 10-12 – ‘Криниця’, 13-16 – ‘Золотиста’, 17-18 – ‘Вілана’; **б)** *e4-SORE-1*, доріжка 1-2 – ‘Рось’, 3-4 – ‘Криниця’, 6-7 – ‘Мавка’, 8-9 – ‘Золотиста’, 10-12 – ‘Геба’, 13-16 – ‘Подяка’, 17-18 – ‘Ромашка’; М – маркер молекулярної маси - CLS-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU

Таким чином, в цілому мікросателітний локус *Satt354*, так само як і *Satt229*, не є оптимальним діагностичним маркером для визначення алелю *E4* у генотипах сортів сої української селекції.

За результатами ПЛР за алель специфічними маркерами, нами встановлено, що переважна більшість сортів дослідженої вибірки є носіями генотипів з домінантними алелями *E3 E4* (*E3* - 83%, *E4* - 72%), які за даними [190], впливають не лише на час зацвітання рослин сої, а й на період досягання бобів (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Характеристика сортів сої різних селекційних центрів України за локусами *E3*, *E4*

№ п/п	Назва сорту	Алелі за алель-специфічними маркерами
1	‘Подяка’	<i>E3-Ha E4</i>
2	‘Кобза’	<i>E3-Ha e4-SORE-1</i>
3	‘Мавка’	<i>e3-tr e4-SORE-1</i>
4	‘Гєба’	<i>E3-Ha --?</i>
5	‘Полтава’	<i>E3-Ha E4</i>
6	‘Ромашка’	<i>E3-Ha E4</i>
7	‘Галина’	<i>E3-Ha E4</i>
8	‘Золотиста’	<i>e3-tr e4-SORE-1</i>
9	‘Криниця’	<i>E3-Ha E4</i>
10	‘Оксана’	<i>E3-Ha E4</i>
11	‘Феміда’	<i>E3-Ha E4</i>
12	‘Подільська 416’	<i>E3-Ha E4</i>

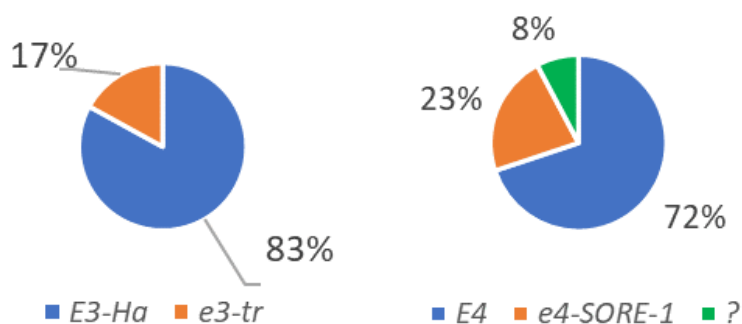


Рис. 3.6. Розподіл частот алелів генів *E3*, *E4* для досліджених сортів української селекції

Для сорту ‘Геба’ алель-специфічна ПЛР за обома алелями *E4* і *e4-SORE-1* не виявила жодних фрагментів, тож за нашими припущеннями, генотип сорту ‘Геба’ може бути носієм одного з трьох інших дисфункціональних алелів: *e4-kes*, *e4-oto*, *e4-kam*, які переважно поширені в сортах японської селекції, і за даними Kurasch et al. [79], є досить рідкісними в європейському регіоні, тому в межах проведення нашого дослідження не залучалися.

За даними Miladinović et al. [108] генотип з домінантними *E3*, *E4* та рецесивними *e1* та *e2* алелями був найбільш поширеним та краще адаптованим (проявляв більшу врожайність) у Південній та Східній Європі. В регіоні Казахстану сорти з домінантними генами *E3* та *E4* також характеризувалися більш високим урожаєм [2].

Ми проаналізували інформацію про урожайність українських сортів сої за даними наведеними у літературі (Кириченко з співавт. [242]; Рябуха з співавт. [265]; Prysiazhniuk et al. [122]; Вожегова з співавт. [217]; <https://superagronom.com> [232]; <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety> [229]) та відобразили її в таблиці 3.5, а також просумували дані про групи стиглості, тривалість вегетаційного періоду, масу 1000 зерен, вміст білка. Найвищу врожайність показав сорт ‘Подяка’ в генотипі якого присутні *E7* та *E3*, *E4*, а вищій вміст білку, з показниками 40-42%, показав сорт ‘Подольська 416’ з генотипом *E3*, *E4*, *E7*.

За МС-локусами в наших дослідженнях сорт ‘Галина’ мав фрагменти ампліфікації розміром: 301 п.н. за локусом *Satt365* (*E1*), 249 п.н. за *Sat_038*, (*E2*), 230 п.н. *Satt229* (*E3*), 178 п.н. *Satt354* (*E4*). Можна припустити, що детектований нами фрагмент розміром 301 п.н., в сорті ‘Галина’, відповідає алелю *e1-as*, який встановлено для цього ж сорту в дослідженні Kurasch et al. [79]. Щодо інших фрагментів, ми припускали, що амплікон розміром 249 п.н. відповідає алелю *e2*, 230 п.н. – алелю *E3-Ha*, 178 п.н. домінантному алелю *E4*.

У генотипах трьох сортів ‘Подяка’, ‘Ромашка’ та ‘Оксана’, а також у контрольних сортах ‘Вілана’ та ‘Harosoy OT89-5’ з урахуванням даних мікросатлітного аналізу присутній домінантний алель гена *E7*. Фрагменти

ампліфікації 175 п.н. і 167 п.н. за локусами *Satt319* і *Satt100*, відповідно, були виявлені в цих сортах, як і в референсних формах, які є носіями *E7*. У той же час, алель, який є маркером для домінантного алеля *E7*, був ідентифікований у сорті ‘Криниця’ за локусом *Satt100*. Однак для другого фланкуючого *E7* локус мікросателіту *Satt319* у цього сорту ми не виявили фрагмент ампліфікації, який є маркером для домінантного алеля, що не дозволяє нам підтвердити наявність домінантного гена *E7* у сорту ‘Криниця’. У генотипах сортів ‘Феміда’ та ‘Подільська 416’, фрагменти ампліфікації, які відповідають домінантному алелю *E7*, були виявлені за маркером *Satt319*, але за маркером *Satt100* не було підтверджено наявності домінантного алеля [235]. Але на сьогодні не існує більш ефективного методу виявлення алелів *E7*, ніж застосування мікросателітних маркерів *Satt100* і *Satt319*.

Підсумовуючи дані генотипування за мікросателітними маркерами стосовно алельних комбінацій, можна відзначити, що 16,7% з всіх вищевказаних сортів, характеризуються *e1 e2 E3 E4 e7* алелями, такий самий відсоток (16,7) – мають сорти з генотипом *e1 e2 e3 e4 E7*, і сім груп сортів складають 8,3% кожна, із комбінацією алелів *e1 e2 e3 e4 e7*, *e1 e2 e3 E4 e7*, *e1 e2 E3 e4 E7_{Satt319}*, *E1 e2 e3 e4 e7*, *e1 e2 E3 E4 E7*, і *e1 e2 e3 e4 E7_{Satt100}*, або *e1 e2 e3 e4 E7_{Satt319}*. Уточнивши зазначені результати інформацією за алель-специфічними маркерами за локусами *E3 E4*, виявлено, що четверта частина вибірки є носіями генотипу з домінантними алелями за трьома локусами *E3-На E4 E7* (25% від загальної кількості досліджених сортів). Сорти-носії генотипів з рецесивними алелями *e1 e2 e3 e4 e7*, і з домінантними *E3-На E4* в генотипах *e1 e2 E3-На E4 e7*, і *e1 e2 E3-На E4 e7* або *E7_{Satt319}* (за різними маркерами до *E7* отримано різні свідчення на користь *E7* або *e7*) складають 16,7% виборки. Генотипи *e1 e2 E3-На e4 e7*, *e1 e2 E3-На E4 E7_{Satt100}* або *e7*, *E1 e2 e3 ? e7*, виявлено у 8,3% сортів виборки (рис. 3.7).

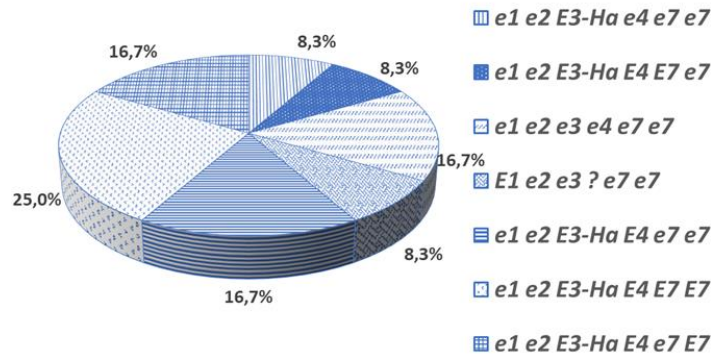


Рис. 3.7. Діаграма розподілу генотипів в дослідженій виборці сортів сої української селекції

В Інституті польовництва та овочівництва (м. Нові-Сад, Сербія) за допомогою технології генотипування-шляхом-секвенування було досліджено 445 генотипів сої з різних країн [108]. Згідно з цим дослідженням, генотипи з рецесивними $e1$ та $e2$, а також доміантними $E3$ та $E4$ зустрічаються у 49% селекційних ліній та 62% культурних сортів, створених в цьому Інституті (м. Нові-Сад). 33% європейських сортів, досліджених Miladinović із співавторами [108] мають доміантні алелі $E2$, $E3$ та $E4$; 33% – є носіями доміантних $E2$ і $E4$, 17% – $E3$ і $E4$, у 9% присутні доміантні – $E1$, $E2$, $E3$ і 8% – мають доміантні $E3$ плюс $E4$ і ще один рецесивний алель - $e1$. Отримані нами дані за генами $E3$ та $E4$ за допомогою алель-специфічних маркерів у виборці з 12 сортів сої української селекції, можна співставити з результатами Miladinović et al. [108] за локусами $E3\ E4$ у європейських сортів сої.

Ми не знайшли чіткої відповідності між даними МС-аналізу та ранжуванням культурних сортів у Державному реєстрі сортів рослин, придатних для розповсюдження в Україні відповідно до групи стиглості (табл. 3.5), але ми спостерігаємо слабку тенденцію до такої відповідності. Ми також з'ясували, що за сортами дослідженої нами вибірки немає відповідності між даними за групами стиглості, наведеними в Офіційному бюлетені «Захист прав на сорти рослин», інформаційної системи «Сорт» Українського інституту експертизи сортів рослин, з даними за групами стиглості наведеними у переліку Державного

реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні. Цікаво, що в дослідженнях Kurasch et al. [79], європейські сорти сої з однаковою комбінацією генів *E*, згідно з функціональними алель-специфічними молекулярними маркерами, зацвітали та досягали зрілості в різний час. За нашими даними також немає чіткого взаємозв'язку між алелями *E*-генів у генотипі досліджених сортів та відповідністю до конкретної групи стиглості. Таку ж ситуацію ми можемо спостерігати за тривалістю вегетаційного періоду українських сортів сої (табл.3.5). Це свідчить про складність генетичного контролю ознаки - тривалість вегетаційного періоду. Щоб дослідити зв'язок, на сортах української селекції необхідні польові дослідження не менше 3 років. Нажаль в межах нашої роботи, польові дослідження за цими сортами нами не проводилися.

Для аграріїв важливо знати, який сорт матиме більший врожай при вирощуванні у певній зоні, або в якій саме зоні сорт розвиватиметься оптимально та принесе найвищий урожай. Різниця в урожайності може доходити до 36%, якщо вирощувати сорт в зоні з не оптимальними умовами для його розвитку [265]. Наприклад, в результаті аналізу даних з Офіційного бюлетеня «Захист прав на сорти рослин», для більшості сортів сої, про які були публікації, оптимальною для вирощування є зона Лісостепу, оскільки в цій зоні сорти мають найбільшу врожайність порівняно зі Степом або зоною Полісся. Проаналізувавши дані літератури з цього питання, можемо відзначити, що для сорту 'Кобза' найбільша врожайність визначена у зоні Лісостепу - 2,14 т / га, але врожайність цього сорту на 14% нижча у Степовій зоні та на 6,5% нижча при вирощуванні у Поліссі. Для сорту 'Криниця' найбільшої врожайності досягають при вирощуванні сорту у зоні Лісостепу 2,33 т / га, а в Степовій зоні врожайність нижча на 7,3 %, а в Лісостепу – на 18,45 %. Для сорту 'Гєба' найвищий врожай 2,25 т/га збирали в оптимальній – зоні Лісостепу, у зоні Степу врожайність була на 36 % нижчою, а при вирощування в умовах Полісся на 15 % нижчою. У державному сортовипробуванні (середні дані дворічного випробування), які показали Рябуха з співавт. [265], для сорту 'Подяка' тривалість періоду вегетації

в зоні Степу – становила 118 днів, у зоні Лісостепу – 125 днів, а в Поліссі – 140 днів, тому в цих різних умовах вирощування сорт ‘Подяка’ має різну врожайність - 2,05 т/га, 1,79 т/га та 1,75 т/га, відповідно.

Сьогодні, в Україні лише розпочато виявлення алелів генів *E* сої, тоді як у деяких країнах Європи, Північній Америці, Азії, лінії та сорти сої за алелями локусів генів *E1-E4* вже досліджено (Tsubokura et al. [168]; Abugalieva et al. [2]; Miladinović et al. [108]). За результатами вказаних праць, встановлено, що *E* гени впливають на дозрівання рослин сої, але в різних середовищах або зонах вирощування їх важливі плейотропні ефекти, наприклад на врожайність, можуть змінюватися. Розроблена нами інформаційна база даних щодо алельного стану локусів фотоперіодичної чутливості *E* для дослідженої вибірки сортів української та іноземної селекції наведена в Додатку Л. Знання про алелі в конкретному сорті, зокрема, про різноманітність та взаємодію генотипів та конкретного середовища, дозволить селекціонерам вибрати правильну стратегію селекції, допоможе використовувати потенціал урожайності сортів сої у оптимальному середовищі, або направлено вести селекцію на адаптацію рослини до мінливих умов середовища. Ці знання можуть допомогти вдосконалити систему ранжування за групами стиглості сої на основі генетичних відмінностей між сортами та провести пошук генотипу максимально адаптованого для відповідної зони вирощування.

Селекціонери зацікавлені у розробці нового матеріалу з новими ефективними комбінаціями алелів генів, що впливають на важливі агрономічні ознаки і на адаптаційну здатність до кліматичних зон України. Можливості селекції сої досить обмежені через звуження генетичної різноманітності при використанні обмеженої колекції цінних вихідних форм, а завдяки використанню експериментального мутагенезу, можна отримати високий рівень генетичної мінливості. Появі мутації передуює складний багатоступеневий процес проникнення, розподілення і реакції мутагену з компонентами клітини і з ДНК хромосом [214]. Мутаційний процес складається з комплексу реакцій, що ведуть

до первинної зміни послідовності ДНК, і реалізації цих змін в генеративному потомстві. Через складність передбачення змін, до яких призведе хімічний мутагенез, дослідження генетичного поліморфізму за генами стиглості ліній сої, отриманих шляхом мутагенезу стало наступним етапом нашої роботи.

3.3. Поліморфізм за локусами асоційованими з генами *E* у перспективних для селекції мутантних ліній сої

На матеріалі мутантних ліній сої, створених шляхом хімічного мутагенезу, ми вивчали чи збільшується рівень генетичного поліморфізму за МС-локусами, що асоційовані з генами *E*, які визначають чутливість до фотоперіоду, і встановлювали кореляції різних комбінацій генотипів з фазами розвитку рослин та врожайністю. Досліджували вихідні форми – сорти сої ‘Оксана’, ‘Золотиста’, ‘Феміда’, ‘Подільська 416’ та 10 мутантних ліній, також в експерименті були присутні контрольні сорти/лінії (матеріал представлено в табл. 3.7).

У вказаному матеріалі виявлено 20 алелів. Кількість алелів на локус коливалася від 2 до 5 із середнім значенням 3,3. Більш поліморфними маркерами виявилися *Satt100* і *Satt354*, *Satt229*, в яких в дослідженій виборці ліній, показано 5 і по 4 алелі, відповідно.

У генотипах 10 мутантних ліній, які були відібрані як перспективні для селекції, ми виявили нові алелі за МС-маркерами, яких не було в вихідних сортах (позначено напівжирним шрифтом в таблиці 3.7).

Таблиця 3.7

Алельна характеристика вихідних сортів та мутантних ліній за МС-локусами

Вихідні сорти / мутантні лінії і контрольні сорти	Мікросателітні локуси (п.н.)					
	<i>Satt100</i>	<i>Satt229</i>	<i>Satt319</i>	<i>Satt354</i>	<i>Satt365</i>	<i>Sat_038</i>
‘Оксана’	167	230	175	232	301	247
‘Оксана М2’	141	230	180	232	301	247
‘Оксана М12’	167	234	175	249	301	245
‘Оксана М13’	141	234	180	249	301	245

‘Золотиста’	141	234	180	178	301	247
‘Золотиста М16’	131	230	178	178	270	247
‘Золотиста М20’	141	230	180	230	301	247
‘Феміда’	110	212	175	230	301	247
‘Феміда М29’	167	212	175	178	301	245
‘Феміда М32’	113	212	175	230	301	245
‘Подільська 416’	110	215	175	230	301	245
‘Подільська 416 М33’	141	234	180	230	301	247
‘Подільська 416 М38’	141	234	180	230	301	245
‘Подільська 416 М40’	113	212	175	230	301	247
‘Рось’	145	215	178	178	270	243
‘Вілана’	167	234	175	249	301	247
‘Наросю OT 89-5’	167	183	175	216	301	247
‘Cormoran AC’	131	183	178	178	270	247
‘Maple Arrow’	131	215	178	178	215	247

Порівняно з алелями МС-локусів у вихідних сортів у мутантних лініях були виявлені зміни розміру алелів для 10 похідних ліній. Ці зміни можна пояснити дією мутагенних речовин, що застосовувалися для обробки насіння сої. Мутагени могли викликати нестабільність і мутації в «гарячих точках» геному, до яких можуть бути віднесені і МС-локуси. Ми також припускаємо, що мутагенна обробка може впливати на генеративний апарат сої [235], що призводить до відкритого цвітіння та можливого запилення пилком інших сортів та ліній сої, вирощених поруч із експериментальними ділянками. Загалом соя є самоzapильною рослиною, але за інформацією [127, 178] в природних умовах перехресне запилення може відбуватися з низьким відсотком (в середньому 1,8%). Нажаль на сьогодні в літературі недостатньо інформації, щоб сказати, чи може відсоток перехресного запилення зростати після мутагенної обробки, але можна припустити, що це ймовірно. Не залежно від причин зміни алелів у тестованих МС-локусах, яку ми спостерігали, у досліджених мутантних ліній, селекціонери знайшли та відібрали лінії, які варіювали за висотою, розміром міжвузлів, висотою кріплення нижнього бобу на головному стеблі. Саме цей матеріал ми аналізували за допомогою МС-маркерів. Так, за локусом *Satt100* виявлено п’ять алелів у мутантних лініях та вихідних сортах та додатковий алель для контрольного сорту ‘Рось’. Для локусу *Satt319* було виявлено три алеля. За

нашими результатами, сорт ‘Оксана’, мутантні лінії ‘Оксана М12’ та ‘Феміда М29’, які мають фрагмент ампліфікації 167 п.н. за локусом *Satt100* та фрагмент ампліфікації 175 п.н. за локусом *Satt319*, мають домінантний алель гена *E7*. Генотипи сорту ‘Вілана’ і ізолінії ‘Harosoy OT89-5’ були використані як носії домінантного алеля гена *E7* в якості контролю, вони мають однакові алелі за *Satt100* - 167 п.н. і 175 п.н. за локусом *Satt319* з відзначеними вище генотипами. Зазначимо, що за даними Molnar et al. [111], алелі 167 п.н. за МС-маркером *Satt100* і 175 п.н. за *Satt319* асоціюються з домінантним алелем гена *E7*. У нашому дослідженні виявлено алель 175 п.н. за локусом *Satt319* у сорту ‘Феміда’, лінії ‘Феміда М32’, сорту ‘Подільська 416’, лінії ‘Подільська 416 М40’, але не було підтвердження наявності домінантного алеля *E7*, коли ми аналізували ці лінії за локусом *Satt100* [235]. Тому, стверджувати про наявність домінантного алелю *E7* в генотипах цих сортів і ліній ми не можемо.

Сорт ‘Подільська 416’ показав наявність домінантного алеля *E3*, оскільки для цього сорту ми виявили фрагмент ампліфікації розміром 215 п.н. за локусом *Satt229*, такий самий алель мав бути присутнім у контрольному сорті ‘Maple Arrow’, який є носієм домінантного гену *E3*, за даними [111]. Ми не виявили жодних домінантних алелів за геном *E2* у досліджуваних вихідних та мутантних генотипах. Лише у сорту Рось, який є носієм домінантного алелю *E2*, у ПЛР з праймерами до *Sat_038* детектовано фрагмент розміром 243 п.н., подібного алеля не знайдено у інших сортів і ліній [202].

Однією з цілей селекції сої в Україні є створення ультра ранніх сортів з високим урожайним потенціалом для того, щоб створити рентабельний сорт, який дасть високий урожай якомога раніше та дозволить підготувати поле для посіву озимих культур. Для створення таких генотипів, на думку селекціонера, к.с.-г.н. С.В. Іванюка, необхідно поєднувати рецесивні алелі *e1*, *e2*, *e3*, *e4*, *e5*, *e7* в одному генотипі нового сорту шляхом схрещування різних донорських джерел сої. Goloenko et al. [47] на основі своїх досліджень за 7 алелями заявили, що рецесивний генотип для всіх цих генів сприяв підвищенню врожаю сої в

Білорусі. Miladinovich et al. [108] показали, що комбінація алелів *e1-as e2 E3 E4* була найбільш поширеною для високопродуктивних генотипів сої на дослідницьких полях Інституту польовництва та овочівництва в м. Нові-Сад (Сербія). Автори заявили, що ця специфічна комбінація алелів, можливо, є оптимальною для кліматичної зони Центрально-Східної Європи.

Під час аналізу сучасних сортів сої української селекції, спираючись на дані Kurasch et al. [79], ми припустили, що за аналогією з сортом 'Галина', лінії 'Оксана М2', 'Золотиста М16', 'Золотиста М20', похідні лінії від сортів 'Оксана' і 'Золотиста', відповідно, за локусом *Satt229* можуть нести алель *E3-Ha* (розмір фрагменту ампліфікації 230 п.н.), а лінії 'Золотиста М16' і 'Феміда М29' (похідна від сорту 'Феміда') за локусом *Satt354* характеризувалися фрагментом 178 п.н., можуть виявитися носіями домінантного алелю гена *E4*. Хоча за даними ПЛР-аналізу з алель-специфічними праймерами наші припущення щодо лінії 'Феміда М29' не підтвердилися. У нашому експерименті домінантний алель *E1* був виявлений у лінії 'Золотиста М16', оскільки ця лінія має алель 270 п.н. за локусом *Satt365* (рис. 3.8), той самий алель був присутній у контрольному сорті 'Сормоган АС' з домінантним алелем *E1*.

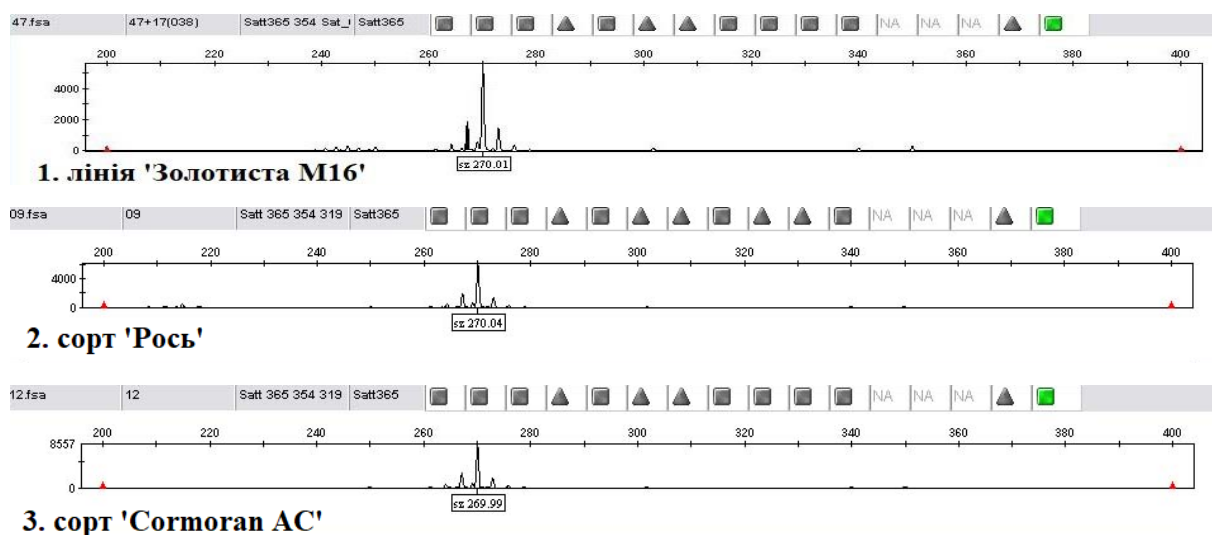


Рис. 3.8. Електрофоретичний спектр фрагментів ампліфікації з МС-маркером *Satt365*, виявлений за допомогою генетичного аналізатора ABI PRISM® 3500

Значні відмінності за фазами розвитку рослин сої, такими як цвітіння-дозрівання (рис. 3.9, а) та вегетаційний період (табл. 3.8) були виявлені між досліджуваними лініями протягом трьох років польових випробувань в Вінницькій області (49° півн.ш.) для.

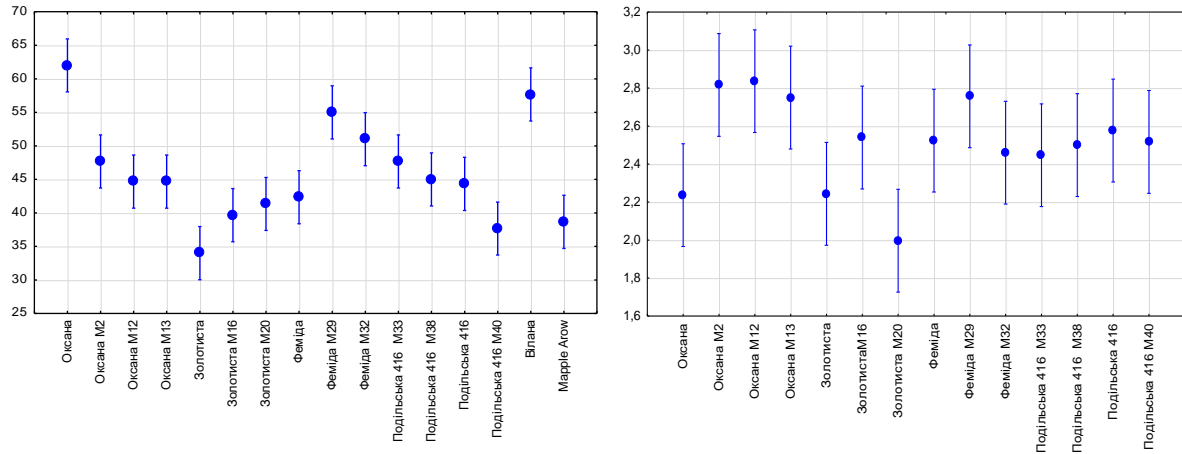
Таблиця 3.8

Середні значення ознак для різних ліній за три роки досліджень

Батьківські сорти / мутантні лінії	Час до цвітіння (дні)*	Час дозрівання (дні)**	Веgetаційний період (дні)	Сходи-цвітіння (дні)	Врожайність (т/га)
‘Оксана’	37,3	62,0	149,0	44,0	2,24
‘Оксана М2’	44,0	47,7	134,0	52,3	2,82
‘Оксана М12’	48,3	44,7	131,0	56,7	2,84
‘Оксана М13’	48,0	44,7	131,0	56,3	2,75
‘Золотиста’	27,7	34,0	121,0	34,3	2,24
‘Золотиста М16’	28,7	39,7	126,0	37,0	2,54
‘Золотиста М20’	39,0	41,3	128,0	47,3	2,00’
‘Феміда’	26,7	42,3	129,0	33,3	2,52
‘Феміда М29’	42,3	55,0	141,0	50,7	2,76
‘Феміда М32’	36,3	51,0	137,0	44,7	2,46
‘Подільська 416’	35,3	44,3	131,0	42,0	2,58
‘Подільська 416 М33’	43,0	47,7	134,0	51,3	2,45
‘Подільська 416 М38’	43,7	45,0	131,0	52,0	2,50
‘Подільська 416 М40’	35,7	37,7	124,0	44,0	2,52
‘Вілана’	39,3	57,7	144,0	46,0	-
‘Maple Arrow’	35,3	38,7	125,0	42,0	-
НР _{0,05}	-	11,31	12,52	-	-
НР _{0,01}	-	15,2	16,74	-	-

Примітки: * - дні часу до цвітіння з 1 червня ** - дні часу дозрівання з 1 серпня

Між усіма дослідженими генотипами не було суттєвих відмінностей за даними однофакторного аналізу у часі до цвітіння та довжині періоду сходи-цвітіння і врожайності (табл. 3.9, рис. 3.9, б).



А)

Б)

Рис.3.9. Середні значення \pm станд. похибка за ознакою: **А)** час дозрівання у днях з початку серпня (вісь координат); **Б)** урожайність в т / га (вісь координат) для мутантних ліній та батьківських сортів сої за період трирічних спостережень (2016 - 2018). Вуса (лінії) від показника значення – стандартна похибка

За даними однофакторного дисперсійного аналізу, алелі МС-локусів *Satt229* та *Satt365* не впливали на досліджені ознаки (табл. 3.9). З іншого боку, алелі МС-локусу *Satt100* впливали на всі ознаки, крім часу до цвітіння; алелі МС-локусів *Satt319* та *Satt354* впливали на довжину вегетаційного періоду та час дозрівання сої; і алелі МС-локусу *Sat_038* впливали на час до цвітіння та період сходи-цвітіння. Лінії з алелями 167 п.н. за локусом *Satt100* та 175 п.н. за *Satt319* (що маркують домінуючий алель *E7*), мали більш тривалий вегетаційний період та їх дозрівання відбувалося пізніше, ніж у інших ліній.

Не було визначено достовірної кореляції між ознаками час до цвітіння та довжиною вегетаційного періоду на матеріалі мутантних ліній та їх вихідних форм ($r = 0,03$) (рис. 3.11), між урожайністю і часом дозрівання ($r = 0,03$),

урожайністю і часом до цвітіння ($r = -0,22$). Між урожайністю та довжиною вегетаційного періоду ($r = 0,32$) була достовірна кореляція ($P \leq 0,05$).

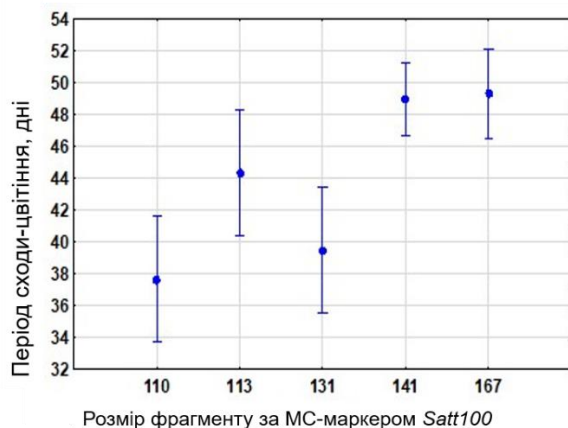
Таблиця 3.9

Данні однофакторного дисперсійного аналізу варіацій ознак

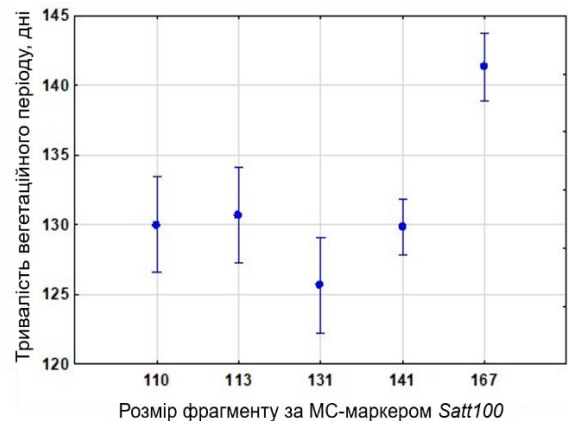
МС-локус / ознака	Джерело варіації							
	Час до цвітіння	Зд ^{ЧДЦ}	Час дозрівання	Зд ^{ЧД}	Тривалість вегетаційного періоду	Зд ^{ТВГ}	Сходи-цвітіння	Зд ^{СЦ}
<i>Satt100</i> (df =4)	214,81	103,15	349,3***	62,0	350,1**	70,2	243,9*	93,6
<i>Satt229</i> (df =3)	126,94	111,68	53,1	88,8	48,6	97,1	137,8	104,3
<i>Satt319</i> (df =2)	183,78	109,49	334,1*	75,5	336,6*	83,2	212,7	101,7
<i>Satt354</i> (df=3)	256,99	102,81	275,0*	73,6	274,5*	81,7	263,8	95,7
<i>Satt365</i> (df =2)	163,71	110,38	153,1	83,5	151,8	91,4	158,1	104,1
<i>Sat_038</i> (df=1)	500,00*	104,23	74,8	86,7	66,6	94,6	586,8*	96,0

Примітки: Зд - залишкова дисперсія; ЧДЦ – час до цвітіння; ТВГ-тривалість вегетаційного періоду; СЦ – сходи-цвітіння; * Достовірне значення за $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ і *** $p \leq 0,001$. df – число ступенів свободи

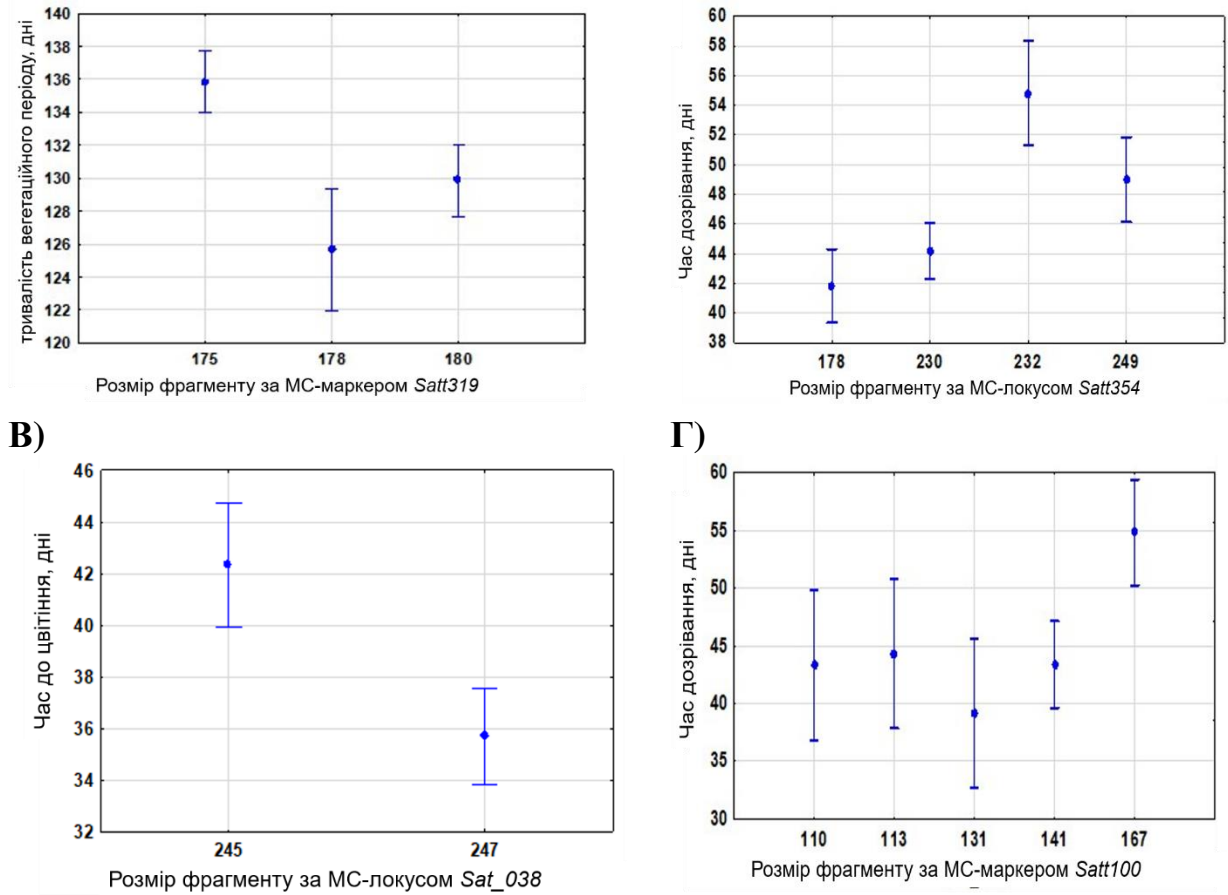
Таким чином, більш тривалий вегетаційний період призводить до підвищення врожаю при вирощуванні в умовах характерних для агрокліматичної зони Лісостепу України. В умовах вирощування характерних для Білорусі домінуючий алель *E7* затримував цвітіння рослин сої на 4-5 діб [130].



А)



Б)



Д) Е)
Рис.3.10. А, Б, В, Г, Д, Е - середні значення ознак (вертикальна вісь) залежно від наявності алелів МС-локусів. Графіки показника значення – стандартна похибка

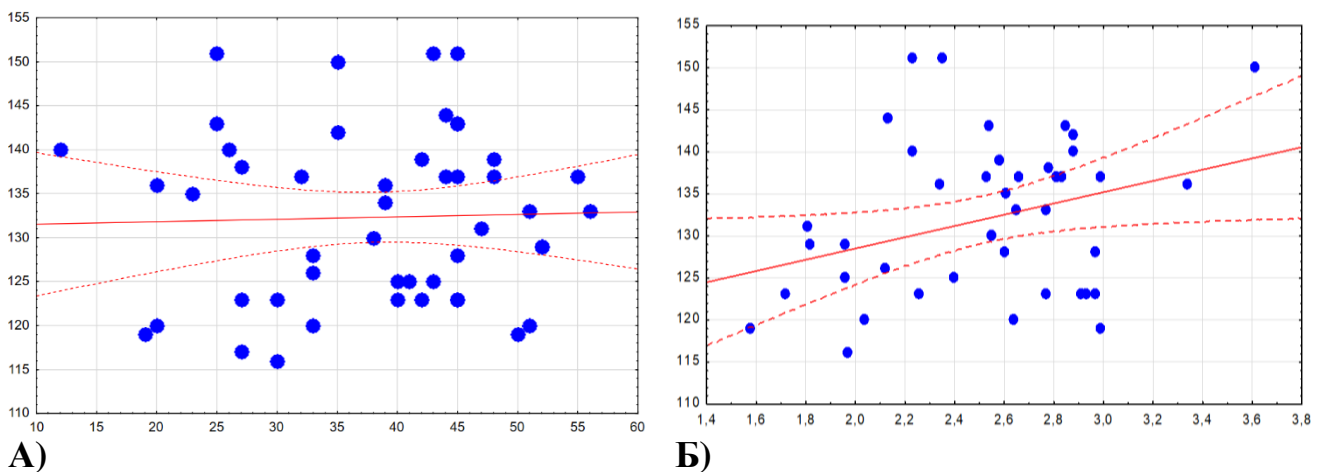


Рис. 3.11. Кореляція між ознаками: **А)** час дозрівання (горизонтальна вісь) та довжина вегетаційного періоду (вертикальна вісь) $r = 0,03$; **Б)** Врожай

(горизонтальна вісь) та довжина вегетаційного періоду (вертикальна вісь) ($r = 0,32$; $p = 0,05$).

За даними Molnar et al. [111], МС-маркер *Satt354* можна використовувати для виявлення алелів *E4*; так, домінантний алель *E4* відповідає фрагменту ампліфікації 251 п.н. Згідно особистого повідомлення к.б.н. О.А. Аксьонової (Інститут генетики та цитології, Мінськ), фрагмент ампліфікації для сорту 'Вілана' має менший молекулярний розмір, ніж у контрольній лінії 'L64-4830' з домінантним алелем. У нашому дослідженні всі розміри фрагментів ампліфікації були меншими, ніж у сорту 'Вілана', тож за результатами МС-аналізу ми не можемо стверджувати про наявність домінантного алеля гена *E4*. Проте при аналізі літератури, як ми вже раніше описували у розділі 3.2. дисертаційної роботи, алель з розміром фрагменту 178 п.н. детектований нами у сорті 'Галина', генотип якого в дослідженнях Kurasch et al. [79] виявився носієм домінантного алелю *E4*. Тобто, за нашими припущеннями, лінії 'Золотиста М16' та 'Феміда М29' потенційно можуть нести домінантні алелі *E4*. Мутанті лінії з алелем 232 п.н. за локусом *Satt354* досягали зрілості пізніше, ніж лінії з іншими алелями за цим локусом (рис. 3.9). Однак, у літературі немає відомостей про те, що фрагмент 232 п.н. маркує домінантний алель *E4*.

Лінії з алелем 247 п.н. за локусом *Sat_038* (зчеплений з *E2*) зацвітали раніше, ніж лінії з алелем 245 п.н. в польових дослідках.

Генотипи з однаковими алелями для кожного згаданих генів *E* були згруповані разом. Домінантний алель *E1*, присутній у мутантній лінії 'Золотиста М16', міг впливати на більш раннє цвітіння (приблизно 10 днів), ніж показали інші лінії та сорти, і період сходи-цвітіння був на 10 днів коротшим для цієї лінії порівняно з усіма лініями отриманими шляхом хімічного мутагенезу. Але, звичайно, додатково це скорочення періодів може бути також спричинене взаємодією генотипу з комбінацією алелів генів *E* з екологічними умовами та

генетичним фоном сорту. Ми не спостерігали значних ефектів *E3* на досліджені агрономічні ознаки.

Алелі гена *E7*, визначеного за допомогою МС-локусів, достовірно впливали на час до цвітіння, час дозрівання, довжину вегетаційного періоду, та довжину періоду сходи-цвітіння. Так, генотипи з домінантним алелем *E7* характеризувалися більш пізнім цвітінням, дозріванням та більш довгим вегетаційним періодом. Генотипи з алелями *E7_{Satt319}* та *e7_{Satt100}* не мали достовірних відмінностей у тривалості періоду сходи-цвітіння, але лінії з алелем 175 п.н. за локусом *Satt319* (*E7_{Satt319}*) характеризувалися коротшим періодом сходи-цвітіння на 6 або 9 днів, порівняно з *e7_{Satt100}*. Крім того, для ліній з алелем *e7_{Satt100}* та алелем *E7_{Satt319}* не було відмінностей у ознаках довжина вегетаційного періоду та час дозрівання, для генотипів сої з домінантним алелем *E7* строк дозрівання був пізнішим, а вегетаційний період був довшим на 10 днів.

Кожна з двох груп з домінантними алелями *E1* та *E3* містили лише один генотип. А саме, за результатами МС-аналізу ми прогнозували наявність *E1* у лінії ‘Золотиста М16’ та *E3* для сорту ‘Подільській 416’. Ми припустили, що лінії, створені на основі одного сорту, повинні мати менші генетичні відмінності, ніж лінії створені на основі різних сортів. Отож, спробували порівняти лише рослини однієї групи між собою. Всередині групи, створеної з одного вихідного генотипу, наприклад, група, створена на базі сорту ‘Подільська 416’ (входять лінії ‘Подільська 416’, ‘Подільська 416 М33’, ‘Подільська 416 М38’, ‘Подільська 416 М40’) не виявлено достовірного ефекту алелю *E3* на досліджені ознаки Така ж ситуація була і з алелем *E1* у групі на основі сорту ‘Золотиста’. Однак, беручи до уваги дані Abugaliéva et al. [2], щодо аналізу алель-специфічними праймерами сорту ‘Золотиста’, було виявлено, що це сорт є носієм домінантного алелю *E3*, за нашими результатами, цей сорт за локусом *Satt229*, характеризувався фрагментом розміром 234 п.н. Такий самий розмір демонстрували мутантні лінії ‘Подільська 416 М33’, ‘Подільська 416 М38’ та ‘Оксана М12’, ‘Оксана М13’. То ж ми припускаємо, що вказані лінії можуть бути носіями домінантного алелю

E3. При цьому, три з вказаних ліній мали однакові час дозрівання (45 днів) і вегетаційний період (131 день), окрім лінії ‘Подільська М33’, яка мала на 3 дні довший період вегетації, та дещо довший час дозрівання (майже 48 днів), це можна співставити з даними [190], і [79], які повідомляли про вплив домінантних алелів *E3* і *E4* на час дозрівання, подовжуючи його. За інформацією Abugalieva et al. [2], сорті ‘Подяка’ виявлена генотипова комбінація алелів *e1-as e2 E3 E4*, за нашими результатами електрофорезу продуктів ампліфікації сорту ‘Подяка’ за локусом *Satt229* детектовано алель розміром 212 п.н..

Група генотипів похідних від сорту ‘Феміда’, й сам сорт ‘Феміда’, і мутантна лінія ‘Подільська 416 М40’ показали фрагмент такого ж розміру у 212 п.н., це дає можливість припустити, що зразки з фрагментом 212 п.н. потенційно можуть нести домінантний алель *E3*. Отримані нами результати польових досліджень характеризують лінію ‘Подольська 416 М40’, як генотип з найкоротшим вегетаційним періодом у 124 дні, що на 7 днів коротше за батьківську форму. Це скорочення часу вегетації відбувалося за рахунок більш короткої фази дозрівання, майже на 7 днів менше ніж у сорту ‘Подільська 416’, при цьому фаза сходи-цвітіння в цієї мутантної лінії було на 2 дні довше (44 дні), ніж в батьківської форми (42 дні). Ця ж лінія ‘Подільська 416 М40’ демонструвала найвищу врожайність 2,52 т/га серед 3 ліній-нащадків вихідної форми.

Щодо лінії ‘Феміда М29’, то знову звертаючись до даних, отриманих за алель-специфічними маркерами до сортів сої Abugalieva et al. [2], можливо висунути припущення, що генотип цієї мутантної лінії складається з комбінації *e1-as* (301 п.н. за *Satt365*) *e2* (245 за *Sat_038*), *E3* (212 п.н. за *Satt229*), *E4* (178 п.н. за *Satt354*), *E7* (167 п.н. за *Satt100* та 175 п.н. за *Satt319*), та порівняно з сестринською лінією ‘Феміда М32’ та вихідним сортом ‘Феміда’, має подовжені фази онтогенезу, і триваліший вегетаційний період. Так, лінія ‘Феміда М29’ в порівнянні з вихідною формою на 16 днів довше переходила до фази цвітіння, на 13 днів довше – до фази дозрівання, на 17 днів більше тривав період сходи-

цвітіння та період вегетації на 12 днів довше, склав 141 день проти 129 днів у вихідного сорту ‘Феміда’, що свідчить про більшу фотоперіодичну чутливість мутантної лінії ‘Феміда М29’, порівняно з вихідною формою. Це відзначилося і на врожайності, яка у лінії ‘Феміда М29’ на 0,24 т/га вище ніж у вихідного сорту (2,76 т/га, проти 2,52 т/га). Таким чином, можна говорити про тенденцію генотипу лінії ‘Феміда М29’ з комбінацією алелів *e1-as e2 E3 E4 E7* до подовження фаз онтогенезу, вегетаційного періоду та збільшення врожайності рослин сої.

Мутантні лінії ‘Оксана М12’, ‘Оксана М13’ з подібними генотипами за алелями всіх досліджених локусів, окрім локусу *E7*, який визначається алелями маркерних локусів *Satt100* і *Satt319*. За цими локусами перша лінія ‘Оксана М12’ є носієм фрагментів 167 п.н. і 175 п.н., тож встановлено, що ця лінія є носієм домінантного алелю *E7*, а друга лінія ‘Оксана М13’ – з 141 п.н. і 180 п.н., виходячи з результатів, несе рецесивний алель *e7*. Обидві лінії мають незначну різницю у показниках тривалості фаз розвитку (цвітіння, дозрівання), включаючи вегетаційний період у 131 день, але відрізняються за ознакою врожайності. Так, у лінії ‘Оксана М12’ врожайність на 0,9 т/га більше ніж в у лінії ‘Оксана М13’, та на 0,6 т/га більше ніж в вихідного сорту ‘Оксана’. Це на нашу думку може бути пов’язане з наявністю домінантного алелю *E7* у мутантної лінії ‘Оксана М12’. За даними [222], домінантний алель *E7* сприяє підвищенню врожайності.

Слід зазначити, що в проведеному трирічному польовому експерименті сорт ‘Золотиста’, який належить до групи зрілості 00, був більш раннім ніж інші перевірені генотипи, але його мутантні лінії мали тенденцію цвісти та дозрівати пізніше вихідного сорту (‘Золотиста’).

Мутантні лінії з сорту ‘Оксана’ (І група стиглості) характеризувалися скороченим на 18 днів періодом вегетації, в порівнянні з вихідною формою ‘Оксана’. Для сорту ‘Золотиста’ тривалість вегетаційного періоду була

коротшою на 28 діб (майже на 1 місяць) порівняно з сортом ‘Оксана’, що говорить, про більшу нейтральність до зміни фотоперіоду першого сорту.

Таким чином мутантні лінії, досліджені в роботі можуть бути залучені до селекції сортів сої з різним рівнем фотоперіодичної чутливості, термінами стиглості, тривалістю вегетаційного періоду і, отже, здатності до адаптації в умовах помірного клімату Північної півкулі. Наприклад, мутантні лінії, створені на основі сорту ‘Оксана’, мають достовірно коротший вегетаційний період ($p = 0,05$ і $p = 0,01$) приблизно на 15-18 днів, ніж вихідний сорт через більш ранню зрілість. Лінія ‘Феміда М29’ досягла зрілості достовірно ($p = 0,05$) пізніше на 13 днів, ніж вихідний сорт ‘Феміда’.

Зміни у часі до цвітіння та довжині вегетаційного періоду, які ми виявили для мутантних ліній порівняно з вихідними сортами, залежать від міри коливання тривалості вегетаційного періоду у групах стиглості та між групами стиглості, що можна порівняти з дослідженнями Liu et al. [94], але якщо отримані мутантні лінії сої ІКСГП будуть вирощені в інших екологічних умовах, відмінності в часі дозрівання можуть стати достовірними. Взагалі, мутантні лінії, виведені в ІКСГП, цікаві не тільки для селекційного процесу, але і для дослідження молекулярного механізму змін геному сої, що дозволяють створювати лінії з різним часом стиглості та вегетаційним періодом. Ці дані ще раз демонструють, що в українських умовах вирощування досліджені МС-локуси можуть бути корисними інструментами для маркерної селекції сортів сої з запрограмованими термінами розвитку. Як зазначають Rosenzweig et al. [129] та Мирошніченко з співавт. [253], найбільш помітним для цієї цілі є домінантний алель *E7*, який не впливає на час цвітіння, порівняно з рецесивним алелем. В нашому дослідженні лінії з домінантним алелем *E7*, мали подовжену репродуктивну стадію, що позитивно відбивається на підвищенні продуктивності сої. Не дивлячись на те, що в наших експериментах ми отримали дані про те, що *E7* знижує врожайність у групі генотипів, створених на основі сорту ‘Оксана’, існують відмінності між лініями з тим самим *E7*-генотипом,

тому дослідження слід продовжувати на спеціальному генетичному матеріалі наприклад, близько ізогенних лініях або аналогових лініях.

Тривалість періоду сходи-цвітіння для ліній сої з алелями *E7* та *e7* відрізнялися не достовірно, але у ліній з алелем 175 п.н. за локусом *Satt319* період сходи-цвітіння був на 6-9 днів коротшим. Лінії з *e7* та алелем 175 п.н. за локусом *Satt319*, не показали відмінностей у вегетаційному періоді та часі дозрівання. Для генотипів сої з алелем *E7* час до цвітіння був на 3-9 діб довший, а вегетаційний період довший на 10-11 днів.

За нашими результатами, алелі за локусом *Sat_038* впливали на час до цвітіння та період сходи-цвітіння. Лінії з доміантним алелем *E7* (характеризувалися фрагментами ампліфікації 167 п.н. за *Satt100* і 175 п.н. за *Satt319*) мали подовжений вегетаційний період та фазу дозрівання, порівняно з генотипами з рецесивними алелями за цим локусом. Група генотипів, носіїв доміантного *E7*, створених на основі сорту ‘Оксана’, з довшою фазою сходи-цвітіння порівняно з батьківським сортом, мали тенденції до збільшення врожайності (до 0,6т/га, відносно вихідного сорту).

Наші припущення щодо алельного складу за локусами *E3*, *E4* зазначеної вибірки сортів та похідних від них мутантних ліній, перевірялися застосуванням алель-специфічних маркерів. Спираючись та отримані дані, ми пересвідчилися, що мутагени похідні тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-піридину призводили до змін у геномі сої та збільшення генетичної різноманітності у МС-локусах, зчеплених з *E* генами, що визначають фотоперіодичну чутливість сої.

Так, за результатами алель-специфічної ПЛР, носіями рецесивного алелю *e3-tr* виявилися лінії ‘Оксана М12’, ‘Оксана М13’, та похідна лінія ‘Подольська М33’ з фрагментом ампліфікації, розміром 558 п.н., в усіх інших лініях нами детектовано алель *E3-Ha* (рис.3.12).

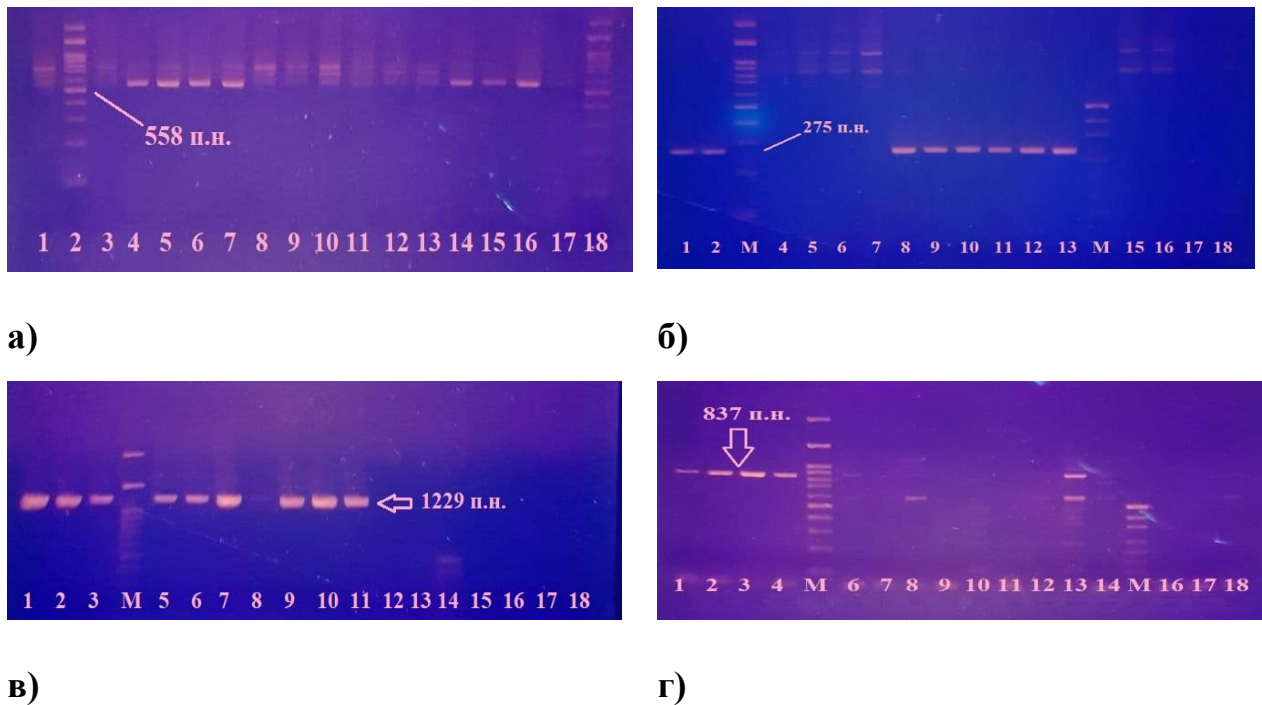


Рис. 3.12. Електрофорез в 1,0% 1,5%, 2,0 % агарозних гелях з фракціонованими фрагментами ампліфікації продуктів ПЛР з алель-специфічними маркерами для низки сортів і ліній сої: **а)** *E3-Ha* доріжка 1, 3 – ‘Оксана М12’, 4, 5 – ‘Оксана’, 6, 7 – ‘Оксана М2’, 8-10 – ‘Оксана М13’, 11-13 – ‘Подільська 416 М33’, 14-16 – ‘Подільська 416’, 17 – ‘Подільська 416 М33’, 2, 18 – маркер молекулярної маси CLS-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU; **б)** *e3-tr* доріжка 1, 2 – ‘Золотиста’, 4-5 – ‘Золотиста М16’, 6-7 – ‘Золотиста М20’, 8-9 – ‘Оксана М12’, 10-11 – ‘Оксана М13’, 12-13 – ‘Подільська 416 М33’, 15-18 – Подільська 416; **в)** *E4* доріжка 1-3 – ‘Оксана’, 5-6 – ‘Оксана М2’, 7-8 – ‘Оксана М12’, 9-11 ‘Оскана М13’, 12-13 – ‘Золотиста’, 14-15 – ‘Золотиста М16’, 16-18 – ‘Золотиста М20’; **г)** *e4-SORE-1* доріжка 1-2 – ‘Золотиста’, 3-4 – ‘Золотиста М16’, 6-7 ‘Золотиста М20’, 8-10 – ‘Феміда’, 11-12 – ‘Феміда М29’, 13-14, 16 – ‘Феміда М32’, 17-18 ‘Подільська 416’; М – маркер молекулярної маси - CLS-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU

Цікаво, що вихідні сорти ‘Оксана’ і ‘Подільська 416’ проявили домінуючий алель *E3-Ha*, а похідні від нього лінії після проведення обробки хімічними мутагенами, демонстрували вже інший розмір фрагментів в 275 п.н. за локусом,

який характеризує дисфункціональний алель *e3-tr*. Для ліній ‘Золотиста М16’, ‘Золотиста М20’ ми спостерігали такі ж зміни в іншому напрямку, алель *e3-tr*, відновився до дикого типу, тобто можливо відбулася зворотня або супресорна мутація, яка призвела до реверсії алелю *E3-На*. Для більш точного визначення характеру мутації потрібне проведення секвенування цієї ділянки ДНК.

Можливо з цього приводу доречним є припущення про так звану «гарячу» точку геному, сайту високої мутабельності. Таким чином, є вірогідність використання зазначених мутагенів для подальшої розробки методів направленого мутагенезу, для штучного отримання мутацій в сайтах геному сої.

Генотипи мутантних ліній ‘Золотиста М16’, ‘Золотиста М20’ з фрагментом ампліфікації розміром 837 п.н., проявили алель *e4-SORE-1*, так само, як і в похідного сорту Золотиста. Інші генотипи сортів і ліній вибірки виявилися носіями домінантного алелю *E4*. Змін алелів за локусом *E4* в похідних мутантних лініях, які були б спричинені впливом мутагенів, нами виявлено не було (табл.3.10).

Виходячи з проведеного ПЛР-аналізу за алельспецифічними маркерами до локусів *E3*, *E4* дослідженої виборки сортів і мутантних ліній, можемо відзначити, що більше 70% генотипів виявилися носіями домінантних алелів *E3*, *E4* (рис. 3.13).

Таблиця 3.10

ПЛР за алель-специфічними маркерами до локусів *E3*, *E4* сортів і ліній сої отриманих шляхом хімічного мутагенезу

№ п/п	Сорт / лінії	Алель за алель-специфічним маркером
1	‘Оксана’	<i>E3-На E4</i>
2	‘Оксана М2’	<i>E3-На E4</i>
3	‘Оксана М12’	<i>e3-tr E4</i>
4	‘Оксана М13’	<i>e3-tr E4</i>

5	‘Золотиста’	<i>e3-tr e4-SORE-1</i>
6	‘Золотиста М16’	<i>E3-На e4-SORE-1</i>
7	‘Золотиста М20’	<i>E3-На e4-SORE-1</i>
8	‘Феміда’	<i>E3-На E4</i>
9	‘Феміда М29’	<i>E3-На E4</i>
10	‘Феміда М32’	<i>E3-На E4</i>
11	‘Подільська 416 М33’	<i>e3-tr E4</i>
12	‘Подільська 416 М38’	<i>E3-На E4</i>
13	‘Подільська 416’	<i>E3-На E4</i>
14	‘Подільська 416 М40’	<i>E3-На E4</i>

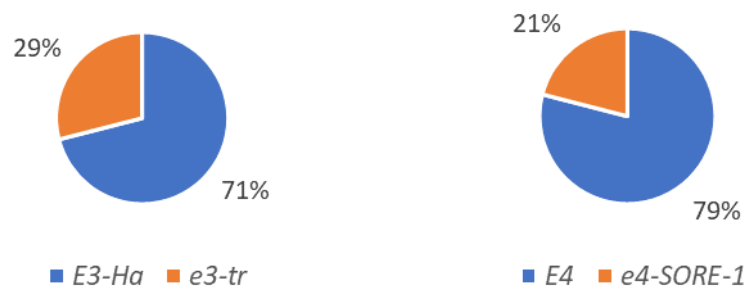


Рис. 3.13. Розподіл частот алелів генів *E3*, *E4* для вихідних сортів і ліній, отриманих шляхом хімічного мутагенезу

Польові спостереження демонстрували, що лінії ‘Оксана М12’, ‘ОксанаМ13’, носії алелів *e3-tr E4*, мали меншу тривалість вегетаційного періоду, порівняно з вихідною формою сортом ‘Оксана’ з генотипом з алелями *E3-На E4*, тобто припускаємо, що остання комбінація алелів впливає на подовження тривалості вегетаційного періоду.

Лінія ‘Феміда М29’ з домінантними алелями *E3 E4 E7* мала триваліший вегетаційний період, та вищу врожайність, порівняно з вихідною формою. Цей зв’язок також підтверджується і достовірною кореляцією між урожайністю та довжиною вегетаційного періоду ($r = 0,32$). Таким чином, можемо відзначити,

що генотипи з більш тривалим вегетаційним періодом призводять до підвищення врожаю в умовах вирощування характерних для агро-кліматичної зони Лісостепу України.

3.4. Генетико-біохімічні особливості сортів і ліній сої та їх кореляції з генами чутливості до фотоперіоду

Визначення цінних генотипів з досліджуваної вибірки для створення продуктивних сортів сої, адаптованих до заданого регіону, є одним з завдань проведення нашої роботи. Тенденції останніх років щодо глобальних змін клімату, з підвищенням середньорічних температур на території України (близько 2°C), нерівномірним розподілом вологи та впливом інших факторів навколишнього середовища, вказують на те, що створюються нові умови для розвитку рослин сої, в основних регіонах її вирощування. Наприклад, за прогнозами кліматологів в агро-кліматичній зоні Степу в наступне десятиріччя очікується настання затяжних періодів екстримально високих температур (посухи) [228], що негативно впливатиме на загальну врожайність сої – рослини вологого і помірно теплого клімату [281]. Швидкоплинність кліматичних змін та посилення агресивного впливу абіотичних чинників, потребує нових підходів для скорочення термінів проведення селекційної роботи та запровадження нових методів отримання селекційного матеріалу, спрощення методів для пришвидшення його первинного скринінгу.

Здатність до широкої адаптації рослин забезпечується механізмами уникнення та толерантності [239], які підпорядковують різноманітні системи відповіді організму рослини на абіотичні та біотичні фактори на всіх рівнях структурної організації і зачіпають практично всі функції рослини. Так, антиоксидантна знижує шкідливу дію вільних радикалів та активних форм кисню (АФК) – малих молекул, що мають надзвичайну активність завдяки присутності в їх складі неспарованих валентних електронів [243]. Підтримання у рослинних клітинах відповідного окислювально-відновлювального гомеостазу

за рахунок балансу утворення і знешкодження АФК, сприяє адаптації і підтримує нормальний розвиток рослини. Під дією помірному стресу адаптація рослин забезпечується індукцією антиоксидантного захисту для підтримання редоксбалансу [56]. Через підвищену продукцію АФК, або через виснаження антиоксидантного захисту, або завдяки поєднанню обох факторів, в клітинах порушується окислювально-відновлювальний баланс настає оксидативний стрес, що в кінцевому підсумку призводить до клітинного колапсу (апоптозу клітини) у рослин [72].

Основним генератором АФК в клітинах рослин є НАДФН-оксидазна ферментна система, залучена в захисні реакції, ріст і розвиток організмів, біосинтез гормонів, клітинну сигнальну трансдукцію і інші процеси [132].

До груп основних ферментів антиоксидантної системи рослин, що поглинають АФК, відносять пероксидазу (РОХ), супероксиддисмутазу (SOD), які каталізують реакції прямого руйнування пероксидних сполук [92, 109].

АФК є інтегративними сигнальними молекулами і відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах та функціонують разом з іншими сигнальними шляхами [266]. За інформацією [109] і [157], стрес-залежна надпродукція АФК в поєднанні з ауксиновим сигнальним шляхом приводить до стрес-індукованої генетичної відповіді. Інформація щодо можливих зв'язків між сигнальними шляхами систем антиоксидантної і фотоперіодичної чутливості у рослин сої на сьогодні відсутня.

Таким чином, для тестування та виявлення можливих зв'язків цих систем відповіді на стресові чинники, ми вирішили провести алозимний аналіз за ферментами антиоксидантної, НАДФН-оксидазної систем на випадково відібраних сортах і лініях сої, що вже були дослідженні нами за алельним станом локусів чутливості до фотоперіоду *E*.

Так, ми сформували вибірку сортів і ліній сої, генотипи яких проявляли стабільніші показники врожайності в різні роки спостереження (за сумарного впливу стресу від абіотичних чинників). За нашими припущеннями, стабільна

врожайність за впливу дії факторів навколишнього середовища, передбачає наявність в генотипах рослин високих показників активності ферментів антиоксидантної системи, як захисту від негативного впливу зовнішніх факторів, у порівнянні з рослинами з нижчими показниками стабільності врожаю. Тобто за нашою гіпотезою, існує зв'язок між активністю ферментів антиоксидантної системи та ознакою врожайності рослин сої.

За даними Сахно [266], активність SOD антиоксидантної системи рослин може бути використана для первинного скринінгу рослин на толерантність до сольового стресу і водного дефіциту. Автори [193], зазначали, що вивчення особливостей залежності активності SOD і вмісту хлорофілів під час посухи від генотипу пшениці дозволило зробити висновок про можливість використання величин активності SOD як критерію для селекції посухостійкого рослинного матеріалу. При дослідженні 11 сортів арахісу (*Arachis hypogaea*), автори [196] доповідали про високу позитивну кореляцію активності SOD і коефіцієнту посухостійкості за врожаєм (0,89 і 0,85) та зазначали доцільність використання величин активності SOD як індикатору посухостійкості у рослин арахісу, демонструючи залежність цього показника від генотипу.

За нашими припущеннями, дослідження показників активності ферментів антиоксидантної системи у сортах і лініях сої, та аналіз їх кореляційних зв'язків зі станом алелів, чутливих до фотоперіоду локусів *E*, можуть надати можливість передбачати генотипи з вищою адаптаційною спроможністю, пластичністю, а отже і з прогнозованою стабільністю врожаю стосовно стресових абіотичних чинників.

В першій частині роботи з ферментами на вибірці з 36 сортів і ліній сої, досліджували можливі кореляції алозимного аналізу електрофоретичних спектрів ензимів –пероксидази (POX) і супероксиддисмутази (SOD) (їх ізоформ з різною електрофоретичною рухливістю) – з алельним станом за локусами генів *E* і показниками врожайності певних сортів і ліній сої. В другій частині роботи вибірку з чотирьох зразків сої, окрім зазначених вище ферментів, аналізували за

електрофоретичним спектром ензиму НАДФ Н-оксидазою (NOX).

При вивченні бази даних Національного центру біологічної інформації (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) [230], ми встановили, що з 15 відомих генів гомологів *Rboh* (respiratory burst oxidase homologs), які кодують різні ізомери субодиниці білку NOX (NADPH oxidase), протеїни A, B, C, D, E, H, 3 знаходяться в групі зчеплення C2 з *E*-генами (на 6 хромосомі). Так, в середині секвенованої послідовності *GLYMA_06G162300* розташованого на 6 хромосомі на відстані у 6,8 Мб від генів *E1*, *E7*, є послідовність, що кодує протеїн RbohC. Ген *GLYMA_19G233900* з послідовністю кодуючою протеїн RbohB локалізований на 19 хромосомі на відстані 0,7 Мб від гену *E3*. Ген *GLYMA_20G236200*, який містить послідовність нуклеотидів, кодує протеїн RbohB розташовано в позиції 46,8 Мб на 20 хромосомі, що відстоїть на 13,6 Мб від гену *E4*.

НАДФ•Н-оксидази відіграють важливу роль у процесах передачі сигналів під час створення симбіозів бобово-ризобієвих [66], [101]. Ці ферменти визначені як основне джерело «окислювального вибуху» («oxidative explosion»), який спостерігався під час взаємодії рослин із патогенами [101], [110]. Ця взаємодія включає складну молекулярну взаємодію між рослиною-господарем та симбіонтом, що призводить до того, що кореневі волоски заражаються бактерією і в кінцевому підсумку формують кореневі бульбочки, в яких відбувається фіксація азоту [120].

Супероксиддисмутаза – фермент, що присутній майже в усіх клітинах організму і є ключовою ланкою в детоксикації АФК, шляхом дисмутації перетворює супероксидрадикал O_2^- у O_2 і H_2O_2 , який потім метаболізується в H_2O і O_2 каталазою та глутатіонпероксидазою [273]. У рослин відомо три ізоформи SOD, які відрізняються видами металів в активному центрі: цинк і мідь (Cu/Zn- SOD), марганець (Mn- SOD) або залізо (Fe- SOD) [246]. Всі ці три ізоформи відомі у рослин сої, білки-переносники направляють їх до відповідних субклітинних компартментів [121]. Кількість ізоформ SOD та їх співвідношення

є видоспецифічним. У сої визначено 14 генів гомологів супероксиддисмутази. З них гени *GLYMA_06G144500*, локалізовано на 6 хромосомі, кодує протеїн Mn-SOD, він знаходиться в групі зчеплення з генами *E1*, *E7*. На відстані у 15,3 Мб і 2,2 Мб від алелю *E2* на 10 хромосомі знаходяться гени *GLYMA_10G117100* і *GLYMA_10G193500*, відповідно, що кодують Fe-SOD і Fe-SOD-2-протеїни. Хромосома 19 містить ген *GLYMA_19G240400* з послідовністю нуклеотидів, яка кодує протеїн Cu/Zn-SOD, на відстані 1,2 Мб від гену *E3*. На хромосомі 20 на відстані 22,2 Мб і 10,2 Мб від гену *E4* локалізовані гени *GLYMA_20G050800* і *GLYMA_20G196900*, які кодують ферменти SOD-Fe-3 і Fe-SOD.

Активність різних ізоформ SOD неоднакова в різних органах рослин, а також змінюється у процесі розвитку під дією стресів. Загалом активність ізоформ SOD за фізіологічних умов змінюється при проростанні насіння [38], цвітінні [52], дозріванні насіння [85]. Однак, при проростанні насіння активність Mn-SOD знижується, водночас активність Cu/Zn-SOD – підвищується [103]. За дії окремих або поєднаних абіотичних стресів, зміна активності SOD виявляється у різних рослин на всіх етапах розвитку. За нормальних умов вирощування підвищена активність SOD виявляється у більш толерантних до стресів генотипів рослин, які здатні суттєво підвищити цю активність за несприятливих умов [266].

Пероксидаза відіграє важливу роль у диханні рослин, є поліфункціональним ферментом, легко окислює поліфеноли до хінонів, і теж виступає показником стійкості до стресових чинників. Кількість фенолів в рослині збільшується внаслідок впливу зовнішніх факторів (інфекція, хімічні окисники, екзогенні стимулятори та інгібітори росту, механічні стимули (вітер, тертя), реакції на хвороботворні бактерії, іони важких металів), та концентрується в місцях пошкодження, утворюючи захисний шар, при цьому підвищуючи активність пероксидази [80].

В рослин сої відомо 20 генів гомологів, які кодують ізоформи пероксидази. Нас цікавили гени, розташовані на хромосомах 6, як і алелі *E1*, *E7*, а саме ген

GLYMA_06G114400 в положенні 9,2 Мб, що кодує передбачений протеїн L-аскорбат пероксидаза-6, і ген *GLYMA_06G302600*, який займає позицію 49,1 Мб з сиквенсом, що кодує протеїн пероксидаза-6. На відстані у 6,2 Мб від позиції локусу *E3*, що знаходиться на групі зчеплення L на хромосомі 19, локалізовано ген *GLYMA_19G153900*, послідовність нуклеотидів, яка кодує протеїн родини глутатіон-пероксидази.

Вибірку для дослідження біохімічних характеристик сої за електрофоретичною рухливістю ізоформ ферментів пероксидази і супероксиддисмутази складала сорти ‘Кобза’, ‘Подяка’, ‘Мавка’, ‘Гєба’, ‘Галина’, ‘Золотиста’, ‘Полтава’, ‘Ромашка’, ‘Криниця’, ‘Оксана’, ‘Феміда’, ‘Подольська 416’, ‘Labrador’, і селекційні лінії ‘Оксана М2’, ‘Оксана М12’, ‘Оксана М13’, ‘Феміда М29’, ‘Феміда М32’, ‘Золотиста М16’, ‘Золотиста М20’, ‘Подольська 416 М33’, ‘Подольська 416 М38’, ‘Подольська 416 М40’, ‘СР-II №2220’, ‘СР-II №2226’, ‘СР-II №2359’, ‘СР-II №2234’, ‘КР-II №3035’, ‘СР-II №2367’, ‘СР-II №2377’, ‘СР-II №2375’, ‘СР-II №2372’, ‘КР-II №3045’, ‘КР-I №3014’, ‘ПСВ-II №4017’.

Метою цієї частини роботи було визначити поліморфізм у сортів і ліній сої за ізоформами ферментів антиоксидантної системи, встановити величини активності ізоформ та їх кореляції з алелями генами *E* та врожайністю.

В досліджуваних зразках нами виявлено до 14 електрофоретичних форм пероксидази. Спектри ензиму умовно поділено на п'ять зон: малорухлива-5 (відносна електрофоретична рухливість R_f 0,01-0,06), малорухлива-4 (R_f 0,08-0,14), області середньої рухливості 3 (R_f 0,18-0,21) і 2 (R_f 0,24-0,31) та швидкорухлива зона (R_f 0,34-0,37). Розподіл форм у спектрі мав нерівномірний характер: у середньому більше половини ензимної активності знаходилося у зонах середньої рухливості (R_f від 0,18 до 0,32), а біля третини у частині спектра з низькою рухливістю (R_f 0,01-0,06) (рис. 3.14).

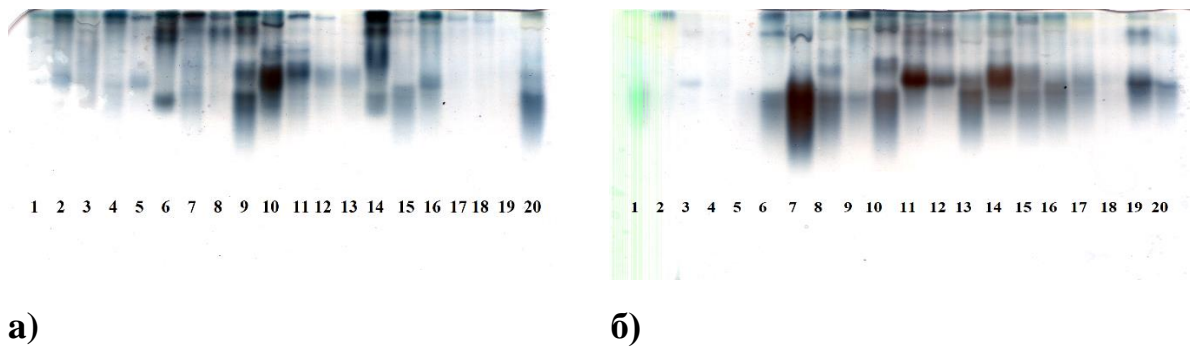


Рис. 3.14. Електрофоретичні спектри ензиму пероксидази за алозимного аналізу сортів і ліній сої: **а)** 1. ‘Кобза’, 2. ‘Подяка’, 3. ‘Мавка’, 4. ‘Геба’, 5. ‘Галина’, 6. ‘Золотиста’, 7. ‘Полтава’, 8. ‘Ромашка’, 9. ‘Оксана’, 10. ‘Оксана’, 11. ‘Оксана М2’, 12. ‘Оксана М12’, 13. ‘Оксана М13’, 14. ‘Криниця’, 15. ‘Феміда’, 16. ‘Феміда М29’, 17. ‘Феміда М32’, 18. ‘Золотиста’, 19. ‘Золотиста М16’, 20. ‘Золотиста М20’; **б)** 1. ‘Подольська 416 М33’, 2. ‘Подольська 416 М38’, 3. ‘Подольська 416’, 4. ‘Подольська 416 М40’, 5. ‘СР-II №2220’, 6. ‘СР-II №2226’, 7. ‘СР-II №2359’, 8. ‘СР-II №2234’, 9. ‘Labrador’, 10. ‘Оксана’, 11. ‘КР-II №3035’, 12. ‘СР-II №2367’, 13. ‘СР-II №2377’, 14. ‘СР-II №2375’, 15. ‘СР-II №2372’, 16. ‘КР-II №3045’, 17. ‘КР-I №3014’, 18. ‘ПСВ-II №4017’, 19. ‘СР-I №2226’, 20. ‘КР-I №3014’.

Досліджені сорти та лінії різнилися між собою за загальною пероксидазною активністю та за розташуванням окремих форм ензиму у спектрі. Так, дуже низька загальна активність ензиму була характерна для ліній ‘Феміда М29’, ‘Золотиста’, ‘Золотиста М16’, та у всіх мутантних ліній похідних від сорту ‘Подільська 416’, що можна пояснити низькою енергією проростання та кволим перебігом обмінних процесів в насінні, через тривале зберігання або завдяки дії мутагенів. В лініях ‘Золотиста М16’, ‘Подільська 416 М33’, ‘СР-I №2220’ не було виявлено активності повільних форм пероксидази, що, мабуть, теж залежить від фізіологічного стану насіння. Тобто, кожний зразок, який отримано з гіпокотилів паростків насінин сої одного сорту або лінії, мав своєрідний спектр пероксидази.

Аналіз спектрів ферменту SOD показав наявність до 15 електрофоретичних форм (рис. 3.15). У спектрі SOD чітко виявлялася мажорна зона (R_f 0,50-0,57), в якій у середньому зосереджувалось майже 80% всієї активності ензиму. Вважаємо, що такі показники характерні для перших днів розвитку гіпокотилу рослини, оскільки саме ця тканина відбиралася для тестування. Решта активності розподілялася в залежності від досліджуваного зразка між мало- (R_f 0,02-0,07), середньо- (R_f 0,14-0,44) та швидкорухливими (R_f 0,63-0,78) формами.

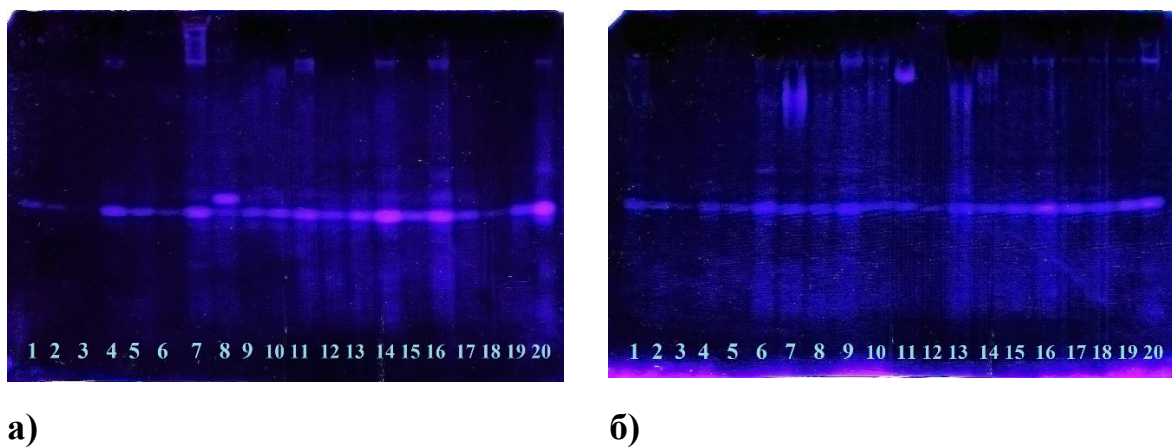


Рис. 3.15. Електрофоретичні спектри ензиму супероксиддисмутази за алозимного аналізу сортів і ліній сої: **а)** 1. 'Кобза', 2. 'Подяка', 3. 'Мавка', 4. 'Гєба', 5. 'Галина', 6. 'Золотиста', 7. 'Полтава', 8. 'Ромашка', 9. 'Оксана', 10. 'Оксана', 11. 'Оксана М2', 12. 'Оксана М12', 13. 'Оксана М13', 14. 'Криниця', 15. 'Феміда', 16. 'Феміда М29', 17. 'Феміда М32', 18. 'Золотиста', 19. 'Золотиста М16', 20. 'Золотиста М20'; **б)** 1. 'Подольська 416 М33', 2. 'Подольська 416 М38', 3. 'Подольська 416', 4. 'Подольська 416 М40', 5. 'СР-II №2220', 6. 'СР-II №2226', 7. 'СР-II №2359', 8. 'СР-II №2234', 9. 'Labrador', 10. 'Оксана', 11. 'КР-II №3035', 12. 'СР-II №2367', 13. 'СР-II №2377', 14. 'СР-II №2375', 15. 'СР-II №2372', 16. 'КР-II №3045', 17. 'КР-I №3014', 18. 'ПСВ-II №4017', 19. 'СР-I №2226', 20. 'КР-I №3014'

На підтвердження нашого припущення щодо можливого існування зв'язку між про- і антиоксидантними системами з відповіддю рослин на зміну

фотоперіоду (казуальності генів цих систем), ми провели пошук зв'язків між особливостями спектрів POX і SOD та станом алелів генів фотоперіодичної чутливості *E*. Виявлення казуальних генів є однією з важливих проблем сучасної генетики [216]. Це має значення як для маркування шуканого гена, так і для з'ясування механізму його функціонування.

Рівень зв'язку оцінювали за допомогою коефіцієнту кореляції Пірсона у програмі Microsoft Excel. Для розрахунку коефіцієнтів якісні показники (алелі, генотипи) кодували цифрами (відцифровували). Кореляційний аналіз виявив наступне (таблиця 3.11).

Таблиця 3.11

Значення коефіцієнтів кореляції за спектрами ферментів POX і SOD та станом генів фотоперіодичної чутливості *E*

Генетичні показники (алелі генів)	Показники спектрів								Співвідношення активності POX/SOD
	POX						SOD		
	Форма з <i>Rf</i> 0,14	Форма з <i>Rf</i> 0,06	Форма з <i>Rf</i> 0,21	Форма з <i>Rf</i> 0,24	Форма з <i>Rf</i> 0,31	Форма з <i>Rf</i> 0,24-0,31	Форма з <i>Rf</i> 0,63	Форма з <i>Rf</i> 0,72	
<i>E1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E7</i>	0,32*	0,56**	0,33*	-0,33*	-0,31*	-0,37*	-	-	-
<i>E3</i>	-	0,54**	0,39*	-	-	-	-	0,59**	-
<i>E4</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,35*
Алельна комбінація за локусами <i>E3</i> і <i>E4</i>	-	-	-	-	-	-	0,43**	-	0,32*

Примітка: *, ** - значення коефіцієнту достовірно при $p < 0,05$ і $p < 0,01$ відповідно, - достовірних значень немає

Як видно, багато форм пероксидази демонструє зв'язок з алельним станом локусу *E7*. Цей висновок цілком співпадає з результатами, отриманими за дослідження популяційних характеристик сукупностей сорту 'Феміда' та ліній, отриманих на її основі [275].

За інформацією із бази даних Національно центру біологічної інформації [230], ферменти L-аскорбат пероксидаза-6 і пероксидаза-6, експресуються генами *GLYMA_06G114400* і *GLYMA_06G302600* локалізовані на 6 хромосомі, та знаходяться на досить великій відстані (близько 40 Мб), один від одного і (10,9

Мб) від генів *E1* і *E7*. За даними Molnar et al. [111], гени *E1* і *E7* зчеплені між собою на відстані близько 1,73 сМ, однак, як впливає з кореляційного аналізу, домінантний алель гену *E7* має помірну позитивну кореляцію з мало рухливою формою (Rf 0,06-0,21) та помірну негативну з середньо рухливою формою пероксидази (Rf 0,021-0,34). Швидкі форми ферменту з електрофоретичною активністю (Rf 0,34-0,37) не демонстрували зв'язку з домінантним алелем *E7*. При цьому домінантний алель гену *E1*, напевно, проявляє свою дію без залучення зазначених форм ензиму, що за нашими припущеннями може свідчити про різну транскрипційну активність або функціональність алелів генів *E1* і *E7*, не дивлячись на тісну локалізацію на групі зчеплення С2 (6 хромосомі).

Для SOD форми ферменту з високою електрофоретичною активністю (Rf 0,72) демонстрували помірний позитивний зв'язок з домінантним алелем *E3*, а форми з середньою активністю (Rf 0,63) показали кореляцію з генотипами носіями комбінації домінантних алелів за генами *E3 E4*.

Також ми виявили зв'язок між співвідношенням загальної активності SOD з загальною активністю POX, з особливостями комбінації домінантних алелів *E3* і *E4*. При цьому, домінантний алель гена *E3* має асоційованість з деякими формами як POX, так і SOD. Ген *GLYMA_19G153900* (позиція 41,4 Мб), що кодує протеїн глутатіон-пероксидазу, та *GLYMA_19G240400* (позиція 48,8 Мб) - протеїн Cu/Zn-SOD, розташований на дистальному кінці хромосоми 19 з її загальним розміром у 50,7 Мб, при цьому останній локалізований на відстані 1,2 Мб від домінантного алелю *E3* (позиція 47,6 Мб). За інформацією Shmulz et al. [139], цей регіон 19 хромосоми відноситься до еухроматину, який активно транскрибується. Тож вважаємо, що накопичення продуктів транскрипції у вигляді ферментів глутатіон-пероксидази і Cu/Zn-SOD, може бути пов'язано з особливістю локалізації цих генів на ділянці активної транскрипції, та припускаємо, що при досягненні рослиною стадії розвитку R2, як вказує Fehr et al. [42] та переході до цвітіння, позитивна кореляція між зазначеними генами може посилитися, але це потребує перевірки додатковими дослідженнями.

За нашим припущенням, ферменти антиоксидантної системи приймають участь у запуску каскаду біохімічних реакцій, які є відповіддю на навколишні стресові чинники, та є проміжними ланками в сигнальних системах разом з іншими медіаторами. Тож, на основі отриманих даних можна припустити, що механізм дії гена *E7* може бути пов'язаний з функціонуванням пероксидазної ген-ензимної системи, а гена *E3* із взаємодією пероксидазної та супероксиддисмутазної систем.

Отримані результати свідчать про важливу роль досліджених ензимів у регуляції процесів розвитку рослин сої. Зазначене припущення узгоджується з результатами, отриманими на інших рослинних об'єктах [11, 12, 166].

Щодо можливих кореляцій з показників активності ферментів антиоксидантної системи з показниками врожайності сої, то нами встановлено слабкий зворотній зв'язок лише за загальною активністю фермента супероксиддисмутази (рис. 3.16).

Інших зв'язків за отриманими результатами показників активності ферментів антиоксидантної системи з врожайністю не виявлено.

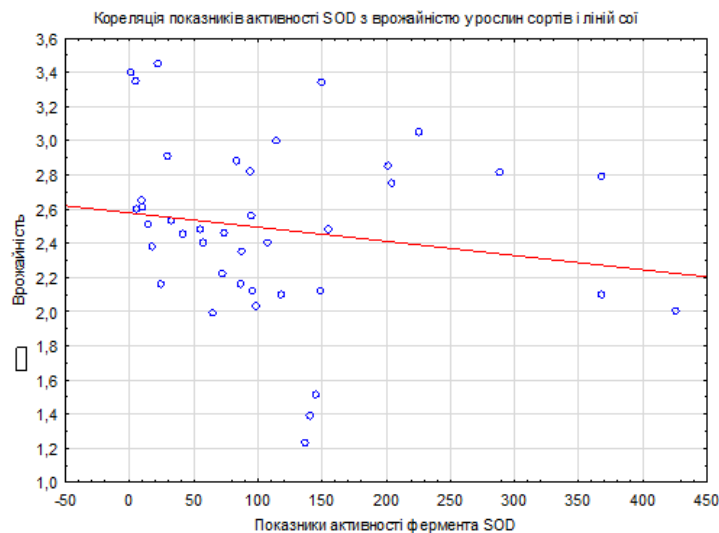


Рис. 3.16. Графік кореляції показників загальної активності супероксиддисмутази із врожайністю сої (середні показники за 3 роки), $r=-0,17$.

Відомо, що несприятливі умови зростання можуть приводити до підвищення рівня адаптації і генетичної гетерогенності, що, імовірно, забезпечує виживання

організму в умовах зміни клімату. Тож, нам було цікаво перевірити генетико-біохімічні особливості сортів 'Korada', 'Феміда' і похідних від останнього мутантних ліній 'Феміда М29' та 'Феміда М32'. Згідно характеристик оригінаторів, сорт 'Феміда', за умов вирощування у Вінницькій області, відноситься до середньостиглих сортів, має порівняно високий потенціал урожайності – 3,5 - 4,0 т/га, та пониженою чутливістю до дефіциту вологи у період формування генеративних органів, що визначає його особливу посухостійкість. Похідні лінії 'Феміда М29' і 'Феміда М32' відрізнялися між собою за показниками врожайності. Сорт 'Korada' канадської селекції, в Вінницькій області характеризується ранньостиглістю, меншою врожайністю 2,5-3,0 т/га. Нам було цікаво дізнатися про біохімічну складову цих сортів і ліній за ферментним складом антиоксидантної системи, та співставити отримані результати з даними за алельним станом генів *E* чутливих до зміни фотоперіоду. Ці сорти і лінії ми досліджували за електрофоретичними спектрами ензимів – НАДФ•Н-оксидази (NOX), пероксидази (POX) і супероксиддисмутази (SOD).

При генетичному трактуванні електрофоретичних спектрів НАДФ•Н -оксидази і пероксидази виходили з відомих даних про мономерну організацію цих ензимів [99]. Спектри супероксиддисмутази також адекватно описувалися такою моделлю.

Досліди здійснювали шляхом індивідуального аналізу окремих рослин кожного зразку. Всього виявлено сім локусів POX і по шість локусів NOX і SOD. Причому в залежності від генотипу деякі локуси проявляли себе по-різному. У сорту 'Феміда' і похідних від нього мутантів, локус NOX-1 був мономорфним за ізоформою з електрофоретичною *Rf* 0,33 рухливістю.

Однак у деяких рослин сорту 'Korada' не виявлялося цієї форми ензиму, що дозволяло трактувати локус NOX-1 як поліморфний з нуль-алелем. Подібна ситуація була з локусами POX-1, POX-2, POX-4 і SOD-4 (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Прояв алелів в локусах досліджуваних ензимів в різних зразках сої

Локус	Алелі	Rf	Сорт (лінія)				Характеристика локуса
			‘Феміда’	‘Феміда М32’	‘Феміда М29’	‘Korada’	
NOX-1	A	0.33	+	+	+	+	Поліморфний з 0-алелем
	a	-	0-алель	0-алель	0-алель	0-алель	
NOX-2	A	0.27	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.25	+	+	+	+	
NOX-3	A	0.22	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.20	+	+	+	+	
NOX-4	A	0.17	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.15	+	+	+	+	
NOX-5	A	0.10	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.07	+	+	+	+	
NOX-6	A	0.03	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.02	+	+	+	+	
POX-1	A	0.32	+	-	-	+	Поліморфний з 0-алелем
	a	-	0-алель	0-алель	0-алель	0-алель	
POX-2	A	0.27	+	-	-	+	Поліморфний з 0-алелем
	a	-	+	0-алель	0-алель	+	
POX-3	A	0.22	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.19	+	+	+	+	
POX-4	A	0.16	+	+	+	+	Поліморфний з 0-алелем
	a	-	+	0-алель	0-алель	+	
POX-5	A	0.11	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.09	+	+	+	+	
POX-6	A	0.07	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.06	+	+	+	+	
POX-7	A	0.04	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.02	+	+	+	+	
SOD-1	A	0.56	+	+	+	+	Мономорфний
SOD-2	A	0.51	+	+	+	+	Мономорфний
SOD-3	A	0.47	+	+	+	+	Поліморфний
	a	0.45	+	+	+	+	
SOD-4	A	0.37	-	-	-	+	Поліморфний з 0-алелем
	a	-	0-алель	0-алель	0-алель	0-алель	
SOD-5	A	0.22	+	+	+	+	Мономорфний
SOD-6	A	0.17	+	+	+	+	Мономорфний

Примітка: Rf - відносна електрофоретична рухливість алозиму; +, - - присутність, відсутність алозиму в досліджуваній групі рослин; поєднання «+» і «0-алель» означає присутність алозиму у частині рослин дослідженої групи; поєднання «-» і «0-алель» означає відсутність алозиму у всіх рослин дослідженої групи.

Всього з 19 локусів досліджуваних ензимів 15 були поліморфними з двома виявленими алелями. Таким чином, за досліджуваними ген-ензимними системами соя характеризувалася значною поліморфністю (0,79).

Із загальних закономірностей щодо змін частоти алелів слід зазначити наступне. Найбільш стабільними з поліморфних локусів були локуси НАДФ•Н-оксидази, але зміни проявлялися за алельним складом локусів пероксидази і супероксиддисмутази. Це можна пов'язати з особливостями регуляції балансу різних АФК: первинна продукція АФК проводиться НАДФ•Н-оксидазою, а контроль за їх кількістю забезпечується супероксиддисмутазою і пероксидазою.

За частотою генотипів досліджувані лінії та сорти сої розрізнялися ще більшою мірою: лінія 'Феміда М32' відрізнялася від сорту 'Феміда' за 5 локусами (33%), лінія 'Феміда М29' - за 9 (60%). Сорти 'Феміда' і 'Korada' не схожі між собою за 10 з 15 поліморфних локусів (67%). Крім кількісної зміни частот генотипів, спостерігалися інші форми трансформації генотипового складу. Так, у мутантних ліній в порівнянні з вихідною формою підвищувалася частка гетерозиготних генотипів за локусами NOX-3, -4, -5, а також локусом SOD-3. У локусах POX-3 і POX-6, навпаки, частота гетерозигот знижувалася. У локусі POX-6 у мутантних форм, в порівнянні з вихідним сортом, спостерігалось підвищення частот гомозигот за альтернативними алелями. Описані зміни генотипового складу спостерігалися і при порівнянні досліджуваних сортів – 'Феміда' і 'Korada'.

Як і слід було очікувати для самозапильних рослин з незначною ймовірністю утворення гібридних нащадків, досліджувані генотипи сої характеризувалися невисоким рівнем гетерозиготності (табл. 3.13), що співпадає з даними МС-аналізу за локусами алелів *E*, згідно якого, гетерозиготним був лише один зразок за одним з шести МС-локусів. В середньому, в залежності від досліджуваних генотипів, частка гетерозигот становила від 4 до 9 відсотків. Для всієї сукупності досліджуваних зразків сої середні значення наявної, очікуваної

SOD-2	0.00	0.00	0.00	0.08	0.09	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SOD-3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.31	0.31	0.44	0.55	0.11	0.11	0.12	0.01
SOD-4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.50	0.50
SOD-5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SOD-6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Середнє ± похибка	0.09± 0.06	0.27± 0.05	0.04± 0.06	0.04± 0.02	0.13± 0.04	0.17± 0.03	0.09± 0.04	0.18± 0.05	0.30± 0.04	0.06± 0.02	0.19± 0.05	0.16± 0.05
<i>F</i>	0.66*			0.66*			0.51			0.70*		
<i>F</i>	0.68**											

Примітка. H_O і H_E - наявна і очікувана гетерозиготність, D - дефіцит гетерозигот, F - коефіцієнт інбридингу, *, ** - достовірність коефіцієнта при рівні значущості нульової гіпотези $p < 0,05$ і $p < 0,01$, відповідно

Таблиця 3.14

Внутрішньо- і міжгрупова різноманітність досліджуваних зразків сої за алозимного аналізу

Сорт, лінія	Розрахунки	Статистика Райта			G_{ST} -статистика			
		F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
‘Феміда’	за всією вибіркою	0.31	0.68	0.38****	0.68	0.34	0.34	0.50
	за всіма генотипами сорту ‘Феміда’	0.46	0.60	0.25****				
‘Феміда М32’	за всією вибіркою	0.31	0.68	0.28****				
	за всіма генотипами сорту ‘Феміда’	0.45	0.60	0.28****				
‘Феміда М29’	за всією вибіркою	0.47	0.68	0.16***				
	за всіма генотипами сорту ‘Феміда’	0.60	0.60	0.00*				
‘Korada’	за всією вибіркою	0.64	0.68	0.11**				
	за всіма генотипами сорту ‘Феміда’	0.63	0.60	-0.08*				
Вся вибірка					0.68	0.34	0.34	0.50

Примітка. F_{IS} - міра відхилення фактичних і очікуваних частот генотипів всередині окремих вибірок; F_{IT} - міра відхилення фактичних і очікуваних частот генотипів окремої вибірки в порівнянні з узагальненою вибіркою; F_{ST} - міра генної диференціації досліджуваних вибірок; G_{ST} - відносна генна диференціація між досліджуваними вибірками (генне різноманіття сукупної вибірки); D_{ST} - міжвибірочна генетична різноманітність; H_T - загальне генне різноманіття, H_S -

внутрішньогрупове різноманіття; *, **, ***, **** - генетична диференціація мала, середня, велика, дуже велика відповідно [184].

Висока міжгрупова гетерогенність досліджуваних зразків сої визначає необхідність встановлення ступеня їх спорідненості. Результати аналізу за Неєм і Джеффісом-Матісіте представлені в табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Генетична спорідненість досліджуваних зразків сої

	‘Феміда’	‘Феміда М32’	‘Феміда М29’	‘Korada’
‘Феміда’		0,91 (0,10)	0,93 (0,08)	0,84 (0,17)
‘Феміда М32’	0,91*		0,93 (0,08)	0,82 (0,19)
‘Феміда М29’	0,91*	0,92 ⁰		0,88 (0,13)
‘Korada’	0,91*	0,91*	0,91*	

Примітка. Над діагоналлю вказано показник спорідненості за Неєм (I), в дужках – дистанція за Неєм (D), під діагоналлю індекс подібності Джеффіса-Матусіти (GSI), * – відмінність між зразками достовірно при рівні значущості $p < 0,05$, ⁰ – достовірної відмінності між зразками немає, форми достовірно подібні

За даними, які приводять для рослин Ф. Айала і Дж. Кайгер [207], для різних видів показник I становить 0,51 і D – 0,81, а для локальних популяцій – 0,97 і 0,04 відповідно. Як видно, за індексом генетичної спорідненості Нея відмінності між різними групами сої перебували на внутрішньовидовому рівні. Однак, за деякими локусами спостерігалася дистанція, характерна для різних видів або навіть для дуже віддалених таксономічних груп (табл. 3.16). Індекс Джеффіса-Матісіти підтвердив достовірність виявлених дистанцій. Сорт ‘Korada’ генетично більш віддалений від інших зразків сої. З мутантних ліній,

похідних сорту ‘Феміда’, ближче до батьківської форми виявилася лінія ‘ФемідаМ29’.

Таблиця 3.16

Генетичні відстані між зразками сої за окремими локусами ензимів

	‘Феміда’	‘Феміда М32’	‘Феміда М29’	‘Korada’
‘Феміда’		POX-2 – $-\ln(0)$	POX-7 – 1.42	SOD-3 – 2.83 SOD-4 – 0.80 POX-6 – 0.55 POX-7 – 0.83
‘Феміда М32’			POX-2 – 1.29	SOD-3 – 1.37 SOD-4 – 0.80 POX-2 – $-\ln(0)$ POX-7 – 0.57
‘Феміда М29’				SOD-3 – 0.40 SOD-4 – 0.80 POX-7 – 1.29

Примітка. Вказані назви локусів і дистанція між зразками за цими локусами

Ймовірно, що всі вищевказані в даній роботі відмінності між сортами і лініями сої за ензимними локусами не випадкові, а мають закономірний зв'язок з генеалогією матеріалу і морфо-фізіологічними особливостями рослин. Так, сорт ‘Korada’ канадського походження, ‘Феміда’ – українського. Крім того, сорт ‘Korada’ відрізняється нечутливістю до фотоперіоду, ранньостиглістю і іншими важливими морфо-фізіологічними ознаками (висотою закладки нижніх бобів, вмістом білка, жирів і ін. якостями). Відрізняються також між собою і від батьківської форми сестринські мутантні лінії. Так, сорт ‘Феміда’ є середньостиглою формою, лінія ‘Феміда М32’ відноситься до групи середньопізніх. У лінії ‘Феміда М29’ в середньому вегетаційний період на 10 діб триваліший, ніж у сорту ‘Феміда’, нижні генеративні органи закладаються на 7 см вище, вона більш високоросла [210]. У зв'язку зі викладеним, нами був проведений кореляційний аналіз для виявлення можливих зв'язків між локусами досліджуваних ензимів і деякими морфо-фізіологічними показниками зразків

сої, а також алельним складом одного з генів, відповідальних за реакцію рослин на фотоперіод – гена *E7*. Отримані результати наведені у табл. 3.17.

Таблиця 3.17

Кореляції локусів ензимів з деякими ознаками сортів і ліній сої

Локус	Ознака			
	Ген <i>E7</i> , n=18	Тривалість вегетації, (доба) n=40	Висота розташування нижніх бобів, (см) n=40	Пояснення
NOX-1	–	-0,35*	–	0-алелі локусу відповідають більш ранній стиглості
POX-1	0,53**	-0,43	-0,42**	Наявність алеля POX-1 пов'язане з рецесивним алелем <i>e7</i> , більш низьким прикріпленням нижніх бобів і коротшою вегетацією
POX-2	–	-0,64**	-0,82***	0-алелі локусу позитивно корелюють з пізньостиглістю і більш високим прикріпленням нижніх бобів
POX-3	–	-0,35*	-0,35*	Гомозиготний стан гена за алелем «А» характеризує більш коротку вегетацію і низьке прикріплення нижніх бобів
POX-6	-0,53**	-0,35*	–	Алелі «а» і особливо гомозиготи за «а» обох локусів характеризують пізньостиглість і більш високе прикріплення нижніх бобів
POX-7	-0,80***	0,34*	–	Гомозиготи «аа» пов'язані з рецесивним алелем гена <i>e7</i> і більш коротким вегетаційним періодом
SOD-3	-0,66**	0,71***	0,71***	Гомозиготи «аа» пов'язані з рецесивним алелем гена <i>e7</i> , більш коротким вегетаційним періодом і низьким прикріпленням нижніх бобів
SOD-4	0,71***	-0,65**	-0,57***	Наявність алеля SOD-4 характеризує наявність рецесивного алеля гена <i>e7</i> , а 0-алель пов'язаний з пізньостиглістю і більш високим прикріпленням нижніх бобів

Примітка. *, **, *** – значення коефіцієнта кореляції достовірно при рівнях значимості $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ відповідно, «-» – значення коефіцієнта не достовірно

Найбільш сильний зв'язок з алелем *E7* виявлений для локусів POX-7 і SOD-4 (коефіцієнти кореляції $r = -0,80$ і $0,71$ відповідно). З тривалістю вегетаційного періоду найсильніше корельований локус SOD-3 ($r = 0,71$). З висотою розташування нижніх генеративних органів найтісніше пов'язаними виявилися локуси POX-2 і SOD-3 ($r = 0,82$ і $0,71$ відповідно). За іншими комбінаціям взаємодія була більш слабкою (табл. 3.17).

Таким чином, зміни алельного складу восьми з 19 досліджуваних локусів статистично достовірно корелювали з деякими селекційно-цінними показниками рослин сої (*QTL*-ознаками), а також з алельним станом одного з генів фотоперіодичної чутливості. Зрозуміло, що виявлений зв'язок вимагає підтвердження з більшою кількістю варіантів зразків сої і більшим обсягом вибірок в будь-якому вигляді.

Як видно з табл. 3.17, найбільш сильні взаємозв'язки були виявлені для пероксидази і супероксиддисмутази, що може свідчити про важливу роль цих ензимів в регуляції процесів розвитку рослин. Це припущення знаходить підтвердження з результатами, отриманими на інших рослинних об'єктах [11, 12, 166].

Слід звернути увагу на те, що для маркування зразків рослин були обрані ензими, що контролюють обмін активних форм кисню. Останні, як було зазначено раніше, є сигнальними, медіаторними молекулами, що регулюють активність генів. Виявлений тісний зв'язок локусів цих генів з *QTL*-ознаками добре узгоджується з регуляторною роллю досліджуваних ензимів.

Незважаючи на провідну роль АФК у передачі сигналів, залишається незрозумілим, як сигнали АФК сприймаються, передаються та викликають конкретну реакцію [110]. Загальногеномні аналізи транскриптомів виявились корисними для оцінки специфічності передачі сигналів АФК з аналізом профілів

експресії генів після модифікації рівнів АФК [45, 63]. Аналізи транскриптомів дозволили визначити вплив не тільки різних АФК на експресію генів, а й накопичення АФК у різних субклітинних компартментах. Вони показали, що більшість генів, що реагують на подразник (стрес, збудники оксидативного стресу тощо), виражаються лише в одному конкретному наборі експериментальних умов (тобто у відповідь на один конкретний вид стресу, що викликає появу АФК). Тобто, рівні експресії генів антиоксидантної системи є ознакою специфічних окислювальних сигналів, що характеризуються ідентичністю відповідних АФК та / або місця його продукування [45, 49], що в загальному контексті виражається впливом на ті, чи інші господарсько-цінні ознаки сої

Чутливість до фотоперіоду – є одним з вирішальних факторів адаптації рослин сої до впливу факторів навколишнього середовища. Комбінуванням генів підвищеної адаптивності і продуктивності є можливість створити новий вихідний матеріал, що поєднує обидві ознаки. За даними [247], основним методом створення сучасних сортів сої в Україні є гібридизація. Сучасна українська селекція сої направлена на створення сортів нового покоління, які окрім високої врожайності і якості продукції повинні характеризуватися стабільністю і стійкістю до екстремальних умов вирощування. Тож, для виявлення алельного складу за локусами чутливості до фотоперіоду, та співставлення отриманих даних генетично-молекулярного аналізу з агрономічно-важливими ознаками рослин сої, в наступному пункті дисертаційної роботи нами вивчалися сорти і лінії сої отримані шляхом гібридизації.

3.5. Характеристика за мікросателітними та алель-специфічними маркерами локусів *E* ліній сої, отриманих шляхом гібридизації

Для виявлення поліморфізму за генами чутливості до фотоперіоду, визначення гомозиготних ліній, надання рекомендацій для подальшої селекційної роботи з рослинним матеріалом, досліджували перспективні гібридні лінії, батьківські і референсні сорти сої, надані Інститутом кормів та сільського господарства Поділля НААН.

У трьох родинях ліній з покоління F₇₋₈ від схрещувань: ‘Linia103’ x ‘Korada’ – 7 ліній (родина I), ‘Оксана’ x ‘Labrador’ – 5 ліній (родина II), ‘Mapple Belle’ x ‘Sreska72’ – 7 ліній (родина III); нами було виявлено 25 алелів за шістьма МС-локусами, тобто 4,2 алеля на локус. Такі ж показники виявлено у перспективних ліній сої ІКСГП, отриманих шляхом хімічного мутагенезу – 4,2 алеля на локус [201]. Де що нижчий показник визначено для сортів з різних селекційних центрів України – 2,8 алеля на локус.

Значення індексу поліморфності за дослідженими МС-локусами, варіювало від 0,44 до 0,69 (в середньому 0,55). Більший поліморфізм показали три МС-маркери *Satt229*, *Sat_038*, *Satt354*, за кожним з яких зафіксовано по 4 алеля, інші маркери (*Satt365*, *Satt319*, *Satt100*) показали по 3 алеля. На матеріалі мутантних ліній та сортів більша кількість алелів детектована за локусом *Satt100* – 5 алелів, та *Satt229*, *Satt354* – по 4 алеля на локус (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

**Алелі мікросателітних локусів детектовані в генотипах ліній сої ІКСГП,
які отримано шляхом гібридизації**

МС-маркер	Асоціація з локусом <i>E</i>	Кількість алелів	Розмір продуктів ампліфікації, п.н.	Частота мажорного алелю	Індекс поліморфності маркера (PIC)
<i>Satt 365</i>	<i>E1</i>	3	270, 301, 314	0,68 ₃₀₁ *	0,49
<i>Sat_038</i>	<i>E2</i>	4	243, 245, 247, 249	0,44 ₂₄₅	0,67
<i>Satt 229</i>	<i>E3</i>	4	212, 215, 230, 234	0,40 ₂₃₄	0,69
<i>Satt 354</i>	<i>E4</i>	4	178, 230, 232, 249	0,64 ₂₄₉	0,54
<i>Satt 100</i>	<i>E7</i>	4	131, 141, 167, 131/167	0,68 ₁₄₁	0,49

<i>Satt 319</i>	<i>E7</i>	3	178, 175, 180	0,72 ₁₈₀	0,44
-----------------	-----------	---	---------------	---------------------	------

* - нижній індекс визначає розмір мажорного алелю в п.н.

Частота мажорних алелів (найчастіше зустрічаються за певним локусом) у вибірці з 6 батьківських форм і 19 ліній отриманих шляхом гібридизації знаходилася в межах 0,40 до 0,72, в залежності від локусу. За МС-маркером *Satt100* PIC дорівнює 0,48 у нашій вибірці з 25 зразків ліній та сортів сої. *Mihaljevic et al.* [203] визначили PIC 0,62 за локусом *Satt100* у виборці з 97 сортів та ліній сої різних селекційних центрів Європи, Північної та Південної Америки.

Графічна інтерпретація частот алелів за МС-локусами, які асоційовано з генами фотоперіодичної чутливості наведено на рис. 3.17.

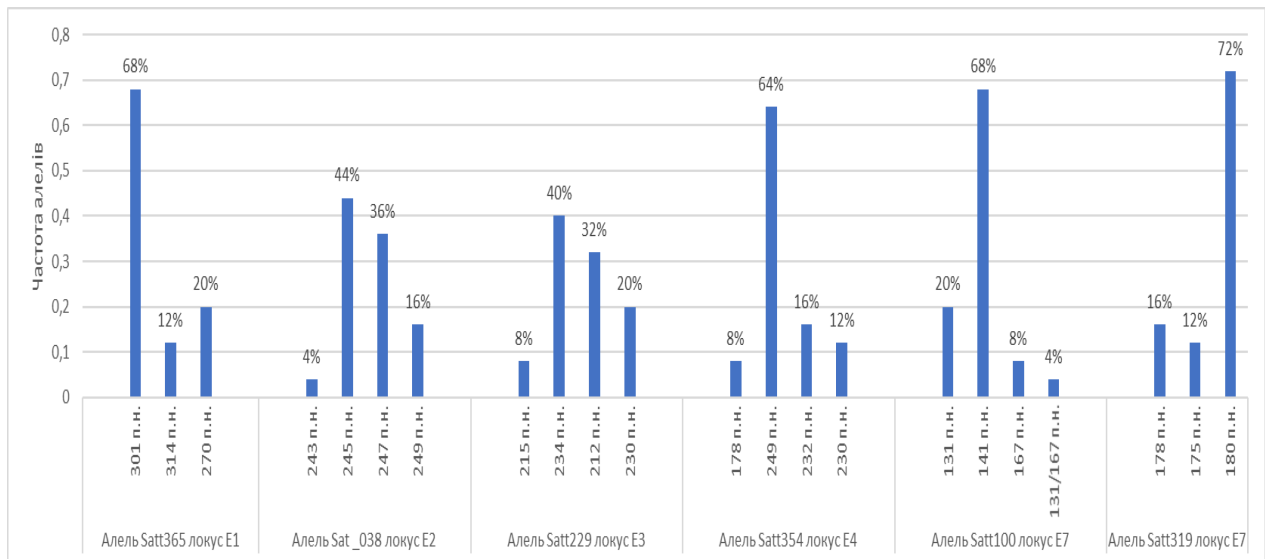


Рис. 3.17. Розподіл частот алелів, виявлених за МС-маркерами *Satt100*, *Satt319*, *Satt229*, *Satt354*, *Satt365*, *Sat_038* для батьківських сортів і ліній сої, отриманих шляхом гібридизації

Аналізуючи лінії родини I за розмірами фрагментів ампліфікації, встановили, що всі нащадки від схрещування сорту 'Linia103', носія фрагменту ампліфікації розміром 301 п.н., з сортом 'Korada', з 270 п.н. (домінантний алель за локусом *E1*, амплікон з розміром 270 п.н., як і в контрольного сорту 'Cormoran AC'), за нашими припущеннями можуть виявитися носіями однієї з форм

рецесивного алелю *e1* (рис. 3.18). В цих лініях детектовано алель 301 п.н., як у батьківського сорту 'Linia103'.

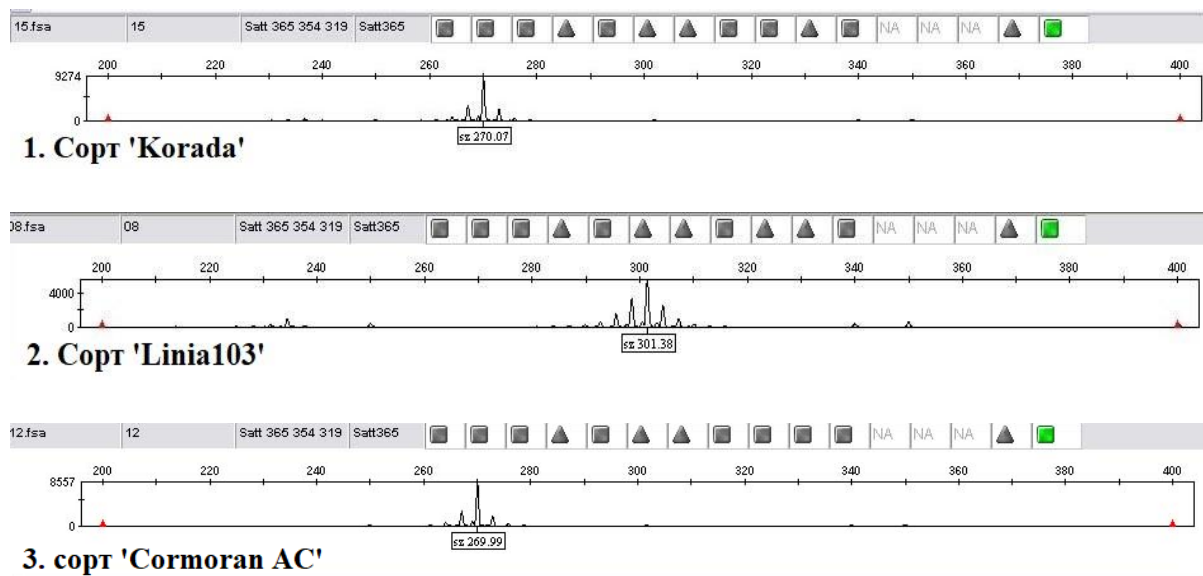
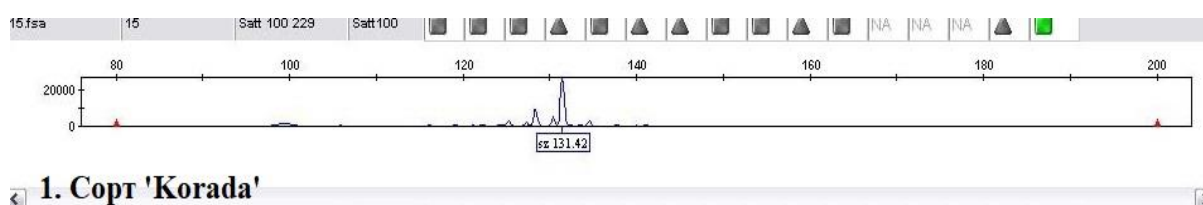


Рис. 3.18. Електрофоретичний розподіл продуктів ампліфікації за локусом *Satt365* в 7 % ПААГ отриманий на генетичному аналізаторі ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500

Батьківські форми родини I не відрізнялися один від одного і від ліній-нащадків за локусами *Satt319* (180 п.н.) та *Satt354* (249 п.н.). За локусом *Satt100* у сорта 'Korada' детектували фрагмент ампліфікації 131 п.н. (рис. 3.19. 1.), що відповідає продукту ПЛР, отриманому для контрольного сорту 'Maple Arrow', який за даними Molnar et al. [111], несе рецесивний алель *e7*. При цьому, батьківський сорт 'Linia 103', як і всі нащадки родини I, мали фрагмент розміром 141 п.н. (рис. 3.19 2.), який відрізняється від розміру домінантного алеля за локусом *E7* (167 п.н.) у контрольних сортів 'Вілана' (рис. 3.19. 3) та ізоляції 'Harosoy OT89-5' [111, 129].



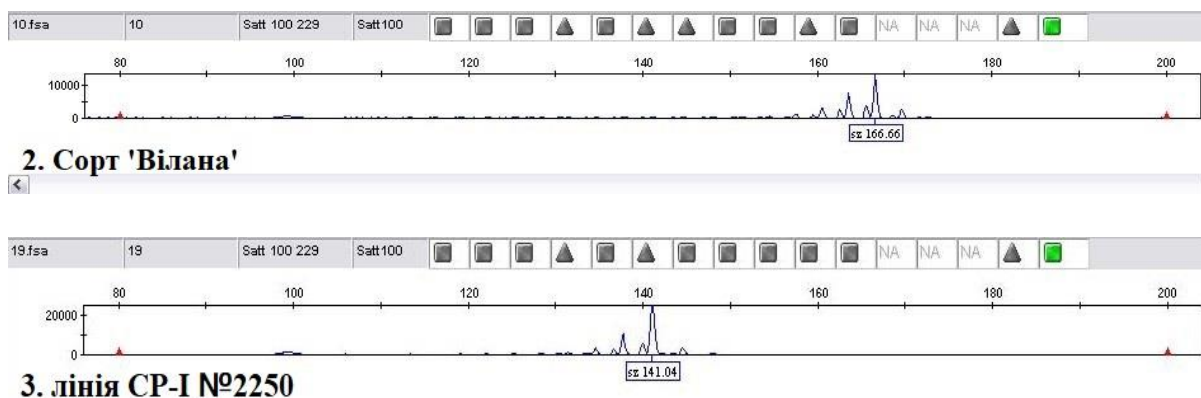


Рис. 3.19. Електрофоретичний розподіл продуктів ампліфікації за локусом *Satt100* в 7 % ПААГ отриманий на генетичному аналізаторі ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500

За локусом *Satt229*, який асоційовано з геном *E3*, лише у лінії ‘CP-I №2234’ визначили фрагмент ампліфікації розміром 234 п.н., амплікон такого ж розміру детектували у батьківського сорту ‘Korada’. Всі інші нащадки від схрещування мали фрагмент в 212 п.н., як і в батьківської форми ‘Linia103’ (рис. 3.20).

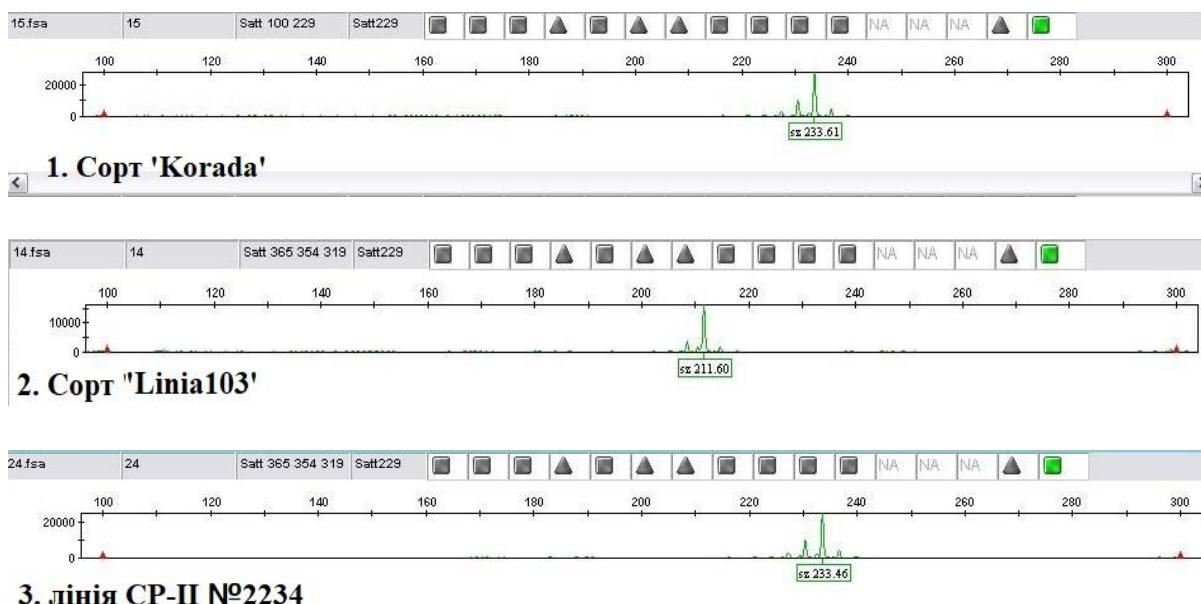


Рис. 3.20. Електрофоретичний розподіл продуктів ампліфікації ДНК сої за локусом *Satt229* на генетичному аналізаторі ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500

За результатами МС-аналізу та даними Molnar et al. [111], щодо зчеплення МС-локусів з *E* генами, у ліній родини I за локусом *E3* ми припускали наявність рецесивної форми нефункціонального алелю *e3*. Однак базуючись на алельних характеристиках МС-локусів, ми не мали можливості точно діагностувати форму алелів за отриманими результатами та віднести лінії до відомих функціональних алелів - *E3-Ha*, *E3-Mi*, чи нефункціональних - *e3-ns*, *e3-fs*, *e3-tr*, *e3-Mo* [190]. Тож, за результатами проведеного нами генетично-молекулярного аналізу за алель-специфічними маркерами до алелів *E3-Ha*, *E3-Mi*, *e3-tr*, встановили, що рідкісний алель *E3-Mi* в генотипах трьох досліджених родин відсутній, а за алелями *E3-Ha* і *e3-tr* у дослідженій вибірці є певний поліморфізм. Домінантні алельні форми гену *E3* – асоціюються з тривалішими строками переходу до цвітіння і подовженню тривалості вегетаційного періоду, а всі три нефункціональні рецесивні алелі *e3* сприяють ранньому зацвітання та ранній стиглості сої [162], що можна співставити і з результатами наших досліджень.

Лінії отримані від схрещування ‘Labrador’ х ‘Оксана’ (родина II), виявилися найбільш поліморфними за алелями МС-локусів з усіх ліній отриманих в результаті гібридизації за п'ятьма комбінаціями схрещування. Лінія ‘ПСВ-I №4001’ за локусом *Satt229*, характеризувалася продуктом ампліфікації з фрагментом розміром 215 п.н., такий самий продукт ПЛР був визначений у батьківського сорту ‘Labrador’, і референсного сорту ‘Maple Arrow’, що за інформацією Molnar et al. [111] і Rosenzweig et al. [129] є носієм домінантного алелю *E3*. У всіх інших ліній родини II за локусом *Satt229* виявили фрагменти ампліфікації розміром 230 п.н., як у батьківського сорту ‘Оксана’. Так саме як і в сорту ‘Оксана’, алель 230 п.н. детектовано у сорту ‘Галина’, в якого Kurasch et al. [79], за допомогою алель-специфічних маркерів детектували алель *E3-Ha*. Отож, ми припускаємо, що сорт ‘Оксана’ і інші нащадки від цього схрещування можуть бути носіями алелю *E3-Ha*, а лінія ‘ПСВ-I №4001’ носієм алелю *E3*.

За локусом *Satt365*, що зчеплений з *E1* лінії ‘СР-II №2365’, ‘СР-II №2369’, ‘СР-II №2367’ характеризувалися продуктами ампліфікації розміром 270 п.н.,

такий самий продукт ПЛР зустрічається у контрольного сорту ‘Сормоган АС’ з доміантним алелем *E1*, тобто зазначені лінії можуть бути носіями алелю *E1*. Лінії ‘КР-II №3035’, ‘ПСВ-I №4001’ характеризувалися продуктами ампліфікації розміром 301 п.н., як і в сорті ‘Галина’, що за інформацією [79] відповідає напівфункціональному алелю *e1-as*. Результати ПЛР-аналізу батьківських форм, ліній та контрольних зразків за МС-локусами наведені в таблиці 3.19.

Таблиця 3.19

Алелі за МС-локусами, зчепленими з *E* генами у сортів і ліній сої ІКСГП, отриманих шляхом гібридизації

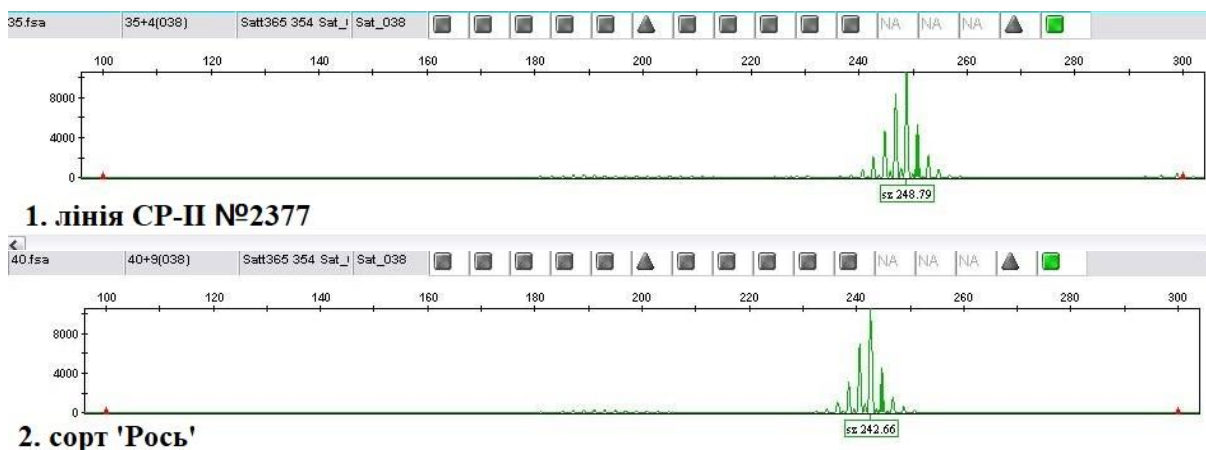
№ з/п	Батьківські форми і лінії сої, отриманні шляхом гібридизації	МС-локуси (п.н.)					
		<i>Satt100</i>	<i>Satt229</i>	<i>Satt319</i>	<i>Satt354</i>	<i>Satt365</i>	<i>Sat_038</i>
♀	‘Linia103’	141	212	180	249	301	245
♂	‘Korada’	131	234	180	249	270	245
1	‘СР-I №2220’	141	212	180	249	301	245
2	‘СР-I №2245’	141	212	180	249	301	245
3	‘СР-I №2226’	141	212	180	249	301	247
4	‘СР-I №2250’	141	212	180	249	301	247
5	‘СР-I №2265’	141	212	180	249	301	245
6	‘СР-II №2359’	141	212	180	249	301	245
7	‘СР-I №2234’	141	234	180	249	301	245
♀	‘Labrador’	131	215	178	178	270	245
♂	‘Оксана’	167	230	175	232	301	247
1	‘СР-II №2365’	131	230	178	232	270	247
2	‘СР-II №2369’	131	230	178	232	270	247
3	‘КР-II №3035’	131, 167	230	175	230	301	249
4	‘СР-II №2367’	131	230	178	232	270	247
5	‘ПСВ-I №4001’	167	215	175	178	301	247
♀	‘Maple Belle’	141	234	180	249	301	245
♂	‘Sreska 72’	141	212	180	249	314	249
1	‘СР-II №2377’	141	234	180	230	301	249
2	‘СР-II №2375’	141	234	180	249	314	249
3	‘СР-II №2372’	141	234	180	249	314	245
4	‘КР-II №3045’	141	234	180	249	301	245
5	‘ПСВ-I №4005’	141	234	180	249	301	247
6	‘ПСВ-II №4017’	141	234	180	249	301	243
7	‘КР-I №3014’	141	234	180	230	301	247
k	‘Рось’ (<i>E2</i>)	145	215	178	178	270	243

k	‘Вілана’ (E7)	167	234	175	249	301	247
k	‘Harosoy’ OT89-5 (E7)	167	183	175	216	301	247
k	‘Cormoran AC’ (E1)	131	183	178	178	270	247
k	‘Maple Arrow’ (E3)	131	215	178	178	215	247

♀, ♂ - батьківські форми; k – референсні сорти.

За локусом *Satt354* у сорта ‘Оксана’ (батьківська форма), і майже всіх ліній родини II виявили алель розміром 232 п.н., окрім ліній ‘КР-II №3035’ і ‘ПСВ-I 4001’, і батьківського сорту ‘Labrador’, у яких детектували фрагмент 178 п.н. За нашими припущеннями останні можуть виявитися носіями домінантного алелю *E4*, оскільки у сорті ‘Галина’, який характеризувався наявністю фрагменту 178 п.н., в якому Kurasch et al. [79] детектували алель *E4* за допомогою алель-специфічних праймерів.

Як рекомендовано Molnar et al. [111], *Sat_038* можна використовувати в якості маркеру для локусу *E2*. Домінантний алель *E2* за даними Аксьонової з співавт., [222], детектували у рослин сої з фрагментом ампліфікації 243 п.н. за локусом *Sat_038*, цей алель визначений лише у контрольного сорту ‘Рось’. Всі інші лінії трьох родин показали фрагменти більшого розміру за цим локусом: 245 п.н., 247 п.н., 249 п.н. (рис. 3.21). За нашим припущенням, батьківські сорти і лінії-нащадки можуть нести одну з форм рецесивного алелю *e2*, (*e2-ns* або *ft2*), які сприяють ранньому цвітінню [180, 177].



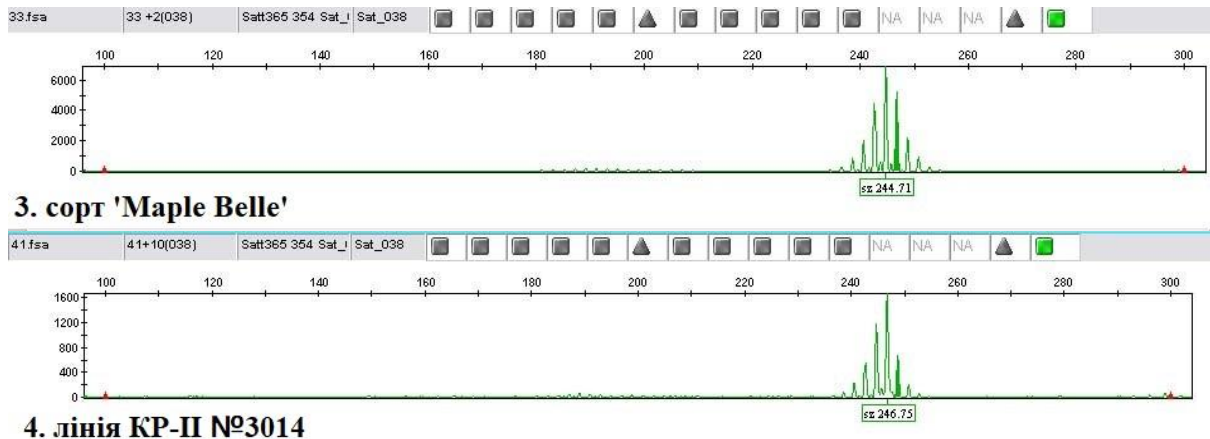


Рис. 3.21. Електрофоретичний розподіл продуктів ампліфікації ДНК сої за локусом *Sat_038* на генетичному аналізаторі ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500:

За інформацією Molnar et al. [111], та даними наведеними Rosenzweig et al. [129] сорти ‘Harosoy’ OT89-5, ‘Вілана’, визначені носіями доміантного алелю *E7*, що детектується у ПЛР з МС-маркерами за локусами *Satt100* і *Satt319*. В нашому дослідженні у трьох родин сої за допомогою МС-аналізу, ми встановили, що розмір продуктів ампліфікації 167 п.н. за локусом *Satt100*, в більшості зустрічався в генотипі в комбінації з продуктом ампліфікації розміром 175 п.н. за локусом *Satt319*, за винятком однієї гетерозиготної лінії КР-II №3035, яка виявилася носієм двох фрагментів 131 п.н. та 167 п.н. за локусом *Satt100*. (рис. 3.22)

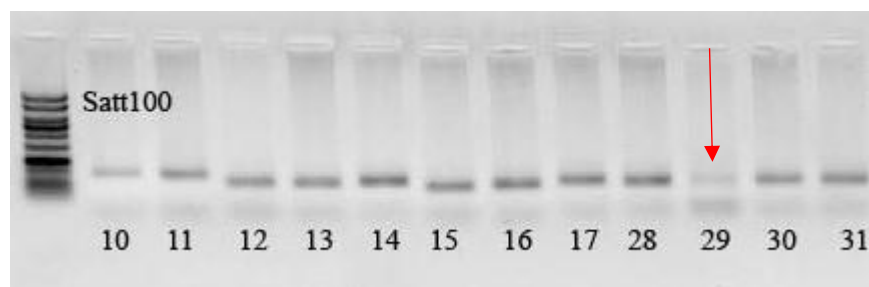


Рис. 3.22. Електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі. Стрілкою відмічено лінію ‘КР-II №3035’, гетерозиготну за локусом *Satt100*

Батьківський сорт ‘Labrador’ і лінії-нащадки ‘СР-II №2365’, ‘СР-II №2369’, мали 131 п.н. (фрагмент ‘F’ за інформацією [200]) за локусом *Satt100* та фрагмент

178 п.н. за локусом *Satt319*, та в більшості випадків нашої вибірки, спостерігалася саме така комбінація, що може свідчити про зчеплене успадкування. В дослідженнях Rosenzweig et al. [129] 86 сортів сої, спостерігали, що алелі: 173 п.н. за локусом *Satt319* зустрічались в парі з алелем 168 п.н. за локусом *Satt100*, а 176 п.н. (*Satt319*) з 133 п.н. (*Satt100*). Різниця в один або два нуклеотиди може пояснюватися похибкою спостереження або округленням отриманих даних, детальніше про це питання викладено в п. 3.1 Розділу.

Для встановлення алельного стану за генами *E3* і *E4* вихідні сорти і гібридні лінії нами тестувалися за алель-специфічними маркерами. ПЛР-аналіз виявив, що близько 70 відсотків генотипів вибірки є носіями домінантних алелів *E3-На*, *E4* (табл. 3.20).

Таблиця 3.20

Генотипування за алель-специфічними маркерами до локусів *E3*, *E4* в сортах і лініях сої, отриманих шляхом гібридизації

№ з/п	Батьківські форми і лінії-гібриди	Алель за алель специфічними маркерами
♀	‘Linia103’	<i>E3-На E4</i>
♂	‘Korada’	<i>E3-На e4-SORE-1</i>
1	‘CP-I №2220’	<i>E3-На E4</i>
2	‘CP-I №2245’	<i>E3-На E4</i>
3	‘CP-I №2226’	<i>E3-На E4</i>
4	‘CP-I №2250’	<i>E3-На e4-SORE-1</i>
5	‘CP-I №2265’	<i>E3-На E4</i>
6	‘CP-II №2359’	<i>E3-На E4</i>
7	‘CP-I №2234’	<i>E3-На E4</i>
♀	‘Labrador’	<i>E3-На e4-SORE-1</i>
♂	‘Оксана’	<i>E3-На E4</i>
1	‘CP-II №2365’	<i>E3-На E4</i>
2	‘CP-II №2369’	<i>E3-На E4</i>
3	‘KP-II №3035’	<i>E3-На E4</i>
4	‘CP-II №2367’	<i>E3-На E4</i>
5	‘PCB-I №4001’	<i>E3-На e4-SORE-1</i>
♀	‘Maple Belle’	<i>e3-tr e4-SORE-1</i>

♂	‘Sreska 72’	<i>e3-tr E4</i>
1	‘СР-II №2377’	<i>e3-tr E4</i>
2	‘СР-II №2375’	<i>e3-tr e4-SORE-1</i>
3	‘СР-II №2372’	<i>e3-tr e4-SORE-1</i>
4	‘КР-II №3045’	<i>e3-tr E4</i>
5	‘ПСВ-I №4005’	<i>e3-tr E4</i>
6	‘ПСВ-II №4017’	<i>e3-tr E4</i>
7	‘КР-I №3014’	<i>e3-tr E4</i>

♀, ♂ - батьківські форми



Рис. 3.23. Розподіл частот алелів генів *E3 E4* в сортах і лініях сої, отриманих шляхом гібридизації

За результатами фракціонування фрагментів ампліфікації алель-специфічної ПЛР, батьківські сорти і лінії-нащадки родин I і II, виявилися носіями фрагменту розміром 588 п.н., що за даними Xu et al. [190], відповідає домінантному алелю *E3-Ha*. Всі представники родини III характеризувалися наявністю рецесивного алеля *e3-tr*, який відповідає фрагменту розміром 275 п.н. При визначенні алелів з алель-специфічними маркерами до гену *E4* у більшості генотипів вибірки виявлено фрагмент ампліфікації розміром 1229 п.н., який за даними Xu et al. і Kurasch et al. [79, 190] відповідає алелю *E4*, а в сортах ‘Korada’, ‘Labrador’, Maple Belle’ та гібридних ліній ‘СР-I №2250’, ‘ПСВ-I №4001’, ‘СР-II №2375’, ‘СР-II №2372’ нами детектовано продукт ПЛР розміром 837 п.н., який вказані дослідники відносили до нефункціонального алелю *e4-SORE-1* (рис. 3.24).



Рис. 3.24. Електрофорез в 1,0% 1,5%, 2,0 % агарозних гелях з фракціонованими фрагментами ампліфікації продуктів ПЛР з алель-специфічними маркерами для низки сортів і ліній сої : **а)** *E3-Ha* доріжка 1, 3 – ‘Linia103’, 4-5 – ‘Korada’, 6, 7 – ‘СР-I № 2250’, 8-9 – ‘СР-I №2226’, 10, 12 – ‘СР-I №2220’, 13-15 – ‘СР-I №2234’, 16-18 – ‘СР-I №2265’; **б)** *e3-tr* доріжка 1, 2 – ‘Labrador’, 3, 6, 7 – ‘Maple Belle’, 4, 5 – ‘ПСВ-I №4001’, 8-10 – ‘Sreska72’, 12, 13 – ‘СР-II №2377’, 14, 15 – ‘СР-II №2367’, 16-18 – ‘ПСВ-II №4017’; **в)** *e4-SORE-1* доріжка 6 – ‘Maple Belle’, 7-9 – ‘Sreska72’, 10, 11 – ‘СР-II №2377’, 12-13 – ‘ПСВ-I №4005’, *E4* доріжка 14-15 – ‘СР-II №2365’, 16-18 – ‘СР-II №2369’; М – маркер молекулярної маси - CLS-MDNA-100BPH DNA Ladder RTU

Однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA на підставі даних польових спостережень 2015-2017 років показав, що за ознакою час до цвітіння (ЧДЦ) рослини всіх трьох родин, всередині родин між собою суттєво не відрізнялися. За часом дозрівання (ЧД) батьківські сорти та гібридні лінії родини III мали достовірні відмінності ($p=0,03$). Так, за критерієм Тьюкі HSD тесту (Tukey's honestly significant difference – достовірно значущі різниці), попарних порівнянь групових середніх, батьківський сорт ‘Maple Belle’ і лінії ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘СР-I №3014’ достовірно відрізнялися від сорту ‘Sreska72’ (ЧД =88 днів). Вказані зразки сої дозрівали на 28, 20, 18 і 23 дня швидше, порівняно з останнім ($p_{HSD}<0,05$). За ознакою тривалість вегетаційного періоду (ТВП) попарне порівняння ліній і батьківських сортів між собою у родині II показало відмінності між сортом ‘Оксана’ і лінією ‘СР-II №2367’, яка мала тривалість

вегетації на 20 днів коротше, ніж сорт ‘Оксана’. ($p_{HSD} < 0,05$). Представники інших двох родин суттєво не відрізнялися між собою ні за ЧД, ні за ТВП. (рис.3.25). За ознаками врожайність та маса тисячі зерен (МТЗ) лінії і батьківські сорти в трьох родинях між собою істотно не відрізнялися. Достовірних відмінностей у попарних порівняннях нами встановлено не було.

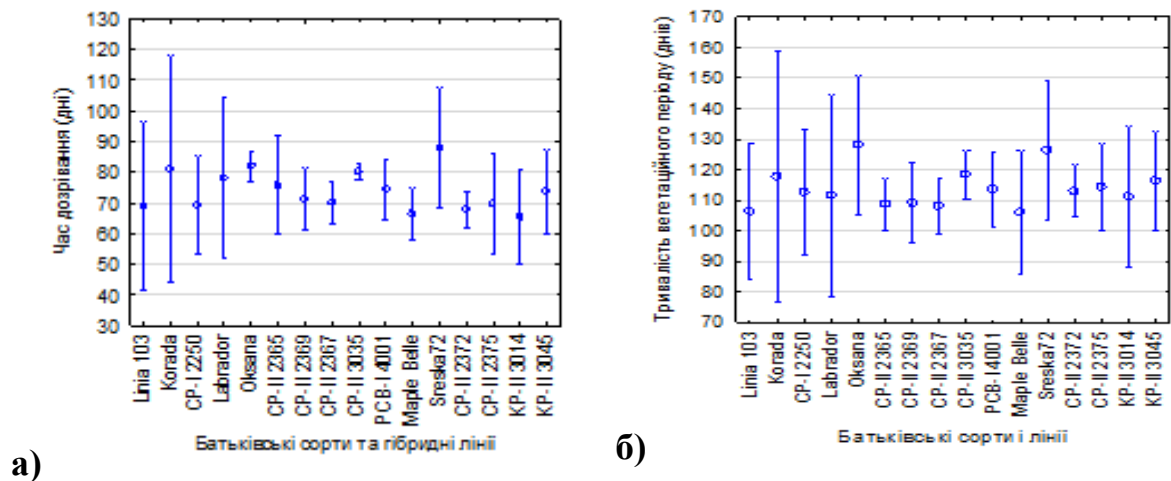


Рис. 3.25. Графіки середніх значень для сортів і гібридних ліній сої за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки): **а)** за ознакою час дозрівання у днях з початку перших сходів; **б)** за ознакою тривалість вегетаційного періоду у днях з початку перших сходів. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу $\pm 0,95$, $p=0,05$

При співставленні результатів МС-аналізу з даними польових досліджень, нами встановлено, що у шести батьківських сортів і дев'ятнадцяти ліній сої, фрагмент розміром 270 п.н. за локусом *Satt365* (алель *E1*) поєднувався з фрагментом розміром 131 п.н. за локусом *Satt100*, який попередньо віднесений нами до рецесивного алелю *e7*. За даними Molnar et al. [111] ген *E1* є близько зчепленим з *E7* (2,2 cM), і можливо саме така комбінація алелів *E1*₂₇₀ *e7*₁₃₁ сприяє скороченню фази сходи-цвітіння. Таку ж саму тенденцію демонстрували сорт Labrador та лінія ‘PCB-I №4001’ (нащадок схрещування родини II), з генотипами з алелем 215 п.н. за локусом *Satt229* (алель *E3*), які переходили в фазу цвітіння (R1 – за класифікацією стадій розвитку сої 42]) в середньому на 36,5 день, що на

6 днів раніше за ніж генотипи носії алелю 234 п.н. за цим локусом, до останніх відносяться сорт ‘Maple Belle’, всі лінії родини III, сорт ‘Korada’ і лінія ‘CP-I №2234’.

За локусом *Satt319* нами спостерігалася тенденція до подовження фази цвітіння-дозрівання (R2-R8, [42]), яка у генотипів з алелем 175 п.н. (алель *E7*) складала 78,8 днів, що порівняно з генотипами, які характеризувалися алелями 178 п.н., і 180 п.н., (алелі *e7*) була тривалішою на 5,1 та 6,7 днів, відповідно.

На ознаку довжина вегетаційного періоду за нашими даними достовірно впливали алелі локусів *Satt100*, *Satt319*, *Sat_038*. Сорт ‘Оксана’ і лінія ‘КР-II №3035’, з алелем 167 п.н. за локусом *Satt100* (алель *E7*), показали тривалість вегетаційного періоду у 120,8 днів, що на 9,8 днів триваліше за рослини з генотипами-носіями 131 п.н. (алель *e7*) за цим локусом. Вегетація рослин з генотипами, що характеризуються алелями 175 п.н. за МС *Satt319* (алель *E7*), тривала на 11 днів довше, порівняно з вегетаційним періодом рослин, для яких був визначений алель 178 п.н. (алель *e7*), що в середньому за період вегетації нараховувала 109 днів для сорту ‘Labrador’, ліній ‘CP-II №2365’, ‘CP-II №2367’, ‘CP-II №2369’.

Рослини сої, що характеризувалися фрагментом ампліфікації розміром 245 п.н. за МС-локусом *Sat_038*, мали період вегетації тривалістю 111,8 днів, достовірно коротший на 7,9 днів від показника за цієї ж ознакою у генотипів з фрагментом 249 п.н., тривалість вегетаційного періоду в яких складала 119,7 днів (табл. 3.21).

Для визначення впливу за фактором «генотип», за результатами МС-аналізу в поєднанні з результатами алель-специфічної ПЛР, у дослідженій нами виборці передбачаємо 10 генотипів або алельних комбінацій за генами *E*.

До родини I ми віднесли дві алельні комбінації: *e1-as e2 E3-На E4 e7* – генотип 1, *E1 e2 E3-На e4 e7* – генотип 2. Останню комбінацію алелів мали сорти ‘Korada’, і ‘Labrador’. Лінія ПСВ-II №4001’, носій пере дбачуваної комбінації алелів *e1-as e2 E3-На e4 E7*, яку назвали генотипом 6, відрізнялася від

Таблиця 3.21

Середні значення агрономічно-важливих ознак (за 2015-2017 роки) для батьківських форм і похідних перспективних селекційних ліній

Батьківські форми/лінії	Алельна комбінація (генотип)	Назва генотипу	Сходи-цвітіння (Ve-R2), діб $\pm S_x$	Цвітіння-дозрівання (R2-R8), діб $\pm S_x$	Веgetаційний період, (Ve-R8), діб $\pm S_x$	Врожайність (т/га) $\pm S_x$	МТЗ (гр) $\pm S_x$
Родина I	1	2	3	4	5	6	7
‘Linia103’	<i>e1-as e2 E3-Ha E4 e7</i>	генотип 1	37,3 \pm 3,0	69,0 \pm 11,1	106,3 \pm 9,0	-	120,4 \pm 53,5
‘Korada’	<i>E1 e2 E3-Ha e4 e7</i>	генотип 2	36,7 \pm 2,3	81,0 \pm 14,9	117,7 \pm 16,5	3,13	129,0 \pm 28,9
‘CP-I 2250’	<i>e1-as e2 E3-Ha E4 e7</i>	генотип 1	43,3 \pm 5,5	69,3 \pm 6,5	112,7 \pm 8,3	2,12 \pm 0,9	-
НІР _{0,05}	-		-	-	-	-	-
НІР _{0,01}	-		-	-	-	-	-
Родина II							
‘Labrador’	<i>E1 e2 E3-Ha e4 e7</i>	генотип 2	33,7 \pm 4,5	78,0 \pm 10,5	111,7 \pm 13,3	2,50	128,4 \pm 19,3
‘Оксана’	<i>e1-as e2 E3-Ha E4 E7</i>	генотип 3	46,0 \pm 9,9	82,0 \pm 2,0	128,0 \pm 9,2	1,99 \pm 0,2	115,7 \pm 4,5
‘CP-II 2365’	<i>E1 e2 E3-Ha E4 e7</i>	генотип 4	38,0 \pm 2,6	75,7 \pm 6,4	108,7 \pm 3,5	2,27 \pm 0,6	140,3
‘CP-II 2369’	<i>E1 e2 E3-Ha E4 e7</i>	генотип 4	37,7 \pm 2,5	71,3 \pm 4,0	109,0 \pm 5,3	2,45 \pm 0,9	162,9
‘CP-II 2367’	<i>E1 e2 E3-Ha E4 e7</i>	генотип 4	38,0 \pm 3,6	70,0 \pm 2,6	108,0 \pm 3,6	2,36 \pm 0,8	-
‘КР-II 3035’	<i>e1-as e2 E3-Ha E4 E7/e7-?</i>	генотип 5	38,3 \pm 4,0	80,0 \pm 1,0	118,3 \pm 3,2	3,0 \pm 0,6	144,7
‘ПСВ-I 4001’	<i>e1-as e2 E3-Ha e4 E7</i>	генотип 6	39,3 \pm 2,3	74,3 \pm 4,0	113,7 \pm 4,9	2,22 \pm 0,2	174,7
НІР _{0,05}	-		-	6,20	7,49	-	-
НІР _{0,01}	-		-	9,40	11,06	-	-
Родина III							
‘Maple Belle’	<i>e1-as e2 e3-tr e4 e7</i>	генотип 7	39,7 \pm 6,7	66,3 \pm 3,5	106,0 \pm 8,2	2,80 \pm 0,2	153,9 \pm 27,2
‘Sreska72’	<i>e1 e2 e3-tr E4 e7</i>	генотип 8	38,3 \pm 4,0	88,0 \pm 7,9	126,3 \pm 9,1	3,33 \pm 1,7	145,0 \pm 12,8
‘CP-II 2372’	<i>e1 e2 e3-tr e4 e7</i>	генотип 9	45,3 \pm 1,2	67,7 \pm 2,3	113,0 \pm 3,5	2,4 \pm 0,6	-
‘CP-II 2375’	<i>e1 e2 e3-tr e4 e7</i>	генотип 9	44,7 \pm 2,3	69,7 \pm 6,7	114,3 \pm 5,7	1,96 \pm 0,5	178,0
‘КР-II 3014’	<i>e1-as e2 e3-tr E4 e7</i>	генотип 10	46,0 \pm 4,6	65,3 \pm 6,1	111,3 \pm 9,3	2,12 \pm 0,3	163,4
‘КР-II 3045’	<i>e1-as e2 e3-tr E4 e7</i>	генотип 10	42,7 \pm 1,2	73,7 \pm 5,5	116,3 \pm 6,5	2,58 \pm 0,3	135,3
НІР _{0,05}	-		-	5,05	-	-	-
НІР _{0,01}	-		-	6,93	-	-	-

Примітка: S_x – стандартне відхилення

батьківського сорту ‘Оксана’ з алелями $e1-as$ $e2$ $E3-Ha$ $E4$ $E7$, (генотип 3), лише за локусом $E4$.

Генотип 4, до якого ми віднесли комбінацію алелів $E1$, $e2$, $E3-Ha$, $E4$ $e7$, мали лінії ‘СР-II №2365’, і ‘СР-II №2369’, нащадки родини II. Лінія ‘КР-II №3035’, теж нащадок родини II, виявилася гетерозиготною за локусом $Satt100$, отож ми не можемо стверджувати, що в ній детектовано домінантний ген $E7$, можливо цей ген знаходиться в гетерозиготному стані. Ще у цієї лінії детектовано домінантні $E3$ і $E4$ алелі. Комбінація з цими алелями отримала назву генотип 5.

Батьківські сорти родини III відрізнялися між собою за двома локусами – $E1$ і $E4$. Сорт ‘Maple Belle’ з генотипом 7, з напівфункціональним алелем $e1-as$, і мав рецесивні алелі за всіма іншими локусами $e2$, $e3-tr$, $e4$, $e7$, а сорт ‘Sreska72’ з генотипом 8, можливо носій рецесивних алелів $e1$, $e2$, $e3-tr$, $e7$ і домінантного $E4$.

Лінії нащадки ‘СР-II №2375’, ‘СР-II №2372’ родини III, виявилися носіями рецесивних алелів за всіма локусами $e1$, $e2$, $e3-tr$, $e4$, $e7$ з генотипом 9, а лінії ‘КР-II №3045’ і ‘КР-I №3014’ цієї ж родини, мали напівфункціональний алель $e1-as$ і домінантний алель $E4$, таку комбінацію ми назвали генотип 10 (табл. 3.21).

За ознакою ЧДЦ в цілому лінії за генотипами відрізняються, однак не в усіх парах. За результатами апостеріорного аналізу (post-hoc analysis), для нерівномірних вибірок за критерієм Тьюкі UHSD тесту (Tukey's honestly significant difference for unequal N), лінії з генотипом 2 ($E1$ $e2$ $E3-Ha$ $e4$ $e7$) достовірно відрізнялися від лінії носіїв генотипів 9 ($e1$ $e2$ $e3-tr$ $e4$ $e7$), і 10 ($e1-as$ $e2$ $e3-tr$ $E4$ $e7$). Тобто в умовах Вінницької області сорти ‘Korada’ і ‘Labrador’, носії алелів $E1$ і $E3-Ha$ $e7$ $e7$ переходили до фази цвітіння майже на 10 днів раніше ($p_{UHSD} < 0,05$), ніж лінії ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-I №3014’, ‘КР-II №3045’, носії напів функціонального $e1-as$ і рецесивних алелів $e1$ і $e3-tr$ $e7$ за цими локусами (рис. 3.26), що за нашими припущеннями

є характерним для цього регіону вирощування, або викликано плейотропною дією чи специфічною комбінацією генів *E* (*E1* і *e7*).

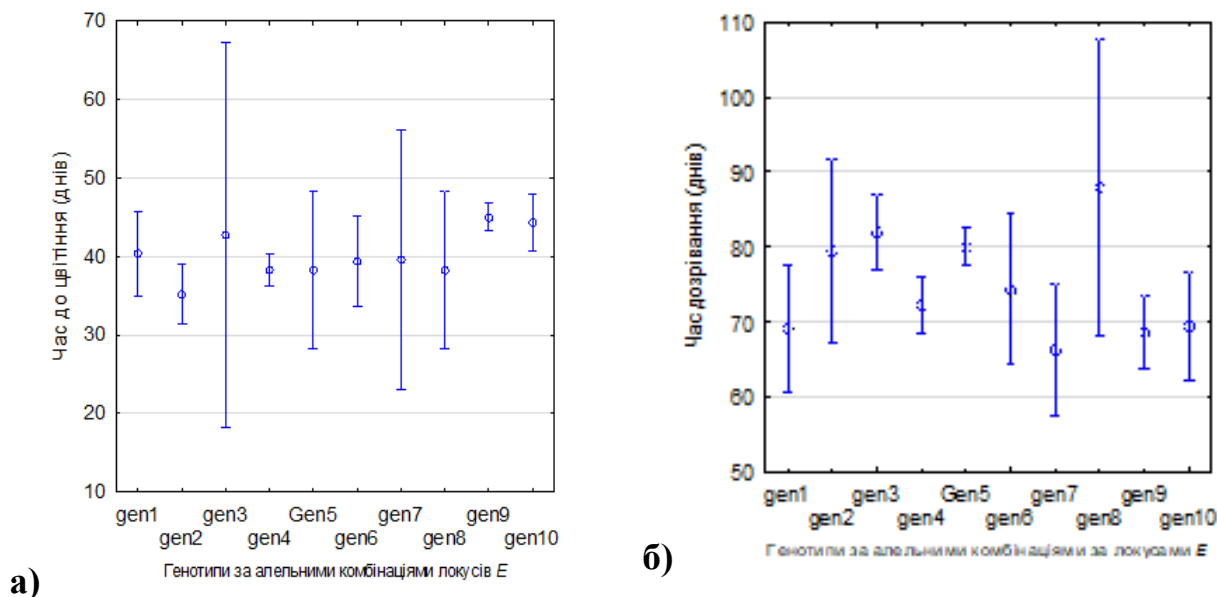


Рис. 3.26. Графіки середніх значень для сортів і гібридних ліній сої згрупованих за критерієм генотип за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки): **а)** за ознакою час цвітіння у днях з початку перших сходів; **б)** за ознакою час дозрівання у днях з початку перших сходів. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу $\pm 0,95$, $p=0,05$

За ознакою ЧД, за критерієм Тьюкі-тесту для нерівномірних вибірок (UHSD-тест), лінії з генотипом 8 (*e1 e2 e3 E4 e7*) дозрівали за 88 днів, що значно довше порівняно з лініями-носіями генотипу 7 (*e1-as e2 e3 e4 e7*, $p_{UHSD}=0,01$), генотипу 9 (*e1 e2 e3 e4 e7*, $p_{UHSD}=0,03$), які мали час дозрівання тривалістю близько 68 діб. Ці дані можна співставити з даними Kurasch et al. [79], які повідомляли, що генотипи носії алелю *e4* нечутливого до фотоперіоду, прискорює цвітіння і дозрівання, на відміну від чутливого домінантного алелю *E4*.

Так, за результатами трирічних спостережень в умовах Вінницької області, похідні лінії ‘СР-II №2375’, ‘СР-II №2372’, та сорт ‘Maple Belle’,

носії нефункціонального алелю *e4* мали в середньому на 20 днів коротший період дозрівання у порівнянні з цим періодом для сорту ‘Sreska72’.

За тривалістю вегетаційного періоду рослини з генотипом 3 (*e1-as e2 E3-Na E4 E7*), до якого відноситься сорт ‘Оксана’, мали достовірно довшу тривалість вегетації, а ніж рослини з генотипом 7 (*e1-as e2 e3 e4 e7*), який детектовано в канадського сорту ‘Maple Belle’ (рис. 3.27), і це збігається з даними отриманими Kurasch et al. [79], і Xu et al. [190], Rosencweig et al. [129], що рослини носії генотипів з рецесивними алелями за локусами *E*, які проявляють меншу чутливість до зміни фотоперіоду, мають коротші періоди тривалості вегетації, порівняно з рослинами-носіями домінантних алелів за цими локусами.

За ознаками врожайність та масу тисячі зерен достовірного впливу фактору генотип за результатами однофакторного аналізу нами виявлено не було, $p > 0,05$, тобто за цими показниками сорти і лінії суттєво не відрізнялися між собою ні в межах родин, ні в межах всієї вибірки.

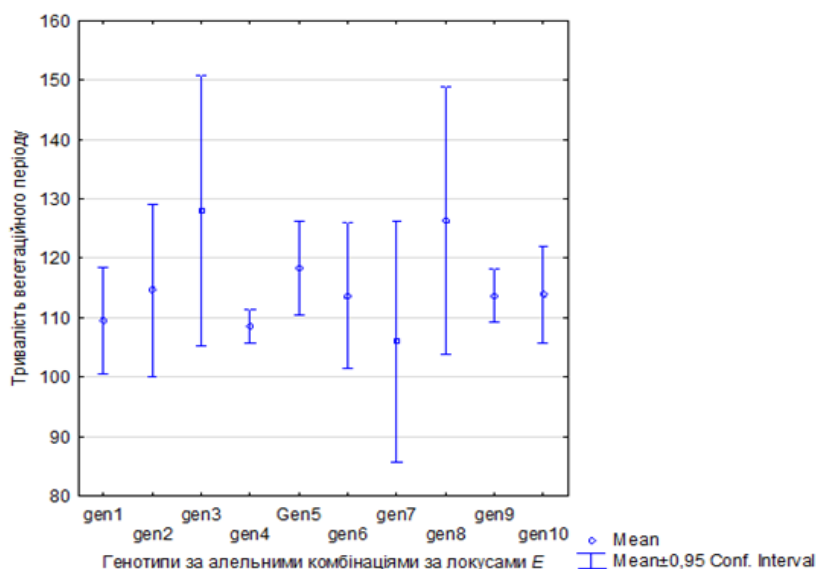


Рис. 3.27. Графіки середніх значень для сортів і гібридних ліній сої згрупованих за критерієм генотип за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки) за ознакою тривалість вегетаційного періоду у днях з початку

перших сходів. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу, $p=0,05$

В таблиці 3.22 наведено результати однофакторного аналізу ANOVA для вказаної вибірки. Для оцінки рівності або гомогенності дисперсії нами застосувався тест Левене. Для перевірки нульової гіпотези застосовували апостеріорний аналіз за критерієм Тьюкі-тесту, для рівномірних або нерівномірних вибірок (HSD чи UHSD).

Таблиця 3.22

Середні значення за агрономічними ознаками згруповані за фактором впливу «генотип» для сортів і гібридних ліній сої

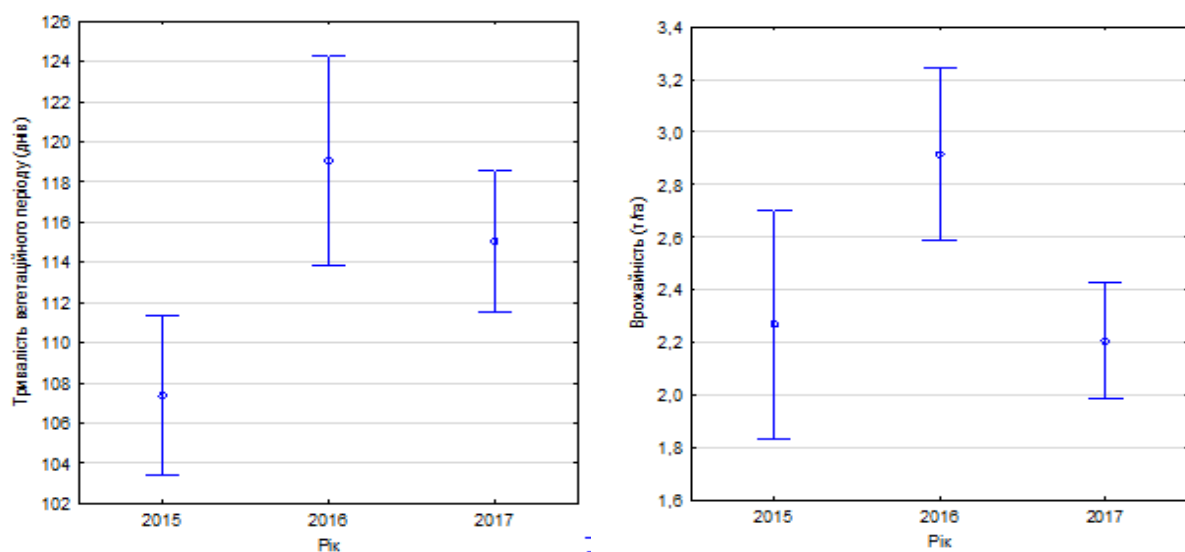
Комбінація алелів за локусами <i>E</i>	Час до цвітіння (діб)	Час дозрівання (діб)	Тривалість вегетаційного періоду (діб)	Врожайність (діб)	Маса тисячі зерен (діб)
<i>e1-as e2 E3-Ha E4 e7</i>	40,3	69,2	109,5	2,12	120,4
<i>E1 e2 E3-Ha e4 e7</i>	35,2	79,5	114,7	2,82	138,9
<i>e1-as e2 E3-Ha E4 E7</i>	42,7	82,0	128,0	1,99	115,7
<i>E1 e2 E3-Ha E4 e7</i>	38,2	72,3	108,6	2,37	149,3
<i>e1-as e2 E3-Ha E4 E7/e7 ?</i>	38,3	80,0	118,3	3,0	-
<i>e1-as e2 E3-Ha e4 E7</i>	39,3	74,3	113,7	2,22	174,7
<i>e1-as e2 e3 e4 e7</i>	39,7	66,3	106,0	2,80	153,9
<i>e1 e2 e3 E4 e7</i>	38,3	88,0	126,3	3,32	145,0
<i>e1 e2 e3 e4 e7</i>	45,0	68,6	113,7	2,29	-
<i>e1-as e2 e3 E4 e7</i>	44,3	69,5	113,8	2,30	149,4
HIP _{0,05}	4,24	6,74	7,83	-	-
HIP _{0,01}	6,02	9,57	11,13	-	-

При визначенні впливу фактору зовнішніх чинників на фенотипові прояви агрономічних ознак рослин в межах календарного року, за однофакторним аналізом нами було встановлено, що за ознакою ЧДЦ, ЧД

лінії вибірки між собою суттєво не відрізнялися, тобто фактор «рік» суттєвого впливу на ознаки ЧДЦ, ЧД не чинив.

Щодо тривалості вегетаційного періоду, то за даними однофакторного аналізу і Тьюкі-тесту, середні показники цієї ознаки 2015 року мали відмінності від 2016 і 2017 років ($p_{ANOVA} < 0,05$; $p_{HSD} < 0,05$). Тривалість вегетації рослин сої у 2015 році була в середньому на 10 днів коротше, ніж в 2016-2017 роках (рис. 3.28).

Результати статистичного аналізу щодо впливу фактору «рік» на ознаку врожайність демонстрували відмінності за показниками між 2016 і 2017 років ($p_{ANOVA} < 0,05$; $p_{HSD} < 0,05$). Середня врожайність вибірки сортів і гібридних ліній сої, що вирощувалися в Вінницькій області у 2016 році складала 2,9 т/га, що було на 0,7 т/га вище за цей показник у 2017 році (2,21 т/га).



а)

б)

Рис. 3.28. Графіки середніх значень для сортів і гібридних ліній сої згрупованих за фактором впливу «рік» за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки): **а)** за ознакою тривалість вегетаційного періоду у днях з початку перших сходів; **б)** за ознакою врожайність у т/га. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу $\pm 0,95$, $p=0,05$

Співставлення показників фенотипових ознак між собою, показало, що за період трирічних спостережень існувала слабка позитивна кореляція між тривалістю вегетаційного періоду та врожайністю рослин сої (рис. 3.29).

За іншими агрономічно-важливими ознаками нами не було встановлено кореляційних зв'язків в межах дослідженої вибірки сортів і ліній сої, вирощуваних в Вінницькій області.

За результатами двофакторного аналізу впливу факторів «рік», «генотип» і «рік-генотип» на ознаки часу до цвітіння, часу дозрівання та тривалості вегетаційного періоду, слід відзначити, що ознаки час до цвітіння та час дозрівання характеризувалися відмінностями між лініями з різними генотипами в різні роки спостереження ($p \leq 0,05, 0,01, 0,001$).

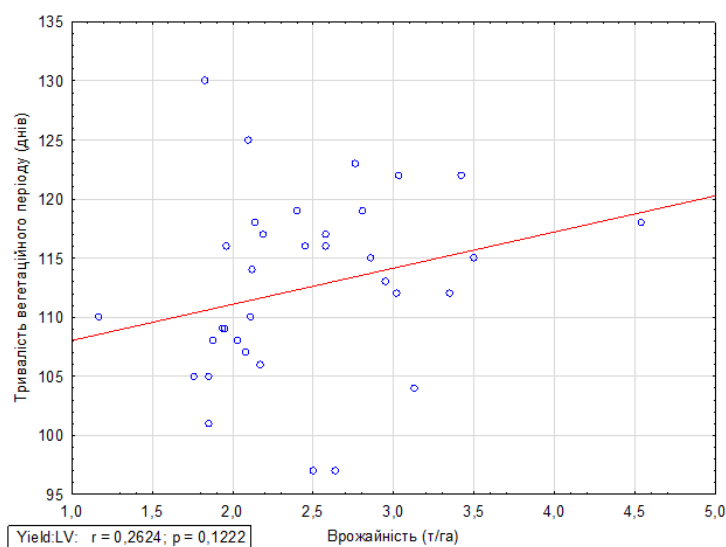


Рис. 3.29. Кореляція між ознаками довжина вегетаційного періоду (вертикальна вісь) та урожайність (горизонтальна вісь), за вибіркою з 19 ліній та 6 батьківських форм сої за 2015-2017 роки спостереження, $r=0,26$.

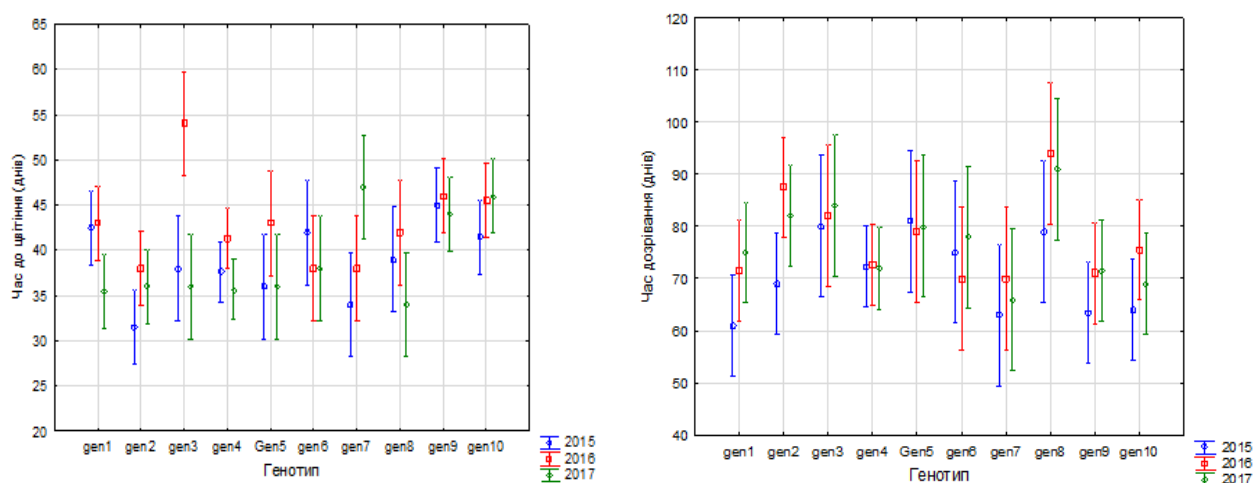
Разом фактори «рік» і «генотип» впливали на період зацвітання рослин. Сорти і лінії сої згруповані за однаковими генотипами показали достовірні відмінності за 3 роки польових досліджень за ознакою час до цвітіння (табл. 3.23, рис. 3.30).

Таблиця 3.23

Данні двофакторного дисперсійного аналізу варіацій ознак

Фактори Ознака	Джерело варіації						
	Число ступенів свободи	Час до цвітіння	ЗД ^{ЧДЦ}	Час дозрівання	ЗД ^{ЧД}	Тривалість вегетаційного періоду	ЗД ^{ТВГ}
«Рік»	2	160,29***	80,15	483,2*	241,6	1129,0***	564,5
«Генотип»	9	470,28***	52,25	1702,2**	189,1	1683,4***	187,0
«Рік x Генотип»	18	391,60*	21,76	497,5	27,6	615,5	34,2

Примітки: d – число ступенів свободи; ЗД - залишкова дисперсія; ЧДЦ – час до цвітіння; ТВГ-тривалість вегетаційного періоду; СЦ – сходи-цвітіння; * Достовірне значення за $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ і *** $p \leq 0,001$.



а)

б)

Рис. 3.30. Графіки середніх значень для сортів і гібридних ліній сої згрупованих за фактором впливу «генотип-рік» за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки): **а)** за ознакою час до цвітіння у днях з початку перших сходів; **б)** за ознакою час дозрівання, у днях з початку перших сходів. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу $\pm 0,95$, $p=0,05$

За ознаками час дозрівання і тривалість вегетаційного періоду, фактори «рік» і «генотип» впливали кожен окремо. За поєднання впливу обох факторів показники ознак суттєво не відрізнялися.

Таким чином, можемо відзначити, що рослини носії генотипів з комбінацією домінантних алелів *E1 E3-Ha* і рецесивного *e7* (генотип 2), на 10 днів раніше переходили до цвітіння, у порівнянні з рослинами-носіями алельної комбінації з напів-функціональним алелем *e1-as (e1)* і рецесивними алелями *e3-tr e7* (генотипи 9, 10), що можна пояснити характерними умовами вирощування у Вінницькій області. Генотипи сої з алелями *e1 E4* на фоні рецесивних алелів за іншими локусами *E* (генотип 8), дозрівають на 20 днів довше, на відміну від генотипів з алелями *e1 e4* (генотип 9), і *e1-as E4* (генотип 10) з таким самим фоном. Отримані нами дані свідчать, що поєднання алелів *e1 E4* може впливати на час дозрівання, подовжуючи його, що співвідносяться з результатами раніше опублікованої доповіді [190], автори якої тестували 53 нечутливих до фотоперіоду сорти сої в локаціях помірних географічних широт Північної півкулі.

Цікаво відмітити, що рослини з генотипами з рецесивними алелями *e1 e3-tr e7* (генотипи 7, 9) *e1-as e3-tr e7* (генотип 10), мали короткий період вегетації, порівняно з генотипами з домінантними алелями за цими ж локусами, що свідчить про меншу чутливість до зміни фотоперіоду перших, та що можна співставити з даними [79, 82, 129, 190].

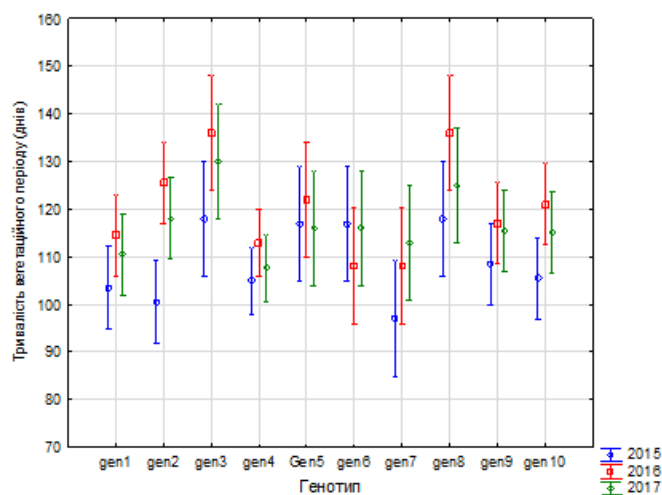


Рис. 3.31. Графік середніх значень для сортів і гібридних ліній сої згрупованих за фактором впливу «генотип-рік» за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки) за ознакою тривалість вегетаційного періоду у днях з початку перших сходів. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу $\pm 0,95$, $p=0,05$

На рис. 3.31 продемонстровано, що для ліній отриманих шляхом гібридизації з рецесивними алелями за локусом *E7* з генотипами *e1-as E4 e7* (генотип 1), *E1 E4 e7* (генотип 4), *e1-as e4 e7* (генотип7), *e1 e4 e7* (генотип 9), *e1 E4 e7* (генотип 10), характерна скорочена тривалість вегетаційного періоду порівняно з іншими генотипами дослідженої вибірки, а лінії-носії генотипів з алелями *e1-as E4 E7* (генотип 3) *e1 E4 e7* (генотип 8), навпаки відзначилися подовженим вегетативним періодом в умовах вирощування у Вінницькій області, що можна співвіднести з даними [129], які проводили дослідження на 85 сортах сої на території Білорусі (52° півн. ш.).

Щодо двофакторного аналізу впливу фактору (рік, генотип) на ознаку врожайності, необхідно відзначити рослини-носії генотипів 6, 9, 10, які демонстрували відносну стабільність врожаю за три роки польових досліджень (рис. 3.32).

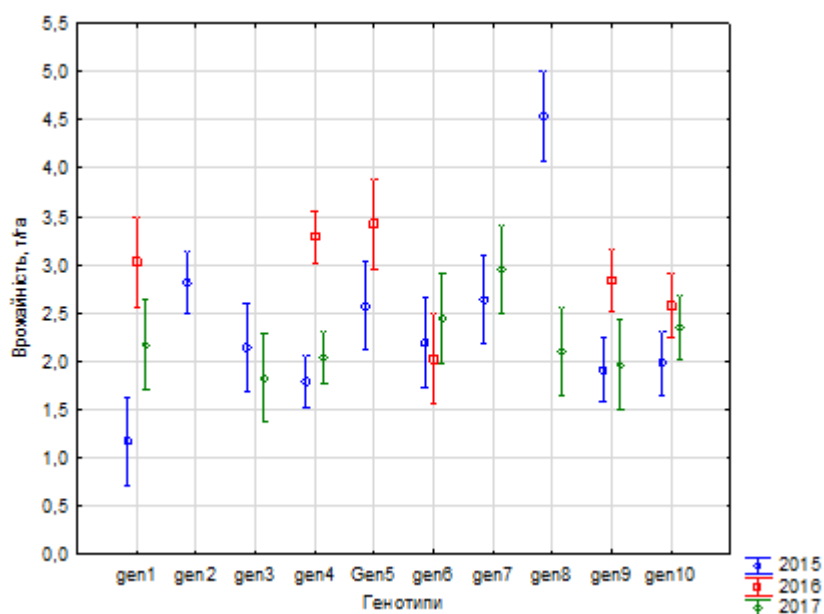


Рис. 3.32. Графік середніх значень для сортів і гібридних ліній сої згрупованих за фактором впливу «генотип-рік» за період трирічних спостережень (2015 – 2017 роки) за ознакою врожайність у т/га. Вуса (лінії) від показника значення – межі довірчого інтервалу $\pm 0,95$, $p=0,05$

Так, згідно з наведеними результатами, отримана від схрещування сортів ‘Оксана’х ‘Labrador’ гібридна лінія ‘ПСВ-I №4001’ – носій генотипу 6 з комбінацією алелів *e1-as e2 E3-Ha e4 E7*, і отримані від схрещування сортів ‘Maple Belle’ і ‘Sreska72’ гібридні лінії ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’ носії генотипу 9, з алелями *e1 e2 e3-tr e4 e7*, лінії ‘КР-II №3045’, ‘КР-II №3014’ з генотипом 10 з алелями *e1-as e2 e3-tr E4 e7* відзначилися стабільністю врожаю, демонструючи середні показники у 2-2,5 т/га. Інші генотипи проявляли сильний відклик на фактори впливу умов навколишнього середовища, та відрізнялися за річними показниками стабільності врожаю.

Отримані характеристики за агрономічними ознаками для досліджених сортів і гібридних ліній сої відповідно до алельного стану за локусами генів *E1, E2, E3, E4, E7*, дають можливість визначати генотипи, які можуть бути корисними для використання в якості донорів генів фотоперіодичної чутливості, для селекції нових сортів з передбачуваною тривалістю стадій розвитку рослин. Обрання сорту з визначеною алельною комбінацією генів чутливості до фотоперіоду надає можливості для прогнозування строків сіяння і збору врожаю і очікуваної врожайності для певних регіонів вирощування, з врахуванням впливу абіотичних факторів.

Загалом можна констатувати, що отримані нами результати молекулярно-генетичного аналізу узгоджуються з раніш опублікованими даними авторів [79, 82, 108, 129, 168, 194]. Але маємо відзначити, що в умовах Вінницької області для рослин сої, що переходять до цвітіння раніше характерні домінантні алелі за локусами *E1, E3-Ha e7*, що не співпадає із результатами [79, 129], та мабуть пояснюється особливістю волого-температурного

режиму в роки польових досліджень в локації вирощування рослин сої та/або плейотропною дією чи поєднанням алелів за іншими локусами *E*.

За ознаками час дозрівання і тривалість вегетаційного періоду можемо констатувати, що для отримання сортів сої із скороченим строком дозрівання та періодом вегетації, потрібні рецесивні нефункціональні алелі за локусами *e1-e4, e7*.

Для селекції направленої на стабільність врожаю в умовах Вінницької області можемо рекомендувати генотипи гібридних ліній ‘ПСВ-I №4001’, ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-II №3045’, ‘КР-II №3014’.

Зрозуміло, що наші рекомендації є попередніми, потребують додаткових досліджень, оскільки в інших локаціях плейотропний ефект генів чутливості до фотоперіоду, ймовірно, спричинить додатковий вплив на перебіг фізіологічних стадій розвитку рослин сої, отже і на врожайність. Однак, запропоновані нами лінії носії генотипів з певними алельними комбінаціями за локусами *E* можуть бути викорисані для отримання сортів із передбачуваними темпами розвитку, і для селекції направленої на стабільність врожаю в умовах Вінницької області або наближених до неї локаціях Лісостепової агро-кліматичної зони України. Попередні результати проведеної роботи з вивчення генетичного поліморфізму за локусами *E1, E2, E3, E4, E7* сортів і ліній сої, наразі вже демонструють загальні тенденції до суттєвої відмінності результатів за дослідженими агрономічними ознаками.

Результати статистичного аналізу показують, що продуктивність сортів сої змінюється залежно від тривалості періоду вегетації та окремих її фаз. Встановлення тривалості періоду вегетації є дуже важливим для первинної оцінки селекційного матеріалу. У той же час, на тривалість вегетаційного періоду рослин сої достовірно впливає регіон вирощування та погодні умови року. Таким чином, збільшення показників врожайності сортів сої в Україні значною мірою залежить від правильного вибору групи стиглості сортів для конкретного регіону вирощування.

Представлені в розділі 3 результати досліджень, детальніше висвітлені в публікаціях:

1. **Жарікова Д.О.,** Аксьонова О.А., Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Використання мікросателітних локусів, зчеплених з генами *E*, для ідентифікації та паспортизації сортів сої. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2019. Т. 24. С. 80-86. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1083> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено аналіз літературних даних, узагальнення власних експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

2. **Zharikova D.O.,** Chebotar G.O., Aksyonova E.A., Temchenko I.V., Chebotar S.V. Polymorphisms in SSR-loci associated with *E* genes in soybean mutant lines offer perspective for breeding. Agricultural science and practice. 2019. Vol. 6 (3). P. 45-55. <https://doi.org/10.15407/agrisp6.03.045> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено узагальнення експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

3. **Zharikova D.,** Ivanyuk S., Chebotar G., Korniychuk O., Chebotar S. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus, that involved in determination of time to flowering / Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics. Lithuania, Vilnius: Springer Nature, 2018. P. 220-225. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89578-9_40 *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, узагальнення деяких власних експериментальних даних та написано розділ до монографії)*

4. **Жарікова Д.О.,** Чеботар Г.О., Вільгота М.В., Темченко І.В., Чеботар С.В.. Характеристика мутантних ліній сої за локусами *Satt100* та *Satt319*, зчеплених з геном *E7*. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2018. Т. 23. С. 50-56. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.989> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено узагальнення експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

5. Топтиков В.А., **Жарикова Д.А.**, Г.А. Чеботарь, Темченко И.В., Чеботарь С.В. Генетико-биохимические особенности мутантных линий сои. Вісник Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова. Серія біологія. 2018. Т. 23, № 2 (43). С. 73-94. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2\(43\).147013](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2(43).147013) *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, узагальнення експериментальних даних та написано статтю)*

УЗАГАЛЬНЕННЯ

У дисертаційній роботі представлені результати досліджень поліморфізму за генами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* фотоперіодичної чутливості для 22 сортів вітчизняної та іноземної селекції і 29 ліній сої, з яких 19 ліній, отриманих шляхом гібридизації, 10 ліній, отриманих шляхом хімічного мутагенезу (всього 51 зразок і близько 510 генотипів рослин). За допомогою мікросателітних та алель-специфічних ДНК-маркерів, проведене генотипування рослинного матеріалу, розділеного на три вибірки, надано оцінку впливу генотипів з різним алельним станом за локусами *E* на агрономічно-важливі ознаки сої в певних умовах вирощування, зокрема у Правобережному Лісостепу (Вінницька область).

За результатами мікросателітної та алель-специфічної ПЛР надано оцінку генетичному поліморфізму за генами чутливості до фотоперіоду, визначено індекси поліморфності та частоти алелів для вибірки сортів української селекції, за допомогою кластерного аналізу побудовано дендрограму з 12 сортів сої української селекції, визначено мінімальні генетичні відстані між сортами, надано оцінку генетичній подібності сортів у вказаній виборці, продемонстровано доцільність використання панелі із застосованих мікросателітних маркерів, для диференціювання та паспортизації генотипів сортів сої. Нами встановлено, що мікросателітні маркери *Satt229* і *Satt354*, не можуть бути рекомендованими для ідентифікації алелів генів *E3*, *E4*. У роботі вперше визначено слабку відповідність між наявністю певних алелів генів *E* в генотипі та ранжуванням сортів сої за групами стиглості, які зазначаються у Державному реєстрі сортів рослин, придатних до поширення в Україні [223].

За допомогою проведеного молекулярно-генетичного аналізу за мікросателітними та алель-специфічними маркерами визначено поліморфізм за генами фотоперіодичної чутливості для вихідних форм і мутантних ліній

сої, визначено донорів доміантних та рецесивних генів *E*, які можна застосувати у схрещуваннях для створення селекційних ліній зі зміненими темпами розвитку. Надані рекомендації щодо застосовування генотипів мутантних ліній, як донорів генів для створення ранньостиглих форм сої. Продемонстровано, що вплив певних мутагенів похідних тетрагідротіофен-N-діоксиду-3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду 3,4-піридину індукує мінливість мікросателітних локусів в геномі, зокрема асоційованих з генами *E*. Висунуто припущення про наявність зворотньої або супресорної мутації, яка призвела до реверсії алелю *E3-Ha*. За допомогою статистичного аналізу було встановлено вплив алелів генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* на агрономічні ознаки сої при вирощуванні в умовах Вінницької області. Сорти сої з генотипами з рецесивними алелями локусів *E* (*e1 e2 e3 e4 e7* алелі), характеризуються ранім дозріванням та скороченням вегетаційного періоду. Генотипи-носії доміантного алелю гена *E7* мали триваліший період вегетації (10-11 днів довше), ніж носії рецесивного *e7*.

З метою дослідження поліморфізму у сортах і лініях сої за електрофоретичною рухливістю ізоформ ферментів пероксидази, супероксиддисмутази та ензимами обміну активних форм кисню - НАДФ•Н-оксидазою, проводився алозимний аналіз за вказаними ферментами та подальший пошук можливих кореляцій з результатами генотипування зразків сої за локусами генів *E*. На основі отриманих даних висунуто припущення, що механізм дії гена *E7* може бути пов'язаний з функціонуванням пероксидазної ген-ензимної системи, а гена *E3* із взаємодією пероксидазної та супероксиддисмутазної систем. За величинами активності ізоформ ферментів антиоксидантної системи у зразках сортів і ліній сої проаналізовано кореляцію алельного стану генів *E* з врожайністю, встановлено слабкий зворотній зв'язок за загальною активністю фермента супероксиддисмутази.

За допомогою статистичного аналізу оцінено вплив визначених алелів за локусами генів *E* на агрономічні ознаки батьківських форм і ліній сої, отриманих шляхом гібридизації, за вирощування в умовах Вінницької області. Одержані за три роки (2015-2017 р.р.) польових спостережень характеристики за ознаками час до цвітіння, час дозрівання, тривалість вегетаційного періоду на гібридних лініях сої, надали можливість скласти практичні рекомендації щодо використання маркерної селекції для відбору ліній сої з алелями, що мають вплив на темпи розвитку, зокрема скорочену стадію цвітіння, розширену стадію дозрівання, скорочену тривалість вегетаційного періоду.

За результатами проведеного аналізу за алель-специфічними маркерами вперше визначено алелі генів *E3* та *E4* в генотипах українських сортів та перспективних лініях сої. Охарактеризовано генотипи за генами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* українських сортів та ліній сої, та цими характеристиками доповнено інформаційну базу даних, що характеризує генофонд українських сортів сої.

На першому етапі дисертаційного дослідження здійснено мікросателітне профілювання 12 сортів сої різних селекційних центрів України. ПЛР проводили з праймерами *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365* та *Sat_038*, які фланкують мікросателітні локуси, за даними [111, 129] зчеплені з генами фотоперіодичної чутливості сої (*E*).

У вказаній вибірці з 12 сортів сої виявили 28 алелів за застосованими МС-маркерами. В середньому детектували 4,7 алелів на кожний МС-локус. За результатами кластерного аналізу з відтворенням дендрограми продемонстровано, що використані в роботі мікросателітні локуси дозволяють чітко диференціювати сорти один від одного.

ПЛР аналіз за мікросателітними маркерами показав, що генотип сорту 'Геба' за локусом *E1* виявився носієм домінантного алелю *E1*, який детектовано за МС-маркером *Satt365*. Генотипи інших сортів вибірки

характеризувалися різними фрагментами ампліфікації, що визначають напів- та нефункціональні форми алелів за цим локусом, та віднесені нами до рецесивного алелю *e1*. За локусом *E2*, який детектується мікросателітним маркером *Sat_038*, домінантний алель *E2* виявлено лише у референсного сорту ‘Рось’, для якого виявлений фрагмент ампліфікації розміром 243 п.н. У інших сортів вибірки виявлено різні фрагменти ампліфікації, що, можливо, можуть бути віднесені до рецесивної алельної форми гена – *e2*. У генотипах трьох сортів ‘Подяка’, ‘Ромашка’ та ‘Оксана’, а також у контрольних сортах ‘Вілана’ та ‘Harosoy OT89-5’, з урахуванням даних мікросателітного аналізу, присутній домінантний алель гена *E7*. Фрагменти ампліфікації 175 п.н. і 167 п.н. за локусами *Satt319* і *Satt100*, відповідно, були виявлені в цих сортах, як і в референсних формах, що є носіями домінантного *E7*.

За результатами мікросателітного аналізу встановлено, що в цілому мікросателітні локуси *Satt229* і *Satt354*, не є оптимальними діагностичними маркерами для визначення алелів за локусами *E3*, *E4*, тому наявність цих алелів в генотипах уточнювалася нами за допомогою алель-специфічних маркерів до вказаних локусів. Алель-специфічна ПЛР за локусами *E3*, *E4* виявила, що переважна більшість сортів дослідженої вибірки з 12 сортів сої є носіями генотипів з домінантними алелями *E3* і *E4* (*E3* – 83%, *E4* – 72%), які за даними [190], впливають не лише на час зацвітання рослин сої, а й на період дозрівання. Носіями генотипів з рецесивними алелями *e3-tr* і *e4-SORE-1* виявилися сорти ‘Мавка’ і ‘Золотиста’, а для сорту ‘Кобза’ визначено домінантний алель *E3-Ha* і рецесивний алель *e4-SORE-1*. Для сорту ‘Геба’ ПЛР-аналіз за обома алелями *E4* і *e4-SORE-1*, не виявив жодних фрагментів ампліфікації, тож за нашими припущеннями, генотип сорту ‘Геба’ може бути носієм одного з трьох інших дисфункціональних алелів – *e4-kes*, *e4-oto*, *e4-kam*, які переважно поширені в сортах японської селекції, і полагаємо є досить рідкісними в нашому регіоні, якщо навіть присутні, тому в межах проведення даної роботи маркери до цих алелів не залучалися.

Не встановлено чіткої відповідності між даними МС-аналізу та ранжуванням культурних сортів у Державному реєстрі сортів рослин, придатних для розповсюдження в Україні [223] відповідно до групи стиглості, але слабка тенденція до цього спостерігається. Висловлено припущення, що сорти сої, створюються в селекційних центрах різних регіонів України, та оригінатори характеризують свої сорти відповідно до ознак, які генотип проявляє в умовах, де сорт був створений. Характеристики за групою стиглості можуть змінюватися, за вирощування сорту в інших умовах і стають менш або більш помітними, коли майбутні сорти, протягом державного сортувипробування, порівнюються з сортами, створеними в різних регіонах протягом окремих років випробування, в цей період може сформуватися не дуже чітке визначення сорту за групою стиглості.

На наступному етапі дисертаційної роботи був проведений ПЛР-аналіз за мікросателітними та алель-специфічними маркерами 4 вихідних сортів та 10 похідних ліній, отриманих шляхом хімічного мутагенезу, які були відібрані в ІКСГП, як перспективні для селекції. Досліджено рівень генетичного поліморфізму за вказаними МС-локусами, встановлено кореляції різних комбінацій генотипів з фазами розвитку рослин та врожайністю.

У вказаному матеріалі виявлено 20 алелів. Кількість алелів на локус від 2 до 5 із середнім значенням 3,3. За результатами МС-аналізу домінантний алель *E1*, який асоційований з МС-маркером *Satt365* встановлено у мутантної лінії 'Золотиста М16', той самий алель був присутній у контрольних зразках 'Сормоган АС' та 'Рось' з домінантним алелем *E1*. Алель *E2*, близько зчеплений з МС-маркером *Sat_038* встановлено лише у референсного до цього локусу сорту 'Рось', тобто припускаємо, що всі 16 зразків представленої вибірки є носіями рецесивних алелів *e2*. Фрагменти розміром 167 п.н. і 175 п.н. за локусами *Satt100* і *Satt319*, які детектують домінантний

алель *E7*, виявлено для генотипів мутантних ліній ‘Оксана М12’ і ‘Феміда М29’.

Статистична обробка даних трирічних польових спостережень (2015-2017 р.р.) із співставленням з результатами мікросателітного аналізу показала, що домінантний алель *E1*, присутній у мутантній лінії ‘Золотиста М16’, впливав на більш раннє цвітіння (приблизно 10 днів), ніж показали інші лінії та сорти, і період сходи-цвітіння був на 10 днів коротшим для цієї лінії порівняно з усіма лініями отриманими шляхом хімічного мутагенезу. Домінантний алель гена *E7*, достовірно впливав на час до цвітіння, час дозрівання, довжину вегетаційного періоду, та довжину періоду сходи-цвітіння, а генотипи з домінантним алелем *E7* характеризувалися більш пізнім цвітінням (3-9 діб), часом дозріванням та більш довгим вегетаційним періодом (на 10-11 днів) у порівнянні з генотипами з рецесивними алелями *e7*.

Мутантні лінії ‘Оксана М2’, ‘Оксана М12’, ‘Оксана М13’, показали достовірно коротший вегетаційний період ($p = 0,05$ і $p = 0,01$) приблизно на 15-18 днів, ніж вихідний сорт ‘Оксана’ завдяки скороченню часу дозрівання. Останні також демонстрували збільшення врожайності (на 0,6 т/га), у порівнянні з вихідною формою сортом ‘Оксана’. Лінія ‘Феміда М29’ досягла зрілості достовірно ($p = 0,05$) пізніше на 13 днів, ніж вихідний сорт ‘Феміда’. Для сорту ‘Золотиста’ тривалість вегетаційного періоду була коротшою на 28 діб (майже на 1 місяць) порівняно з сортом ‘Оксана’, що говорить, про більшу нейтральність до зміни фотоперіоду першого сорту та можливість використання в якості донору рецесивних алелів *E* генів для застосування у схрещуваннях для створення селекційних ліній зі скороченими стадіями розвитку.

За результатами алель-специфічної ПЛР та інформацією про алельний стан за локусами *E3*, *E4* зазначеної вибірки сортів та похідних від них мутантних ліній встановлено, що мутагени похідні тетрагідротіофен-N-

діоксиду3,4-діаміну та тетрагідротіофен-N-діоксиду3,4-піридину призводили до змін у геномі сої та збільшення генетичної різноманітності у MS-локусах, зчеплених з *E* генами, що визначають фотоперіодичну чутливість сої. Вихідні сорти ‘Оксана’ і ‘Подільська 416’ проявили домінантний алель *E3-Ha*, з розміром фрагменту ампліфікації 558 п.н., а після проведення обробки хімічними мутагенами похідні від зазначених сортів лінії, демонстрували вже інший розмір фрагментів в 275 п.н. за локусом, який характеризує дисфункціональний алель *e3-tr*. Для ліній ‘Золотиста М16’, ‘Золотиста М20’ спостерігалися такі ж зміни в іншому напрямку, алель *e3-tr*, відновився до дикого типу. Висунуто припущення про наявність зворотньої або супресорної мутації, яка призвела до реверсії алелю *E3-Ha*. За проведенням ПЛР-аналізом за алель-специфічними маркерами до локусів *E3*, *E4* дослідженої вибірки сортів і мутантних ліній встановлено, що більше 70% генотипів виявилися носіями домінантних алелів *E3*, *E4*.

Дослідження генетико-біохімічних особливостей сортів і ліній сої за ферментами антиоксидантної системи та визначення їх кореляцій з генами фотоперіодичної чутливості виявило цікаві дані. В першій частині роботи на вибірці з 36 зразків сої, досліджено кореляції алозимного аналізу електрофоретичних спектрів ензимів – пероксидази (POX) і супероксиддисмутази (SOD) (їх ізоформ з різною електрофоретичною рухливістю) – з алельним станом за локусами генів *E* і показниками врожайності попередньо досліджених певних сортів і ліній сої. В другій частині роботи проведено індивідуальний аналіз окремих рослин кожного із 4 зразків сої, окрім зазначених вище ферментів, аналізували за електрофоретичним спектром ензиму НАДФ•Н-оксидазою (NOX).

Досліджені сорти та лінії відрізнялися між собою за загальною ферментною активністю та за розташуванням окремих форм пероксидази у спектрі. Низька загальна активність ензиму була характерна для ліній ‘Феміда М29’, ‘Золотиста’, ‘Золотиста М16’, і для всіх мутантних ліній

похідних від сорту 'Подільська 416'. Аналіз спектрів ферменту SOD показав наявність до 15 електрофоретичних форм. У спектрі SOD чітко виявлялася мажорна зона (Rf 0,50-0,57), в якій у середньому зосереджувалось майже 80% всій активності ензиму. За результатами кореляційного аналізу виявили зв'язок між співвідношенням загальної активності SOD з загальною активністю POX, з особливостями комбінації домінантних алелів $E3$ і $E4$. Домінантний алель гена $E3$ демонстрував асоційованість з деякими формами як POX, так і SOD. Встановлено помірну позитивну кореляцію домінантного алелю гену $E7$ з мало рухливими формами (Rf 0,06-0,21) та помірну негативну з середньо рухливими (Rf 0,021-0,34) формами пероксидази. Швидкі форми ферменту з електрофоретичною активністю (Rf 0,34-0,37) не демонстрували зв'язку з домінантним алелем $E7$. За показниками активності ферментів антиоксидантної системи та їх кореляції з ознакою врожайності сої, встановлено слабкий зворотній зв'язок за загальною активністю ферменту супероксиддисмутази.

Для індивідуального аналізу рослин для двох сортів і двох похідних ліній виявлено сім локусів POX і по шість локусів NOX і SOD. Всього з 19 локусів досліджуваних ензимів 15 були поліморфними з двома виявленими алелями. За досліджуваними ген-ензимними системами досліджені зразки сої характеризувалися значною поліморфністю (0,79). За частотою зустрічальності генотипів встановлено, що лінія 'Феміда М32' відрізнялася від сорту 'Феміда' за 5 локусами (33%), лінія 'Феміда М29' за 9 локусами (60%), сорти 'Феміда' і 'Korada' не схожі між собою за 10 з 15 поліморфних локусів (67%).

Кореляційний аналіз зв'язків між локусами досліджуваних ензимів і морфо-фізіологічними показниками зразків сої, а також алельним складом за локусом $E7$ показав, що сильний зв'язок з алелем $e7$ виявлений для локусів POX-7 і SOD-4 (коефіцієнти кореляції $r = -0,80$ і $0,71$ відповідно). З тривалістю вегетаційного періоду встановлено сильну позитивну кореляцію

за локусом SOD-3 ($r = 0,71$). З висотою розташування нижніх генеративних органів асоціювалися локуси POX-2 і SOD-3 ($r = 0,82$ і $0,71$ відповідно).

На заключному етапі дисертаційної роботи для визначення алельного стану і надання оцінки поліморфізму за локусами *E*, проводили молекулярно-генетичний аналіз на вибірці із 6 батьківських сортів і 19 ліній, отриманих шляхом гібридизації. Для цього за рекомендаціями [111, 129] використовували MC-маркери *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365* та *Sat_038* і алель-специфічні ДНК-маркери рекомендовані [53, 91, 180, 187, 190].

Загалом у трьох родинях ліній покоління (F_{7-8}) від схрещувань: ‘Linia 103’ x ‘Korada’ - 7 ліній (родина I), ‘Оксана’ x ‘Labrador’ - 5 ліній (родина II), ‘Maple Belle’ x ‘Sreska72’ - 7 ліній (родина III) виявлено 25 алелів за шістьма MC-локусами, тобто 4,2 алеля на локус. Значення індексу поліморфності за дослідженими MC-локусами, варіювало від 0,44 до 0,69 (в середньому 0,55). Частота мажорних алелів знаходилася в межах 0,40 до 0,72, в залежності від локусу.

Узагальнюючи результати MC-аналізу, співставляючи з даними польових досліджень, встановили, що у батьківських сортів і похідних ліній сої, фрагмент розміром 270 п.н. за локусом *Satt365* (алель *E1*) поєднувався з фрагментом розміром 131 п.н. за локусом *Satt100*, який попередньо віднесений до рецесивного алелю *e7*. За даними Molnar et al. (2003) [111], ген *E1* є близько зчепленим з *E7* (2,2 cM), і можливо саме така комбінація алелів *E1*₂₇₀ *e7*₁₃₁ сприяє скороченню фази сходи-цвітіння в умовах Вінницької області. Таку ж саму тенденцію демонстрували сорт ‘Labrador’ та лінія ‘ПСВ-І №4001’ (нащадок схрещування родини II), з генотипами з алелем 215 п.н. за локусом *Satt229* (домінантний алель *E3*), які переходили до цвітіння в середньому на 36,5 день, що на 6 днів раніше за ніж генотипи-носії алелю 234 п.н. за цим локусом, до останніх відносяться сорт ‘Maple Belle’, всі лінії родини III, сорт ‘Korada’ і лінія ‘СР-І №2234’.

За локусом *Satt319* нами спостерігалася тенденція до подовження фази цвітіння-дозрівання, яка у генотипів з алелем 175 п.н. (домінантний алель *E7*) складала 78,8 днів, що порівняно з генотипами, які характеризувалися алелями 178 п.н., і 180 п.н., (рецесивні алелі *e7*) була тривалішою на 5,1 та 6,7 днів, відповідно.

На ознаку довжина вегетаційного періоду за нашими даними достовірно впливали алелі локусів *Satt100*, *Satt319*, *Sat_038*. Сорт 'Оксана' і лінія 'КР-II №3035', з алелем 167 п.н. за локусом *Satt100* (домінантний алель *E7*), показали тривалість вегетаційного періоду у 120,8 днів, що на 9,8 днів триваліше за рослини з генотипами- носіями 131 п.н. (рецесивний алель *e7*) за цим локусом. Вегетація рослин з генотипами, що характеризуються алелями 175 п.н. за локусом *Satt319* (домінантний алель *E7*), тривала на 11 днів довше, порівняно з вегетаційним періодом рослин, для яких був визначений алель 178 п.н. (рецесивний алель *e7*), що в середньому за період вегетації нараховувала 109 днів для сорту 'Labrador', ліній 'СР-II №2365', 'СР-II №2367', 'СР-II №2369'.

Рослини сої, що характеризувалися фрагментом ампліфікації розміром 245 п.н. за МС-локусом *Sat_038*, мали період вегетації тривалістю 111,8 днів, достовірно коротший на 7,9 днів від показника за цієї ж ознакою у генотипів з фрагментом 249 п.н., тривалість вегетаційного періоду в яких складала 119,7 днів.

Для визначення впливу за факторами «генотип» і «рік», за результатами МС-аналізу в поєднанні з результатами алель-специфічної ПЛР, у дослідженій виборці передбачено 10 генотипів або алельних комбінацій за генами *E*.

В умовах Вінницької області сорти 'Korada' і 'Labrador', носії алелів *E1* і *E3-На e7 e7* переходили до фази цвітіння майже на 10 днів раніше ($p_{UHSD} < 0,05$), ніж лінії 'СР-II №2372', 'СР-II №2375', 'КР-I №3014', 'КР-II №3045', носії напів-функціонального *e1-as* і рецесивних алелів *e1* і *e3-tr e7*

e7 за цими локусами. За нашими припущеннями це є характерним для вказаного регіону вирощування, або викликано плейотропним ефектом чи специфічною комбінацією алелів локусів *E* (*E1* і *e7*). За ознакою дозрівання, лінії з генотипом 8 (*e1 e2 e3 E4 e7*) дозрівали за 88 днів, що значно довше порівняно з лініями-носіями генотипу 7 (*e1-as e2 e3 e4 e7*, $p_{UHSD}=0,01$), генотипу 9 (*e1 e2 e3 e4 e7*, $p_{UHSD}=0,03$), які мали час дозрівання тривалістю близько 68 діб.

За тривалістю вегетаційного періоду рослини з генотипом 3 (*e1-as e2 E3-Na E4 E7*), до якого відноситься сорт 'Оксана', мали достовірно довшу тривалість вегетації, а ніж рослини з генотипом 7 (*e1-as e2 e3 e4 e7*), який детектовано в канадського сорту 'Maple Belle'. Це співвідноситься з даними отриманими [79], [129], [190], що рослини носії генотипів з рецесивними алелями за локусами *E*, проявляють меншу чутливість до зміни фотоперіоду, мають коротші періоди тривалості вегетації, порівняно з рослинами-носіями домінантних алелів за цими локусами.

Співставлення показників фенотипових ознак між собою, показало, що за період трирічних спостережень існувала слабка позитивна кореляція між тривалістю вегетаційного періоду та врожайністю рослин сої ($r=0,26$).

Для ліній отриманих шляхом гібридизації з рецесивними алелями за локусом *E7* з генотипами *e1-as E4 e7* (генотип 1), *E1 E4 e7* (генотип 4), *e1-as e4 e7* (генотип 7), *e1 e4 e7* (генотип 9), *e1-as E4 e7* (генотип 10), характерна скорочена тривалість вегетаційного періоду порівняно з іншими генотипами дослідженої вибірки, а лінії-носії генотипів з алелями *e1-as E4 E7* (генотип 3) *e1 E4* (генотип 8), навпаки відзначилися подовженим вегетаційним періодом в умовах вирощування у Вінницькій області. Таким чином, можна відзначити, що для створення сортів сої із скороченим строком дозрівання та періодом вегетації, до вихідного матеріалу потрібно вносити рецесивні нефункціональні алелі за локусами *e1*, *e2*, *e3*, *e4*, *e7*.

За результатами двофакторного аналізу впливу варіанси (рік, генотип) на ознаку врожайності, необхідно відзначити рослини-носії генотипів 6, 9, 10, які демонстрували відносну стабільність врожаю за три роки польових досліджень.

Для селекції направленої на стабільність врожаю в умовах Вінницької області можемо рекомендувати генотипи гібридних ліній ‘ПСВ-I №4001’, ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-II №3045’, ‘КР-II №3014’.

Підсумовуючи можна відзначити, що *E* гени впливають на час цвітіння і дозрівання рослин сої, але в різних середовищах або зонах вирощування їх важливі плейотропні ефекти, наприклад на врожайність, можуть змінюватися. Знання про алелі в конкретному сорті, зокрема, про різноманітність та взаємодію генотипів та конкретного середовища, дозволить селекціонерам вибрати правильну стратегію селекції, допоможе використовувати потенціал урожайності сортів сої у сприятливому середовищі, або направлено вести селекцію на адаптацію рослини до мінливих умов середовища. Ці знання можуть допомогти вдосконалити систему ранжування за групами стиглості сої на основі генетичних відмінностей між сортами та провести пошук ідеально відповідної для генотипу зони вирощування.

Запропонована панель мікросателітних маркерів, дозволяє диференціювати сорти сої та паспортизувати їх генотипи та одночасно доповнити інформацією базу даних, що характеризує генофонд українських сортів сої, стосовно наявності алелів *E*.

Сучасні молекулярно-генетичні методи на основі мікросателітних маркерів до локусів *E*-генів дозволяють, визначати алельний стан *E*-генів, поліморфність генотипів сортів сої, ідентифікувати необхідні гени на ранніх стадіях розвитку, ще до початку їх експресії, та рекомендувати сорти для використання в селекційних програмах за різними напрямками. Виходячи з того, що за даними Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН

(ФАО) у 2019 році Україна вийшла на перше місце в Європі з експорту сої, з врожаєм у 3,7 млн тон [258], необхідність більш досконалого вивчення групи генів фотоперіодичної реакції сортів і ліній сої з походженням із різних селекційних центрів нашої країни наразі підтверджена багаторазовими запитами вітчизняних селекціонерів та допоможе скоротити їх час і зусилля для створення сортів із передбачуваними темпами розвитку в певному регіоні вирощування.

Використання молекулярно-генетичних методів визначення алелів генів *E* із застосуванням ПЛР-аналізу з мікросателітними маркерами та алель-специфічними, допомагає ідентифікувати та диференціювати сорти сої, створювати їх генетичні паспорти, що може бути корисним для захисту авторських прав на сорти рослин, а також здобута інформація може використовуватися у маркер-опосередкованій селекції зі створення сортів сої із запрограмованими темпами розвитку.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендуємо панель з 6 МС-локусів: *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365*, *Sat_038* для диференціації сучасних сортів сої української селекції та створення їх генетичних паспортів.

2. Для селекції направленої на стабільність врожаю в умовах Правобережного Степу України (або наближених до них) рекомендуємо генотипи гібридних ліній ‘ПСВ-I №4001’, ‘СР-II №2372’, ‘СР-II №2375’, ‘КР-II №3045’, ‘КР-II №3014’.

3. Для створення сортів сої із скороченим строком дозрівання та періодом вегетації, до вихідного матеріалу рекомендовано вносити рецесивні нефункціональні алелі за локусами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*.

4. Використовувати маркерну селекцію для відбору ліній сої з алелями *Satt365*₂₇₀, *Sat_038*₂₄₇, *Satt229*₂₃₀, *Satt354*₁₇₈, *Satt100*₁₃₁, *Satt319*₁₇₈, як таких, що мають прискорені темпи розвитку, зокрема раннє цвітіння та дозрівання, застосовувати генотип мутантної лінії ‘Золотиста М16’ (як ранньостиглий), як донора генів для створення ранньостиглих форм сої.

5. Прогнозувати темпи розвитку сої за допомогою мікросателітного аналізу за локусами *Satt100*, *Satt319*, *Sat_038* зчепленими з *E*-генами. При доборі та створенні ранньостиглих сортів сої враховувати, що більш короткий вегетаційний період характерний для рослин з алелями 131 п.н. за локусом *Satt100* і 178 п.н. *Satt319*; більш раннє цвітіння характерне для рослин з алелем 247 за локусом *Sat_038*.

6. Для впровадження у практику науково-дослідних та селекційних установ України концепції маркерної геномної селекції рекомендуємо застосовуючи у селекційному процесі маркери до генів *E* фотоперіодичної чутливості сої, спиратися на визначені характеристики сучасних сортів при доборі вихідного матеріалу у схрещування, використовувати розроблену базу даних (Додаток Л).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі проаналізовано та узагальнено результати дослідження з визначення генетичного поліморфізму за генами *E* – фотоперіодичної чутливості для українських сортів і ліній сої та надано оцінку їх впливу на агрономічні ознаки. Отримані результати дозволяють сформулювати наступні висновки:

1. Визначено високий рівень генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами, асоційованими з генами *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7*, в досліджених генотипах сої, зокрема, серед 22 сортів, 19 ліній, отриманих шляхом гібридизації, та 10 ліній сої, отриманих шляхом хімічного мутагенезу, за шістьма МС-локусами виявлено 28 алелів (4,7 алеля/локус), значення індексу поліморфності варіювало від 0,44 до 0,71.

2. Встановлено, що більшість сортів і ліній сої української селекції характеризується домінантними алелями за генами *E3* – 70% і *E4* – 75 % за результатами алель-специфічної ПЛР.

3. Використання панелі МС-локусів – *Satt100*, *Satt229*, *Satt319*, *Satt354*, *Satt365*, *Sat_038*, дозволило диференціювати досліджені в роботі сорти сої та запропонувати для них генетичні паспорти. Панель вказаних маркерів може залучатися для диференціації та ідентифікації сучасних сортів сої української селекції для створення генетичних паспортів і захисту авторських прав на сорти сої.

4. Детектовано вплив алелів за локусами *Satt100* і *Satt319*, що визначають домінантний алель гена *E7*, на подовження тривалості періоду вегетації (на 10-11 діб), у порівнянні з носіями рецесивного *e7*, за вирощування в Правобережному Лісостепу.

5. Сорти сої з генотипами з рецесивними алелями *e1 e2 e3 e4 e7* порівняно з генотипами, в яких присутні певні домінантні алелі – *e1 e2 E3 E4*

E7, характеризуються коротшим вегетаційним періодом за вирощування в умовах Правобережного Лісостепу України.

6. Мутагени – похідні тетрагідротіофен-*N*-діоксиду 3,4-діаміну та тетрагідротіофен-*N*-діоксиду 3,4-піридину – призводили до генетичної мінливості у геномі сої, до збільшення алельної різноманітності за локусами, зчепленими з *E* генами, та впливали на алельний стан гена *E3* в генотипах ліній сої, отриманих шляхом хімічного мутагенезу.

7. За біохімічними маркерами (пероксидазою, супероксид дисмутазою, НАДФ·*N*-оксидазою), виявлено зв'язок експресивності досліджених ензимів з алелями генів *E3*, *E4*, *E7*.

8. Рекомендуємо застосовувати генотип мутантної, ранньостиглої лінії 'Золотиста М16' як донора генів для створення ранньостиглих сортів сої. Використовувати МС-маркери, як інструмент маркерної селекції для відбору ліній сої з алелями *Satt365*₂₇₀, *Sat_038*₂₄₇, *Satt229*₂₃₀, *Satt354*₁₇₈, *Satt100*₁₃₁, *Satt319*₁₇₈, як таких, що мають прискорені темпи розвитку, зокрема раннє цвітіння та дозрівання. МС-маркери *Satt229* і *Satt354* не можуть бути рекомендованими для ідентифікації алелів генів *E3*, *E4* в українському генетичному пулі сортів сої.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abe J., Xu D., Miyano A., Komatsu K., Kanazawa A., Shimamoto Y. Photoperiod-insensitive Japanese soybean landraces differ at two maturity loci. *Crop Science*. 2003. Vol. 43. P. 1300–1304.
2. Abugalieva S., Didorenko S., Anuarbek S., Volkova L., Gerasimova Y., et al. Assessment of soybean flowering and seed maturation time in different latitude regions of Kazakhstan. *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11(12). P. 1–12. e0166894. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166894>
3. Adams S.R., Pearson S., Hadley P. Improving quantitative flowering models through a better understanding of the phases of photoperiod sensitivity. *Journal of experimental botany*. 2001. Vol. 52(357). P. 655–662. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.357.655>
4. Akkaya M.S., Bhagwat, A.A., Cregan P.B. Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics*. 1992. Vol. 132. P. 1132–1139.
5. Alabadí D., Oyama T., Yanovsky M.J., Harmon F.G., Más P., Kay S.A. Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science*. 2001. Vol. 293. P. 880–883. 10.1126/science.1061320 ;
6. Almeida R.D., Peluzio J.M., Afferri F.S.. Phenotypic, genotypic and environmental correlations in soybean grown under irrigated lowland conditions, southern Tocantins. *Biosci*. Vol. 26. 2010. P. 95–99.
7. Analysis of PCR fragments used 50-cm capillaries and polymer POP-6® in genetic analyzer ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems). Thermo Fisher Scientific Inc. 2014. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/4474504.pdf>.
8. Arumuganathan K., Earle E.D. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Biol*. 1991. Rep. 9. P. 208–218. <https://doi.org/10.1007/BF02672069>
9. Avksentiieva O. Taran N. Drought resistance and productivity of wheat and soybean isogenic lines with different photoperiodic sensitivity. «EUREKA: Life Sciences». *Agricultural and Biological Sciences*. 2016. Vol.5. P. 8–17. DOI: <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2016.00226>
10. Ayala F.J. Population and evolutionary genetics: a primer, Benjamin/Cummings: Menlo Park, California, 1982. 268 p.
11. Baek K.-H. Skinner D.Z. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near isogenic wheat lines. *Plant Sci*. 2003. Vol. 165. №6. P. 1221–1227.
12. Baek K.-H. Skinner D.Z. Differential expression of manganese superoxide dismutase sequence variants in near isogenic lines of wheat during cold acclimation. *Plant Cell Rep*. 2006. Vol. 25, No 2. P. 223–230.
13. Bailey L.H., The indigen and cultigen. *Science*. 1918. Vol. 47 (1213). P. 306–308. doi:10.1126/science.47.1213.306. PMID: 17757815.

14. Ben-Naim O., et al. The CCAAT binding factor can mediate interactions between CONSTANS-like proteins and DNA. *Plant*. 2006. Vol. 46. P. 462-476.
15. Bernard R.L. Soybean germplasm, breeding, and genetic activities in the United States. Soybean research in China and the United States: Proc. First China [USA soybean symposium and working group meeting], (July 26-30, 1982). University of Illinois at Urbana. Champaign, Urbana, Illinois, USA, 1983. P. 19–25.
16. Blanc G., Wolfe K. Widespread paleopolyploidy in model plant species inferred from age distributions of duplicate genes. *The Plant Cell*, 2004. Vol. 16 (7). P. 1667-1678; DOI: 10.1105/tpc.02134
17. Bonato E.R. Vello N.A. *E6*, a dominant gene conditioning early flowering and maturity in soybeans. *Genet Mol Bio*. 1999. Vol. 22. P. 229-232.
18. Borthwick H.A., Parker M.W. Influence of photoperiods upon the differentiation of meristems and the blossoming of Biloxi soybeans. *Botanical Gazette*. 1938. Vol. 99. P. 825-839.
19. Cao D., Li Y., Lu S., Wang J., Nan H., Li X., Shi D., Fang C., Zhai H., Yuan X., Anai T., Xia Z., Liu B., Kong F. *GmCOL1a* and *GmCOL1b* function as flowering repressors in soybean under long-day conditions. *Plant Cell Physiol*. 2015. Vol. 56 (12). P. 2409-2422. doi: 10.1093/pcp/pcv152.
20. Cao D., Li Y., Wang J. et al. *GmmiR156b* overexpression delays flowering time in soybean. *Plant Mol Biol*. 2015. Vol. 89. P. 353-363. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0371-5>
21. Cao D., Takeshima R., Zhao C., Liu B., Jun A., Kong F., Molecular mechanisms of flowering under long days and stem growth habit in soybean, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 68. Issue 8. 2017. Pages 1873-1884, <https://doi.org/10.1093/jxb/erw394>
22. Cao K., Cui L., Zhou X., Ye L., Zou Z., Deng S. Four tomato FLOWERING LOCUS T-like proteins act antagonistically to regulate floral initiation. *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 11. P. 213.
23. Carpentieri-Pipolo V., Almeida L.A.D., Kiihl R.A.S., Pagliosa, E.S. Inheritance of late flowering in natural variants of soybean under short-day conditions. *Pesquisa Agropecu. Bras*. 2014. Vol. 49. P. 796-803. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014001000006>
24. Carpentieri-Pipoplo V., Almeida L.A.D., Kiihl R.A.S. Inheritance of a long juvenile period under short-day conditions in soybean. *Genet. Mol. Biol*. 2002. Vol. 25. P. 463-469. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572002000400016>
25. Chamberlain L., Specht J.P., Conley S., Soybean flowering fallacy. University of Wisconsin, Madison. 2018. https://coolbean.info/wp-content/uploads/sites/3/2017/10/2018_Soybean_flowering_final.pdf
26. Choi I.Y. et al. A soybean transcript map: gene distribution, haplotype and singlenucleotide polymorphism analysis. *Genetics*. 2007. Vol. 176. P. 685-696.

27. Clarindo W., de Carvalho C. Alves B. Mitotic evidence for the tetraploid nature of *Glycine max* provided by high quality karyograms. *Plant Syst. Evol.* 2007. Vol. 265. P. 101–107. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0522-5>
28. Cober E.R., Molnar S.J., Charette M., Voldeng H.D. A new locus for early maturity in soybean. *Crop Sci* 2010. Vol. 50. P. 524-527.
29. Cober E.R., Tanner J.W., Voldeng H.D., Soybean photoperiod-sensitivity loci respond differentially to light quality. *Crop Sci.* 1996b. Vol. 36. P. 606-610.
30. Cober E.R., Tanner J.W., Voldeng H.D. Genetic control of photoperiod response in early-maturing, near-isogenic soybean lines. *Crop Science.* 1996a. Vol. 36. P. 601- 605.
31. Cober E.R., Voldeng H.D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to *E1* and *T*. *Crop Science.* 2001. Vol. 41. P.698 -701.
32. Considine M.J., Siddique K.H., Foyer C.H. Nature's pulse power: legumes, food security and climate change. *J. Exp. Bot.* 2017. Vol. 68. P. 1815–1818. doi: 10.1093/jxb/erx099
33. Cregan P.B., Jarvik T., Bush A.L., Shoemaker R.C., et al. An Integrated Genetic Linkage Map of the Soybean Genome. *Crop Science.* 1999. Vol.39. P.1464-1490.
34. Davis B. I. «Disc elektroforesis. 2. Method and application to human serum proteins». *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1964. Vol. 121, № 2. P. 404-427.
35. De Vicente M.C., López C., Fulton T. Genetic diversity analysis with molecular marker data: learning module. International Plant Genetic Resources Institute (Ipgr). 2004. Rome. 187 p.
36. Delannay X., Rodgers D.M., Palmer R.G. Relative genetic contributions among ancestral lines to north American soybean cultivars. *Crop Science.* 1983. Vol. 23(5) P. 944-949, P. 22, P. 14.
37. Destro D., Carpentieri-Pipolo V., Kiihl R.A.S., Almeida L.A. Photoperiodism and genetic control of the long juvenile period in soybean: a review. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 2001. Vol. 1. P. 72-92 <http://www.sbmp.org.br/cbab/siscbab/uploads/c94937f6-17d0-a44f.pdf>
38. Diaz-Vivancos P., Barba-Espin G., ClementeMoreno M.J., Hernandez J.A. Characterization of the antioxidant system during the vegetative development of pea plants. *Biol. Plant.* 2010. Vol. 54. P. 76-82.
39. Dissanayaka A., Rodriguez T.O., Di S. Quantitative trait locus mapping of soybean maturity gene *E5*. *Breed Sci.* 2016. Vol. 66. № 3. P.407-415.
40. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 1990. Vol. 12. P. 13-15.
41. Doyle J.J., Luckow M.A. The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol.* 2003. Vol. 131. P. 900-910. DOI: 10.1104/pp.102.018150

42. Fehr W.R., Caviness C.E. Stages of Soybean Development. Special Report 80. Iowa State University, Ames, Iowa. 1977. doi:10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x
43. Findley S.D., Cannon S., Varala K., Du J., Ma J., Hudson M.E., Birchler J.A., Stacey G. A fluorescence in situ hybridization system for karyotyping soybean. *Genetics*. 2010. Vol. 185(3). P. 727-744. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.113753>
44. Fornara F., Panigrahi K.C., Gissot L., Sauerbrunn N., Rühl M., Jarillo J.A., Coupland G. Arabidopsis DOF transcription factors act redundantly to reduce CONSTANS expression and are essential for a photoperiodic flowering response. *Developmental cell*. 2009. Vol. 17(1). P 75-86. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.06.015>
45. Gadjev I., Vanderauwera S., Gechev T.S., Laloi C., Minkov I.N., Shulaev V., Apel K., Inzé D., Mittler R., Van Breusegem F. Transcriptomic footprints disclose specificity of reactive oxygen species signaling in Arabidopsis. *Plant Physiol*. 2006. Vol. 141(2). P. 436-445. doi: 10.1104/pp.106.078717.
46. Gai J., Xu D., Gao Z., et al. Studies on the evolutionary relationship among eco-types of *G. max* and *G. soja* in China *Zuo wu xue bao*. 2000. Vol. 26(5). P.513-520. <https://europepmc.org/article/cba/339184>
47. Goloenko D.V., Rosenzweig V.E., Milash S.B., Aksyonova E.A., Davydenko O.G. Application of photoperiod sensitivity genes for soybean breeding in Belarus. 2008. Abstract of Conference «Control of Flowering Time and Applications for Plant Breeding» Salzau, Germany. P. 60-61.
48. Grant D., Nelson R.T., Cannon S.B., Shoemaker R.C. SoyBase, the USDA-ARS soybean genetics and genomics database. *Nucl. Acids Res*. 2010. Vol. 38 (suppl 1): D843-D846. doi: 10.1093/nar/gkp798
49. Grennan A.K. A transcriptomic footprint of reactive oxygen species. *Plant Physiol*. 2008. Vol. 148(3). P. 1187-1188. doi: 10.1104/pp.104.900274.
50. Guo J., Wang Y., Song C., Zhou J., Qiu L., Huang H., Wang Y., A single origin and moderate bottleneck during domestication of soybean (*Glycine max*): implications from microsatellites and nucleotide sequences, *Annals of Botany*. 2010. Vol. 106. Issue 3. P. 505-514. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq125>
51. Guo W. The history of soybean cultivation in China. Hehai University Press, 1993. Nanjing, Jiangsu, China. P. 62.
52. Gupta S.A., Webb R.P., Holaday A.S., Allen R.D. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (Induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants). *Plant Physiol*. 1993. Vol. 103. 1067-1073.
53. Harada K., Watanabe S., Xia Z., Tsubokura Y., Yamanaka N., Anai T. Positional cloning of the responsible genes for maturity loci *E1*, *E2* and *E3* in soybean. In: Krezhova D, ed. Soybean genetics and novel techniques for yield enhancement. 2011. InTech. P. 433-445.

54. Harlan J.R., de Wet J.M.J., Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon*. 1971. Vol. 20. P. 509-517. <https://doi.org/10.2307/1218252>
55. Hartwig E.E., Kiihl R.A.S., Identification and utilization of a delayed flowering character in soybeans for short-day conditions. *Field Crops Res.* 1979. Vol. 2. P. 145-151. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(79\)90017-0](https://doi.org/10.1016/0378-4290(79)90017-0)
56. Hasanuzzaman M., Hossain A.M., Teixeira da Silva J.A., Fujita M. Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. *Crop stress and its management: perspectives and strategies*. Eds. Venkateswarlu B. et al. Springer Netherlands. 2012. P.261-315
57. Hayama R., Agashe B., Luley E., King R., Coupland G. A circadian rhythm set by dusk determines the expression of FT homologs and the short-day photoperiodic flowering response in *Pharbitis*. *Plant Cell*. 2007. Vol. 19. 2988-3000.
58. Hymowitz T. On the domestication of the soybean. 1970. *Econ Bot.* Vol. 24, p.408-421. <https://doi.org/10.1007/BF02860745>
59. Hymowitz T., Speciation and Cytogenetics. In *Soybeans: Improvement, Production, and Uses* (eds R.M. Shibles, J.E. Harper, R.F. Wilson and R.C. Shoemaker). *Agronomy monographs*. 2004. Chapt. 4. P. 212-245. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr16.3.ed.c4>
60. Hyten D.L., Cannon S.B., Song Q. et al. High-throughput SNP discovery through deep resequencing of a reduced representation library to anchor and orient scaffolds in the soybean whole genome sequence. *BMC Genomics*. 2010. Vol. 11. P. 38-46. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-38>
61. Hyten D.L., Choi I.K., Song Q.J., Specht J.E., Carter T.E., Shoemaker R.C., Hwang E.Y., Matukumalli L.K., Cregan P.B. A High density integrated genetic linkage map of soybean and the development of a 1,536 Universal Soy Linkage Panel for QTL Mapping. *Crop Science*. 2010. Vol. 50. P. 960-968. doi: 10.2135/cropsci2009.06.0360.
62. Imaizumi T., Schultz T.F., Harmon F.G., Ho L.A., Kay S.A. FKF1 F-box protein mediates cyclic degradation of a repressor of CONSTANS in *Arabidopsis*. *Science (New York, N.Y.)*. 2005. Vol. 309 (5732). P. 293-297. <https://doi.org/10.1126/science.1110586>
63. Inzé A., Vanderauwera S., Hoerberichts F.A., Vandorpe M., Van Gaeve T., Van Breusegem F. A subcellular localization compendium of hydrogen peroxide-induced proteins. *Plant Cell Environ.* 2012. Vol. 35(2). P. 308-320. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02323.x.
64. Jaeger K.E., Wigge P.A. FT protein acts as a long-range signal in *Arabidopsis*. *Current biology: CB*. 2007. Vol. 17(12). P. 1050-1054. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.05.008>
65. Jaffe D.B. et al. Whole-genome sequence assembly for mammalian genomes: *Arachne 2*. *Genome Res.* 2003. Vol. 13. P. 91-96. DOI: 10.1101/gr.828403

66. Jamet A., Mandon K., Puppo A., Hérouart D. H₂O₂ is required for optimal establishment of the *Medicago sativa* / *Sinorhizobium meliloti* symbiosis. *J Bacteriol.* 2007. Vol. 189(23)8741-5. doi: 10.1128/JB.01130-07.
67. Jang S., Marchal V., Panigrahi K.C., Wenkel S., Soppe W., Deng X.W. et al.. Arabidopsis COP1 shapes the temporal pattern of CO accumulation conferring a photoperiodic flowering response. *EMBO J.* 2008. Vol. 27(8). P. 1277-1288. doi: 10.1038/emboj.2008.68.
68. Jia H., Jiang B., Wu C., Lu W., Hou W., et al. Maturity group classification and maturity locus genotyping of early-maturing soybean varieties from high-latitude cold regions. *PLoS ONE.* 2014. Vol. 9(4). e94139. doi:10.1371/journal.pone.0094139
69. Jiang B., Nan H., Gao Y., Tang L., Yue Y., Lu S., Ma L., Cao D., Sun S., et al. Allelic combinations of soybean maturity Loci *E1*, *E2*, *E3* and *E4* result in diversity of maturity and adaptation to different latitudes. *PLoS One.* 2014. Vol. 9(8). e106042. doi: 10.1371/journal.pone.0106042.
70. Kantolic A.G., Slafer G.A. Development and seed number in indeterminate soybean as affected by timing and duration of exposure to long photoperiod after flowering. *Annals of Botany.* 2007. Vol. 99. P. 925-933. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm033>
71. Kantolic A.G., Slafer G.A. Reproductive development and yield components in indeterminate soybean as affected by post-flowering photoperiod. *Field Crops Research.* Vol. 93. 2005. P. 212-222. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.10.001>
72. Karuppanapandian T., Moon J.-C., Kim C., Manoharan K., Kim W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *AJCS.* 2011. Vol. 5(6). P. 709-725.
73. Kim Y., Lim J., Yeom M., Kim H., Kim J., Wang L., Kim W.Y., Somers D.E., Nam H.G.. ELF4 regulates GIGANTEA chromatin access through subnuclear sequestration. *Cell Rep.* 2013 Vol. 3(3). P. 671-677. doi: 10.1016/j.celrep.2013.02.021.
74. Kofsky J., Zhang H., Song B.-H. The untapped genetic reservoir: the past, current, and future applications of the wild soybean (*Glycine soja*). *Front. Plant Sci.* 2018. Vol. 9. Art. 949. P. 1-10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00949>
75. Kong F., Nan H., Cao D., Li Y., Wu F., Wang J., Lu S., Yuan X., Abe J., Cober E., Liu B. A New Dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean. *Crop Science.* 2014. Vol. 54. P. 2529–2535.
76. Krzywinski M. et al. Circos: An information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res.* 2009. Vol. 19. P. 1639-1645.
77. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution.* 2018. Vol. 35. P. 1547-1549.

78. Kumudini S.V., Pallikonda P.K., Steele C. Photoperiod and *E*-genes Influence the Duration of the Reproductive Phase in Soybean. *Crop Sci.*, 2007. Vol. 47. P. 1510-1517. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.10.0662>
79. Kurasch A.K., Hahn V., Leiser W.L., Vollmann J., Schori A., Bétrix C.-A., et al. Identification of mega-environments in Europe and effect of allelic variation at maturity *E* loci on adaptation of European soybean. *Plant, Cell & Environment*. 2017. Vol. 40. P. 765-778. doi: 10.1111/pce.12896.
80. Labrousse P., Arnaud M.C., Serieys H., Berville A., Thalouarn P., Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana*. Wallr. *Annals of Botany*. 2001. Vol. 88. P. 859-868.
81. Lam H.-M., Remais J., Fung M.-C., Xu L., Sun S.S.-M.. Food supply and food safety issues in China. *The Lancet*. 2013. Vol. 381. P. 2044–2053. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60776-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60776-X)
82. Langewisch T., Lenis J., Jiang G.L. et al. The development and use of a molecular model for soybean maturity groups. *BMC Plant Biol*. 2017. Vol.17. P. 91. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1040-4>
83. Langewisch T., Zhang H., Vincent R., Joshi T., Xu D., Bilyeu K. Major soybean maturity gene haplotypes revealed by SNPviz analysis of 72 sequenced soybean genomes // *PLOS ONE*. 2014. Vol. 9. № 4. P. e94150.
84. Laubinger S., Marchal V., Le Gourrierec J., Wenkel S., Adrian J., Jang S., et al. Arabidopsis SPA proteins regulate photoperiodic flowering and interact with the floral inducer CONSTANS to regulate its stability. *Development*. 2006. Vol. 133(16). P. 3213-3222. doi: 10.1242/dev.02481.
85. Lee Y.P., Ahmad R., Lee H.S., Kwak S.-S., Shafqat M.N., Kwon S.Y. Improved tolerance of Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase expressing transgenic tobacco seeds and seedlings against multiple abiotic stresses. *Int. J. Agric. Biol*. 2013. Vol.15. P. 725-730.
86. Li Ch. Ch., First course in population genetics, Pacific Grove, California, 1976. 631 p.
87. Li F., Zhang X., Hu R., Wu F., Ma J., Meng Y., Fu Y. Identification and molecular characterization of FKF1 and GI homologous genes in soybean. *PLoS One*. 2013. Vol. 8(11). e79036. doi: 10.1371/journal.pone.0079036.
88. Li X., Fang C., Xu M., Zhang F., Lu S., Nan H., Su T., Li S., Zhao X., Kong L., Yuan X., Liu B., Abe J., Cober E.R. Kong F. Quantitative Trait Locus Mapping of Soybean Maturity Gene *E6*. *Crop Science*, 2017. Vol. 57. P. 2547-2554. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.02.0106>
89. Li Yh., Zhou G., Ma J. et al. De novo assembly of soybean wild relatives for pan-genome analysis of diversity and agronomic traits. *Nat Biotechnol*. 2014. Vol. 32. P. 1045-1052. <https://doi.org/10.1038/nbt.2979>
90. Liu B., Abe J. QTL mapping for photoperiod insensitivity of a Japanese soybean landrace Sakamotowase. *J Hered*. 2010. Vol. 101(2). P. 251-256. doi: 10.1093/jhered/esp113.

91. Liu B., Kanazawa A., Matsumura H., Takahashi R., Harada K., Abe J. Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of phytochrome A gene. *Genetics*. 2008. Vol. 180. P. 995–1007.
92. Liu M., Chu M., Ding Y., Wang S., Liu Z., Tang S., Ding C., Li G. Exogenous spermidine alleviates oxidative damage and reduce yield loss in rice submerged at tillering stage. *Frontiers in Plant Science*. 2015. Vol. 6., art. 919. P. 1-11 DOI=10.3389/fpls.2015.00919
93. Liu W., Kim M.Y., Kang Y.J., Van K., Lee Y.H., Srinives P., Yuan D.L., Lee S.H. QTL identification of flowering time at three different latitudes reveals homeologous genomic regions that control flowering in soybean. *Theor Appl Genet*. 2011. Vol. 123. P. 545-553.
94. Liu X., Wu Ji-An., Re H., Qi Y., Li C., Cao J., Zhang X., Zhang Z., Cai Z., Gai J. Genetic variation of world soybean maturity date and geographic distribution of maturity groups. *Breeding Science*. 2017. Vol. 67(3). P. 221-232. doi:10.1270/jsbbs.16167.
95. Liu B., Fujita T., Yan Z.H., Sakamoto S., Xu D.H., Abe J. QTL mapping of domestication related traits in soybean (*Glycine max*). *Ann Bot (Lond)*. 2007. Vol. 100. P. 1027-1038.
96. Lu S., Li Y., Wang J., et al.. QTL mapping for flowering time in different latitude in soybean. *Euphytica*. 2015. Vol. 206. P. 725–736.
97. Lu S., Zhao X., Hu Y., Liu S., Nan H., Li X., Fang C., Cao D., Cober E.R. et. al. Natural variation at the soybean *J* locus improves adaptation to the tropics and enhances yield. *Nat Genet*. 2017. Vol. 49(5). P. 773-779. doi: 10.1038/ng.3819. Epub 2017 Mar 20. PMID: 28319089.
98. Machado B.Q.V., Nogueira A.P.O., Hamawaki O.T., Rezende G.F., Jorge G.L., Silveira I.C., Medeiros L.A., Hamawaki R.L., Hamawaki C.D.L. Phenotypic and genotypic correlations between soybean agronomic traits and path analysis. *Genet Mol Res*. 2017. Vol. 16 (2). P. 1-11. doi:10.4238/gmr16029696.
99. Manchenko G.P. Handbook of detection of enzymes on electrophoretic gels, CRC Press LLC, 2003. 592 p.
100. Manufacturer's instruction to polymer POP-6® (384) in genetic analyzer ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems). Life Technologies Corporation. 2010. <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/4401661.pdf>
101. Marino D., Andrio E., Danchin E.G., Oger E., Gucciardo S., Lambert A., Puppo A., Pauly N. A *Medicago truncatula* NADPH oxidase is involved in symbiotic nodule functioning. *New Phytol*. 2011. 189(2). P. 580-92. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03509.x.
102. Marino D., Dunand C., Puppo A., Pauly N. A burst of plant NADPH oxidases. *Trends Plant Sci*. 2012. Vol. 17(1). P. 9-15. doi: 10.1016/j.tplants.2011.10.001.

103. Matamoros M.A., Loscos J., Dietz K.J., AparicioTejo P.M., Becana M. Function of antioxidant enzymes and metabolites during maturation of pea fruits // J. Exp. Bot. – 2010. – V. 61. – P. 87-97.
104. Mathieu J., Warthmann N., Küttner F., Schmid M. Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in Arabidopsis. Curr Biol. 2007. Vol. 17. P. 1055-1060.
105. Mazkirat Sh., Babissekova D.I., Didorenko S.V., Yerzhebayeva R.S. Identification of photoperiod sensitivity gene *E7* in soybean cultivars and breeding lines using SSR markers. News the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of agricultural sciences. Vol. 5, Num. 53. 2019. P. 66-72. <https://doi.org/10.32014/2019.2224-526X.62>
106. McBlain B.A., Bernard R.L. Anewgene affecting the time of flowering maturity in soybeans. Journal of Heredity. 1987. Vol. 178. P. 68-70.
107. Michelmore R., Meyers B.C. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and a birth-and-death process. Genome Res. 1998. Vol. 8. P. 1113–1130. doi: 10.1101/gr.8.11.1113.
108. Miladinović J., Čeran M., Đorđević V., et al. Allelic variation and distribution of the major maturity genes in different soybean collections. Front Plant Sci. 2018 Vol. 9. P. 1286. doi:10.3389/fpls.2018.01286
109. Mittler R. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trends Plant Sci. 2002. Vol. 7. № 9. P. 405-410.
110. Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., et al. ROS signaling: the new wave? Trends Plant Sci. 2011. Vol. 16(6). P. 300-309. doi: 10.1016/j.tplants.2011.03.007. Epub 2011 Apr 7. PMID: 21482172.;
111. Molnar S.J., Rai S., Charette M., Cober E.R. Simple sequence repeat (SSR) markers linked to *E1*, *E3*, *E4*, and *E7* maturity genes in soybean. Genome. 2003. Vol. 46. P. 1010-1024. doi: 10.1139/g03-079
112. Mourtzinis S., Gaspar A.P., Naeve S.L., Conley S.P. Planting date, maturity, and temperature effects on soybean seed yield and composition. Agronomy Journal. 2017. Vol. 109. P. 2040-2049. <https://doi.org/10.2134/agronj2017.05.0247>
113. Murray M.G. Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res. 1980. Vol. 8. P. 4321- 4325.
114. Nawaz M.A., Lin X., Chan T.-F., Ham J., Shin T.-S., Ercisli S., Golokhvast K.S., Lam H.-M., Chung G. Korean wild soybeans (*Glycine soja* Sieb & Zucc.): Geographic distribution and germplasm conservation. Agronomy. 2020; Vol. 10 (2). P. 214. doi:10.3390/agronomy10020214
115. Nawaz M.A., Rehman H.M., Imtiaz M., Baloch F.S., Lee J.D., Yang S.H., Lee S.I., Chung G. Systems identification and characterization of cell wall reassembly and degradation related genes in *Glycine max* (L.) Merrill, a bioenergy legume. Sci. Rep. 2017. Vol. 7. Art. 10862. P. 1-16. DOI:10.1038/s41598-017-11495-4

116. Nei M. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist*, 1972. Vol. 106, № 949, P. 283-292
117. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *PNAS USA*. 1979. Vol. 76. P. 5269-5273. doi: 10.1073/pnas.76.10.5269
118. Norman A.G. Soybean physiology, agronomy, and utilization. Academic Press, New York. 1978. P. 249.
119. Notaguchi M., et al. Long-distance, graft-transmissible action of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering. *Plant Cell Physiol*. 2008. Vol. 49. P. 1645-1658.
120. Oldroyd G.E., Downie J.A. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annu Rev Plant Biol*. 2008. Vol. 59. P. 519-46. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092839. PMID: 18444906.
121. Pilon M., Ravet K., Tapken W. The biogenesis and physiological function of chloroplast superoxide dismutases. *Biochim. Biophys. Acta. Bioenerg*. 2011. Vol. 1807. P. 989-998.
122. Prysiazniuk L., Shytikova Y., Dikhtiar I., Mizerna N. Evaluation of genetic and morphological distances between soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Zemdirbyste Agriculture*. 2019. Vol. 106(2). P. 117-122.
123. Qin J., Yang R.Q., Liu Z.X., Zhang Y.F., et al. Location and transmission of QTL for multiple traits in the pedigree of soybean cultivars. *Euphytica*. 2010. Vol. 173. P.377-386.
124. Qiu L.J., Xing L.L., Guo Y., Jackson S.A., Chang R.Z. A platform for soybean molecular breeding: the utilization of core collections for food security. *Plant Mol Biol* Vol. 83. 2013. P. 41-50. doi: 10.1007/s11103-013-0076-6 PMID: 23708950
125. Racchi M.L., Bagnoli F., Balla I., Danti S. Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and in vitro micropropagated oak (*Quercus robur* L.). *Plant Cell Rep*. 2001. Vol. 20. P. 169-174.
126. Ray J.D., Hinson K., Mankono J., Malo M.F. Genetic control of a long-juvenile trait in soybean. *Crop Sci*. 1995. Vol. 35(4). P. 1001-1006.
127. Ray J.D., Kilen T.C., Abel C.A., Paris R.C. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environmental biosafety research*. 2003. Vol. 2(2). P. 133–8. doi: 10.1051/ebr:2003005.
128. Robson F., Costa M.M., Hepworth S.R., Vizir I., Piñeiro M., Reeves P.H., Putterill J., Coupland G. Functional importance of conserved domains in the flowering-time gene CONSTANS demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants. *The Plant journal: for cell and molecular biology*. 2001. Vol. 28(6). P. 619-631. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2001.01163.x>
129. Rosenzweig V.E., Aksyonova E.A., Milash S.B., Goloenko D.V., Davydenko O.G. Prospects of exploiting of photoperiod sensitivity gene *E7* in early soybean breeding and revealing of its sources with SSR-markers. *Soybean Genetics Newsletter*. 2008. Vol. 35. P. 1-7.

130. Rosenzweig V.E., Goloenko D.V., Davydenko O.G., Shablinskaya O.V. Breeding strategies for early soybeans in Belarus. *Plant Breeding*. 2003. Vol. 122. P. 456-458.
131. Safari A., Schlueter J.A. Polyploidy. In: Pratap, A., Kumar, J. (eds.) *Biology and Breeding of Food Legumes*. CABI. Oxfordshire. 2011. P. 111-119.
132. Sagi M., Fluhr R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. *Plant Physiol*. 2006. Vol. 141. № 2. P. 336-340.
133. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol.Biol.Evol*. 1987. Vol. 4. P. 406-425.
134. Samach A., Onouchi H., Gold S.E., Ditta G.S., Schwarz-Sommer Z., Yanofsky M.F., Coupland G. Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis. *Science (New York, N.Y.)*. 2000. Vol. 288(5471). P. 1613–1616. <https://doi.org/10.1126/science.288.5471.1613>
135. Samanfar B., Molnar S.J., Charette M., Schoenrock A., Dehne F., Golshani A., et al. Mapping and identification of a potential candidate gene for a novel maturity locus, *E10*, in soybean. *Theor Appl Genet*. 2017. Vol.130(2). P. 377-390. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2819-7> PMID: 27832313
136. Sawa M., Nusinow D.A., Kay S.A., Imaizumi T. FKF1 and GIGANTEA complex formation is required for day-length measurement in Arabidopsis. *Science (New York, N.Y.)*. 2007. Vol. 318(5848). P. 261-265. <https://doi.org/10.1126/science.1146994>
137. Schaffer R., Ramsay N., Samach A., Corden S., Putterill J., Carré I.A., Coupland G. The late elongated hypocotyl mutation of Arabidopsis disrupts circadian rhythms and the photoperiodic control of flowering. *Cell*. 1998. Vol. 93(7). P. 1219-29. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81465-8. PMID: 9657154.
138. Schlueter J., Dixon P., Granger C., Grant D., Clark L., Doyle J., Shoemaker R.. Mining EST databases to resolve evolutionary events in major crop species. *Genome*. 2004. Vol. 47 (5). P. 868-876. <https://doi.org/10.1139/g04-047>
139. Schmutz J., Cannon S.B., Schlueter J., Ma J., Mitros T., Nelson W., et al. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*. 2010. Vol. 463 (7278). P. 178-183. doi: 10.1038/nature08670. Erratum in: *Nature*. 2010 Vol. 465(7294). P.120. PMID: 20075913.
140. Schwab R., Palatnik J.F., Riester M., Schommer C., Schmid M., Weigel D. Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome. *Dev Cell*. 2005. Vol. 8(4). P. 517-527. doi: 10.1016/j.devcel.2005.01.018. PMID: 15809034
141. Shoemaker R.C., Polzin K., Labate J., Specht J., Brummer E.C., Olson T., Young N., Concibido V., Wilcox J., Tamulonis J.P., Kochert G., Boerma H.R. Genome duplication in soybean (*Glycine* subgenus *soja*). *Genetics*. 1996. Vol. 144. P. 329–338
142. Shoemaker R.C., Schlueter J., Doyle J.J. Paleopolyploidy and gene duplication in soybean and other legumes. *Curr Opin Plant Biol*. 2006. Vol. 9 (2) P. 104-109. doi: 10.1016/j.pbi.2006.01.007.

143. Simillion C., Janssens K., Sterck L., Van de Peer, Y. i-ADHoRe 2.0: an improved tool to detect degenerated genomic homology using genomic profiles. *Bioinformatics* 2008. Vol. 24. P. 127–128.
144. Sinclair T.R., Hinson K., Soybean Flowering in Response to the Long-Juvenile Trait. *Crop Science*. Vol. 32. 1992. P. 1242-1248 <https://doi.org/10.2135/cropsci.1992.0011183X003200050036x>
145. Singh G., The soybean: botany, production and uses. Wallingford, UK; Cambridge, MA: CABI. 2010. P.1-24
146. Singh R.J., Hymowitz T. Soybean genetic resources and crop improvement. *Genome*. 1999. Vol. 42. P. 605-616
147. Singh R.J., Hymowitz T. The genomic relationships among six wild perennial species of the genus *Glycine* subgenus *Glycine Willd.* *Theor Appl. Genet.* 1985. Vol. 71. P. 221–230 (2) (PDF) 9783319641966-c2-ram singh paper. Available from: https://www.researchgate.net/publication/328698334_9783319641966-c2-ram_singh_paper [accessed Jan 13 2020].
148. Slatkin M. Gene flow in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 1985, Vol. 16, P. 393-430.
149. Sokal R., Michener C. A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kansas Sci.Z.* 1958. Bull 38. P. 1409-1438
150. Song Q. J. et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor. Appl. Genet.* 2004. Vol. 109. P.122-128. doi: 10.1007/s00122-004-1602-3.
151. Song Y.H., Ito S., Imaizumi T. Flowering time regulation: photoperiod- and temperature-sensing in leaves. *Trends Plant Sci.* 2013. Vol. 18(10). P. 575-583. doi: 10.1016/j.tplants.2013.05.003.
152. Song Y.H., Smith R.W., To B.J., Millar A.J., Imaizumi T. FKF1 conveys timing information for CONSTANS stabilization in photoperiodic flowering. *Science (New York, N.Y.)*. 2012. Vol. 336(6084). P. 1045-1049. <https://doi.org/10.1126/science.1219644>
153. Spehar C.R. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian tropical savannah. *Field Crops Res.* 1995. Vol. 41. P. 141-146. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00007-D](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00007-D).
154. Spensley M., Kim Y., Picot E., Reid J., Ott S., Helliwell C., Carré I.A. Evolutionarily conserved regulatory motifs in the promoter of the Arabidopsis clock gene *LATE ELONGATED HYPOCOTYL*. *The Plant Cell*. 2009. Vol. 21(9). P. 2606-2623. DOI: 10.1105/tpc.109.069898
155. St. Martin S.K. Effective population size for the soybean improvement program in maturity groups 00 to IV. *Crop Science*. 1982. Vol. 22 (1). P. 151-152, P. 91.
156. Straub S.C., Pfeil B.E., Doyle J.J. Testing the polyploid past of soybean using a low-copy nuclear gene is *Glycine (Fabaceae: Papilionoideae)* an auto- or allopolyploid? *Molecular phylogenetics and evolution*. 2006. Vol. 39(2), P.580-584. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.11.018>

157. Susuki N., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M.A., Mittler R. Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2011. Vol. 14. P.691-699.
158. Swaminathan K., Peterson K., Jack T. The plant B3 superfamily. *Trends Plant Sci.* 2008. Vol. 13. № 12. P. 647-55.
159. Taiz L., Zeiger E., Moller I.M., Murphy A. *Plant Physiology and Development*. 6th Edition. Sinauer Associates. Sunderland CT. 2015. P. 1-13
160. Takeshi I. Adaptation of flowering-time by natural and artificial selection in *Arabidopsis* and rice. *Journal of Experimental Botany*. 2007. Vol. 58. Issue 12. Pages 3091–3097. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm159>
161. Takeshima R., Hayashi T., Zhu J., et al. A soybean quantitative trait locus that promotes flowering under long days is identified as *FT5a*, a FLOWERING LOCUS T ortholog. *Journal Experimental Botany*. 2016. Vol. 67. P. 5247-1036.
162. Tardivel A., Sonah H., Belzile F. and O'Donoghue L.S. Rapid Identification of Alleles at the Soybean Maturity Gene *E3* using genotyping by Sequencing and a Haplotype-Based Approach. *The Plant Genome*. 2014. Vol. 7. plantgenome2013.10.0034. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2013.10.0034>
163. Tasma I.M., Shoemaker R.C. Mapping flowering time gene homologs in soybean and their association with maturity (*E*) loci. *Crop Sci.*, 2003. Vol. 43. P. 319-328. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.3190>
164. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic markers. *Nucl. Acids Res.* 1989. Vol. 17, №16. P. 6463-6471.
165. Technical Manual Silver sequence TM DNA Sequencing System (Promega). Instructions for use of products Q4130, Q4131 and Q4132. Promega Corporation, 2800 Woods Hollow Road, Madison, WI 53711-5399, USA. Printed in USA. Part#TM023. 2007.
166. Toptikov V.A. Diachenko L.F Totsky V.M. Expression of antioxidant oxidoreductases and protein profile of seedling tissues of winter and spring forms of cereals under extreme temperature fluctuations. *Cytology and Genetics*. 2012. Vol. 46. I. 3. P. 161-171.
167. Tsubokura Y., Matsumura H., Xu M., Liu B., Nakajima H. Genetic variation in soybean at maturity locus *E4* is involved in adaptation to long days at high latitudes. *Agronomy*. 2013. Vol. 3. P. 117-134.
168. Tsubokura Y., Watanabe S., Xia Z., Kanamori H., Yamagata H., Kaga A., Katayose Y., Abe J., Ishimoto M., Harada K. Natural variation in the genes responsible for maturity loci *E1*, *E2*, *E3* and *E4* in soybean. *Ann Bot.* 2014. Vol. 113. № 3. P. 429–441.
169. Tsuji H., Taoka K., Shimamoto K. Regulation of flowering in rice: two florigen genes, a complex gene network, and natural variation. *Current opinion in plant biology*. 2011. Vol. 14(1). P. 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.08.016>

170. Udall J.A., Wendel J.F. Polyploidy and Crop Improvement. *Crop Sci.* 2006. Vol. 46. S-3-S-14. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.07.0489tpg>
171. Upadhyay A.P., Ellis R.H., Summerfield R.J., Roberts E.H., Qi A. Characterization of photothermal flowering responses in maturity isolines of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Clark. Ann Bot (Lond)* Vol. 74. 1994. 87-96
172. Valverde F., Mouradov A., Soppe W., Ravenscroft D., Samach A., Coupland G. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science.* 2004. Vol. 303. P. 1003-1006. doi: 10.1126/science.1091761
173. Van K., Kim D. H., Cai C.M., Kim M.Y., Shin J.H., Graham M.A., Shoemaker R.C., Choi B.-S., Yang T.-J., Lee S-H.. Sequence Level Analysis of Recently Duplicated Regions in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Genome, *DNA Research.* 2008. Vol. 15, Issue 2. P. 93-102. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsn001>
174. Wang F., Nan H., Chen L., Fang C., Zhang H., Su T., Li S., Cheng Q., Dong L., Liu B., Kong F., Lu S. A new dominant locus, *E11*, controls early flowering time and maturity in soybean. *Molecular Breeding.* 2019. Vol.39. P.70-82
175. Wang L.X., Guan Y., Guan R.X., Li Y.H., Ma Y.S., Dong Z.Y., et al. Establishment of Chinese soybean (*Glycine max*) core collection with agronomic traits and SSR markers. *Euphytica.* Vol. 151. 2006. P. 215-223.
176. Wang X., Wang Y., Tian J., Lim B.L., Yan X., Liao H. Overexpressing *AtPAP15* enhances phosphorus efficiency in soybean. *Plant Physiol.* 2009. Vol. 151(1). P. 233-240. doi:10.1104/pp.109.138891
177. Wang Y., Gu Y., Gao H. et al. Molecular and geographic evolutionary support for the essential role of *GIGANTEA* in soybean domestication of flowering time. *BMC Evol Biol.* Vol. 16. 2016. P. 79. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0653-9>
178. Wang Y.-Y., Li Y.-Q., Wu H.-Y., Hu B., Zheng J.-J., Zhai H., Lv S.-X., Liu X.-L., Chen X., Qiu H.-M., et al. Genotyping of soybean cultivars with medium-density array reveals the population structure and QTNs underlying maturity and seed traits. *Frontiers in Plant Science.* Vol. 9. 2018. Art. 610. P 1-16. DOI=10.3389/fpls.2018.00610
179. Watanabe S., Hideshima R., Xia Z. Map-based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus *E3*. *Genetics.* 2009. Vol. 182. P.1251–1262.
180. Watanabe S., Xia Z., Hideshima R. A map-based cloning strategy employing a residual heterozygous line reveals that the *GIGANTEA* gene is involved in soybean maturity and flowering. *Genetics.* 2011. Vol. 188. P. 395-407.
181. Wilczek A.M., Burghardt L.T., Cobb A.R., Cooper M.D., Welch S.M., Schmitt J. Genetic and physiological bases for phenological responses to current and predicted climates. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences.* 2010. Vol. 365(1555). P. 3129-3147. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0128>

182. Wilson R.F. Soybean: Market Driven Research Needs. In: Stacey G. (eds) Genetics and Genomics of Soybean. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, 2008. Vol 2. Springer, New York, NY. P. 26-38 https://doi.org/10.1007/978-0-387-72299-3_1
183. Wright S. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 1951. Vol. 15, № 4. P. 323-354.
184. Wright S., Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations, Univ. Chicago Press. 1984. Vol. 4. 590 p.
185. Wu F., Price B.W., Haider W., Seufferheld G., Nelson R., Hanzawa Y. Functional and evolutionary characterization of the CONSTANS gene family in short-day photoperiodic flowering in soybean. *PloS One*, 2014. Vol. 9(1). e85754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085754>
186. Wu G., Poethig R.S. Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by miR156 and its target SPL3. *Development*. 2006. Vol. 133(18). P. 3539-3547. doi:10.1242/dev.02521
187. Xia Z., Watanabe S., Yamada T. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus *E1* that regulates photoperiodic flowering. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*. 2012a. Vol. 109. P. E2155–E2164. doi: 10.1073/pnas.1117982109 PMID: 22619331
188. Xia Z., Zhai H., Liu B. et al. Molecular identification of genes controlling flowering time, maturity, and photoperiod response in soybean. *Plant Syst Evol* 2012b. Vol. 298. P. 1217-1227. https://doi.org/10.1007/s_00606-012-0628-2
189. Xing S., Salinas M., Höhmann S., Berndtgen R., Huijser P. miR156-targeted and nontargeted SBP-Box transcription factors act in concert to secure male fertility in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 2010. Vol. 22 (12). P.3935-3950. DOI: 10.1105/tpc.110.079343
190. Xu M., Xu Z., Liu B. et al. Genetic variation in four maturity genes affects photoperiod insensitivity and PHYA-regulated post-flowering responses of soybean. *BMC Plant Biol*. 2013. Vol. 13. P. 91-102. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-91>
191. Xu M., Yamagishi N., Zhao C., Takeshima R., Kasai M., Watanabe S., Kanazawa A., Yoshikawa N., Liu B., Yamada T., Abe J.. The soybean-specific maturity gene *E1* family of floral repressors controls night-break responses through down-regulation of *FLOWERING LOCUS T* orthologs. *Plant Physiology*. 2015. Vol. 168 (4). P. 1735-746; DOI:10.1104/pp.15.00763
192. Yamaguchi A., Wu M.F., Yang L., Wu G., Poethig R.S., Wagner D. The microRNA-regulated SBP-Box transcription factor SPL3 is a direct upstream activator of LEAFY, FRUITFULL, and APETALA1. *Dev Cell*. 2009. Vol. 17(2). P. 268-278. doi: 10.1016/j.devcel.2009.06.007.
193. Zaefyzadeh M., Quliyev R., Babayeva S., Abbasov M. The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase

and chlorophyll content in durum wheat landraces. Turkish Journal of Biology. 2009. Vol. 33(1). P. 1-7.

194. Zhai H., Lu S., Wang Y., Chen X., Ren H., Yang J., et al. Allelic variations at four major maturity *E* genes and transcriptional abundance of the *E1* gene are associated with flowering time and maturity of soybean cultivars. PLoS One. 2014. Vol. 9(5). e97636.

195. Zhang L., Wang R. Hesketh J.D. Effects of Photoperiod on Growth and Development of Soybean Floral Bud in Different Maturity. Agron. 2001. Vol. 93. P. 944-948. <https://doi.org/10.2134/agronj2001.934944x>

196. Zhang X., Wan Q., Liu F., Zhang K., Sun A., Luo B., Sun L., Wan Y. Molecular analysis of the chloroplast Cu/Zn-SOD gene (*AhCSD2*) in peanut. Crop J. 2015. Vol. 3. P. 246-257.

197. Zhang X., Zhai H., Wang Y. et al. Functional conservation and diversification of the soybean maturity gene *E1* and its homologs in legumes. Sci Rep. 2016. Vol. 6. 29548. <https://doi.org/10.1038/srep29548>

198. Zhao C, Takeshima R, Zhu J, Xu M, Sato M, Watanabe S, et al. A recessive allele for delayed flowering at the soybean maturity locus *E9* is a leaky allele of *FT2a*, a *FLOWERING LOCUS T* ortholog. BMC Plant Biol. 2016. Vol. 16(1). P. 20. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw283>

199. Zhao X., Cao D., Huang Z., Wang J., Lu S., Xu Y., Liu B., Kong F., Yuan X. Dual functions of *GmTOE4a* in the regulation of photoperiod-mediated flowering and plant morphology in soybean. Plant Mol Biol. 2015. Vol. 88(4-5). P. 343-55. doi: 10.1007/s11103-015-0322-1.

200. **Zharikova D.**, Ivanyuk S., Chebotar G., Korniychuk O., Chebotar S. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus, that involved in determination of time to flowering / Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics. Lithuania, Vilnius: Springer Nature, 2018. P. 220-225. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89578-9_40

201. **Zharikova D.O.**, Chebotar G.O., Aksyonova E.A., Temchenko I.V., Chebotar S.V. Polymorphisms in SSR-loci associated with *E* genes in soybean mutant lines offer perspective for breeding. Agricultural science and practice. 2019. Vol. 6 (3) P. 45-55. <https://doi.org/10.15407/agrisp6.03.045>

202. **Zharikova D.O.**, Chebotar G.O., Temchenko I.V., Aksyonova E.A., Chebotar S.V. Polymorphisms of microsatellite loci, associated with photoperiod sensitive *E* genes, in Ukrainian soybean varieties and perspective lines for breeding. Theses presented at the Biological Session of Conference “The Importance of G. Gamow's Ideas for Biology of the 21st Century” (13-th of August 2020, Odesa) Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa. Вісник ОНУ. Серія біологія. 2020. Т. 25. № 2 (47). С.203-205.

203. Žulj Mihaljević M., Šarčević H., Lovrić A. et al. Genetic diversity of European commercial soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] germplasm revealed by SSR markers. Genet Resour Crop Evol. 2020. Vol. 67. P. 1587-1600. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00934-3>

204. Zuo Z., Liu H., Liu B., Liu X., Lin C. Blue light-dependent interaction of CRY2 with SPA1 regulates COP1 activity and floral initiation in Arabidopsis. *Curr Biol*. 2011. Vol. 21(10). P. 841-847. doi: 10.1016/j.cub.2011.03.048.

205. Абугалиева А.И., Дидоренко С.В. Генетическое разнообразие сортов сои различных групп спелости по признакам продуктивности и качества. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016. Вып. 20(3). С. 303-310. DOI 10.18699/VJ16.168

206. Айала Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику. М.: Мир, 1984. 232 с.

207. Айала Ф. Кайгер Дж. Современная генетика, пер. с англ. А. Д. Базыкина. М. Мир. 1987. 337 с. (Т. 3).

208. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. 431 с.

209. Бабич А.О., Иванюк С. В., Вильгота М. В. Вплив хімічних мутагенів на елементи індивідуальної продуктивності рослин сої. *Корми і кормовиробництво*. 2013. Вип. 77. С. 3-9

210. Бабич А.О. Иванюк С.В., Вильгота М.В., Дульнев П.Г. Вплив хімічних мутагенів на мінливість ознак рослин сої. *Корми і кормовиробництво*. 2011. Вип. 69. С. 55-59.

211. Бабич А.О., Бабич-Побережна А. А. Селекція і розміщення виробництва сої в Україні: монографія. Вінниця: ФОП Данилюк В. Г.. 2008. С. 216.

212. Барвінченко В.І., Заболотний Г.М.. Ґрунти Вінницької області. Вінниця: ВДАУ. 2004. С. 45.

213. Берберець О.В. Світове виробництво сої як невичерпного джерела білків рослинного походження та місце України на світовому ринку торгівлі нею. *Агросвіт*. 2019. Вип. №10. С. 41-45. DOI: 10.32702/2306-6792.2019.10.41

214. Васько В.О., Гудим О.В., Рожак О.Г. Застосування експериментального мутагенезу в селекції рослин. *Селекція і насінництво*. 2015. Вип. 107. С. 8-18.

215. Вишнякова М.А. Генофонд зернобобових культур и адаптивная селекция как факторы биологизации и экологизации растениеводства. *Сельскохозяйственная биология*. 2008. Вып. №3. С. 3-23. http://www.agrobiology.ru/articles/veshnyakova%20_3_2008.html

216. Вишнякова М.А., Сеферова И.В., Самсонова М.Г.. Требования к исходному материалу для селекции сои в контексте современных биотехнологий. *Сельскохозяйственная биология*. 2017. Том 52, №5, С. 905-916. doi: 10.15389/agrobiology.2017.5.905rus

217. Вожегова Р.А., Боровик В.О., Біднина І.О., Рубцов Д.К., Марченко Т.Ю. Особливості зразків сої (*Glycine max*. (L.) Merr.) в умовах зрошення Півдня України. *Генетичні ресурси рослин*. 2018. № 23. DOI: 10.36814/pgr.2018.23.03

218. Вожегова Р.А., Лавриненко Ю.О., Базалій В.В., Марченко Т.Ю., Боровик В.О., Михаленко І.В., Клубук В.В. Мінливість ознаки «Маса насіння з рослини» у гібридів сої різних груп стиглості. Фактори експериментальної еволюції організмів 2019. Том 24. С. 53-58. <https://doi.org/10.7124/FEEEO.v24.1078>

219. Волкова Н.Е., Мізерна Н.А. Типування сортів сої культурної (*Glycine max.* (L) Merr.) за мікросателітним маркером *Satt100* гена *E7* фотоперіодичної чутливості. Plant Varieties Studying and protection. 2017. Vol. 13, № 4. С. 373-378. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.4.2017.117740>

220. Гааль Э., Мадъеши Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. Москва: Мир. 1982. С.57-64.

221. Галік І.О., Басюк Т.О. Методичні вказівки «Довідкові данні з клімату України». – Рівне: НУВГП, 2014. 158 с. <http://ep3.nuwm.edu.ua/591/1/01-03-16.pdf>

222. Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 4. Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск : Беларуская навука. 2014. Молекулярные технологии в селекции сои (*Glycine max* (L.). Аксенова Е.А., Давыденко О.Г. стр.116-140.

223. Державний реєстр рослин, придатних до поширення на території України на 2019 рік. Український інститут експертизи сортів рослин Електронний ресурс: Доступно за посиланням: <https://sops.gov.ua/reestr-sortiv-goslin>. [дата звернення 11.02.2020]

224. Дзюбенко Н.И. Сеферова И.В. Коллекция сои ВИР в начале XXI-го века: состав и потенциал селекционного использования. Корми і кормовиробництво. 2011. Вип. 69. С. 20-25.

225. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.Агропромиздат.1985. 351 с.

226. Електронний ресурс база даних з дослідження геному сої культурної (*Glycine max.* (L.) Merr.). доступно за посиланням: <https://soybase.org/> <https://www.usda.gov> [дата звернення 31.03.2020]

227. Електронний ресурс з архівних даних погоди в Україні. Доступний за посиланням: <https://meteo.ua/ua/archive/71/vinnitsa/2014>. [Дата звернення: 29.01.2020]

228. Електронний ресурс: Landlord. доступно за посиланням <https://landlord.ua/wp-content/page/pid-udarom-stykhii-iak-mihruuiut-klima-tychni-zony-v-ukraini/> [дата звернення 11.02.2019]

229. Електронний ресурс: Аграрії разом. Режим доступу: <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety>. [Дата звернення: 20.01.2019].

230. Електронний ресурс: база даних Національно центру біологічної інформації, доступна за посиланням: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>[Дата звернення: 20.01.2019].

231. Електронний ресурс: Дослідження УАК. Невичерпне джерело рослинних білків — соя. 2017. Доступно за посиланням: <http://agroconf.org/content/nevicherpne-dzherelo-roslinnih-bilkiivoia> [дата звернення 11.02.2019]

232. Електронний ресурс: Супер Агроном. Режим доступу: <https://superagronom.com>. [Дата звернення: 20.01.2019].

233. **Жарікова Д.О.**, Аксьонова О.А., Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Використання мікросателітних локусів, зчеплених з генами *E*, для ідентифікації та паспортизації сортів сої. Фактори експериментальної еволюції організмів, 2019. Т. 24. С. 80-86. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1083>

234. **Жарікова Д.О.**, Чеботар Г.О., Аксьонова О.А., Чеботар С.В. Визначення алельного стану генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4* та *E7* за допомогою зчеплених з ними мікросателітних локусів у сортів сої сучасної селекції. Еколого-генетичні аспекти в селекції польових культур в умовах змін клімату. Матеріали Міжн. наук.-пр. конф., присвяч. 90- річчю проф. М.М. Чекаліна. Полтава, 2019. С. 29.

235. **Жарікова Д.О.**, Чеботар Г.О., Вільгота М.В., Темченко І.В., Чеботар С.В. Характеристика мутантних ліній сої за локусами *Satt100* та *Satt319*, зчеплених з геном *E7*. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2018. Т. 23 С. 50-56. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.989>

236. Зінченко О.С., Ведмедева К.В., Якубенко О.В. Пластичність, стабільність та мінливість сортів сої за господарсько-цінними ознаками у екологічному сортовипробуванні. Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур НААН. 2018. Вип. № 25. С. 50-60.

237. Іванюк С.В. Сучасна селекція сої. Агробізнес. 2014. Електронний ресурс: доступно за посиланням <http://www.agrobusiness.com.ua/agronomiia-siogodni/2387-suchasna-seleksiia-soii.html/> [дата звернення 11.02.2019]

238. Іванюк С.В., Формування сортових ресурсів сої відповідно до біокліматичного потенціалу регіону вирощування. Корми і кормовиробництво. 2012. Вип. 71. С. 34-40.

239. Калайков И. Д. Цивилизация и адаптация. М.: Прогресс. 1984. 239 с.

240. Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение. Физиол. и биох. культ. Растений. 2002. Вып. 34(4). С. 279-296.

241. Кильчевський А., Сычева Е. Наука и Инновации. 2010. №7 (89). С.10-13.

242. Кириченко В.В., Рябуха С.С., Кобизева Л. Н. та ін. Соя (*Glycine max* (L.) Merr.). Нац. акад. аграр. наук України, Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва. Харків. 2016. 400 с.

243. Колупаєв Ю.Є., Обозний О.І. Активні форми кисню і антиоксидантна система при перехресній адаптації рослин до дії абіотичних стресорів. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія

Біологія. 2013. Вип. 3 (30). С. 18-31. http://vbio.knau.kharkov.ua/uploads/visn_biology/2013/3_30/2013.03.018-031.Kolupaev_Oboznyi.pdf

244. Кучеренко Є.Ю. Сучасний стан селекції сої на підвищену урожайність і стійкість до біо- та абіотичних чинників. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія «Фітопатологія та ентомологія». 2016. № 1–2. С. 37-46.

245. Логвинова К.Т. Краткий агроклиматический справочник Украины. Гидрометеиздат. 1976. 256 с.

246. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Москва: Мир. 1984. С.37.

247. Медведева Л.Р., Кренців Я.І., Калініна Л.Г., Лідждвой І.М.. Нові перспективні сорти сої створені шляхом гібридизації. Миронівський вісник. 2018. Вип. 6. С. 52-60. doi:<https://doi.org/10.31073/mvis201806-04>

248. Международный классификатор СЭВ рода *Glycine Willd.* Л., 1990. 39 с.

249. Методика державного сортовипробування сільськогосподарських культур. Київ. 2001. Вип. 2. 65 с.

250. Методика проведення дослідів по кормовиробництву. Під ред. А.О. Бабича. Вінниця. 1998. 79 с.

251. Методические указания по селекции и семеноводству сои. М., ВАСХНИЛ. 1981. 18 с.

252. Микус В.Е. Создание исходного материала для селекции сортов сои с повышенной адаптивной способностью. Корми і кормовиробництво. 2011. Вип. 69. С. 85-90.

253. Мирошниченко М.В. Изменение хозяйственно-биологических признаков сортов сои в результате селекции. Диссертация. Краснодар. 2005. Доступно: <https://www.dissercat.com/content/izmenenie-khozyaistvenno-biologicheskikh-priznakov-sortov-soi-v-rezultate-selektcii>.

254. Насіння сільськогосподарських культур. Метод визначання якості: ДСТУ 4136-2002 [Чинний від 2004-01-01]. К.: Держспоживстандарт України. 2003. 173с. (Держспоживстандарт України)

255. Основи наукових досліджень в агрономії: підруч. для студентів ВНЗ II-IV рівнів акредитації. За ред. В. О. Єщенко. – Вінниця: Едельвейс і К. 2014. 331 с.

256. Офіційний сайт Департаменту сільського господарства США (USDA), Електронний ресурс: доступно за посиланням: <https://www.usda.gov> [дата звернення 31.03.2020]

257. Офіційний сайт Державної служби статистики України. Електронний ресурс: Доступно за посиланням: <http://www.ukrstat.gov.ua>. [Дата звернення 11.02.2019]

258. Офіційний сайт Продовольчої та сільсько-господарської організації (FAO). Електронний ресурс: доступно за посиланням: <http://www.fao.org> [Дата звернення 31.03.2020]

259. Посібник користувача GelAnalyzer 19.1. Доступний за посиланням: <http://www.gelanalyzer.com/gelanalyzer-19.1-user-manual.pdf?i=1> [Дата звернення: 29.01.2021]

260. Присяжнюк Л.М., Мельник С.І., Шитікова Ю.В., Сігалова І.О., Іваницька А.П. Використання SSR-маркерів для диференціації нових сортів сої (*Glycine max.* (L.) Merr.). Plant Varieties Studying and Protection. 2017. Вип. 13(3). С. 269-276. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.3.2017.110709>

261. Програмне забезпечення для побудови дендрограм: <https://www.megasoftware.net/>

262. Розенцвейг В.Е., Голоенко Д.В., Давыденко О.Г. Реакция генотипов с различной структурой продуктивности на изменения условий и дифференцирующая способность среды. Масличные культуры. 2009. Вып. 140. С. 79-83.

263. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Учебник для вузов. Изд. 3-е, испр. Минск: «Высшейш. шк.». 1973. 320 с.

264. Рябуха С.С., Посилаєва О.О., Сокол Т.В., Чернишенко П.В. Скринінг генофонду сої культурної за стійкістю до біо- та абіотичних чинників. Селекція і насінництво. 2017. Випуск 111. С. 114-126

265. Рябуха С.С., Чернишенко П.В., Серікова Л.Г., Непочатова Н.І. Перспективні напрями селекції сої у східній частині Лісостепу України. Селекція і насінництво. 2011. Вип. 99. С. 123-129. DOI: <https://doi.org/10.30835/2413-7510.2011.66073>

266. Сахно Л.О. Активність супероксиддисмутази в онтогенезі рослин у нормі і за дії абіотичних стресів. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. 2017. Вип. 1 (40). С. 21-34.

267. Свеженцов А.І., Кравців Р.Й., Півторак Я.І. Нормована годівля свиней. Львів, 2005. С. 103-116.

268. Селянинов Г.Т. Мировой агроклиматический справочник. М. Л.: АН СССР. 1937. 132с.

269. Сиволап Ю.М. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях. Научно-методическое руководство; Под ред. Сиволапа Ю.М. Киев: Аграрна наука. 1998. 156 с.

270. Синеговская В.Т. Наумченко Е.Т. Итоги координации научно-исследовательских работ по сое зоны Дальнего Востока и Сибири. Корми і кормовиробництво. 2011. Вип. 69. С. 32-36.

271. Сичкарь В.И. Методы создания сортов сои с улучшенным биохимическим составом семян. Корми і кормовиробництво. 2011. Вип. 69. С. 37-44.

272. Січкарь В.І. Селекційна цінність колекційних зразків при створенні високопродуктивних сортів сої. Селекція і насінництво. 2014. Вип. 106. С. 83-92.

273. Сохор Н.Р. Активність супероксиддисмутази при різних підтипах ішемічного інсульту у гострому періоді. Здобутки клінічної та експериментальної медицини. 2014. № 2. С. 168-172.

274. Тимченко В.Н., Пилипченко А.В. Стан і перспективи розвитку виробництва сої в Україні. Корми і кормовиробництво. 2012. Вип. 71. С.27-33.

275. Топтиков В.А., **Жарикова Д.А.**, Г.А. Чеботарь, Темченко И.В., Чеботарь С.В. Генетико-биохимические особенности мутантных линий сои. Вісник Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова. Серія біологія. 2018. Т.23, №2 (43). С. 73-94. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2\(43\).147013](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2(43).147013)

276. Топтиков В.А., Єршова О.М., Ковтун О.О., Лавренюк Т.І., Тоцький В.М.. Генетично-біохімічні дослідження адаптивності тварин та їх угруповань: навчально-методичний посібник. Одеса: Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова. 2017. 140с.

277. Трибель С.О. Стійкі сорти: проблеми і перспективи. Карантин та захист рослин. 2005. № 4. С. 3–5.

278. Урбанович О. ДНК-технологии в растениеводстве: возможности и перспективы. Наука и инновации. 2006. №9(43). С. 32-36.

279. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. Вавилов. журн. генет. и селекции. 2013. Т. 17. № 4/2. С. 1044-1054.

280. Чекалін М. М., Тищенко В.М., Баташова М.Є. Селекція і генетика окремих культур: навч. посібник / М. М. Чекалін. Полтава: ФОП Говоров С. В. 2008. 368 с.

281. Чернишенко П.В., Характеристика сортів сої за екологічною пластичністю урожайності та якості насіння в умовах Східного Лісостепу України. Таврійський науковий вісник. 2014. Вип. № 87. С. 99-106.

282. Южно Ю.Ю. Ріст, розвиток та фітогормональний статус ізогенних за *E*-генами ліній сої за різного фотоперіоду. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. Харківський національний університет ім. Каразіна. 2021. С.18-20.

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті:

1. Охримович О.В., **Жарікова Д.О.**, Чеботар С.В., Чеботар Г.О. Молекулярна будова *E*-генів сої та їх функціональні мутації. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2020. Т. 82. С. 3-13. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2020.82.01> *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, та написано оглядову статтю)*
2. **Жарікова Д.О.**, Аксьонова О.А., Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Використання мікросателітних локусів, зчеплених з генами *E*, для ідентифікації та паспортизації сортів сої. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2019. Т. 24. С. 80-86. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v24.1083> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено аналіз літературних даних, узагальнення власних експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*
3. **Zharikova D.O.**, Chebotar G.O., Aksyonova E.A., Temchenko I.V., Chebotar S.V. Polymorphisms in SSR-loci associated with *E* genes in soybean mutant lines offer perspective for breeding. Agricultural science and practice. 2019. Vol. 6 (3). P.45-55. <https://doi.org/10.15407/agrisp6.03.045> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено узагальнення експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*
4. **Zharikova D.**, Ivanyuk S., Chebotar G., Korniychuk O., Chebotar S. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus, that involved in determination of time to flowering / Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics. Lithuania, Vilnius: Springer Nature, 2018. P. 220-225. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89578-9_40 *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних,*

узагальнення деяких власних експериментальних даних та написано розділ до монографії)

5. **Жарікова Д.О.**, Чеботар Г.О., Вільгота М.В., Темченко І.В., Чеботар С.В. Характеристика мутантних ліній сої за локусами *Satt100* та *Satt319*, зчеплених з геном *E7*. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2018. Т. 23 С. 50-56. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v23.989> *(Здобувачем особисто проведено дослідження, проведено узагальнення експериментальних даних, разом зі співавторами написано статтю)*

6. Топтиков В.А., **Жарікова Д.А.**, Г.А. Чеботарь, Темченко И.В., Чеботарь С.В. Генетико-биохимические особенности мутантных линий сои. Вісник Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова. Серія біологія. 2018. Т.23, №2 (43). С. 73-94. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2\(43\).147013](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2018.2(43).147013) *(Здобувачем разом зі співавторами проведено аналіз літературних даних, узагальнення експериментальних даних та написано статтю)*

Тези

7. **Zharikova D.O.**, Chebotar G.O., Temchenko I.V., Aksyonova E.A., Chebotar S.V. Polymorphisms of microsatellite loci, associated with photoperiod sensitive *E* genes, in Ukrainian soybean varieties and perspective lines for breeding. theses presented at the Biological Session of Conference “The Importance of G. Gamow's Ideas for Biology of the 21st Century” (13-th of August 2020, Odesa) Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa. Вісник ОНУ. Серія біологія. 2020. Т. 25, № 2 (47). С.203-205.

8. Chebotar S., **Zharikova D.**, Chebotar G., Aksyonova E., Korniychuk O. Polymorphism in SSR-loci associated with *E* genes in soybean mutant lines perspective for breeding. Theses presented at the 3rd Global Congress on Plant Biology and Biotechnology (March 11-13, 2019, Singapore). 2019. P. 63.

9. **Жарікова Д.О.**, Чеботар Г.О., Аксьонова О.А., Чеботар С.В. Визначення алельного стану генів *E1*, *E2*, *E3*, *E4* та *E7* за допомогою

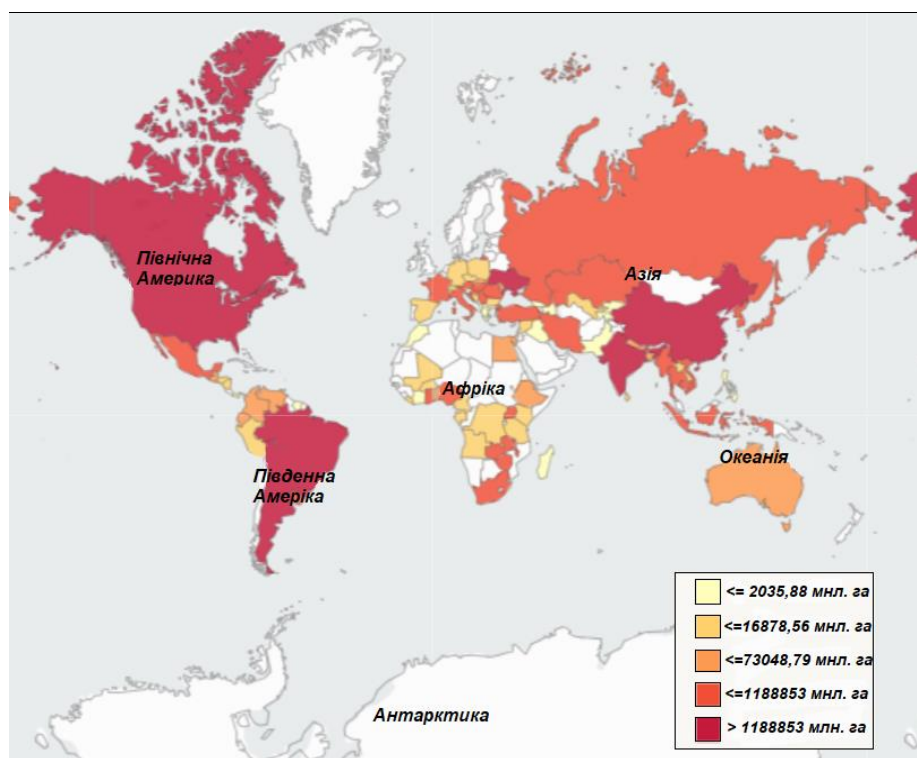
зчеплених з ними мікросателітних локусів у сортів сої сучасної селекції. Еколого-генетичні аспекти в селекції польових культур в умовах змін клімату: тези представлені на Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченої 90- річчю з дня народження генетика, селекціонера, професора М.М. Чекаліна (18-19 квітня 2019 р.). Полтавська державна аграрна академія. Полтава, 2019. С. 29.

10. **Жарікова Д.О.**, Темченко І.В., Аксьонова О.А., Чеботар Г.О., Чеботар С.В. Асоціації алельних варіантів за МС-локусами, зчепленими з *E* генами сої, з агрономічними ознаками у ліній отриманих шляхом хімічного мутагенезу. Селекція, генетика та технології вирощування сільськогосподарських культур: тези представлені на VII Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених і спеціалістів (с.Центральне, 19 квітня 2019 р.). НААН ім. В.М. Ремесла, М-во аграр. політики та прод. України, Укр. Ін-т експертизи сортів рослин. Вінниця: ТОВ «Твори», 2019. С. 48-49.

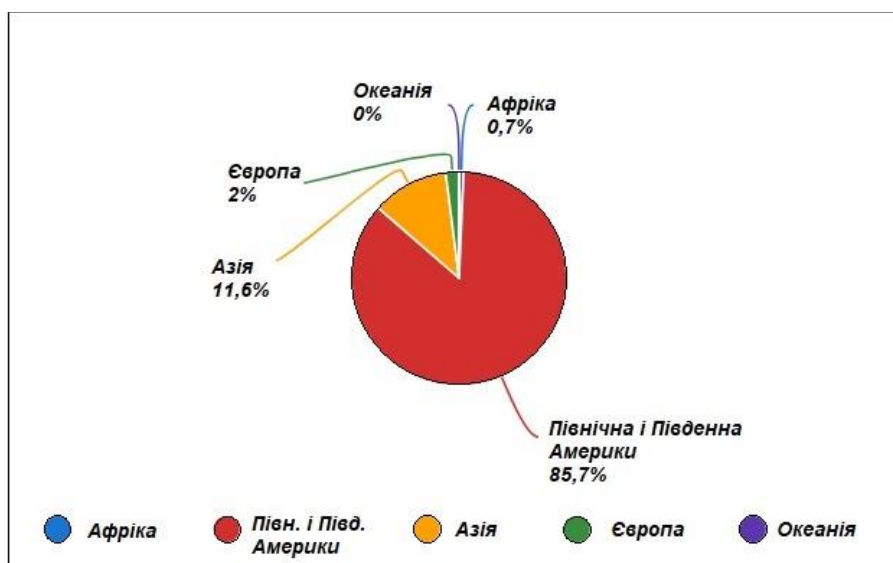
11. **Zharikova D.**, Ivanyuk S., Chebotar G., Korniychuk O., Chebotar S. Polymorphism of soybean cultivars and breeding lines revealed by marker *Satt100* associated with the *E7* locus. “Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics” Book of abstracts of the Joint Meeting of EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section and Protein Crops Working Group of Oil and Protein Crops Section. September 11-14, 2017, Vilnius, Lithuania. P. 60.

12. **Жарікова Д.**, Войткова В., Чеботар С., Корнійчук О.. Поліморфізм селекційних ліній сої визначений за молекулярним маркером *Satt100* до гена *E7* фотоперіодичної чутливості. Підвищення ефективності функціонування сільського господарства в умовах зміни клімату: матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет конференції (м. Херсон, 9 грудня 2016). Херсон, 2016. С. 52-54

Додаток Б



1.



2.

Рис. Б.1.: 1. - Площі світових посівних площ сої у 2018 році; 2. - діаграма основних виробників сої в світі за 1994-2018 роки за даними [258].

Додаток В

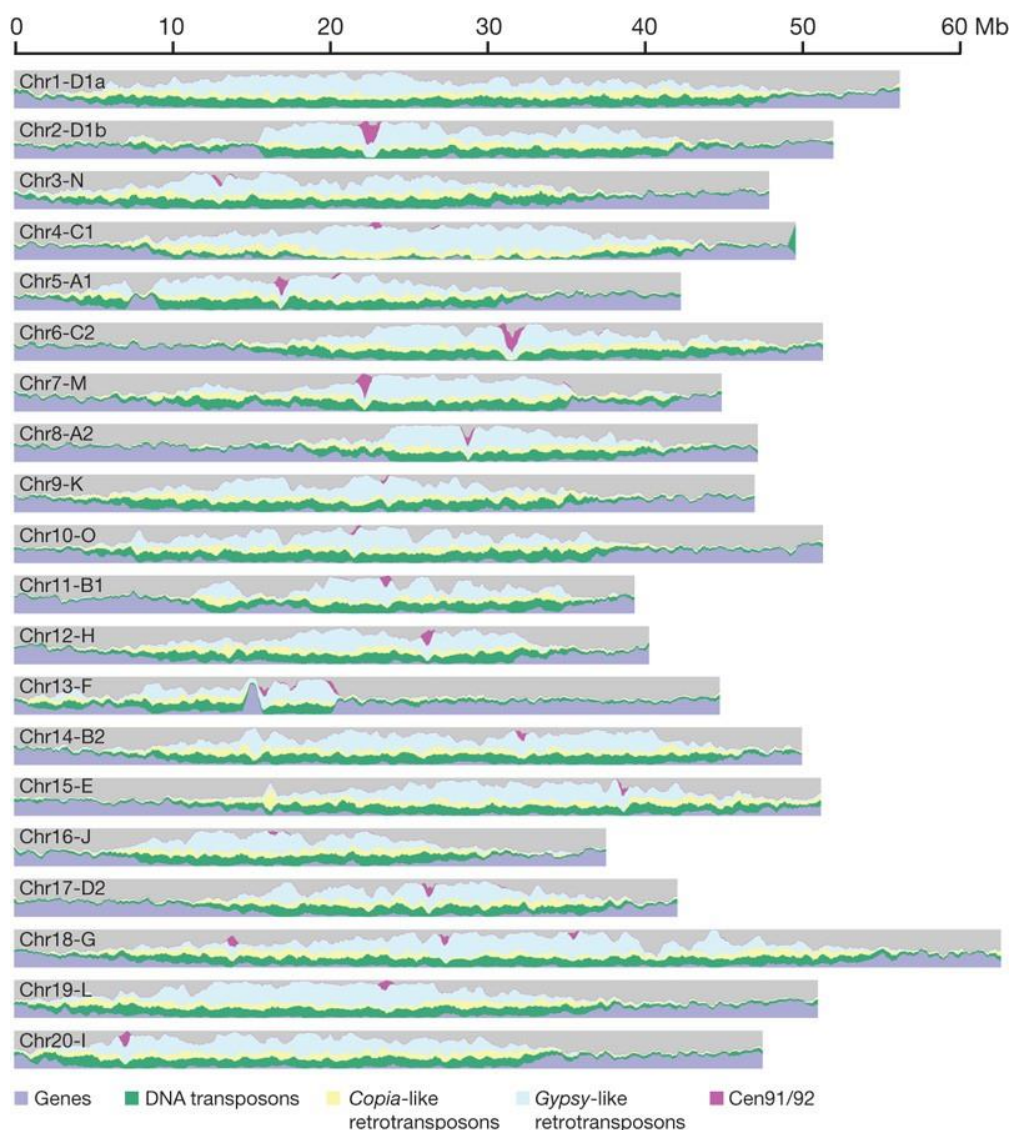


Рис. В.1. Карта геному 20 зібраних хромосом сої [139]. Основні компоненти ДНК в геномі сої класифікуються на: гени – синій, ДНК транспозони – зелений, Copia-like-ретротранспозони – жовті, Gypsy-like-ретротранспозони – блакитний, Cent91/92 – центромерна, специфічна для сої послідовність – рожевий. Некласифікований вміст ДНК забарвлюється в сірий колір. Категорії визначалися для рамок зчитування - 0,5 Мега п.н. зі зміщенням 0,1 Мега п.н..

Додаток Г

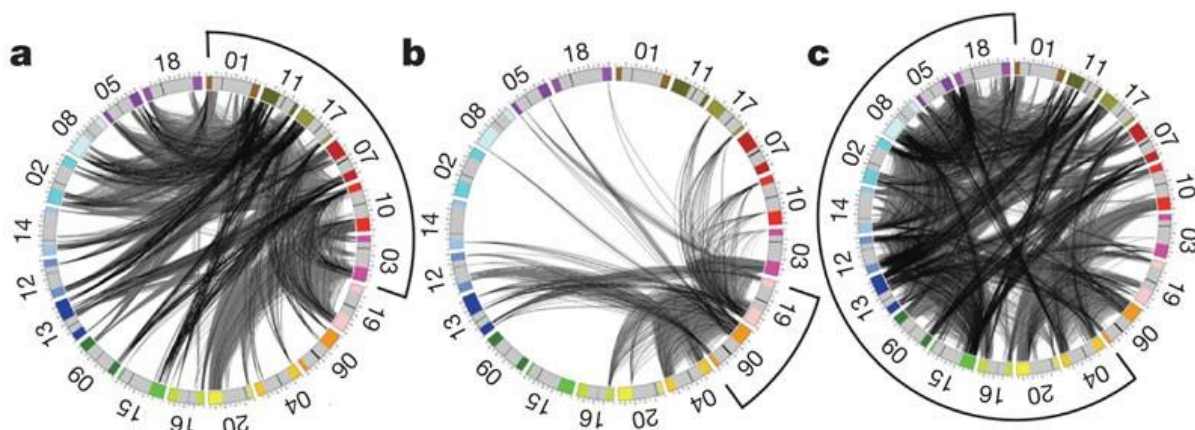


Рис. Г.1. Гомологічні зв'язки між 20 хромосомами сої. 20 хромосом у колі з лініями, що з'єднують гомологічні гени. Еухроматин багаті регіони кожної хромосоми показані різним кольором по колу. Сірі смуги на діаграмі представляють значення K_s 0,06-0,39, дублювання генома 13 млн років тому; чорні смуги являють собою значення K_s у розмірі 0,40-0,80, дублювання генома 59 млн років тому. K_s оцінює ступінь еволюційного обмеження. $K_s < 1$, означає баланс між шкідливими та корисними мутаціями за певний проміжок часу. **А** - хромосоми 1, 11, 17, 7, 10 і 3, які містять центромерний повтор *Sb91*. **В** - хромосоми 19 і 6, які містять як *Sb91*, так і *Sb92* центромерні повтори. **С** - хромосоми 18, 5, 8, 2, 14, 12, 13, 9, 15, 16, 20 і 4, які містять *Sb92* [139].

Додаток Д

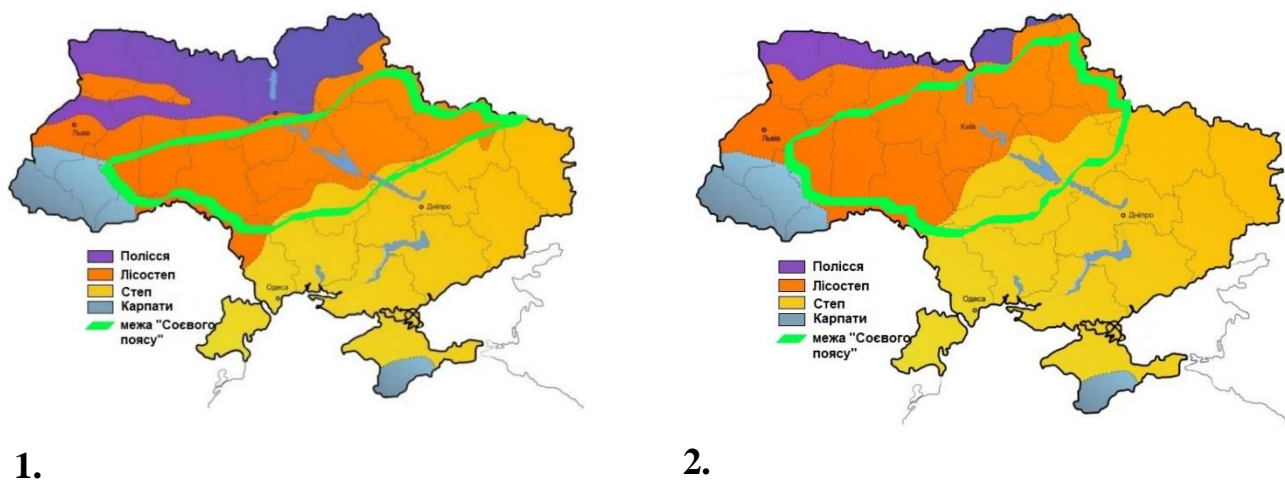


Рис. Д.1. Розміщення кліматичних зон на карті України станом на:
1) 1999 рік; 2) 2019 рік – з врахуванням змін клімату. «Соевий пояс України» (позначено зеленою лінією). (карта України з сайту <https://landlord.ua>, рисунок автора роботи).

Додаток Е

Таблиця Е.1

Рекомендоване розміщення посівів сої в Україні за групами стиглості згідно Реєстру на 2019 рік [223]

Рекомендована зона вирощування		Географічна широта зони (в межах України)*	Група стиглості (вітчизн. класиф.)	Група стиглості (міжнар. класиф.)	Кількість сортів (шт.)	Тривалість вегетаційного періоду (днів)	Відсоток від загальної кількості сортів у реєстрі 2019 (%)
повністю	скорочено						
Полісся	П	52° -50°	ске	000	8	81-90	3,2
			рс	00	5	91-110	2,0
			ср	0	5	111-119	2,0
			загалом		18	-	7,3
Лісостеп	Л	51° -48°	ске	000	11	81-90	4,5
			рс	00	16	91-110	6,5
			ср	0	19	111-119	7,7
			сс	I	8	120-130	3,2
			пс	II	2	131-150	0,8
			загалом		56	-	22,7
Степ	С	48° -45°	ске	000	9	81-90	3,6
			рс	00	3	91-110	1,2
			ср	0	12	111-119	4,9
			сс	I	6	120-130	2,4
			загалом		30	-	12,1
Полісся-Лісостеп	ПЛ	52° -48°	ске	000	18	81-90	7,3
			рс	00	23	91-110	9,3
			ср	0	7	111-119	2,8
			сс	I	16	120-130	6,5
			загалом		64	-	25,9

Продовження Таблиці Е.1

Лісостеп- Степ	ЛС	51° -45°	скс	000	7	81-90	2,8
			рс	00	4	91-110	1,6
			ср	0	5	111-119	2,0
			сс	I	9	120-130	3,6
			загалом		25	-	10,1
Полісся- Степ	ПС	52° -50°, 48° - 45°	скс	000	4	81-90	1,6
			рс	00	2	91-110	0,8
			ср	0	2	111-119	0,8
			загалом		8	-	3,2
Полісся- Лісостеп- Степ	ПЛС	52° -45°	скс	000	23	81-90	9,3
			рс	00	17	91-110	6,9
			ср	0	6	111-119	2,4
			загалом		46	-	18,6
			Всього				247

* - межі зон встановлені за даними сайту <https://landlord.ua/wp-content/page/pid-udarom-stykhii-iak-mihruit-klimatychni-zony-v-ukraini/> (2019) [228]

Додаток Ж

Таблиця Ж.1

Локалізація локусів *E* генів чутливості до фотоперіоду, продукти експресії та пов'язані з ними гени

Символ гена	ID гена сої	Хромосома	Локалізація (п.н.)	Розмір	Протеїн / біологічні процеси, що контролює	Гени паралоги	Протеїни генів-паралогів
<i>E1</i>	<i>Glyma.06g207800</i>	6	20207692 - 20207783	525,0 kb	AP2/B3-подібний транскрипційний фактор, ДНК-зв'язуючий домен	<i>E1 GLYMA_06G207800</i> , <i>E1La (Glyma.04G156400.1)</i> <i>E1Lb (Glyma.04G143300.1)</i> <i>e1-fs, GLYMA_11G166100</i> <i>e1-re, GLYMA_12G225300</i> <i>e1-as, Glyma06g23040.1</i>	транскрипційний фактор, фермент убіквітін-активації Бифункціональний метілтиорібулоза-1-фосфат дегідратаза/елонгаза-фосфотаза
<i>E2</i> (<i>GmG1a</i>)	<i>Glyma10g36600</i>	10	44716720- 44738268	21,548 kb	білок gigantea (GI),	<i>G11A Glyma.20g170000</i> ; <i>Glyma20g30980</i> <i>G12</i> <i>Glyma.16g163200</i> ; <i>Glyma09g07240</i> ; <i>G13 Glyma.10g221500</i> <i>GmFKF1</i> <i>Glyma05g34530</i> <i>Glyma08g05130</i> <i>FKF2</i> <i>Glyma.08g046500</i>	Флавін зв'язуючий Kelch Repeat F-Box 1 протеїн Флавін зв'язуючий Kelch Repeat F-Box 2 протеїн
<i>E3</i> (<i>PHYA3</i>)	<i>Glyma.19g224200</i> <i>Glyma19g41210</i>	19	47633059 - 47641958	8,899 kb	Фітохром А ген3 Гістидин кінназа-, ДНК гіраза В-, та HSP90-подібна АТФаза Двохкомпонентний сенсор Гістидин кіннази	<i>PHYA4</i> <i>Glyma03g38620</i> <i>PHYA</i> <i>Glyma.03g227300</i>	Гістидин кінназа-, А (фосфоакцептор)

Продовження Таблиці Ж.1

E4 (PHYA2)	<i>Glyma.20g090000</i>	20	33236018 33241692	- 6,675 kb	Фітохром А ген 2 Гістидин кінназа-, ДНК гіраза В-, та HSP90-подібна АТФаза PAS fold GAF domain	<i>PHYA1</i> <i>Glyma.10g141400</i> <i>Glyma10g28170</i> <i>LOC100790763</i> <i>phytochrome type A-like</i>	Фітохром тип А-схожий Фітохром тип А-схожий ізоформа Х1 Фітохром тип А-схожий ізоформа Х2
E5	За даними Dissanayake з сніваст., 2016 не існує	10-?	-	-	-	-	-
E6	<i>Glyma.04g096900</i>	4	8778953- 8796458	17,505	Убіквітин-протеїн лігаза 1 Е3 убіквітин-протеїн лігаза /передбачений підвищуючий експресію зв'язуючий білок HECT-домен (убіквітин трансфераза)	<i>Glyma.06g098700</i> <i>GLYMA_05G1331001</i>	Убіквітин-протеїн лігаза 1 Е3 убіквітин-протеїн лігаза UPL1 Е3 убіквітин-протеїн лігаза UPL3- схожа
E7	?	6	11396- ?	-	-	-	-
E8	<i>Glyma.04g014700</i>	4	1123673- 1125309	1,636	Пептидаза С1, Папаїн цистеїн- протеази родини протеїнів	<i>Glyma.06g014700</i>	Ксилем цистеїн пептидаза2 Цистеїн протеїназа Катепсін L
E9	<i>Glyma.16g150700</i>	16	31109999- 31114963	4,574	РЕВР (фосфатидо летаноламін- зв'язуючий протеїн) family protein Регуляція розвитку квітки, фотоперіодизм, цвітіння	<i>E9 1</i> <i>FT2a</i> <i>FTL3</i>	фосфатидолетаноламін-зв'язуючий протеїн
E10	<i>Glyma.08g046500</i>	8	3658444- 3661735	3,291	Флавін-зв'язуючий Кельч повтор, F box 1 (FKF1), контролює циркадні ритми та перехід до цвітіння. Формує комплекс з GI та CO промотором для регуляції CO експресії.	<i>ADO3</i> <i>FKF2</i>	Адажіо 3-схожий ген Флавін-зв'язуючий протеїн Кельч F box 2
E11	<i>Glyma.07g049000</i>	7	4162544- 4164995	2,451 kb	Р субодиниця фотосистеми I	<i>Glyma.16g017600</i>	CURVATURE протеїн Тилакоїду 1В хлороплату
J	<i>Glyma.04g050200</i>	4	4075901- 4081260	5,359 kb	Протеїн раннього цвітіння 3	<i>Glyma04g05280</i>	Гідроксіпролін-збагатчений глікопротеїн

Додаток 3

Таблиця 3.1

Диференціація генотипів сортів і ліній сої за групами стиглості

Генотип	Xu et al. (2013) [190]	Zhai et al. (2014) [194]	Li et al. (2017) [88]	Langewich et al. (2017) [82]	Kurasch et al. (2017) [79]	Miladinovich et al. (2018) [108]	Передбачувана група стиглості
<i>e1-as/e2/E3/E4</i>				+	+	+	000-II
<i>e1-as/e2/E3/E4~e4</i>					+		00
<i>e1-as/e2/E3/e4</i>					+		00
<i>e1-as/E2/E3/E4</i>			+	+	+	+	00 (0, I, III-V)
<i>e1-as/E2/e3-1a/E4</i>			+				0
<i>e1-as/E2/e3-fs/E4</i>		+					00-0
<i>e1-as/E2e/e3-Mo/E4</i>		+	+				00-0
<i>e1-as/e2/E3-Ha/E4</i>		+					0-I
<i>e1-as/e2/E3-Mi/E4</i>		+					0-I
<i>e1-as/E2/e3-tr/E4</i>				+	+	+	I-II
<i>e1-as/e2-ns/E3/E4</i>			+				0-II
<i>e1-as/e2/e3-ns/e4-SORE-1</i>	+						000
<i>e1-as/e2/e3-tr/E4</i>	+	+		+	+	+	00-I
<i>e1-as/e2/e3-tr~e3-fs/E4</i>					+		I
<i>e1-as/E2/E3-Ha/E4</i>		+					0-II
<i>e1-as/E2/E3-Mi/E4</i>		+					0-II
<i>e1-as/e2/e3-fs/E4</i>	+	+			+		0-I
<i>e1-as/e2/e3-tr/ e4-SORE-1</i>	+	+					000-00
<i>e1-as/e2/e3-tr/e4-kes</i>	+	+					000-00
<i>e1-as/e2/e3-fs/e4-SORE-1</i>	+						000-00
<i>e1-as/e2/e3-tr/e4-SORE-1</i>		+					000-00

Продовження таблиці 3.1

<i>e1-as/e2/e3-fs/e4-kes</i>	+	+					000-00
<i>e1-as/e2-ns/e3-1a/E4</i>			+				I
<i>e1-nl/e2/e3-tr/e4</i>						+	000-00
<i>e1-nl/e2/e3-tr/E4</i>	+	+			+	+	00
<i>e1-nl/e2/E3/e4-SORE-1</i>	+						0
<i>e1-nl/e2/e3-tr/e4-SORE-1</i>	+	+					000
<i>e1-nl/e2/E3/e4</i>					+		00
<i>e1-nl/E2/E3/E4</i>					+		0
<i>e1-fs/e2/e3-tr/E4</i>	+	+					0-I
<i>e1-nl/e2/E3/E4</i>				+	+	+	00
<i>e1-nl/e2/E3-Ha/e4-SORE-1</i>		+					I
<i>e1-nl/e2/E3-Mi/E4</i>		+					00
<i>e1-nl/e2/E3-Mi/e4-SORE-1</i>		+					0
<i>e1-nl/E2/ e3-tr/E4</i>						+	0-I
<i>e1-as/e2-ns/e3-1a/e4-keshuang</i>			+				0
<i>E1/e2-ns/E3/e4-keshuang</i>			+				0
<i>E1/e2-ns/e3-tr/E4</i>			+				IV
<i>E1/e2/e3-tr/E4</i>		+		+		+	000, 00
<i>E1/e2/e3-fs/E4</i>		+					00
<i>E1/e2/e3-tr/e4-SORE-1</i>	+	+					0-I
<i>E1/e2/e3-tr/e4-oto</i>	+						00
<i>E1/e2/e3-tr/e4-kes</i>	+						00
<i>E1/e2/E3-Ha/e4-kes</i>		+					0-I

Продовження таблиці 3.1

<i>E1/e2/E3-Ha/E4</i>		+					II
<i>E1/e2/e3-tr/e4-kam</i>	+	+					00
<i>E1/e2-ns/E3/E4</i>			+				III
<i>E1/E2/e3-tr/E4</i>				+		+	III-V, VII
<i>E1/E2/e3-ns/E4</i>			+				I
<i>E1/E2/e3-1a/E4</i>			+				0-I
<i>E1/E2/E3/E4</i>			+	+		+	II-X
<i>E1/E2/E3-Ha/E4</i>		+					VII
<i>E1/E2/E3-Mi/E4</i>		+					VII
<i>E1/E2/E3/e4</i>						+	II-VI
<i>E1/e2/E3/E4</i>				+		+	00, II-X
Всього аельних форм	15	25	12	9	12	13?	

Додаток К

Таблиця К.1

Характеристика сортів сої за генетичними групами генів серії *E*

Генетична група	Генотипові варіації	Групи стиглості	Географічна експансія	Стадія (Ve-R1) сходи-цвітіння** (днів)	Стадія (Ve-R8) вегетаційний період** (днів)
I	<i>e1-nl</i> , <i>e1-nl/e2-x/e3-x/e4-x</i>	000, 00, 0	51° до 55° півн. ш., та вище	49,5	94,9±16
II	<i>e1-as/e2-x/e3-x/E4</i> ,	00, 0, I	52-49° півн. ш.	52,3	-
III	<i>e1-as/E3/E4</i> , <i>e1-as/e2-x/E3/E4</i> ;	0, I, II	50-47° півн. ш.	57,6	-
IV	<i>e1-as/E2/(E3)/E4</i> ; <i>e1-as/E2/E3-x/E4</i> ; <i>e1-as/E2/e3-x/E4</i>	I, II, III, IV	47-40° півн. ш.	90,8±40	115±14
V	<i>E1/e2-x/e3-x/e4-x</i>	0, II, IV	51°-49°, та 47-40° півн. ш.	55,2	102±14
VII	<i>E1/e2-x/e3-x/E4</i>	IV, V	39° -35° півн. широти	65,8	108±16
VII	<i>E1/e2-x/E3/E4</i>	000-X(всі групи)	55° півн. ш. до 24° півд.ш	78,5	114±16
VIII	<i>E1/E2/E3/E4</i> .	II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X	35° півн.ш. до 22° півд. ш.	90,8±40	115±14
IX	<i>e1-as/e2-x/E3/e4-x</i>	I, II	52°-47° пвн.ш.	-	-

* – ультра-рс – ультра-ранньостиглі, екстра-рс – екстра-ранні, рс – ранньостиглі, ср – середньо-ранні, сс – середньостиглі, сп – середньо-пізні, пс – пізньостиглі, дуже пізньостиглі та зверх-пізньостиглі.

** – час цвітіння та вегетаційний період сої, вирощуваної в м. Харбин (45° пвн.ш.) протягом 2011-2012 років, за Zhai et al. [194]

Додаток Л

Таблиця Л.1

Алелі за локусами *E* в сортах сої української та іноземної селекції

№ з/п	Сорти	Алелі за локусами <i>E1, E2, E3, E4, E7</i> за мікросателітним аналізом (МС-маркер/локус <i>E</i>) розмір фрагментів ампліфікації, п.н.						Алелі за локусами <i>E3, E4</i> за алей-специфічною ПЛР (алель локусу <i>E</i> / розмір фрагментів ампліфікації)			
		<i>Satt100</i> <i>E7</i>	<i>Satt229</i> <i>E3</i>	<i>Satt319</i> <i>E7</i>	<i>Satt354</i> <i>E4</i>	<i>Satt365</i> <i>E1</i>	<i>Sat_038</i> <i>E2</i>	<i>E3-Ha</i> 558 п.н.	<i>e3-tr</i> 275 п.н.	<i>E4</i> 1229 п.н.	<i>e4-SORE</i> 837 п.н.
Сорти сої української селекції											
1	‘Подяка’	167	212	175	232	307	247	+	-	+	-
2	‘Кобза’	141	234	178	230	288	245	+	-	-	+
3	‘Мавка’	141	234	182	178	301	245	-	+	-	+
4	‘Гєба’	131	230	178	249	270	249	+	-	-	-
5	‘Полтава’	141	230	182	230	301	249	+	-	+	-
6	‘Ромашка’	167	234	175	230	305	245	+	-	+	-
7	‘Галина’	141	230	182	178	301	249	+	-	+	-
8	‘Золотиста’	141	234	180	178	301	247	-	+	-	+
9	‘Криниця’	167	234	180	230	301	245	+	-	+	-
10	‘Оксана’	167	230	175	232	301	247	+	-	+	-
11	‘Феміда’	110	212	175	230	301	247	+	-	+	-
12	‘Подольська 416’	110	215	175	230	301	245	+	-	+	-
Сорти сої іноземної селекції											
1	‘Maple Belle’	141	234	180	249	301	245	-	+	-	+
2	‘Maple Arrow’	131	215	178	178	215	247	-	+	+	-
3	‘Cormoran AC’	131	183	178	178	270	247	-	+	+	-
4	‘Harasoy OT-89’	167	183	175	216	301	247	-	+	-	+
5	‘Рось’	145	215	178	178	270	243	-	+	+	-
6	‘Вілана’	167	234	175	249	301	247	+	-	+	-
7	‘Korada’	131	234	180	249	270	245	+	-	-	+
8	‘Linia-103’	141	212	180	249	301	245	+	-	+	-
9	‘Labrador’	131	215	178	178	270	245	+	-	-	+
10	‘Sreska 72’	141	212	180	249	314	249	-	+	+	-

Додаток М

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту кормів та
сізьського господарства Поділля НААН

Корнійчук О.В.

«19» грудня 2019 р.

АКТ

впровадження у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції сої і
зернобобових культур Інституту кормів та сізьського господарства
Поділля НААН

Алельні характеристики генів стиглості ($E1$, $E2$, $E3$, $E4$, $E7$) визначені за допомогою зчеплених з ними мікросателітних локусів $Satt_{100}$, $Satt_{229}$, $Satt_{319}$, $Satt_{354}$, $Satt_{365}$, Sat_{038} у результаті виконання наукових досліджень за НДДКР «Поліморфізм локусів фотоперіодичної чутливості сортів пшениці та сої та залежність розвитку рослин від їхнього алельного складу, за даними ПЛР-аналізу» (№ держреєстрації 0117U001114) у селекційному матеріалі, створеному за допомогою методу хімічного мутагенезу на основі сортів різних груп стиглості: Феміда (I група стиглості, скоростиглий), Оксана (II група стиглості, середньо-пізньостиглий), Подільська 416 (середньоранній), Золотиста (00, ранньостиглий) та селекційних ліній, отриманих від схрещування сортів "Оксана" і "LABRADOR", "Marple Belle" і "Sreska 72", "Лінія 103" і "Корада", сучасних сортів сої української селекції впроваджено у дослідно-селекційну роботу лабораторії селекції сої і зернобобових культур Інституту кормів та сізьського господарства Поділля НААН.

В. о. зав. лабораторії селекції сої і
зернобобових культур ІКСГП НААН


Темченко І.В.