



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118334** (13) **C2**  
(51) МПК (2018.01)  
**A01H 3/00**  
**A01H 1/00**  
**A01H 5/00**

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: **а 2014 06657**  
(22) Дата подання заявки: **16.11.2012**  
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.01.2019**  
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **61/560,763**  
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **16.11.2011**  
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US**  
(41) Публікація відомостей про заявку: **27.10.2014, Бюл.№ 20**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.01.2019, Бюл.№ 1**  
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/AU2012/001423, 16.11.2012**  
  
(72) Винахідник(и):  
**Боррелл Ендрю Кеннет (AU),**  
**Джордан Девід Роберт (AU),**  
**Малліт Джон (US),**  
**Клейн Патрісія (US)**  
  
(73) Власник(и):  
**ДЗЕ СТЕЙТ ОФ КВІНСЛЕНД ЕКІНГ ТРУ**  
**ДЗЕ ДЕПАРТМЕНТ ОФ ЕГРІКАЛЧЕР,**  
**ФІШЕРІЗ ЕНД ФОРЕСТРІ,**  
80 Ann Street, Brisbane, Queensland 4001, Australia (AU),  
**ДЗЕ ТЕКСАС ЕЙ ЕНД Ем ЮНІВЕРСІТІ**  
**СІСТЕМ,**  
3369 Tamu College Station Texas, Texas 77843-3369, United States of America (US),  
**ГРЕЙНЗ РІСЕРЧ ЕНД ДІВЕЛОПМЕНТ**  
**КОРПОРЕЙШН,**  
1st Floor, 40 Blackall Street, Barton, Australian Capital Territory 2600, Australia (AU)

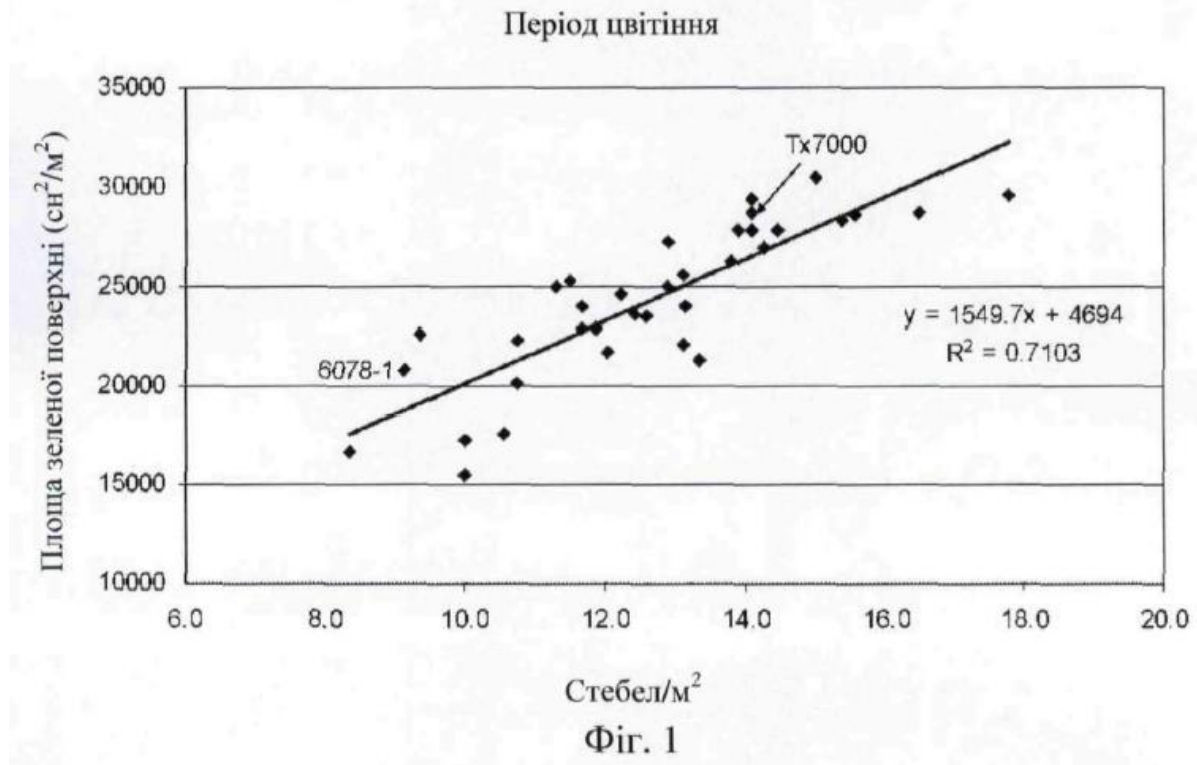
(74) Представник:  
**Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115**  
  
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  
K. Harris et al. Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering droughtinduced leaf senescence. Journal of experimental botany. 06.11.2006, vol. 58, № 2, P. 327-338  
A.K. Borrell et a. Discovering stay-green drought tolerance genes in sorghum: a multidisciplinary approach. 4th International Crop Science Congress. 26.09.2004, P. 1-6  
Kassahun B et al. Stay-green expression in early generation sorghum [Sorghum bicolor (L.) Moench] QTL introgression lines. Euphytica, Kluwer Academic Publishers, DO. 25.12.2009, vol. 172, № 3, P. 351-362  
Subudhi ET AL. Quantitative trait loci for the stay green trait in sorghum (Sorghum bicolor L. Moench): consistency across genetic backgrounds and environments. Theoretical and applied genetics. 01.01.2000, vol. 101, P. 733-741  
Xu, W. et al. Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum (Sorghum bicolor L. Moench). GENOME. 2000, vol. 43, P. 461-469  
Crasta, O. R. et al. Mapping of post-flowering drought resistance traits in grain sorghum: association of QTLs influencing premature senescence and maturity. Molecular genetics and genomics. 1999, vol. 262, P. 579-588  
Mace Emma S et al. A consensus genetic map of sorghum that integrates multiple component maps and high-throughput Diversity Array Technology (DArT) markers. BMC Plant Biology, Biomed Central, LONDON, GB. 26.01.2009, vol. 9, № 1, P. 13  
US 2009/094717 A1, 09.04.2009

**UA 118334 C2**

**(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОЇ РОСЛИНИ, ЯКА ЕФЕКТИВНІШЕ ВИКОРИСТОВУЄ ВОДУ**

## (57) Реферат:

Винахід стосується способу отримання генетично модифікованої рослини, яка ефективніше використовує воду, яка включає стадію введення в рослину послідовності гена сорго ID Sb02g029210, що розташований від пари основ 64347327 до пари основ 64350341, яка кодує SbPIN1, і яка асоційована з фенотипом «залишатися зеленим», причому включає в себе зсув в споживанні води на період після цвітіння або підвищену доступність води під час росту сільськогосподарської культури або підвищену ефективність транспірації, що приводить до збільшення індексу збирання урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.



## Реєстрація даних

Дана заявка пов'язана із і запитує пріоритет попередньої патентної заявки США № 61/560763, зареєстрованої 16 листопада 2011 року під назвою "Засухостійкі рослини", зміст якої включений в даний опис як посилання у повному обсязі.

## 5      Галузь винаходу

Дане розкриття описує отримання засухостійких рослин. Дане розкриття робить можливим зміну фенотипічної характеристики, яка називається "залишатися зеленим", для поліпшення адаптації у рослин до засухи рекомбінантним, мутагенним способами і/або способами розмноження і селекції. Також у даному описі наведені практики адміністрування рослинних систем для збільшення урожаю сільськогосподарської культури і ефективності збору урожаю у середовищах із обмеженим забезпеченням водою.

## Попередній рівень техніки

Бібліографічні дані публікацій, на які наведені посилання автором у цьому описі, зібрані в алфавітному порядку у кінці даного опису.

15      Посилання на будь-яку попередню галузь техніки у цьому описі не є і не повинно бути прийняте за визнання або будь-яку форму пропозиції того, що ця попередня галузь техніки становить частину загальновідомого знання в будь-якій країні.

Зростаюче населення людства вимагає підвищення продуктивності сільськогосподарської культури. Це було головною метою селекціонерів рослин і генетиків. Один із підходів до підвищення продуктивності сільськогосподарської культури включає селекцію ознак рослини, які сприяють отриманню більш високого урожаю зерна і стійкості (Springer (2010) *Nature Genetics* 42:475-476). Цей підхід називають "Зелена революція". Інші підходи включають розвиток ідеальної архітектури рослини, які, наприклад, привели до ідентифікації локусу кількісної ознаки (QTL), яка кодує *squamosa* промотор-зв'язувальний подібний білок 14 (*OsSPL14*) у рисі і який сприяє підвищенню урожаю рису (Jiao et al. (2010) *Nature Genetics* 42:541-544; Miura et al. (2010) *Nature Genetics* 42:545-549).

Засуха є єдиним самим важливим обмеженням у виробництві зерна у всьому світі. У рослинах сорго присутній ряд систем засухостійкості, які включають фотосинтез типу C4, глибоке коріння і товстий шар листового воску, які дозволяють рости у гарячих і сухих середовищах. Стійкість до засухи робить сорго особливо важливим у посушливих областях, таких як південні райони Сахари в Африці, західно-центральна Індія, північно-східна Австралія і південні рівнини США. Із навантаженням, яке збільшується, на доступність недостатніх водних ресурсів, ідентифікація ознак, пов'язаних із урожаєм зерна в умовах засухи, стає більш важливою.

35      Механізм адаптації до засухи, ідентифікований у сорго, який приводить до утримання листків зеленими протягом більш тривалого періоду під час наливання зерна в умовах засухи, відомо як ознака "залишатися зеленим". Ознака "залишатися зеленим" асоціювалася із високим урожаєм зерна в умовах засухи у період після цвітіння сорго (Borrell et al. (200b) *Crop Sci.* 40:1037-1048; Kassahun et al. (2010) *Euphytica* 72:351-362), пшениці (*Triticum aestivum* L.) [Spano et al. (2003) *J. Exp. Bot.* 54:1415-1420; Christopher et al. (2008) *Aust. J. Agric. Res.* 59:354-364], рису (*Oryza sativa* L.) [Kashiwagi et al. (2006) *Plant Physiology and Biochemistry* 44:152-157] і кукурудза (*Zea mays* L.) [Zheng et al. (2009) *Plant Breed* 128:54-62]. Крім того, він може непрямо впливати на урожай зерна в умовах засухи, посилюючи стійкість до вугільної гнилі (*Macrophomina phaseolina* [Tassi] Goid.) (Tenkouano et al. (1993) *Theor. Appl. Genet.* 85:644-648; Garud et al. (2002) *Int. Sorghum and Millets Newsl.* 43:63-65). Це знижує вилягання (Reddy et al. (2008), *Euphytica* 159:191-198), дозволяючи селекціонерам рослин використовувати позитивний зв'язок між висотою рослини і урожаєм зерна (Jordan et al. (2003) *Theor. Appl. Genet.* 106:559-567). Ознака "залишатися зеленим" є важливим критерієм селекції для адаптації до засухи у програмах розведення сорго як в США (Rosenow et al. (1983) *Agric. Water Manag.* 7:207-222), так і в Австралії (Henzell et al. (1997) *Australia Int. Sorghum i Millets Newsl.* 38:1-9).

50      Значна частка фізіологічних очевидних фактів збирається у підтримку цієї ознаки (Borrell et al. (2000a) *Crop Sci.* 40:1026-1037; Borrell and Hammer (2000) *Crop Sci.* 40:1295-1307; Harris et al. (2007) *J. Exp. Bot.* 58:327-338; Christopher et al. (2008) *supra*; Van Oosterom et al. (2010a) *Field Crops Res.* 115:19-28 and Van Oosterom et al. (2010b) *Field Crops Res.* 115:29-38). Не дивлячись на те, що цей механізм засухостійкості застосовувався виробниками сорго в США і Австралії протягом більше 25 років, і широке фізіологічне обґрунтування ознаки стає все більш ясним, причинні механізми і залучені генетичні локуси до цього часу були невідомі.

60      В умовах обмеженого водопостачання урожай зерна є функцією транспірації (T), ефективності транспірації (TE) і індексу збору урожаю (HI) [Passioura (1977) *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 43:117-120]. В рамках цього урожай зерна пов'язаний із T у період після цвітіння (Turner

(2004) J. Exp. Bot. 55:2413-2425; Manschadi et al. (2006) Funct. Plant. Biol. 33:823-837), оскільки НІ збільшується із часткою Т всієї сільськогосподарської культури, яка здійснюється після періоду цвітіння (Passioura, (1977) *supra*; Sadras and Connor (1991) Field Crops Res. 26:227-239; Hammer (2006) Agric. Sci. 19:16-22). Збільшена Т у період після цвітіння пов'язана із зниженим стресом від засухи поблизу періоду цвітіння, що може позитивно впливати на темп росту сільськогосподарської культури у періоді цвітіння зернових злаків і, отже, на кількість зерен (Andrade et al. (2002) Crop Sci. 42:1173-1179; Van Oosterom and Hammer (2008) Field Crops Res. 108:259-268). Якщо загальна кількість доступної води обмежена, Т у період після цвітіння може бути збільшена шляхом обмеження Т у період до цвітіння. Це може бути досягнуто шляхом обмеження розміру крони або генетичним шляхом, або шляхом обробки сільськогосподарської культури. Однак менша крона знижує тільки загальну кількість Т, якщо її ТЕ не знижена. Значні генотипічні відмінності в ТЕ для сорго опубліковані (Hammer et al. (1997) Aust. J. Agric. Res. 48:649-655; Henderson et al. (1998) Aust. J. Plant Physiol. 25:111-123; Mortlock and Hammer (1999) J. Crop Prod. 2:265-286; Xin et al. (2009) Field Crops Res. 111:74-80). Альтернативно, може бути збільшено споживання води у період після цвітіння, шляхом збільшення загальної кількості води, доступної сільськогосподарській рослині, або шляхом більш глибокого укорінення або шляхом зниженої нижньої межі витягання води рослиною (Manschadi et al. (2006) *supra*).

Ознака "залишатися зеленим" впливає на багато які із вищезгаданих процесів у сорго. По-перше, ознака "залишатися зеленим" знижує споживання води під час періоду до цвітіння шляхом обмеження розміру крони (за допомогою зниження кущистості і більш дрібних листків).

По-друге, ознака "залишатися зеленим" поліпшує доступність води шляхом збільшення співвідношення коріння:пагони. Існують деякі експериментальні докази кращого витягання води рослинами у лініях із ознакою "залишатися зеленим", проте необхідно більше досліджень. Ці відгуки кореня можуть також бути пояснені посиленням транспортом ауксину (Wang et al. (2009) Molecular Plant 2(4):823-831). По-третє, ознака "залишатися зеленим" збільшує зеленість листків у період цвітіння, ефективно підвищуючи фотосинтетичну здатність, і, таким чином, ТЕ (за умови, що фотосинтез збільшується пропорційно швидше, ніж провідність). Збільшення зеленості листків є непрямим результатом зниження маси листків, тобто азот концентрується у листку.

Отримання більшої кількості харчових продуктів за допомогою меншої кількості води є однією із основних проблем, які стоять у наш час перед людством. Існує реальна і нагальна необхідність як у країнах, які розвиваються, так і у розвинених країнах, в ідентифікації генів і генних мереж, які регулюють адаптацію до засухи у сільськогосподарських рослинах. Це дозволяє збільшувати адаптацію до засухи у широкого діапазону видів сільськогосподарських культур, які вирощують в умовах середовищ із обмеженим водопостачанням у всьому світі.

Суть даного винаходу

Локуси кількісних ознак (QTL) застосовують для ідентифікації геномних областей у сорго, асоційованих із і/або які іншим чином сприяють фенотипу "залишатися зеленим". QTL ідентифікують ознаку "залишатися зеленим" (Stg) X, де X є цифрою, яка збільшується від 1, яка означає область на хромосомі, яка містить локуси, асоційовані із фенотипом "залишатися зеленим". Область в межах StgX, вказана як StgX<sub>m</sub>, де m є буквеним позначенням, таким як Stg3a і Stg3b. У одному із варіантів здійснення X являє собою 1, і область являє собою Stg1 на хромосомі 3 між маркерними генами tpx581 і tpx38 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. У іншому варіанті здійснення, X являє собою 2, і область являє собою Stg2 на хромосомі 3 між маркерними генами tpx530 і tpx31 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. У ще одному варіанті здійснення, X являє собою 3, і область являє собою Stg3 на хромосомі 2 між маркерними генами tpx471 і tpx179 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. Stg3 розділений на Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) і Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179). У іншому варіанті здійснення, X являє собою 4, і область являє собою Stg4 на хромосомі 5 між маркерними генами tpx283 і tpx15 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини.

Список генів, асоційованих із фенотипом "залишатися зеленим", представлений у таблицях 1A-1C. Фіг. 68 представляє діаграму того, скільки із генів в Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b і Stg4 впливають на фенотип "залишатися зеленим".

Як наведено у даному описі, StgX включають локуси, які кодують білки або регуляторні агенти, такі як мікроРНК, рівень експресії яких сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим". Передбачається, що вибір генетичного локусу або генетичної області в StgX у сільськогосподарській рослині, включаючи підвищення або зниження експресії природженого локусу або локусів, зсуває споживання води рослиною на період після цвітіння або збільшує доступність води під час росту сільськогосподарської культури або збільшує ефективність

транспірації, таким чином, збільшуючи індекс збору урожаю (HI) і урожай зерна в умовах обмеженого водопостачання. Додатково запропоновано, що StgX є частиною генетичної і фізіологічної мережі, асоційованої із адаптацією до засухи. Поліморфні варіанти локусів у межах StgX можуть також впливати на рівні експресії. Отже, дане розкриття описує селекцію батьківських рослин для розведення, які експресують специфічний поліморфізм, так само як введення StgX у рослину будь-якою кількістю способів, включаючи рекомбінантні способи або шляхом стандартних протоколів розмноження. Мутагенез існуючих (тобто природжених) локусів також розглядається у даному описі.

У даному описі наведений спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де вказаний спосіб, включає модуляцію рівня експресії природженого або введеного локусу StgX або локусів у всій рослині або у вибраній тканині рослини, StgX, відповідному місцю на хромосомі у межах рослини сорго, або його еквівалент у іншій рослині, де StgX кодує продукт, рівень якого асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання, і де StgX ідентифікують шляхом тонкого генетичного картування.

Запропонований у даному описі спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину агента, вибраного із списку, який складається із наступних: (i) генетичний агент, який містить один або більше локусів, розташованих в області, вибраній із Stg1 на хромосомі 3 між tpx581 і tpx38; Stg2 на хромосомі 3 між tpx530 і tpx31; Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568); Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179); і Stg4 на хромосомі 5 між tpx283 і tpx15 у сорго, або його еквівалент у іншій рослині, рівень експресії якого асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає у себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання; і (ii) агент, який регулює підвищуючи або понижуючи природжену форму локусу або локусів. Посилання на "Stg3" включає Stg3a, розташований між tpx298 і sPb-2568 і Stg3b, розташований між sPb-2568 і tpx179.

Цей аспект охоплює застосування рекомбінантних технологій для введення одного або більше локусів у рослину, так само як застосування протоколів розмноження до вибраних рослин, які мають специфічний профіль експресії одного або більше локусів. Мутагенез із подальшою селекцією може також бути застосований для зміни профілів експресії або патернів у природжених локусах.

Додатково у даному описі наданий спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає модуляцію рівня експресії природженого або введеного локусу StgX або локусів у всій рослині або у вибраній тканині рослини, де локус або локуси, відповідні локусу або локусам, розташованим в Stg1, Stg2, Stg3 (включаючи Stg3a і Stg3b) і/або Stg4 на хромосомі у рослині сорго, або його еквівалент у іншій рослині, яка кодує продукт, рівень експресії якого асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання, і, де StgX ідентифікують шляхом тонкого генетичного картування.

У даному описі пояснюється, що рівень експресії одного або більше локусів у області StgX сприяє серед іншого утворенню специфічної архітектури крони листків, що дозволяє рослині ставати більш ефективним у плані споживання води. Локус або локуси в StgX, тому, у даному описі названі як "ген(и) адаптації до засухи" або "локус/локуси адаптації до засухи". Приклади локусів перераховані в таблицях 1A-1C. У одному прикладі локус вибраний із таблиці 1B. У іншому прикладі локус кодує білок, асоційований із ауксином, такий як булавоподібний неспвітний (PIN) білок. Білки PIN є носіями, які виділяють ауксин, які містять трансмембранні домени і, головним чином, локалізуються у плазматичних мембранах. Локус, який кодує білок PIN, представлений у даному описі як PIN. Іншими прикладами генетичних локусів є IPA-1 (ідеальна архітектура рослини 1), WFP (Wealthy Farmers Panicle), squamosa Spl (подібний промотор-зв'язувальному білку) і CCD7/8.

Дане розкриття описує введення одного або більше локусів ознаки "залишатися зеленим" у рослину або введення функціонального еквівалента, такого як кДНК або підвищуюче регулювання або понижувальне регулювання експресії природженого локусу або локусів. Це включає рекомбінантні технології, розмноження, гібридизацію і протоколи селекції і способи мутагенезу.

Даний опис дозволяє застосовувати ряд генів ознаки "залишатися зеленим", як перераховано у таблиці 1B (і таблиці 1C) для отримання нечутливих до засухи рослин шляхом технології рекомбінантної ДНК і/або розмноження, схрещування і способами гібридизації. Це включає підвищуюче регулювання або понижувальне регулювання генів в одному або більше із Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b і/або Stg4 (як проілюстровано таблицями 1B і 1C).

Даний опис дозволяє застосовувати ряд генів ознаки "залишатися зеленим", перерахованих у таблиці 1A, для отримання нечутливих до засухи рослин за допомогою технології рекомбінантних ДНК і/або шляхом розмноження, схрещування і способами гібридизації.

Термін "SbPINn" застосований для опису білка SbPIN, який утворюється у сорго, де n є цифрою, яка вказує компонент носія, що виділяє ауксин, і n складає від 1 до 11. Посилання на "SbPINn" включає його гомологи і ортологи в інших рослинах. Прикладами локусів SbPINn є такі, які кодують SbPIN4 і SbPIN2, і їх еквіваленти на інших рослинах. У даному описі запропоновано, що рівень або місце експресії PIN або рівень експресії PIN із специфічною поліморфною варіацією сприяє прискоренню виявленню фенотипу "залишатися зеленим". PIN може бути введений або його рівень експресії може бути змінений рекомбінантними засобами, стандартними протоколами розмноження і способами мутагенезу. SbPIN4 відповідає OsPIN5, і SbPIN2 відповідає OsPIN3a. Термін "Os" стосується рису (див. таблицю 1A).

У іншому варіанті здійснення локус являє собою IPA-1. Рівень експресії IPA-1 або рівень або місце експресії IPA-1 із специфічною поліморфною варіацією, як запропоновано у даному описі, сприяють виявленню фенотипу "залишатися зеленим".

У іншому варіанті здійснення локус являє собою WFP. Рівень або місце експресії WFP або рівень експресії WFP із специфічною поліморфною варіацією, як запропоновано у даному описі, сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим".

У іншому варіанті здійснення локусом є Spl. Рівень або місце експресії Spl або рівень експресії Spl із специфічною поліморфною варіацією, як запропоновано у даному описі сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим". У іншому варіанті здійснення локусом є CCD7/8. Рівень або місце експресії CCD7/8 або рівень експресії CCD7/8 із специфічною поліморфною варіацією, як запропоновано у даному описі, сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим".

Локуси "залишатися зеленим" можуть експресуватися у всій рослинній тканині або у вибраній тканині. Також може бути вибрана диференційна експресія.

У даному описі наданий спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину одного або більше локусів, відповідних локусу, розташованому у Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b або Stg4, як перераховано в таблицях 1A-1C, або його функціонального еквівалента або агента, який модулює експресію природженої форми одного або більше із цих локусів, де рівень і/або місце експресії одного або більше локусів викликають зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

Наданий у даному описі спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину одного або більше локусів, відповідних локусу, розташованому в Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b або Stg4, як перераховано у таблиці 1B, або їх функціонального еквівалента або агента, який модулює експресію природженої форми одного або більше із цих локусів, де рівень і/або місце експресії одного або більше із локусів викликають зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У одному із варіантів здійснення SbPIN2 (для *Sorghum bicolor* член сімейства компонента носія, який виділяє ауксин 2) знаходиться у Stg2 на хромосомі 3, тонко картованої у області між маркерними генами tpr512 і tpr530, і SbPIN4 у Stg1 на хромосомі 3, тонкий - картований в області між маркерними генами tpr563 і tpr442, як запропоновано у даному описі, відповідають

за ознаку "залишатися зеленим" у сорго, що приводить до отримання діапазону фенотипів, які надають адаптацію до засухи через збільшення споживання води у період цвітіння (завдяки зниженню кушіння і більш дрібному листю), збільшення доступності води (завдяки збільшеному співвідношенню коріння:пагони), збільшенню ефективності транспірації при помірному водному дефіциті (завдяки більш високій концентрації азоту у листках), збільшенню біомаси на одиницю листової поверхні при граничному водному дефіциті (завдяки збільшенню транспірації на одиницю листової поверхні) і збільшенню урожаю зерна, розміру зерна і стійкості до вилягання. Посилання на *txr* маркерні гени у сорго поширюється на еквівалентні маркерні гени у геномі інших рослин.

Іншим аспектом, наведеним у даному описі, є спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину одного або більше локусів, відповідних *SbPIN1-11*, *IPA-1*, *WFP*, *Spl i* або *CCD7/8* або їх функціональному еквіваленту, або агента, який модулює експресію природженої форми одного або більше із цих локусів, де рівень *i* або місце експресії одного або більше із цих локусів викликають зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

"Функціональний еквівалент" локусу включає молекулу кДНК або гомолог із інших видів рослин. Цей аспект включає рекомбінантний підхід для введення локусу або протокол розмноження для введення або вибору локусу із специфічним профілем експресії.

Даний винахід додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, який кодує локus, розташований у *Stg1* або у молекулі, яка модулює експресію природженого локусу. Приклади перераховані у таблицях 1A-1C, таких як таблиця 1B.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує локus, розташований у *Stg2*, або молекули, яка модулює експресію природженого локусу. Приклади перераховані у таблицях 1A-1C, таких як таблиця 1B.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує локus, розташований у *Stg3a*, або молекули, яка модулює експресію природженого локусу. Приклади перераховані в таблицях 1A-1C, таких як таблиця 1B.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує локus, розташований у *Stg3b*, або молекули, яка модулює експресію природженого локусу. Приклади перераховані в таблицях 1A-1C, таких як таблиця 1B.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує локus, розташований у *Stg4*, або молекули, яка модулює експресію природженого локусу. Приклади перераховані в таблицях 1A-1C, таких як таблиця 1B.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує білок *PIN*, або молекули, яка модулює експресію природженого локусу *PIN*. Прикладами *PIN* є *SbPIN1-11*, які включають *SbPIN4* і *SbPIN2* і інші *SbPIN*, перераховані у таблиці 1A, так само як їх еквіваленти в інших рослинах.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує *IPA-1*, або їх функціонального гомолога або ортолога, або агента, який модулює рівень експресії природженого *IPA-1*, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує WFP, або їх функціонального гомолога або ортолога, або агента, який модулює рівень експресії природженого WFP, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує Spl, або їх функціонального гомолога або ортолога, або агента, який модулює рівень експресії природженого Spl, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує CCD7/8, або їх функціонального гомолога, або ортолога, або агента, який модулює рівень експресії природженого CCD7/8, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У одному із варіантів здійснення рослини модифікують або відбирають, щоб змінити рівень експресії двох або більше із локусів, перерахованих у таблицях 1B або 1C.

У одному із варіантів здійснення рослини модифікують або відбирають, щоб змінити рівень експресії двох або більше із PIN, IPA-1, WFP, Spl і/або CCD7/8 і/або двох або більше PIN.

Генетично модифіковані рослини і їх потомство, які демонструють ознаку "залишатися зеленим", також допускаються у даному описі, так само як насіння, плоди і квіти, і інші репродуктивні або пророщувані органи. Такі "генетично модифіковані рослини" включають рослини, модифіковані рекомбінантними засобами, так само як рослини, відібрані за допомогою протоколів розмноження і/або рослини, піддані мутагенезу і селекції.

У даному описі допускається генетичний матеріал, який кодує продукт, який асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання, і локусом, який кодується в області StgX, де X є цифрою, відповідною місцю на хромосомі, і де StgX ідентифікують шляхом тонкого генетичного картування, як допускають на ньому, як в функціональному еквіваленті StgX. Генетичний матеріал є корисним для отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, так само як для того розробки маркерних генів для селекції ознак під час протоколу розмноження.

Генетичний матеріал, розглянутий у даному описі, включає кДНК, геномну ДНК і ідіоплазму, яка кодує один або більше локусів, перерахованих у таблицях 1A-1C, таких як таблиця 1B.

Генетичний матеріал, розглянутий у даному описі, включає кДНК, геномну ДНК і ідіоплазму, яка кодує один або більше із PIN, IPA-1, WFP, Spl і/або CCD7/8. Посилання на "PIN" включає один або більше PIN.

У даному описі надана система управління рослиною для зниження залежності урожаю сільськогосподарської культури від води або іншим чином поліпшення ефективності споживання води і збільшення урожаю зерна або продукту. Система управління рослиною включає отримання сільськогосподарської культури, адаптованої до засухи, включаючи зернові злаки, із застосуванням селекції і експресії локусу StgX або його функціонального еквівалента окремо або у комбінації із введенням інших корисних ознак, таких як розмір зерна, розмір кореня, солестійкість, стійкість до гербіцидів, стійкість до шкідників і т. п. Альтернативно або у доповнення, система управління рослиною включає, отримання адаптованих до засухи рослин і сільськогосподарські прийоми, такі як зрошування, вимоги до живлення, щільність сільськогосподарської культури і геометрія, боротьба із бур'янами, боротьба із комахами, аерація ґрунту, мінімальна обробка ґрунту, піднесені грядки і т. п. Приклади локусу StgX у сорго



включають SbPIN1 - 11, IPA-1, WFP, Spl і CCD7/8 і їх еквіваленти у інших рослинах. Приклади локусів включають розташовані в Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b і/або Stg4 (див. таблиці 1A-1C, такі як таблиця 1B).

Бізнес-модель також наведена у даному описі для поліпшення економічної вигоди від урожаю сільськогосподарської культури, де модель включає отримання сільськогосподарських рослин, які містять вибрану ознаку StgX, або підвищену або знижену ознаку StgX, яка приводить до отримання сільськогосподарської рослини із зсувом водоспоживання у цієї рослини на період після цвітіння, таким чином, збільшуючи HI і урожай зерна в умовах обмеженого водопостачання, отримання насіння від отриманої сільськогосподарської рослини і розподіл насіння між виробниками насіння для збільшення урожаю і прибутку.

Дане розкриття додатково описує маркерні гени для фенотипу "залишатися зеленим" для застосування у програмах розведення засухостійких рослин, де маркерні гени включають локус ознаки "залишатися зеленим" X (StgX), де X є цифрою, яка відповідає місцю на хромосомі у рослині сорго, або її еквіваленту у іншій рослині, який кодує продукт, асоційований із або сприяючий виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання. Приклади придатних маркерних генів включають Stg1 на хромосомі 3 між tpx581 і tpx38; Stg2 на хромосомі 3 між tpx530 і tpx31; Stg3 розділений на Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) і Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179) і Stg4 на хромосомі 5 між tpx283 і tpx15. Приклади включають перераховані в таблицях 1B і 1C. Ці маркерні гени виявлені на основі геному сорго, але мають еквіваленти у геномах інших рослин. Крім того, маркерний ген, суміжний або прилеглий до геномних місць, наведених вище, також може бути застосований для скринування специфічного потомства у програмі розведення.

Отже, у даному описі наведений ряд біомаркерів, включаючи Stg1 на хромосомі 3 між tpx581 і tpx38; Stg2 на хромосомі 3 між tpx530 і tpx31; Stg3 розділений на Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) і Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179) і Stg4 на хромосомі 5 між tpx283 і tpx15 на хромосомі 5 у сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. Такі маркерні гени корисні у протоколах розмноження, розроблених для отримання рослин, які демонструють фенотип "залишатися зеленим". Приклади локусів перераховані у таблицях 1A-1C. Специфічні приклади наведені у таблиці 1B.

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg1, яка вибрана із PIN5, GID1L2, P45098A1, нечутливих до індол-3-ацетату і брасиностероїдів.

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg2 і є компонентом носія, який виділяє ауксин 3a (PIN3a).

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у області Stg3a, яка вибрана із білка, подібного білку, який відповідає за старіння листка (Sb02g023510), білка, подібного білку, який відповідає за старіння листка (Sb02g023520), RAMOSA1 C2H2 із доменом "цинкові пальці" білка фактора транскрипції (Sb02g024410), білка передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g024540), білка, схожого із білком, подібним білку, чутливого до дегідратації (Sb02g024670), білка, подібного білку транспортера глюкози (Sb02g024690), WRKY білка фактора транскрипції 76 (Sb02g024760), глутамінсинтазаподібного білка (Sb02g025100), білка, асоційованого із старінням DH (Sb02g025180), передбачуваної аланінамінотрансферази (Sb02g025480), білка, подібного ауксин-індукованому білку (Sb02g025610), білка, подібного ауксин-індукованому білку (Sb02g025620), передбачуваного білка із непарною відповіддю в дальній червоній області (Sb02g025670), білка, подібного (цитохром-P450)-монооксигеназі CYP92A1 (Sb02g025820), ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g025960), аспартатамінотрансферази (Sb02g026430), білка, подібного 8'-гідроксилазі 3 абсцизинової кислоти (Sb02g026600), білка, схожого із етилен-зв'язувальним білком (Sb02g026630) і сімейства передбачуваних ауксин-індукованих білків (Sb02g027150).

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg3b, вибраному від передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g027470), білка Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g028420), білка, подібного білку Os09g0505400 (OsPIN9) (Sb02g029210), білка Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g029300), білка, схожого із ауксин-індукованим білком (Sb02g029630).

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg4, вибраному із рецептора брасиностероїду LRR (Sb05g006842), рецептора брасиностероїду LRR (Sb05g006860), передбачуваного білка із непарною відповіддю у дальній червоній області (Sb05g007130), цитохрому P450 84A1 (Sb05g007210), рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g007270), рецептора

- гібереліну GID1L2 (Sb05g007290), сахароза-фосфат синтази (Sb05g007310), аквапорину SIP1-1 (Sb05g007520), гіберелін 20 оксидази 2 (Sb05g008460), OsIAA29-ауксин-чутливого білка (Sb05g008510), OsIAA29 - ауксин-чутливого білка (Sb05g008512), білка-рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g008610), білка, подібного амінотрансферазі, передбачуваного білка (Sb05g009410), індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb05g010310), індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb05g010320), індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb05g010326), цитохрому P450 86A2 (Sb05g010360), цитохрому P450 51, передбачуваного білка (Sb05g011296), цитохрому P450 51, передбачуваного білка (Sb05g011430), триацилгліцеролліпази, білка старіння листка, білка GO біосинтезу жасминової кислоти (Sb05g013160), регулятора росту, такого як (Sb05g015590), цитохрому P450 78A4 (Sb05g016750), білка, подібного білку із сімейства ABC-транспортів, експресованого білка (Sb05g017120) і Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 19 (Sb05g017510).

У наведеній специфікації застосовуються наступні аббревіатури:

CCD7/8	ген, який надає фенотип "залишатися зеленим"
CI	довірчий інтервал
CWU	споживання води сільськогосподарською культурою
DW	суха вага
GLA	зелена листкова поверхня
HD	висока щільність
HI	індекс збору урожаю
HT	сильне кушіння
HW	надлишок води
HWHD	надлишок води, висока щільність (помірний дефіцит води)
HWLD	надлишок води, низька щільність (найменше піддані водному стресу)
IPA-1	ідеальна архітектура рослини 1
LA	листова поверхня
LD	низька щільність
LT	низьке проростання
LW	нестача води
LWHD	нестача води, висока щільність (найбільш схильні до водного стресу)
LWLD	нестача води, низька щільність (помірний дефіцит води)
NIL	біля ізотонічна лінія
OsPIN	PIN із рису
PAB	біомаса у період після цвітіння
PASM	маса стебла у період після цвітіння
PIN	булавоподібне суцвіття
PPBR	відношення біомас у періоди до:після цвітіння
QTL	локус кількісної ознаки
ROS	укриття від дощу
RWC	відносний вміст води
SbPIN	PIN із сорго
SLW	питома вага листка
SML	статистичне машинне навчання
Spl	Squamosa промотор-зв'язувальний подібний білок
Stg	ознака "залишатися зеленим"
Stg1	область тонкого генетичного картування між txp563 і txp581, яка містить 60 анотованих генів
	більш велика середня область між txp440 і txp580, яка містить 307 анотованих генів
	кандидати у хвості між txp580 і txp38, які містять 178 анотованих генів
Stg2	область тонкого генетичного картування між txp512 і txp2, яка містить 15 анотованих генів
	більш велика область між txp31 і txp530, яка містить 241 анотований ген
Stg3a	вся область між txp298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів
Stg3b	вся область між sPb-2568 і txp179, яка містить 291 анотований ген
Stg4	вся область, обмежена txp283 і txp15, яка містить 306 анотованих генів
T	транспірація
T2	кушіння в пазусі листка 2
T3	кушіння в пазусі листка 3

T4 кушіння в пазусі листка 4  
 T5 кушіння в пазусі листка 5  
 T6 кушіння в пазусі листка 6  
 TE ефективність транспірації  
 TS граничний стрес  
 VPD дефіцит тиску пари  
 WPA Wealthy Farmer's Panicle  
 WW добре зволожений.

Таблиця 1A надає інформацію про PIN із сорго і рису.

Таблиця 1A

## Детально Sorghum Stg QTL

ID гена Сорго	Рисовий гомолог	Сорго	Хромосома	bp (початок)	bp (кінець)	Довжина (bp)	передбачуване cM	LOD	R <sup>2</sup>	Pop	Публікація	Джерело алеля	Опублікований символ	Зведення по Stg QTL
Sb02g029210	OsPIN6	SbPIN1	SBI-02	64347327	64350341	3014	144.3023044	1.9	10.7	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	B35	stg3	Stg3B
								2.5	4.9	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	N13	%GL15 #3	
								3	5.8	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	N13	%GL30 #5	
								4.9	9.5	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	N13	%GL45 #4	
Sb03g029320	OsPIN3a	SbPIN2	SBI-03	57449784	57453744	3960	88.7882569	2.63	10.2	SC56/Tx7000	Kebede et al 2001	SC56	Stg A	Stg2
								2.65	14	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	B35	stg2	
								2.65	6.1	2968/IS1855	Srinivas et al 2009	2968	QGlaa-sbi03	
								2.9	7.5	2968/IS1855	Srinivas et al 2009	2968	QPglam-sbi03	
								3.66	19.9	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	B35	Stg2	
								5.52	29.2	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	B35	Stg2	
								5.44	22.6	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	Tx7000	Stg2	
								5.6	24.8	B35/Tx7000	Xu et al 2000	Tx7000	ChI2	
								6.23	30.3	B35/Tx7000	Xu et al 2000	B35	Stg2	
								6.6	28.6	B35/Tx430	Crasta et al 1999	B35	SGA	
								2.8	5.6	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	E36-1	%GL45 #5	
Sb03g032850	OsPIN1	SbPIN3	SBI-03	61297480	61299969	2489	115.1215502	2.69	12	B35/Tx7000	Xu et al 2000	Tx7000	ChI1	Stg1 (broader QTL)

5

								4.59	19.6	B35/Tx7000	Xu et al 2000	B35	Stg1	
								3.18	15.4	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	B35	Stg1	
								3.61	18.1	B35/Tx7000	Subudhi et al 2000	B35	Stg1	
								14.9	26.3	IS9830/E36-1	Hausmann et al 2002	IS9830	%GL15 #1	
								6.5	12.4	IS9830/E36-1	Hausmann et al 2002	IS9830	%GL30 #2	
Sb03g037350	OsPIN5	SbPIN4	SBI-03	65310051	65313194	3143	129.5972557	Sta1 (тонко картопляний QTL)						Stg 1 (тонко картопляний QTL)
Sb03g043960	OsPIN6	SbPIN5	SBI-03	71204119	71206483	2364	152.8989678							
Sb04g028170	OsPIN1	SbPIN6	SBI-04	58261350	58264959	3609	107.0875147	3.63	13.4	SC56/Tx7000	Kebede et al 2001	SC56	Stg C.1	smlQTL and near StgC.1
								3.1	6.1	IS9830/E36-1	Hausmann et al 2002	IS9830	%GL15 #2	
								2.8	5.5	IS9830/E36-1	Hausmann et al 2002	IS9830	%GL30 #3	
								2.6	5.1	IS9830/E36-1	Hausmann et al 2002	IS9830	%GL45 #4	
								4.11	15.1	SC56/Tx7000	Kebede et al 2001	Tx7000	Stg C.2	
Sb05g002150	OsPIN1b	SbPIN7	SBI-05	2304407	2307630	3223	17.31415415	sml QTL only						smlQTL
Sb07g026370	OsPIN4	SbPIN8	SBI-07	61560708	61563133	2425	123.616344	2.8	5.6	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	N13	%GL15 #5	Hausmann QTL and smlQTL
								3.4	6.7	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	N13	%GL30 #7	
								2.9	5.8	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	N13	%GL45 #8	

Sb10g004430	OsPIN1	SbPIN9	SBI-10	3915101	3917519	2418	32.96657613	3.65	13.8	SC56/Tx7000	Kebede et al 2001	Tx7000	Stg B	Kebede QTL
Sb10g008290	OsPIN1c	SbPIN10	SBI-10	8438481	8441508	3027	45.84731059	2.76	11.2	QL39/QL41	Tao et al 2000	QL41	Stgl	Stgl
Sb10g026300	OsPIN2	SbPIN11	SBI-10	55747009	55751104	4095	82.37617984	2.7	5.5	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	E36-1	%GL30 #8	Hausmann & Crasta QTL
								2.6	5.2	N13/E36-1	Hausmann et al 2002	E36-1	%GL45 #9	

Таблиця 1В

## Області Stg

<p>Область Stg1</p> <p>Область тонкого генетичного картування (область між txp563 і txp581, яка містить 60 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- вірогідний компонент носія, із виділенням ауксину 5, PIN5 (Sb03g037350), основний кандидат</li> <li>- білок-рецептор гібереліну GID1L2 (Sb03g037296)</li> <li>- білок цитохром P450 98A1 (Sb03g037380)</li> <li>- білок індол-3-ацетат (Sb03g037450)</li> <li>- білок, нечутливий до брасиностероїдів (Sb03g037580)</li> </ul> <p>Більш велика середня область (область між txp440 і txp580, яка містить 307 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- білок цитокінін-дегідрогеназа 5 (Sb03g036160)</li> <li>- білок D-еритро-сфінгозин кінназа_ABA (Sb03g036460)</li> <li>- білок центрин_відповідь на ауксин_GO (Sb03g036610)</li> <li>- білок індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb03g036680)</li> <li>- подібний етилен-чутливому фактору фактор транскрипції ERFL1c (Sb03g037080)</li> <li>- подібний етилен-чутливому фактору фактор транскрипції ERFL1c (Sb03g037085)</li> <li>- білок сімейства Leucine Rich Repeat (Sb03g037140)</li> <li>- білок фактора транскрипції GAMYB_гіберелін TF (Sb03g037680)</li> <li>- білок симпортер водню ауксину (Sb03g038030)</li> <li>- білок фактора транскрипції LAX (Sb03g038820)</li> <li>- білок гібереліну 20 оксидази 2 (Sb03g038880)</li> </ul> <p>Кандидати у хвості (область між txp580 і txp38, яка містить 178 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- білок цитокінін-дегідрогеназа 5 (Sb03g036160)</li> <li>- білок протеїн-фосфатаза 2C_ABA stomata (Sb03g039630)</li> <li>- білок delta_proline biosyn_ABA_water_GO (Sb03g039820)</li> <li>- білок, подібний транспортеру ауксину_root cap_GO (Sb03g040320)</li> <li>- білок, зв'язувальний ABA-регульовані елементи (Sb03g040510)</li> </ul>	<p>Область Stg2</p> <p>Область тонкого генетичного картування (область між txp512 і txp2, яка містить 15 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- вірогідний компонент носія, із виділенням ауксину 3a PIN3a (Sb03g029320), основний кандидат</li> </ul> <p>Більш велика область (область між txp31 і txp530, яка містить 241 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- білок ауксин-індукований білок (Sb03g028020)</li> <li>- білок ауксин-індукований білок (Sb03g028050)</li> <li>- білок ауксин-індукований білок (Sb03g028060)</li> <li>- білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука (Sb03g028240)</li> <li>- білок цитохром P450 72A1 (Sb03g028560)</li> <li>- білок, нечутливий до брасиностероїдів (Sb03g028800)</li> <li>- білок (ABA глікозилтрансфераза_GO) (Sb03g029060)</li> <li>- білок (ABA глікозилтрансфераза_GO) (Sb03g029070)</li> <li>- білок (ABA глікозилтрансфераза_GO) (Sb03g029080)</li> <li>- білок DELLA білок RGA, передбачуваний (Sb03g029470)</li> <li>- білок нечутливий до брасиностероїдів (Sb03g029550)</li> </ul>
--	---

Таблиця 1В (продовження)

<p>Область Stg3</p> <p>Stg3a вся область (область між txp298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- білок, подібний білку, який відповідає за старіння листка (Sb02g023510)</li> <li>- білок, подібний білку, який відповідає за старіння листка (Sb02g023520)</li> <li>- RAMOSA1 C2H2 із доменом "цинкові пальці" білка фактора транскрипції (Sb02g024410)</li> <li>- білок, передбачуваний ауксин-незалежний прискорювач росту (Sb02g024540)</li> <li>- білок, схожий із чутливим до дегідратації білком (Sb02g024670)</li> <li>- білок, схожий із транспортером глюкози (Sb02g024690)</li> <li>- WRKY білок фактора транскрипції 76 (Sb02g024760)</li> <li>- глутамін-синтаза-подібний білок (Sb02g025100)</li> <li>- білок, асоційований із старінням DH (Sb02g025180)</li> <li>- передбачувана аланінамінотрансфераза (Sb02g025480)</li> <li>- білок, подібний ауксин-індукованому білку (Sb02g025610)</li> <li>- білок, подібний ауксин-індукованому білку (Sb02g025620)</li> <li>- слабо схожий із передбачуваним білком із непарною відповіддю у дальній червоній області (Sb02g025670)</li> <li>- білок, схожий із (цитохром-P450)-монооксигеназою CYP92A1 (Sb02g025820)</li> <li>- ауксин-незалежний прискорювач росту (Sb02g025960)</li> <li>- аспаратамінотрансфераза (Sb02g026430)</li> <li>- білок, схожий із 8'-гідроксилазою 3 абсцизинової кислоти (Sb02g026600)</li> <li>- білок, схожий із етилен-зв'язувальним білком (Sb02g026630)</li> <li>- слабо схожий із передбачуваним ауксин-індукованим сімейством білків (Sb02g027150)</li> </ul>
<p>Stg3b вся область (область між sPb-2568 і txp179, яка містить 291 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- схожий із передбачуваним ауксин-незалежним прискорювачем росту (Sb02g027470)</li> <li>- білок Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g028420)</li> <li>- білок, подібний білку Os09g0505400 (OsPIN9) (Sb02g029210)</li> <li>- білок Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g029300)</li> <li>- білок, схожий із ауксин-індукованим білком (Sb02g029630)</li> </ul>
<p>Область Stg4</p> <p>Вся область Stg4 (область, обмежена txp283 і txp15, яка містить 306 анотованих генів):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- білок-рецептор брасиностероїду LRR (Sb05g006842)</li> <li>- білок-рецептор брасиностероїду LRR (Sb05g006860)</li> <li>- слабо схожий із передбачуваним білком із непарною відповіддю у дальній червоній області (Sb05g007130)</li> <li>- білок цитохром P450 84A1 (Sb05g007210)</li> <li>- білок-рецептор гібереліну GID1L2 (Sb05g007270)</li> <li>- білок-рецептор гібереліну GID1L2 (Sb05g007290)</li> <li>- білок сахароза-фосфат синтаза (Sb05g007310)</li> <li>- аквапорин SIP1-1 (Sb05g007520)</li> <li>- білок гібереліну 20 оксидаза 2 (Sb05g008460)</li> <li>- білок OslAA29 - ауксин-чутливий білок (Sb05g008510)</li> <li>- білок OslAA29 - ауксин-чутливий білок (Sb05g008512)</li> <li>- білок-рецептор гібереліну GID1L2 (Sb05g008610)</li> <li>- схожий із амінотрансферазою, передбачуваний білок (Sb05g009410)</li> <li>- білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука (Sb05g010310)</li> <li>- білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука (Sb05g010320)</li> <li>- білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука (Sb05g010326)</li> <li>- білок цитохром P450 86A2 (Sb05g010360)</li> <li>- білок цитохром P450 51, передбачуваний білок (Sb05g011296)</li> <li>- білок цитохром P450 51, передбачуваний білок Sb05g011430)</li> <li>- білок триацилгліцеролліпаза, білок старіння листка, білок GO біосинтезу жасминової кислоти (Sb05g013160)</li> <li>- білок, подібний білка регулятора росту (Sb05g015590)</li> <li>- білок цитохром P450 78A4 (Sb05g016750)</li> <li>- білок, подібний білка сімейства ABC-транспортерів, експресований білок (Sb05g017120)</li> <li>- білок Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 19 (Sb05g017510)</li> </ul>

Таблиця 1С

## Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg1	Sb03g037350	вірогідний компонент носія, із виділенням ауксину 5, PIN5	ріст пазушної бруньки, полярний транспорт ауксину	Надмірна експресія цього гена може приводити до підвищення поглинання IAA в порожнину ER і зниження доступності IAA в цитозолі (Mravcs 2009), може приводити до зниження полярного транспорту ауксину, що збільшує конкуренцію між зародками (Domagalska 2011) (тобто один зародок зростає і пригнічує інших).
Stg1	Sb03g037296	білок-рецептор гібереліну GID1L2	подовження клітини	Гібереліни дестабілізують білки DELLA, які є супресорами подовження. Цей ген може мати вплив на розмір листка
Stg1	Sb03g037380	білок цитохром P450 98A1	ріст пазушної бруньки, шлях стріголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стріголактонів. Стріголактони в свою чергу є понижувальними регуляторами куціння.
Stg1	Sb03g037450	білок індол-3-ацетат	ріст пазушної бруньки, розмір листка, біосинтез ауксину	Цей ген може кодувати біосинтез ауксину.
Stg1	Sb03g037580	білок, нечутливий до брасиностероїдів	ріст пазушної бруньки, старіння, транспорт ауксину	Брасиностероїди підвищуючи регулюють носіїв, які виділяють ауксин ABCB/PGP19 і пов'язані із старінням.
Stg1	Sb03g036160	білок цитокінін-дегідрогеназа 5	ріст пазушної бруньки, синтез цитокініну	цитокініни підвищуючи регулюють росту зародка
Stg1	Sb03g036460	білок D-еритро-сфінгозинкіназа_ABA	передача сигналів стресу, регуляція прорихів	ABA пов'язаний із регуляцією росту і змиканням прорихів у відповідь на стрес.
Stg1	Sb03g036610	білок центрин_відповідь на ауксин_GO	передача сигналів ауксину	Цей ген може змінювати сприйнятливість ауксину.
Stg1	Sb03g036680	білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука	ріст пазушної бруньки, розмір листка, біосинтез ауксину	Цей ген може кодувати біосинтез ауксину.
Stg1	Sb03g037080	подібний етилен-чутливому фактору фактор транскрипції ERFL1c	старіння, ріст кореня	Етилен впливає на ріст кореня і старіння. Мутація в цьому гені змінює чутливість до етилену.
Stg1	Sb03g037085	подібний етилен-чутливому фактору фактор транскрипції ERFL1c	старіння, ріст кореня	Етилен впливає на ріст кореня і старіння. Мутація в цьому гені змінює чутливість до етилену.

Таблиця 1С (Продовження)

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg1	Sb03g037140	білок сімейства Leucine Rich Repeat	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	MAX2, який є локусом у шляху стриголактону, знаходиться у сімействі білків Leucine Rich Repeat.
Stg1	Sb03g037680	білок фактора транскрипції GAMYB_гіберелін TF	подовження клітини	Гібереліни дестабілізуватимуть білки DELLA, які є супресорами подовження. Цей ген міг мати впливи на розмір листка.
Stg1	Sb03g038030	білок симпортер водню ауксину	ріст пазушної бруньки, транспорт ауксину	Цей ген може впливати на транспорт ауксину. Ауксини пов'язані із ростом пагонів і кореня.
Stg1	Sb03g038820	білок фактор транскрипції LAX	транспорт ауксину	LAX кодує носій вхідного потоку ауксину. Ауксини пов'язані із ростом пагонів і кореня.
Stg1	Sb03g036160	білок цитокінін-дегідрогеназа 5	ріст пазушної бруньки, синтез цитокініну	Цитокініни підвищуючи регулюють ріст зародка.
Stg1	Sb03g039630	білок протеїнофосфатаза 2C_ABA stomata	передача сигналів впливу, регуляція продихів	ABA пов'язаний із регуляцією росту і змиканням продихів у відповідь на стрес.
Stg1	Sb03g039820	білок delta_proline biosyn_ABA_water_GO	передача сигналів впливу, регуляція продихів	ABA пов'язаний із регуляцією росту і змиканням продихів у відповідь на стрес.
Stg1	Sb03g040320	білок, подібний білку транспортера ауксину_root cap_GO	транспорт ауксину	Ауксини пов'язані із ростом пагонів або кореня.
Stg1	Sb03g040510	білок, зв'язувальний ABA-регульовані елементи	передача сигналів стресу, регуляція продихів	ABA пов'язаний із регуляцією росту і змиканням продихів у відповідь на стрес.
Stg2	Sb03g029320	вірогідний компонент носія, із виділенням ауксину 3a PIN3a	ріст пазушної бруньки, полярний транспорт ауксину	Надекспресія цього гена може приводити до збільшеного експорту IAA (Mravec 2009) і може приводити до збільшеного полярного транспорту ауксину, який може пригнічувати відросток зародка за допомогою підвищеного апікального домінування (Domagalska 2011).
Stg2	Sb03g028020	білок, подібний ауксин-індукованому білку	шлях ауксину	Ауксини пов'язані із ростом пагонів або кореня.
Stg2	Sb03g028050	білок, подібний ауксин-індукованому білку	шлях ауксину	Ауксини пов'язані із ростом пагонів або кореня.
Stg2	Sb03g028060	білок, подібний ауксин-індукованому білку	шлях ауксину	Ауксини пов'язані із ростом пагонів або кореня.
Stg2	Sb03g028240	білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука	ріст пазушної бруньки, розмір листка, біосинтез ауксину	Цей ген може кодувати біосинтез ауксину.



Таблиця 1С (Продовження)

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg2	Sb03g028560	білок цитохром P450 72A1	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стриголактонів. Стриголактони в свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.
Stg2	Sb03g028800	білок, нечутливий до брасиностероїдів	ріст пазушної бруньки, старіння, транспорт ауксину	Брасиностероїди підвищуючи регулюють носіїв, які виділяють ауксин ABCB/PGP19 і асоційовані із старінням.
Stg2	Sb03g029060	білок (ABA глюкозилтрансфераза_GO)	передача сигналів стресу, регуляція продихів	ABA асоційований із регуляцією росту і змиканням продихів у відповідь на стрес.
Stg2	Sb03g029070	білок (ABA глюкозилтрансфераза_GO)	передача сигналів стресу, регуляція продихів	ABA асоційований із регуляцією росту і змиканням продихів у відповідь на стрес.
Stg2	Sb03g029080	білок (ABA глюкозилтрансфераза_GO)	передача сигналів стресу, регуляція продихів	ABA асоційований із регуляцією росту і змиканням продихів у відповідь на стрес.
Stg2	Sb03g029470	білок DELLA білка RGA, передбачуваний білок	подовження клітини, ріст	Білок DELLA є супресором росту, який взаємодіє із гіберелінами, регулюючи подовження клітини. Цей ген може регулювати розмір листка.
Stg2	Sb03g029550	білок, нечутливий до брасиностероїдів	ріст пазушної бруньки, старіння, транспорт ауксину	Брасиностероїди підвищуючи регулюють носіїв, які виділяють ауксин ABCB/PGP19 і пов'язані із старінням.
Stg3a	Sb02g023510	білок, подібний білку, який відповідає за старіння листка	старіння	Цей ген може безпосередньо впливати на площу зеленої листової поверхні після цвітіння.
Stg3a	Sb02g023520	білок, подібний білку, який відповідає за старіння листка	старіння	Цей ген може безпосередньо впливати на площу зеленої листової поверхні після цвітіння.
Stg3a	Sb02g024410	RAMOSA1 C2H2 із доменом "цинкові пальці" білка фактора транскрипції	ріст пазушної бруньки	RAMOSUS1 є гомологом MAX4, який кодує CCD8 в шляху стриголактону. Цей фактор транскрипції може впливати на проростання через локус RMS1.
Stg3a	Sb02g024540	білок, передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту	ріст	Цей локус може впливати на розмір листка.
Stg3a	Sb02g024670	білок, подібний білку, чутливому до дегідратації	передача сигналів стресу	Може впливати на будь-які ростові процеси у відповідь на дефіцит води.



Таблиця 1С (Продовження)

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg3a	Sb02g024690	білок, схожий із транспортером глюкози	шлях глюкози	Глюкоза потрібна для росту, може бути включена в осмотичне регулювання і тому запобігання дегідратації.
Stg3a	Sb02g024760	WRKY білка фактора транскрипції 76	регуляція генів	Транскрипційні фактори WRKY асоційовані із різними відповідями на стрес.
Stg3a	Sb02g025100	глутамінсинтазаподібний білок	асиміляція азоту	Цей ген може впливати на підтримку площі зеленої листової поверхні.
Stg3a	Sb02g025180	білок, асоційований із старінням DH	старіння	Цей ген може безпосередньо впливати на площу зеленої листової поверхні після цвітіння.
Stg3a	Sb02g025480	передбачувана аланінамінотрансфераза	асиміляція азоту	Цей ген може впливати на підтримку площі зеленої листової поверхні.
Stg3a	Sb02g025610	білок, подібний ауксин-індукованому білку	передача сигналів ауксину	Цей ген може впливати на ростові процеси.
Stg3a	Sb02g025620	Білок, подібний ауксин-індукованому білку	передача сигналів ауксину	Цей ген може впливати на ростові процеси.
Stg3a	Sb02g025670	слабо схожий із передбачуваним білком із непарною відповіддю в дальній червоній області	ріст пазушної бруньки	Цей ген може впливати на сприйманість сусідів і вплинути на кількість кущіння.
Stg3a	Sb02g025820	білок, схожий із (цитохром-Р450)-монооксигеназою CYP92A1	ріст пазушної бруньки, шлях стріголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стріголактонів. Стріголактони в свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.
Stg3a	Sb02g025960	передбачуваний ауксин-незалежний прискорювач росту	ріст	Цей локус може впливати на розмір листка.
Stg3a	Sb02g026430	аспартатамінотрансфераза	асиміляція азоту	Цей ген може впливати на підтримку площі зеленої листової поверхні.
Stg3a	Sb02g026600	білок, подібний 8'-гідроксилазі 3 абсцизинової кислоти	передача сигналів стресу, регуляція продохів	АВА пов'язаний із регуляцією росту і змиканням продохів у відповідь на стрес.
Stg3a	б	білок, подібний етилен-зв'язувальному білку	старіння, ріст кореня	Етилен впливає на ріст кореня і старіння. Мутація в цьому гені змінює чутливість до етилену.
Stg3a	Sb02g027150	слабо схожий із передбачуваним ауксин-індукованим сімейством білків	передача сигналів ауксину	Цей ген може впливати на ростові процеси
Stg3b	Sb02g027470	схожий із передбачуваним ауксин-незалежним прискорювачем росту	ріст	Локус може впливати на розмір листка

Таблиця 1С (Продовження)

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg3b	Sb02g028420	білок Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17	ріст	Транскрипційні фактори SPL залучені у ростові процеси, наприклад, тимчасове регулювання розвитку відростків. SPL 14, також відомий як WEALTHY FARMERS PANICLE, який скорочує кількість кущіння, але збільшує кількість повторних колосків у рисі (Luo 2012).
Stg3b	Sb02g029210	білок, подібний Os09g0505400 (OsPIN9)	ріст кореня	OsPIN9 грає роль у рості додаткового кореня (Wang 2009)
Stg3b	Sb02g029300	білок Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17	ріст пазушної бруньки, архітектура колоска (кількість зерен)	Транскрипційні фактори SPL залучені у ростові процеси, наприклад, тимчасової регуляції розвитку відростків. SPL 14, також відомий як WEALTHY FARMERS PANICLE, який скорочує кількість кущіння, але збільшує число колосків у рисі (Luo 2012).
Stg3b	Sb02g029630	білок, подібний ауксин-індукованому білку	передача сигналів ауксину	Ген може впливати на ростові процеси
Stg4	Sb05g006842	білок-рецептор брасиностероїду LRR	ріст пазушної бруньки, старіння, транспорт ауксину	Брасиностероїди підвищуючи регулюють носіїв, які виділяють ауксин ABCB/PGP19 і асоційовані із старінням.
Stg4	Sb05g006860	білок-рецептор брасиностероїду LRR	ріст пазушної бруньки, старіння, транспорт ауксину	Брасиностероїди підвищуючи регулюють носіїв, які виділяють ауксин ABCB/PGP19 і асоційовані із старінням.
Stg4	Sb05g007130	слабо схожий із передбачуваним білком із непарною відповіддю в дальній червоній області	ріст пазушної бруньки	Цей ген може впливати на сприйманість сусідів і вплинути на кількість кущіння.
Stg4	Sb05g007210	білок цитохром P450 84A1	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стриголактонів. Стриголактони в свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.
Stg4	Sb05g007270	білок-рецептор гібереліну GID1L2	подовження клітини	Гібереліни дестабілізують білки DELLA, які є супресорами подовження. Цей ген може мати вплив на розмір листка.

Таблиця 1С (Продовження)

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg4	Sb05g007290	білок-рецептор гібереліну GID1L2	подовження клітини	Гібереліни дестабілізують білки DELLA, які є супресорами подовження. Цей ген може мати вплив на розмір листка.
Stg4	Sb05g007310	білок сахароза-фосфат синтаза	асиміляція	Сахароза є фотоасимілянтом і необхідна для росту.
Stg4	Sb05g007520	аквапорин SIP1-1	транспірація	аквапорини асоціювали із транспортом молекул води.
Stg4	Sb05g008460	білок гібереліну 20 оксидаза 2	подовження клітини	Гібереліни дестабілізують білки DELLA, які є супресорами подовження. Цей ген може мати вплив на розмір листка.
Stg4	Sb05g008510	білок OsIAA29 - ауксин-чутливий білок	передача сигналів ауксину	Цей ген має вплив на процеси росту.
Stg4	Sb05g008512	білок OsIAA29 - ауксин-чутливий білок	передача сигналів ауксину	Цей ген має вплив на процеси росту.
Stg4	Sb05g008610	білок-рецептор гібереліну GID1L2	подовження клітини	Гібереліни дестабілізують білки DELLA, які є супресорами подовження. Цей ген може впливати на розмір листка.
Stg4	Sb05g009410	подібний амінотрансферазі, передбачуваний	асиміляція азоту	Цей ген може впливати на підтримку площі зеленої листкової поверхні.
Stg4	Sb05g010310	білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука	ріст пазушної бруньки, розмір листка, біосинтез ауксину	Цей ген може кодувати біосинтез ауксину.
Stg4	Sb05g010320	білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука	ріст пазушної бруньки, розмір листка, біосинтез ауксину	Цей ген може кодувати біосинтез ауксину.
Stg4	Sb05g010326	білок індол-3-оцтової кислоти амідопохіда сполука	ріст пазушної бруньки, розмір листка, біосинтез ауксину	Цей ген може кодувати біосинтез ауксину.
Stg4	Sb05g010360	білок цитохром P450 86A2	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стриголактонів. Стриголактони у свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.
Stg4	Sb05g011296	білок цитохром P450 51, передбачуваний білок	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стриголактонів. Стриголактони у свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.
Stg4	Sb05g011430	білок цитохром P450 51, передбачуваний білок	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стриголактонів. Стриголактони у свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.

Таблиця 1С (Продовження)

Stg QTL	ID гена	Анотація	Залученість у метаболічні шляхи	Потенційний механізм надання фенотипу "залишатися зеленим"
Stg4	Sb05g013160	білок триацилгліцеролліпаза, білок старіння листка, білок GO біосинтезу жасминової кислоти	старіння, реакція впливу	Жасмінова кислота асоційована із відповіддю на стрес.
Stg4	Sb05g015590	білок, подібний білку регулятору роста	ріст	Цей ген може впливати на розмір листка або кількість кущіння.
Stg4	Sb05g016750	білок цитохром P450 78A4	ріст пазушної бруньки, шлях стриголактону	Цей ген може змінювати біосинтез стриголактонів. Стриголактони в свою чергу є понижувальними регуляторами кущіння.
Stg4	Sb05g017120	білок, подібної білка із сімейства ABC-транспортів, експресований білок	вихідний потік ауксину	Транспортери ABC, також відомі як PGP або транспортери MDR і грають роль у вихідному потоку ауксину. Вони асоційовані із довжиною стовбура, і деякі із цих транспортерів взаємодіють із PINами і можуть тому мати вплив на ріст пазушної бруньки.
Stg4	Sb05g017510	білок Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 19	ріст пазушної бруньки, архітектура колоска (кількість зерен)	Транскрипційні фактори SPL залучені у ростові процеси, наприклад, тимчасову регуляцію розвитку відростків. SPL14, також відомий як WEALTHY FARMERS PANICLE, який знижує кількість кущіння, але збільшує число колосків у рисі (Luo 2012).

## Короткий опис креслень

Деякі фігури містять кольорові зображення або об'єкти. Кольорові фотографії можуть бути отримані від патентовласника по запиту у відповідному патентному бюро. У разі отримання в патентному бюро, може бути запитана деяка плата.

На Фіг. 1 представлений графік, який показує взаємозв'язок між кількістю стебел на  $m^2$  і площею зеленої листової поверхні у період цвітіння в діапазоні NIL, які містять різні інтрогресії Stg.

На Фіг. 2 представлений графік, який показує взаємозв'язок між кількістю стебел на  $m^2$  і площею зеленої листової поверхні у період цвітіння для діапазону інтрогресій Stg у початковий RTx7000, вирощений при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/ $m^2$ ; HD = 20 рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 3 представлений графік, який показує гістограму очікуваних значень для стебел на одну рослину у популяції тонкого генетичного картування Stg1, усереднених за три сезони.

На Фіг. 4 показані зведені у таблицю дані про маркерний ген (BB/TT) для популяції тонкого генетичного картування Stg1. BB означає, що обидва алелі схожі із алелем батьком із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі із алелем старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Чорний і червоний колір шрифту для маркерних генів означає фактичний і передбачуваний статус маркерного гена, відповідно. Зелене і коричневе затінення зверху для генотипів означають фенотипи залишатися зеленим

(слабке кушіння) і старіючий (сильне кушіння), відповідно. Маркерні гени, виділені рожевим кольором, вказують на імовірне місцерозташування гена "слабкого кушіння".

На Фіг. 5 представлений графік, який показує гістограму стебел на одну рослину при 44 DAE для п'яти генотипів, вирощених при двох водних режимах. Генотипи включають RTx7000 (рекурентний батько), 6078-1 (донорський батько), і три на вибір із популяції тонкого генетичного картування Stg1. HWLD = надлишок води, низька щільність (10 рослин/м<sup>2</sup>). LWLD = нестача води, низька щільність (10 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 6 представлені зведені у таблицю дані про маркерний ген (BB/TT) для підвибірki із популяції тонкого генетичного картування Stg1. BB означає, що обидва алелі схожі на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі на алель старіючого батька, BT означає, що один алель схожий на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", інший схожий на алель старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Зелене і коричневе затінення зверху для генотипів означають фенотипи залишатися зеленим (слабке кушіння) і старіючий (сильне кушіння), відповідно. Маркерні гени, виділені рожевим кольором, вказують на імовірне місцерозташування гена "слабкого кушіння".

На Фіг. 7 представлений графік, який показує фенотипічну варіацію у популяції тонкого генетичного картування Stg1 для наявності T2.

На Фіг. 8 представлений графік, який показує фенотипічну варіацію у популяції тонкого генетичного картування Stg1 для наявності T3.

На Фіг. 9 представлені зведені у таблицю зображення, які показують гістограму наявності T2 для восьми рекомбінантних генів сильного кушіння і восьми - слабкого кушіння із популяції тонкого генетичного картування Stg1.

На Фіг. 10 представлені зведені у таблицю дані про маркерний ген (BB/TT) для популяції тонкого генетичного картування Stg1. BB означає, що обидва алелі схожі на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі на алель старіючого батька, BT означає, що один алель схожий на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", інший схожий на алель старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Чорний і червоний колір шрифту для маркерних генів означає фактичний і передбачуваний статуси маркерного гена, відповідно. Зелене і коричневе затінення зверху для генотипів означає фенотипи залишатися зеленим (слабке кушіння) і старіючий (сильне кушіння), відповідно. Маркерні гени, виділені рожевим кольором, вказують на імовірне місцерозташування гена "слабкого кушіння".

На Фіг. 11 представлена зведена у таблицю гістограма загальної кількості кушіння у однієї рослини для п'яти рекомбінантних генів сильного кушіння і трьох - слабкого кушіння із популяції тонкого генетичного картування Stg1. Значення 2,5 було вибрано як умовна межа між сильним і слабким кушінням.

На Фіг. 12 представлені зведені у таблицю дані про маркерний ген (BB/TT) для популяції тонкого генетичного картування Stg1. BB означає, що обидва алелі схожі на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі на алель старіючого батька, BT означає, що один алель схожий на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", інший схожий на алель старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Чорний і червоний колір шрифту для маркерних генів означають фактичний і передбачуваний статус маркерного гена, відповідно. Зелене і коричневе затінення зверху для генотипів означають фенотипи залишатися зеленим (слабке кушіння) і старіючий (сильне кушіння), відповідно. Маркерні гени, виділені рожевим кольором, вказують на імовірне місцерозташування гена "слабкого кушіння".

На Фіг. 13A-D представлені графіки, які показують розподіл листків за розміром на головному стеблі і гілках для RTx7000 і 6078-1 (Stg1 NIL), вирощених в лізіметрах в умовах високого і низького VPD.

На Фіг. 14 представлений графік, який показує розподіл листків за розміром на головних стеблах для RTx7000, 6078-1 (Stg1 NIL) і трьох рекомбінантних генів із популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в умовах обмеженого водопостачання і умовах високої щільності у полі (HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 15 представлені зведені у таблицю дані про маркерний ген (BB/TT) для популяції тонкого генетичного картування Stg1. BB означає, що обидва алелі схожі на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі на алель старіючого батька, BT означає, що один алель схожий на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", інший схожий на алель старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Чорний і червоний колір шрифту для маркерних генів означає фактичний і передбачуваний статус маркерного гена, відповідно. Зелене і коричневе затінення зверху для генотипів

означають фенотипи залишатися зеленим (невеликий листок) і старіючий (великий листок), відповідно. Маркерні гени, виділені рожевим кольором, вказують на імовірне місцезнаходження гена "невеликих листків".

На Фіг. 16 представлений графік, на якому показано розподіл листків за розміром (L1-6) для батьків популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в голку.

На Фіг. 17 представлений графік, на якому показано розподіл листків по довжині (L1-6) для батьків популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в голку.

На Фіг. 18 представлений графік, на якому показано розподіл листків по ширині (L1-6) для батьків популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в голку.

На Фіг. 19 представлений графік, на якому показано розподіл листків за розміром (l1-11) для батьків популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в голку.

На Фіг. 20 представлений графік, на якому показано розподіл листків по довжині (L1-10) для батьків популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в голку.

На Фіг. 21 представлена зведена у таблицю гістограма фенотипічної варіації для довжини L10 у підвибірці із популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощеної в голку.

На Фіг. 22 представлені зведені у таблицю дані про маркерний ген (BB/TT) для підвибірки із популяції тонкого генетичного картування Stg1. BB означає, що обидва алелі схожі на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі на алель старіючого батька, BT означає, що один алель схожий на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", інший схожий на алель старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Чорний і червоний колір шрифту для маркерних генів означає фактичний і передбачуваний статус маркерного гена, відповідно. Зелене і коричневе затінення зверху для генотипів означають фенотипи "залишатися зеленим" (короткий листок) і старіючий (довгий листок), відповідно. Маркерні гени, виділені рожевим кольором, вказують на імовірне місцезнаходження гена "невеликих листків".

На Фіг. 23 показане схематичне уявлення, яке показує імовірне місцезнаходження маркерного гена (рожеве затінення), що забезпечує фенотипи як "слабке кушіння", так і "невелике листя" в області Stg1.

На Фіг. 24 показана схема, яка показує, що підвищена доступність води у період цвітіння досягається через зниження споживання води завдяки двом механізмам (знижене кушіння і менші листки) у рослин, які містять область Stg1.

Фіг. 25 являє собою зведене у таблицю зображення, яке показує, що розмір крони модулюється як конститутивними, так і адаптивними відповідями, регульованими геном(ами) в області Stg1.

На Фіг. 26 представлений графік, який показує розподіл листків за розміром на головних стеблах для RTx7000, 6078-1 (Stg1 NIL) і трьох рекомбінантних генах із популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в умовах обмеженого водопостачання і умовах високої щільності в полі ( $HD = 20$  рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 27 представлений графік, який показує взаємозв'язок між площею листка 12 і загальною площею зеленої листової поверхні у період цвітіння для цих двох батьків (6078-1 і RTx7000) і трьох рекомбінантних генів із популяції тонкого генетичного картування Stg1.

На Фіг. 28 представлений графік, який показує взаємозв'язок між загальною площею зеленої листової поверхні (см<sup>2</sup>/м<sup>2</sup>) і водоспоживанням сільськогосподарської культури (мм) у період цвітіння для цих двох батьків (6078-1 і RTx7000) і трьох рекомбінантних генів із популяції тонкого генетичного картування Stg1.

На Фіг. 29 представлений графік, який показує взаємозв'язок між зеленою листовою поверхнею і водоспоживанням (Т) у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000) у дослідженнях із лізіметрами при двох рівнях VPD.

На Фіг. 30 представлений графік, який показує гістограму фенотипічної варіації для "співвідношення корінь:паростки" при L6 у популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощених в голку.

На Фіг. 31 представлений графік, який показує часовий патерн кумулятивного водоспоживання сільськогосподарської культури для RTx7000 і Stg1, вирощеної в умовах дефіциту води і малої щільності (20 рослин/м<sup>2</sup>). Вертикальні лінії відмічають період цвітіння.

На Фіг. 32 представлений графік, який показує взаємозв'язок між довжиною (мм) і зеленістю (SPAD) листка 10 у популяції тонкого генетичного картування Stg1, вирощеного в голку.

На Фіг. 33 представлений графік, який показує взаємозв'язок між зеленістю листка (SPAD) і фотосинтезом листка у підвибірці ліній із популяції тонкого генетичного картування Stg1, включаючи батьків.

На Фіг. 34 представлений графік, який показує взаємозв'язок між зеленістю листка (SPAD) і WUE (Licor) у підвибірці ліній із популяції тонкого генетичного картування Stg1, включаючи батьків.

На Фіг. 35 представлений графік, який показує взаємозв'язок між зеленістю листка (SPAD) і WUE (Licor) у чотирьох Stg Nils (Stg1, Stg2, Stg3 і Stg4) і рекурентному батьку (RTx7000).

На Фіг. 36 представлений графік, який показує взаємозв'язок між транспірацією на одиницю листової поверхні і площею ефективної транспірації у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000) у дослідженнях із лізиметрами при двох рівнях VPD.

На Фіг. 37 представлений графік, який показує взаємозв'язок між CWU (мм) до і після періоду цвітіння у підвибірці ліній із популяції тонкого генетичного картування Stg1, включаючи батьків, вирощених в умовах високої щільності (HD) і низької щільності (LD).

Фіг. 38A і B є графіками, які показують патерни кумулятивного водоспоживання для Stg1 і RTx7000, вирощених в умовах LWHD.

На Фіг. 39 представлений графік, який показує взаємозв'язок між CWU (мм) до і після періоду цвітіння у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах дефіциту води (LW) і умовах низької щільності (LD).

На Фіг. 40 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і PAB у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 41 представлений графік, який показує взаємозв'язок між GLAA і PPBR у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 42 представлений графік, який показує взаємозв'язок між GLAA і PASB у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 43 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і PAB у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 44 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і PASM у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 45 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і урожаєм зерна у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 46 представлено зведене у таблицю зображення, яке показує дані про маркерний ген (BB/TT) для RTx7000 (рекурентний батько), 6078-1 (NIL, що містить повну область Stg1), 10709-5 (NIL, що містить нижню 1/3 області Stg1), 10604-5 (NIL, що містить верхню 3/4 області Stg1) і 10568-2 (NIL, що містить верхню 1/2 області Stg1). BB означає, що обидва алелі схожі на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", TT означає, що обидва алелі схожі на алель старіючого батька, BT означає, що один алель схожий на алель батька із ознакою "залишатися зеленим", інший схожий на алель старіючого батька, х означає відсутність доступних даних про маркерний ген. Чорний і червоний колір шрифту для маркерних генів означає фактичний і передбачуваний статус маркерного гена, відповідно.

На Фіг. 47 представлений графік, який показує взаємозв'язок між RWC на середині стадії наливання зерна (FL-2) і відносною швидкістю старіння листка в різних комбінаціях Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 48 представлений графік, який показує взаємозв'язок між відносною швидкістю старіння листка і площею зеленої листової поверхні при зрілості в різних Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 49 представлений графік, який показує взаємозв'язок між відносним вмістом води (RWC) на середині стадії наливання зерна (FL-2) і стовбуровою масою при зрілості в різних комбінаціях Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (LD = 10 рослин/м<sup>2</sup>; HD = 20 рослин/м<sup>2</sup>).

На Фіг. 50 представлений графік, який показує взаємозв'язок між біомасою стебла у період після цвітіння і біомасою у період після цвітіння в різних комбінаціях Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях

сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ) в експерименті, вирощеному в 2004.

На Фіг. 51 представлений графік, який показує взаємозв'язок між біомасою стебла у період після цвітіння і урожаєм зерна в різних комбінаціях Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ) в експерименті, вирощеному в 2004.

На Фіг. 52 представлений графік, який показує взаємозв'язок між масою стебла у період після цвітіння (PASM) і біомасою у період після цвітіння (PAB) у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ) в експерименті, вирощеному в 2005.

На Фіг. 53 представлений графік, який показує взаємозв'язок між масою стебла у період після цвітіння (PASM) і урожаєм зерна у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ) в експерименті, вирощеному в 2005.

На Фіг. 54 представлений графік, який показує взаємозв'язок між масою стебла у період після цвітіння (PASM) і біомасою у період після цвітіння (PAB) в різних лініях тонкого генетичного картування Stg1 і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ) в експерименті, вирощеному в 2006.

На Фіг. 55 представлений графік, який показує взаємозв'язок між відносним вмістом води (RWC) на середині стадії наливання зерна (FL-2) і урожаєм зерна в різних комбінаціях Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ) в експерименті, вирощеному в 2004.

На Фіг. 56 представлений графік, який показує взаємозв'язок між водним потенціалом листка (LWP) FL-2 в середині наливання зерна (бари) і урожаєм зерна ( $г/м^2$ ) в Stg1 QTL (6078-1) і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 57 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і CWU під час наливання зерна у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 58 представлений графік, який показує взаємозв'язок між CWU під час наливання зерна (мм) і урожаєм зерна ( $г/м^2$ ) у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 59 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і урожаєм зерна у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 60 представлений графік, який показує взаємозв'язок між CWU під час наливання зерна (мм) і зернистістю (мг) у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 61 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і зернистістю у чотирьох Stg QTL і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 62 представлений графік, який показує взаємозв'язок між PPBR і CWU під час наливання зерна в різних лініях тонкого генетичного картування Stg1 і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 63 представлений графік, який показує взаємозв'язок між CWU під час наливання зерна (мм) і урожаєм зерна ( $г/м^2$ ) в різних лініях тонкого генетичного картування Stg1 і рекурентному батьку (RTx7000), вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури ( $LD = 10$  рослин/ $m^2$ ;  $HD = 20$  рослин/ $m^2$ ).

На Фіг. 64A-C представлені графіки, які показують результати запуску симуляції моделі сільськогосподарської культури сорго із застосуванням генетичного сорту Buster із звичайними 2 пагонами/рослина (HT) проти Buster тільки із 1 пагоном/рослина (LT) в добре зволоженій (WW)



і гранично стресовій (TS) віртуальному середовищі. Для обох віртуальних середовищ вибирали наступні параметри: щільність посадки 5 рослин/м<sup>2</sup> із відстанню між рядами 1 м; глибина ґрунту = 1800 мм; ґрунт PAWC = 324 мм; N необмежений. На Фіг. 64A показаний модельований індекс площі листової поверхні (LAI) від часу (через 0-120 днів після посіву). Фіг. 64B показує модельовану екстраговану ґрунтову воду (EWS) від часу (через 0-120 днів після посіву). Фіг. 64C показує модельовану біомасу і урожай зерна (кг/га) від часу (через 0-120 днів після посіву).

Фіг. 65 являє собою схематичне зображення, яке показує порівняння PIN, SPL і ортологів CCD7/8, вирівняних по QTL відносно хромосом 1-5 сорго "залишатися зеленим".

Фіг. 66 представляє схематичне зображення, яке показує порівняння PIN, SPL і ортологів CCD7/8, вирівняних по QTL відносно хромосом сорго 6-10 "залишатися зеленим".

На Фіг. 67A представлений графік диференційної експресії SbPIN4 (кандидат Stg1) в умовах хорошого зволоження. В умовах хорошого зволоження цей ген знижуючи регулюється в молодих кореневих кінчиках Tx642 і NIL Stg1 в порівнянні із Tx7000.

На Фіг. 67B представлений графік диференційної експресії SbPIN4 (кандидат Stg1) в умовах дефіциту води. В умовах дефіциту води цей ген підвищуючи регулюється у більшості тканин, а особливо у набухаючому листку Tx642 і NIL Stg1, у порівнянні із Tx7000.

На Фіг. 67C представлений графік диференційної експресії SbPIN2 (кандидат Stg2) в умовах хорошого зволоження. В умовах хорошого зволоження цей ген злегка підвищуючи регулюється в стеблі і тканинах кореня Tx642 і NIL Stg1 у порівнянні із Tx7000.

На Фіг. 67D представлений графік диференційної експресії SbPIN2 (кандидат Stg2) в умовах дефіциту води. В умовах дефіциту води цей ген підвищуючи регулюється у більшості тканин Tx642 і NIL Stg1 у порівнянні із Tx7000.

Фіг. 68 є схематичним зображенням мережі генів, ідентифікованих в Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b і Stg4, і впливу, який пропонується, на фенотип "залишатися зеленим".

Докладний опис винаходу

У даному описі, якщо контекст не передбачає інакше, слова "включають" або такі варіації як "включає" або "включаючи", необхідно розуміти як такі, що мають на увазі включення певного елемента або цілого об'єкта, або стадії способу, або групи елементів, або цілих об'єктів, або стадій способу, але не виключення будь-якого іншого елемента або цілого об'єкта, або стадії способу, або групи елементів, або стадій способу, або цілих об'єктів.

Як використовується у даному описі, невизначені і певні форми однини включають множинні аспекти, якщо контекст ясно не диктує інакше. Таким чином, наприклад, посилання на "локус" включає єдиний локус, так само як два або більше локусів; посилання на "ауксин" включає єдиний ауксин, так само як два або більше ауксинів; посилання на "розкриття" включає один і множину аспектів, які описуються у даному розкритті. Аспекти, наведені, описані і/або які патентуються у даному описі охоплені терміном "винахід". Всі аспекти, наведені у даному описі, допускаються в межах обсягу опису і його формули винаходу.

Дане розкриття описує локуси, асоційовані із і сприяючі фенотипу "залишатися зеленим" у сільськогосподарської культури, включаючи рослини зернових злаків. Локуси генетично називають StgX, де X є цифрою від 1 і більше, відповідаючи генетичному локусу або області генетичного локусу на конкретній хромосомі в рослині зернового злака. Підобласть називають StgXm, де m є буквеним позначенням області в межах StgX. Рівень і/або місце експресії локусу StgX, як наводиться у даному описі, сприяють утворенню фізіологічної і генетичної мережі, яка індукуює або посилює зсув у споживанні води сільськогосподарськими рослинами на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, таким чином, збільшуючи індекс збору урожаю (HI) і урожай зерна в умовах обмеженого водопостачання. "Експресія" StgX включає підвищуючу регуляцію або знижувальну регуляцію рівня експресії, так само як селекцію поліморфного варіанта, який експресується на більш високому рівні або який кодує більш активний або ефективний продукт. Приклад "фізіологічної мережі" включає архітектуру покриву листків, яка індукуює або посилює зсув у споживанні води сільськогосподарськими рослинами на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, таким чином, збільшуючи індекс збору урожаю (HI) і урожай зерна в умовах обмеженого водопостачання. Локус може самостійно надавати цей фенотип або його функціональний еквівалент, такий як кДНК, яка кодує білок, який кодується локусом. Отже, контроль фенотипу "залишатися зеленим" може бути здійснений технологіями генної інженерії рекомбінантної ДНК, розмноженням і селекцією, так само як хімічним, радіоактивним або генетичним мутагенезом із подальшою селекцією.

У одному із варіантів здійснення X являє собою 1, і область являє собою Stg1 на хромосомі 3 між маркерними генами tpx581 і tpx38 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. У

іншому варіанті здійснення X являє собою 2, і область являє собою Stg2 на хромосомі 3 між маркерними генами tpx530 і tpx31 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. У ще одному варіанті здійснення X являє собою 3, і область являє собою Stg3, розділену на Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) і Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179) сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. У все ще іншому варіанті здійснення, X являє собою 4, і область являє собою Stg4 на хромосомі 5 між маркерними генами tpx583 і tpx15 сорго, або його еквівалент у геномі іншої рослини. Ці маркерні гени або суміжні маркерні гени або прилягаючі до них, також є корисними в програмах розведення для отримання рослин, які демонструють фенотип "залишатися зеленим" у сорго або інших рослин.

Відповідно, у даному описі представлений спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину агента, який вибраний із списку, що складається із: (i) генетичного агента, який містить один або більше локусів, розташовану в області, вибраній із Stg1 на хромосомі 3 між tpx581 і tpx38; Stg2 на хромосомі 3 між tpx530 і tpx31; Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568); Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179); і Stg4 на хромосомі 5 між tpx283 і tpx15 сорго або його еквівалента в іншій рослині, рівень експресії якого, асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання; і (ii) агента, який підвищуючи регулює або знижуючи регулює природжену форму локусу або локусів.

У одному із варіантів здійснення області StgX визначені таким чином, Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx563 і tpx581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів. Ці маркерні гени або суміжні маркерні гени, або які прилягають, також є корисними в програмах розведення для отримання рослин, які демонструють фенотип "залишатися зеленим" у сорго або інших рослинах.

Відповідно, допущений у даному описі спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину засобу, вибраного із списку, який складається із Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx581 і tpx580, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів; сорго або його еквівалент в іншій рослині, рівень експресії якого асоційований із або сприяє фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання; і агент, який підвищуючи регулює або знижуючи регулює природжену форму локусу або локусів.

Відповідно, наведений у даному описі спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину, засобу, вибраного із списку, який складається із локусу, вибраного із таблиці 1B сорго, або його еквівалента в іншій рослині, рівень експресії якого, асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання; і агента, який підвищуючи регулює або знижуючи регулює природжену форму локусу або локусів.

Відповідно, наведений у даному описі спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину, засобу, вибраного із списку, який складається із локусу, вибраного із таблиці 1А сорго, або його еквівалента в іншій  
 5 рослині, рівень експресії якого асоційований із або сприяє виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання; і агента, який підвищуючи регулює або знижуючи  
 10 регулює природжену форму локусу або локусів.

Не маючи наміру обмежувати даний опис якою-небудь теорією або механізмом дії, рівень експресії StgX окремо або в комбінації із дією генетичної або фізіологічної мережі змінює архітектуру рослини, включаючи архітектуру покриву листків, посилюючи або інакше підтримуючи ефективне споживання води. У одному аспекті модифікована архітектура є  
 15 зміненою архітектурою покриву листків.

Термін "потомство" включає безпосереднє потомство, так само як віддалені близькі форми рослини, якщо вони стійко експресують ознаку StgX, введений на початку першому батькові.

Посилання на "сільськогосподарську рослину" включає рослину зернового злака. Сільськогосподарські рослини, які допускаються у даному описі, включають сорго, пшеницю, овес, кукурудзу, ячмінь, жито і рис, абаку, люцерну, мигдаль, яблуню, спаржу, банан, квасолю,   
 20 ожину, кормові боби, канолу, кеш'ю, касава, нут, цитрусові, кокосовий горіх, кофе, кукурудзу, бавовник, фігу, льон, виноград, земляний горіх, гашиш, кенаф, лаванду, тапо, гриб, маслину, цибулю, горох, арахіс, грушу, американське просо, картоплю, рамі, рапс, плевел, сою, полуниці, цукровий буряк, цукрову тростину, соняшник, батат, колоказію, чай, тютюн, томат, тритикале, трюфель і ям. У одному прикладі механізми стійкості до засухи у сорго застосовані для підтримки стійкості до засухи у сорго, так само як у інших сільськогосподарських рослин. У  
 25 одному прикладі генетично модифікована рослина більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів. "Генетично модифікована рослина" може бути отримана технологією рекомбінантної ДНК, селекцією за допомогою протоколу розмноження і/або селекцією після мутагенезу.

"Стійкість до засухи" включає уникнення засухи, адаптацію до засухи, засухостійкість, зниження чутливості до посушливих умов, відсутність чутливості до засухи, підвищену ефективність водоспоживання так само як здатність зрушувати споживання води на період після цвітіння або збільшувати доступність води під час росту сільськогосподарської культури або підвищувати ефективність транспірації, таким чином, збільшуючи HI і урожай зерна в  
 35 умовах обмеженого водопостачання. Рослини, які демонструють стійкість до засухи, описані як "рослини, адаптовані до засухи" або "рослини, які демонструють, зниження чутливості до умов обмеженого водопостачання". У даному описі пояснюється, що стійкість до засухи індукується, підвищується або інакше асоціюється із фенотипом "залишатися зеленим".

"Генетично модифікований" відносно рослини включає спочатку отриману генетично модифіковану рослину так само як будь-яке потомство, пряме або віддалене, які стійко експресує ознака "залишатися зеленим". Отже, дане розкриття надає обидві класичні методики розмноження для введення генетичного агента, тобто локусу "залишатися зеленим" або локусів або їх функціональних еквівалентів, таких як кДНК або геномний фрагмент або агент, який змінює експресію локусу або білка, який кодується ним, таким чином, так само як технологія  
 45 генної інженерії. Останнє охоплене термінами "засоби генної інженерії" і "рекомбінантні засоби". Маркерні гени, які визначають StgX, можуть також бути скриновані під час протоколів розмноження для спостереження за передачею специфічних генетичних областей. Крім того, специфічний StgX або StgX область можуть бути генетично вставлені рекомбінантними засобами в рослинну клітину або каліус рослини і відновлений сіянець. "Генетично модифікована" рослина включає батька або будь-яке потомство так само як будь-які продукти рослини, такі як зерно, насіння, пророщуваний матеріал, пилок і яйцеклітини. Визначальні області StgX у сорго розташовані в Stg1 на хромосомі 3 між tpx581 і tpx38; Stg2 на хромосомі 3 між tpx530 і tpx31; Stg3 розділений на Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) і Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179) і Stg4 на хромосомі 5 між tpx283 і tpx15. Зокрема, визначальні області StgX у сорго розташовані в Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx563 і tpx581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся  
 50  
 55  
 60

область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів. Дане розкриття поширюється на еквівалентні області або еквівалентні локуси, розташовані у цих областях в рослинах, відмінних від сорго.

Посилання на "фенотип залишатися зеленим" включає характеристики, вибрані із підвищеної пластичності архітектури крони, зменшеного розміру крони, посиленої біомаси на одиницю листової поверхні одиниці у період цвітіння, більш високої ефективності транспірації, підвищеного споживання води під час наливання зерна, підвищеного водного статусу рослини під час наливання зерна, зниженого співвідношення біомаси у період до/після цвітіння, відстроченого старіння, збільшеного урожаю зерна, більшого розміру зерен і зниженого вилягання.

"StgX" включає QTL в Stg 1, 2, 3 (включаючи Stg3a і Stg3b), 4 і т. д. які представляють специфічний локус або групу, або область локусів, пов'язаних із адаптацією до засухи. У одному варіанті здійснення StgX являє собою Stg1, розташованим на хромосомі 3 між маркерними генами tpx581 і tpx38 сорго. У іншому варіанті здійснення StgX являє собою Stg2, розташованим на хромосомі 3 між маркерними генами tpx530 і tpx31 сорго. У все ще іншому варіанті здійснення StgX являє собою Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) або Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179) сорго. У ще одному варіанті здійснення Stg являє собою Stg4, розташованим на хромосомі 5 між маркерними генами tpx283 і tpx15 сорго. У певному варіанті здійснення Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx563 і tpx581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: Область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів. StgX, розглянутий для застосування у даному описі, може бути ізолюваним природним генетичним елементом, або специфічна варіація може бути штучним чином індукована або отримана за допомогою класичної або рекомбінантної практики розмноження. Наприклад, специфічний поліморфний варіант може приводити у результаті до високих рівнів експресії або давати продукт із більш стійкою експресією або продукт, який є більш або менш плейотропним в межах генетичної або фізіологічної мережі. Посилання на StgX включає кДНК, яка кодує продукт, так само як геномний локус або область, яка може включати або не включати область промотора, 5' і 3' області, які не транскрибуються, інтрони, екзони і т. п. "кДНК" є прикладом функціонального еквівалента StgX.

Даний винахід додатково описує маркерні гени для фенотипу "залишатися зеленим" для застосування у програмах розведення для засухостійких рослин, маркерні гени, які містять локус кількісної ознаки (QTL), ознака залишатися зеленим X (StgX), у якому X є цифрою, відповідною місцю на хромосомі у рослині сорго, або його еквівалент в іншій рослині, який кодує продукт, асоційований із або сприяючий виявленню фенотипу "залишатися зеленим", де фенотип включає в себе зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання. Приклади придатних маркерних генів включають Stg1 на хромосомі 3 між tpx581 і tpx38; Stg2 на хромосомі 3 між tpx530 і tpx31; Stg3, розділений на Stg3a (область між tpx298 і sPb-2568) і Stg3b (область між sPb-2568 і tpx179) і Stg4 на хромосомі 5 між tpx283 і tpx15. Ці маркерні гени взяті на основі геному сорго, але поширюються на еквіваленти у геномі іншої рослини. Приклади придатних маркерних генів включають Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx563 і tpx581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів.

Приклади придатних маркерних генів включають локус, наведений в таблицях 1A-1C.

Приклади придатних маркерних генів включають локус, наведений у таблиці 1B.

Отже, ряд біомаркерів допускається даним описом, включаючи від tpx581 до tpx38 на хромосомі 3 у сорго; від tpx530 до tpx31 на хромосомі 3 у сорго; tpx298 - sPb-2568 і sPb-2568 - tpx179 на хромосомі 2 у сорго; і tpx283 - tpx15 на хромосомі 5 у сорго, або їх еквівалент у геномі

іншої рослини. Ряд біомаркерів додатково допускається даним описом, включаючи наступні Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx563 і tpx581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів. Додатково наведений ряд біомаркерів, як перераховано у таблиці 1B. Такі маркерні гени є корисними в протоколах розмноження, розроблених для отримання рослин, які демонструють фенотип "залишатися зеленим". Альтернативно, маркерні гени, суміжні або які прилягають до цих областей, можуть бути застосовані в протоколі розмноження.

Дане розкриття описує застосування генетичного матеріалу, відповідного StgX, або генетичного матеріалу, який змінює експресію природженого локусу StgX, або його генетичного еквівалента, щоб посилити фенотип "залишатися зеленим". "Природжений" локус означає локус, який присутній у батьківській рослині до розмноження, рекомбінантного втручання або мутагенезу. "Змінює" включає "модулює".

Дане розкриття дозволяє отримувати рослини, генетично модифіковані згідно із способами, наведеними у даному описі, так само як насіння, плоди, квіти і інші репродуктивні або інші органи розмноження. Дане розкриття також описує застосування кореневища і пророщування кореневища. Це засноване на тій передумові, що насіння, плоди, квіти, репродуктивні і пророщувані органи ті ж або можуть передавати фенотип "залишатися зеленим", введений у первинного батька(ів).

Посилання на "агент, який підвищує регулює StgX", включає прискорювачів, мікроРНК, гени і хімічні сполуки, які сприяють підвищенню експресії StgX або підвищенню активності продукту StgX. Агент також може бути інтроном геномного StgX, який є частиною природної генетичної мережі, щоб посилювати експресію. Агент може також бути функціональним еквівалентом StgX (або QTL), таким як кДНК.

У одному варіанті здійснення StgX кодує локус, вибраний із Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b і Stg4, як перераховано у таблиці 1B (і таблиці 1A). Взаємодія деяких із цих локусів у різних мережових шляхах, показані на Фіг. 68.

У одному варіанті здійснення StgX кодує локус, вибраний із Stg1, Stg2, Stg3a, Stg3b і Stg4, як перераховано у таблиці 1B (і таблиці 1C).

У одному варіанті здійснення StgX кодує білок PIN.

Білок PIN створює градієнт ауксину у клітинах і містить трансмембранний домен і, головним чином, локалізується у плазматичній мембрані. Білки PIN є обмежуючими факторами швидкості транспорту ауксину і забезпечують векторний напрям для потоків ауксину. У даному описі пояснюється, що StgX кодує білок PIN. Введення StgX de novo у рослину або підвищення його експресії або експресії його гомолога або ортолога сприяє виявленню однієї або більше ознак або субознак, асоційованих із фенотипом "залишатися зеленим".

Як указано вище, білки PIN є носіями виділення ауксину, опосередковано через які відбувається полярний транспорт ауксину (PAT) від клітини до клітини в протилежність транспорту ауксину через ксилему (Rashotte et al. (2000) Plant Cell 13:1683-1697; Friml et al. (2003) Current Opinion in Plant Biology 6:7-12). Термін 'PIN' відбувається від PIN-подібної флуоресценції, яка утворюється у Arabidopsis, коли транспорт ауксину має дефект. Відома множина білків PIN (див. Forestan and Varotto (2009) Plant Physiology; and Wang et al. (2009) supra). Дане розкриття описує SbPINn, де n є цифрою від 1 до 11 (Таблиця 1A). Однак поточне розкриття описує еквівалентні або гомологічні PIN із інших рослин.

Як пояснюється у даному описі, в одному варіанті здійснення SbPIN2 (компонент носія, із виділенням ауксину 2 для сорго зернового) знаходиться в Stg2 на хромосомі 3, тонко картований в області між маркерними генами tpx512 і tpx530, і SbPIN4 знаходиться в Stg1 на хромосомі 3, тонко картований в області між маркерними генами tpx563 і tpx 442, і є відповідальними за ознаку "залишатися зеленим" у сорго, приводячи в результаті до діапазону фенотипів, які надають ознаки адаптації до засухи через збільшене споживання води у період цвітіння (завдяки зниженню кущіння і меншому розміру листків), підвищену доступність води (завдяки розширенню співвідношення корінь:пагін), підвищену ефективність транспірації в умовах помірного дефіциту води (завдяки більш високій концентрації азоту у листках), збільшену біомасу на одиницю листової поверхні в умовах граничного дефіциту води (завдяки підвищеній транспірації на одиницю листової поверхні) і збільшений урожай зерна, розмір зерна і стійкість до вилягання. Посилання на tpx маркерні гени у сорго поширюється на

еквівалентні маркерні гени у геномі інших рослин. SbPIN4 відповідає OsPIN5, і SbPIN2 відповідає OsPIN3a. Термін "Os" стосується рису (посилання на таблицю 1A).

Іншим аспектом, наведеним у даному описі, є спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину одного або більше локусів їх функціонального еквівалента або агента, який модулює експресію природженого або одного або більше локусів, де рівень експресії одного або більше локусів викликають зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу, вибраного із списку, наданого у таблиці 1B, або молекули, яка модулює експресію природженого локусу.

Дане розкриття додатково описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локус або кДНК, яка кодує білок PIN або молекулу, яка модулює експресію природженого локусу PIN. Приклади PIN включають SbPIN4 і SbPIN2 і інші SbPIN, перераховані у таблиці 1A, так само як їх еквіваленти в інших рослинах.

У даному розкритті пояснюється, що SbPIN4 і SbPIN2 у сорго є головними генами адаптації до засухи, які тонко картовані у багаторазових дослідженнях в області між маркерними генами *txp536* і *txp442* на хромосомі 3 (*Stg1*) і області між маркерними генами *txp512* і *txp530* на хромосомі 3 (*Stg2*). Відмінності в передачі сигналів ауксину пояснюють всі численні фенотипи, які спостерігаються у рослин, які містять SbPIN4 або 2. Другим геном є SbPIN5. Фенотипи, які виявляються рослинами із SbPIN4 і SbPIN2, пояснюються безпосередньо змінами у виділенні ауксину і включають знижене кушіння, менший розмір листків (і в довжину, і в ширину), знижену масу листків і збільшене співвідношення корінь:паростки. Фенотипи, які виявляються рослинами із SbPIN4 і SbPIN2, можуть також бути пояснені непрямо (або як емергентні наслідки цих прямих ефектів) і включають підвищену доступність води у період цвітіння, більш високу концентрацію N у період цвітіння, підвищені транспірацію і біомасу на одиницю листової поверхні, більш високу ефективність транспірації, підтримка площі зеленої листової поверхні під час наливання зерна, збільшений індекс збору урожаю, більш високий урожай зерна, більш великі зерна і підвищену стійкість до вилягання. Даний опис допускає те, що SbPIN4 або 2 діють окремо або разом в інших основних злаках і видах сільськогосподарських культур, посилюючи адаптацію до засухи в місцях по всьому світу, де вода обмежує ріст сільськогосподарської культури у період після цвітіння.

Відповідно до пояснень в даній специфікації, рівень експресії *StgX*, такого як *Stg1*, *Stg2*, *Stg3a*, *Stg3b* і/або *Stg4* (як визначено у таблиці 1B), (*SbPIN4*) і/або *Stg2* (*SbPIN2*) [див. таблицю 1A] у всій або певній рослинній тканині, надає або надають адаптацію до засухи як безпосередньо, так і непрямо, зрештою, приводячи до більш високого урожаю зерна, більш великому розміру зерен і стійкості до вилягання в умовах обмеженого водопостачання.

Відповідно до пояснень в даній специфікації, рівень експресії *StgX*, такого як *Stg1* (*SbPIN4*) і/або *Stg2* (*SbPIN2*), у всій або певній рослинній тканині надає або надають адаптацію до засухи, як безпосередньо, так і непрямо, зрештою, приводячи до більш високого урожаю зерна, більш великому розміру зерен, і стійкості до вилягання в умовах обмеженого водопостачання. Цей аспект поширюється на OsPIN5, який відповідає SbPIN4, і OsPIN3a, який відповідає SbPIN2.

Інші білки PIN, наведені у даному описі, включають перераховані у таблиці 1A і їх еквіваленти в інших рослинах.

У ще одному варіанті здійснення *StgX* кодує *Spl* (білок *Squamosa* промотор-зв'язувального подібного білка), такий як, але не обмежений ним, *Spl14*.

*Spl* регулює кушіння відростків і більш високий урожай зерен (див. Jiao et al. (2010) supra; Miura et al. (2010) supra).

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує *CCD7/8*, або їх функціонального гомолога або ортолога або агента, який модулює рівень експресії природженого *CCD7/8*, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту

сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, який включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує WFP, або їх функціонального гомолога або ортолога або агента, який модулює рівень експресії природженого WFP, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує Spl, або їх функціонального гомолога або ортолога або агента, який модулює рівень експресії природженого Spl, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У іншому варіанті здійснення дане розкриття описує спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка більш ефективно використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де спосіб включає введення у рослину або у батьківську рослину локусу або кДНК, яка кодує CCD7/8, або їх функціонального гомолога або ортолога або агента, який модулює рівень експресії природженого CCD7/8, щоб викликати зсув у споживанні води на період після цвітіння або збільшення доступності води під час росту сільськогосподарської культури або підвищення ефективності транспірації, яка приводить до збільшення індексу збору урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання.

У одному варіанті здійснення рослини модифікують або отримують шляхом селекції, щоб змінити рівень експресії двох або більше із SbPIN1-11, IPA-1, WFP, Spl і/або CCD7/8. Тут включене два або більше SbPIN. "Два або більше" включає 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 і 11.

Підвищена доступність води у період цвітіння досягається через зниження споживання води завдяки двом механізмам (зниження кушіння і більш дрібне листя) у рослин, які містять області Stg1 або Stg2. Обидва механізми, індивідуально, судячи по всьому, зменшують розмір крони в середньому приблизно на 9%. Механізм "Слабкого кушіння" домінує в середовищах із низькою щільністю, де потенціал кушіння високий. Механізм "невеликого листка" домінує в середовищах із високою щільністю, де потенціал кушіння низький. Об'єднані, ці два механізми надають сільськогосподарські рослини із значною пластичністю для зміни архітектури крони у відповідь на тяжкість водного обмеження.

Ознака "залишатися зеленим" посилює пластичність архітектури крони через конститутивні і адаптивні відповіді. Розмір крони із Stg1 або Stg2 знижується приблизно на 5%, навіть коли вода не обмежена (конститутивна відповідь). Розмір крони додатково меншає (адаптивна відповідь) при помірній засусі (~10%) і при більш важкій засусі (~15%). Слабке кушіння є передусім конститутивною відповіддю. Невеликий розмір листка є і конститутивним і адаптивним відповіддю.

Крім того, у даному описі пропонується, що області Stg1 або Stg2 надають адаптацію до засухи шляхом зниження розміру крони (через зниження кушіння і менший розмір листків) і зниження водоспоживання сільськогосподарською культурою у період цвітіння. Це показане високою кореляцією ( $r^2=0,9$ ) між розміром крони і споживанням води сільськогосподарською культурою в дослідженнях із штучною засухою (укриття від дощу [ROS]) і лізіметрами.

Підвищена доступність води у період цвітіння може також бути досягнута через поліпшену досяжність води (більш легка екстрагованість води і більш глибокий або кращий латеральний розподіл коріння).

Ознака "залишатися зеленим" збільшує біомасу на одиницю листової поверхні у період цвітіння. Вважаючи, що маси коріння еквівалентні (або щонайменше не значно менше), ці відмінності можуть бути пояснені відмінностями в транспірації (T) на одиницю листової поверхні [LA] (T/LA) і/або ефективністю транспірації (TE). Дослідження із лізіметрами вказують на те, що збільшення в T/LA, а не TE, пояснює спостережувані збільшення біомаси на одиницю листової поверхні. Потрібно зазначити, що підвищена T/LA зустрічається тільки тоді, коли дефіцит води достатній для зниження листової поверхні. Коли дефіцит води був менш важким (тобто недостатнім для зниження листової поверхні), те T/LA знижувалося, приводячи у результаті до більш високої TE.

Більш висока TE в лініях StgX, таких як лінія Stg1 або лінія Stg2, також спостерігається при менш важкому дефіциті води. Запропоновано, що підвищена TE у результаті інтрогресії Stg1 або Stg2 відбуватися завдяки а) пропорційно більш високій фотосинтетичній здатності у порівнянні із продиговою провідністю, завдяки більш дрібним, більш тонким і більше зеленим листкам і/або б) зменшенню в транспірації при підтримці біомаси. Дослідження із лізіметрами вказують на те, що обидва із цих механізмів сприяють збільшенню TE в лініях Stg1 або Stg2, при цьому скороченням транспірації є основним механізмом.

Запропоновано, що зміни в транспірації на одиницю листової поверхні відбуваються завдяки а) кількості продихів, б) розміру відкриття продиху, с) зміні під час відкриття і закриття продиху відносно VPD і/або d) кількості клітин біля основи ворсинок (які впливають на граничний шар і T/LA). Інтрогресія Stg1, наприклад, в RTx7000 модифіковану анатомію листка шляхом збільшення кількості клітин оболонки, які оточують судинний пучок.

Відмінності у морфології листків очевидні між RTx7000 і Stg1 або Stg2. У цьому випадку, була більша кількість менших оболонок судинних пучків в Stg1 або Stg2. Крім того, було менше продихів, і більше клітин біля основи ворсинок на одиницю листової поверхні (листіків 7 і 10) в Stg1 або Stg2 у порівнянні із RTx7000.

Підвищене споживання води під час наливання зерна досягають через (i) підвищену доступність води у період цвітіння і (ii) поліпшену досяжність води (більш легка екстрагованість і більш глибоке або краще латеральне поширення коріння) під час наливання зерна.

Споживання води сільськогосподарською культурою (CWU) у період перед цвітінням негативно корелювало із CWU у період після цвітіння в експерименті із штучною засухою (укриття від дощу [ROS]). Загалом, 25%-е збільшення споживання води у період цвітіння (80 проти 60 мм) приводило до 25%-му збільшення урожаю зерна (400 проти 300 г/м<sup>2</sup>). Це перевело до 50 кг/га зерна на кожний додатковий мм доступної води.

Збільшене споживання води під час періоду наливання зерна продемонстрували Stg1 і Stg2 як при низькій, так і при високій густоті в експерименті із укриттям від дощу (ROS). Це було передусім завдяки (i) зниженому споживанню води у періоді цвітіння в умовах високої густоти, і (ii) поліпшеній доступності води під час наливання зерна при низькій густоті.

Як пояснено у даному описі, StgX, така як Stg1 або Stg2, надає адаптацію до засухи, будучи асоційованим із продукцією біомаси у період до і після цвітіння. Область Stg1 або Stg2, наприклад, знижує співвідношення біомас до:після періоду цвітіння до нижче критичного рівня, збільшуючи урожай зерна і стійкості до вилягання.

Відповідно до даного опису, рівень і місце експресії StgX, такий як Stg1, Stg2, Stg3 (включаючи Stg3a і Stg3b) і/або Stg4 (наприклад, як визначено у таблиці 1B), сприяють одному або більш наступних фенотипів:

(i) відстрочене старіння листка (ознака "залишатися зеленим"), більш високий урожай зерна і стійкість до вилягання є наслідками більш високого статусу води у рослини під час наливання зерна (через підвищене споживання води під час наливання зерна);

(ii) інтрогресія StgX в, наприклад, фон RTx7000 збільшує статус води у рослини у середині стадії наливання зерна, на що вказують а) більш високий відносний вміст води (RWC) і б) більш низький водний потенціал листка (LWP);

(iii) більш високий урожай зерна і більший розмір зерен є наслідками підвищеної доступності води під час наливання зерна;

(iv) більш високий урожай зерна, більший розмір зерен і підвищена стійкість до вилягання не є взаємовиключаючими (тобто, всі три ознаки представлені StgX);

(v) переваги у урожаї і розмірі зерна є відносно високими в умовах важкої граничної засухи, у порівнянні із умовами помірної граничної засухи;

(vi) сприятливий ефект від генів "залишатися зеленим" в, наприклад, фоні RTx7000 (інбредні) зустрічається у діапазоні урожаю 1-3 т/га (12-22%), із подальшим меншим, але все ще значним сприятливим ефектом у діапазоні урожаю 3-4 т/га (8-10%). Однак мала місце невелика втрата, пов'язана із цими областями (2-4%) при більш високих рівнях урожаю (5-8 т/га) через більш вологі умови. Зверніть увагу на те, що ці діапазони урожаю були б значно вище для гібридів. Оскільки середній урожай зерна сорго для гібридів в північному зерновому поясі становить приблизно 2,5 т/га, сприятливий ефект від генів "залишатися зеленим" повинен бути значним. Ніякого зниження урожаю зерна в більш вологих умовах (вода необмежена) через ознаку "залишатися зеленим" не спостерігали у гібридів;

(vii) інтрогресія StgX в, наприклад, RTx7000 також збільшує розмір зерен на 11%, в середньому, в умовах важкої граничної засухи. Не було ніякого впливу StgX QTL на розмір зерен в умовах помірної граничної засухи або у відсутність засухи; і



(viii) кожний із ключових механізмів StgX картується в певній області, вказуючи на те, що дія одного гена має множинні плейотропні ефекти.

У даному винаході додатково розглядається бізнес-модель для збільшення економічної вигоди від отримання сільськогосподарської культури. Згідно із цим варіантом здійснення, бізнес-модель, також наведена у даному описі, надана для збільшення економічної вигоди від урожаю сільськогосподарської культури, де модель включає отримання сільськогосподарських рослин, які містять вибрану ознаку StgX або підвищену або знижену ознаку StgX, що приводить до того, що отримують сільськогосподарську рослину із зсувом у водоспоживанні у цієї рослини на період після цвітіння, таким чином, збільшуючи HI і урожай зерна в умовах обмеженого водопостачання, отримання насіння із отриманої сільськогосподарської рослини і розподіл насіння між виробниками зерна для збільшення урожаю і прибутку.

У даному описі надана система вирощування рослини, з метою зниження залежності сільськогосподарської культури від води або іншим чином поліпшення ефективності споживання води і збільшення урожаю зерна або продукту. Система вирощування рослини включає отримання сільськогосподарської культури, адаптованої до засухи, включаючи рослини хлібних злаків, із застосуванням селекції і експресії локусу StgX або його функціонального еквівалента окремо або в комбінації із введенням інших корисних ознак, таких як розмір зерен, розмір кореня, солестійкість, стійкість до гербіцидів, стійкість до шкідників і т. п. Альтернативно або крім того, система вирощування рослини включає отримання рослини адаптованої до засухи і сільськогосподарські процедури, такі як зрошування, поживні підживлення, щільність сільськогосподарської культури і геометрія, боротьба із бур'янами, боротьба із комахами, аерація ґрунту, мінімальна обробки ґрунту, підведені грядки і т. п. Приклади StgX включають Stg1: область тонкого генетичного картування між txp563 і txp581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між txp440 і txp580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між txp580 і txp38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між txp512 і txp2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між txp31 і txp530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між txp298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і txp179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена txp283 і txp15, яка містить 306 анотованих генів. Приклади локусів в цих областях перераховані у таблиці 1B (і таблиці 1C). Приклади локусу StgX включають SbPIN1-11, IPA-1, WFP, Spl і CCD7/8 і їх еквіваленти в інших рослинах.

Дане розкриття описує засоби для виклику або посилення здатності до адаптації до засухи у рослини шляхом введення до ново одного або більше ознак фенотипу "залишатися зеленим" або підвищення експресії природженого одного або більше локусів StgX у рослини і/або селекційного відбору поліморфного варіанту StgX із поліпшеною або посиленою експресією або активністю продукту. Маніпуляції із фенотипом "залишатися зеленим" можуть бути проведені окремо або як частина інтегрованої системи вирощування рослини, яка може включати додаткову селекцію ознаки і/або поліпшені агрономічні технології. Сільськогосподарські культури, які отримуються, у результаті більш ефективно використовують воду і дають більш високий урожай зерна і мають більш великий розмір зерен.

Бізнес-модель розширяється до збору насіння із адаптованих до засухи або посиленних сільськогосподарських рослин для розподілу виробникам, щоб, зрештою, збільшити урожай зерна.

Дане розкриття додатково описує застосування генетичного агента, вибраного із (i) локусу StgX; (ii) функціонального еквівалента локусу StgX; і (iii) агента, який модулює експресію природженого локусу StgX при отриманні адаптованої до засухи рослини. "Функціональний еквівалент" включає кДНК.

Як пояснено у даному описі, локуси StgX ідентифіковані як такі, які кодують один або більше локусів, перерахованих у таблиці 1B, які при експресії або підвищуючій регуляції або понижувальній регуляції у всіх або вибраних тканинах рослини або коли специфічний поліморфний варіант будь-якого одного або більше із них, отриманий відбором при розмноженні або генною інженерією, підтримує фенотип "залишатися зеленим".

Як пояснено у даному описі, локуси StgX ідентифіковані як такі, які кодують один або більше із SbPIN1-11, IPA-1, WFP, SPL і/або CCD7/8, які при експресії або підвищуючій регуляції або понижувальній регуляції у всіх або вибраних тканинах рослини або коли специфічний поліморфний варіант будь-якого одного або більше із них, отриманий відбором при розмноженні або генною інженерією, підтримує фенотип "залишатися зеленим".

Генетично модифіковані рослини і їх потомство, яке демонструє ознаку "залишатися зеленим", також допускаються даним описом, так само як насіння, плоди і квіти і інші репродуктивні або пророщувані органи.

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg1, вибраній із PIN5, GID1L2, P45098A1, нечутливих до індол-3-ацетату і брасиностероїдів.

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg2 і є компонентом носія, який виділяє ауксин 3а (PIN3а).

5 У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg3а, вибраній із білка, подібного, білка, який відповідає за старіння листка (Sb02g023510), білка, подібного білка, який відповідає за старіння листка (Sb02g023520), RAMOSA1 C2H2 із доменом "цинкові пальці" білка фактора транскрипції (Sb02g024410), передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g024540), білка, схожого із білком, подібним білку, чутливого до дегідратації (Sb02g024670), схожого із транспортером глюкози (Sb02g024690), WRKY білка фактора транскрипції 76 (Sb02g024760), глутамінсинтазоподібного білка (Sb02g025100), білка, асоційованого із старінням DH (Sb02g025180), передбачуваної аланін амінотрансферази (Sb02g025480), білка, подібного ауксин-індукованому білку (Sb02g025610), білка, подібного ауксин-індукованому білку (Sb02g025620), передбачуваного білка із непарною відповіддю в дальній червоній області (Sb02g025670), білка, подібного (цитохром-Р450)-монооксигенази CYP92A1 (Sb02g025820), ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g025960), аспартатамінотрансферази (Sb02g026430), білка, подібного 8'-гідроксилази 3 абсцизинової кислоти (Sb02g026600), білка, схожого із етилен-зв'язувальним білком (Sb02g026630) і сімейства передбачуваних ауксин-індукованих білків (Sb02g027150).

20 У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg3b, вибраному із передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g027470), білка Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g028420), білка, подібного білку Os09g0505400 (OsPIN9) (Sb02g029210), білка Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g029300), білка, схожого із ауксин-індукованим білком (Sb02g029630).

25 У одному із варіантів здійснення локус знаходиться у Stg4, вибраному із рецептора брасиностероїду LRR (Sb05g006842), рецептора брасиностероїду LRR (Sb05g006860), передбачуваного білка із непарною відповіддю в дальній червоній області (Sb05g007130), цитохрому P450 84A1 (Sb05g007210), рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g007270), рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g007290), сахароза-фосфат синтази (Sb05g007310), аквапорину SIP1-1 (Sb05g007520), гіберелін 20 оксидази 2 (Sb05g008460), OslAA29 - ауксин-чутливого білка (Sb05g008510), OslAA29 - ауксин-чутливого білка (Sb05g008512), білок-рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g008610), білка, подібного амінотрансферазі, передбачуваного білка (Sb05g009410), індол-3-оцтової кислоти амід-похідної сполуки (Sb05g010310), індол-3-оцтової кислоти амід-похідної сполуки (Sb05g010320), індол-3-оцтової кислоти амід-похідної сполуки (Sb05g010326), цитохрому P450 86A2 (Sb05g010360), цитохрому P450 51, передбачуваного білка (Sb05g011296), цитохрому P450 51, передбачуваного білка (Sb05g011430), триацилгліцеролліпази, білка старіння листка, білка GO біосинтезу жасминової кислоти (Sb05g013160), білка регулятора росту, такого як (Sb05g015590), цитохрому P450 78A4 (Sb05g016750), білка, подібного білку із сімейства ABC-транспортерів, експресованого білка (Sb05g017120) і Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 19 (Sb05g017510).

#### Приклади

Аспекти, які наведені і надаються даним описом, додатково описані наступними необмежуваними прикладами.

#### Приклад 1

45 Ідентифікація гена StgX

Локус кількісної ознаки (QTL), який називається Stg1, який є прикладом StgX, ідентифікували як такий, що збільшує або поліпшує ефективність використання води рослинами сорго, Stg1 кодує у сорго зернове член сімейства компонентів носія, із виділенням ауксину 4, PIN4 (або SbPIN4).

50 Цей головний ген адаптації до засухи був тонко картований в багаторазових дослідженнях на 152 генному блоці між маркерними генами tpr563 і tpr442. Зміни у виділенні ауксину пояснюють всю множину фенотипів, які спостерігаються у рослин, які містять SbPIN4. Ген-кандидат (і промоторна область) секвенований у двох батьків популяції тонкого генетичного картування (RTx7000 і Tx642), щоб ідентифікувати одонуклеотидний поліморфізм. Визначення профілю експресії РНК у популяції тонкого генетичного картування Stg1 також проводили на підвиборці ліній, часів і органів. Фенотипи, які демонструються рослинами із SbPIN4, які можуть бути пояснені безпосередньо підвищеною доступністю ауксину, включають знижене кущіння, менші листки (і в довжину, і в ширину), знижену масу листка і збільшене співвідношення корінь:паростки. Фенотипи, які демонструються рослинами із SbPIN4, які могли бути пояснені непрямо (або як емергентні наслідки цих прямих ефектів), включають підвищену доступність

води у періоді цвітіння, більш високу концентрацію N у листках у періоді цвітіння, підвищену транспірацію і біомасу на одиницю листової поверхні, знижене співвідношення біомаси до: після періоду цвітіння, більш високу ефективність транспірації, підтримка площі зеленої листової поверхні під час наливання зерна, підвищений індекс збору урожаю, більш високий

урожаю зерна, більш великий розмір зерен і підвищену стійкість до вилягання. Запропоновано, що SbPIN4 діє в інших основних злакових рослинах і видах сільськогосподарських культур, посилюючи адаптацію до засухи у місцях по всьому світу, де вода обмежує ріст сільськогосподарської культури у період після цвітіння.

Stg1 (SbPIN4) надає адаптацію до засухи і безпосередньо, і непрямо, зрештою, приводячи до більш високого урожаю зерна, більш великому розміру зерен і стійкості до вилягання в умовах обмеженого водопостачання.

Інші області StgX визначені таким чином: Stg1: область тонкого генетичного картування між txp563 і txp581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між txp440 і txp580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати у хвості між txp580 і txp38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між txp512 і txp2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між txp31 і txp530, яка містить 241 ген, який анотується; Stg3a: вся область між txp298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і txp179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, обмежена txp283 і txp15, яка містить 306 анотованих генів.

Приклади локусів перераховані у таблицях 1B і 1C, і взаємодія деяких із цих генів в шляхах мережі показано на Фіг. 68.

Збільшена доступність води у період цвітіння досягається через зниження споживання води за допомогою двох механізмів (знижене кушіння і менші листки) у рослин, які містять область Stg1. Обидва механізми, індивідуально, судячи по всьому, знижують розмір крони у середньому приблизно на 9%. Механізм "слабке кушіння" домінує у середовищах із низькою щільністю, коли потенціал кушіння високий. Механізм "невеликого листка" домінує у середовищах високої густоти, коли потенціал кушіння низький. Об'єднані, ці два механізми надають злакам значну пластичність для зміни архітектури крони у відповідь на тяжкість водного обмеження.

Ознака "залишатися зеленим" посилює пластичність архітектури крони через засновницькі і адаптивні відповіді. Розмір крони із Stg1 знижується приблизно на 5%, навіть коли вода не обмежує (конститутивна реакція). Розмір крони додатково знижується (адаптивна реакція) при помірній засусі (~10%) і більш важкій засусі (~15%). Слабке кушіння є передусім конститутивною відповіддю. Невеликий розмір листка є і конститутивною і адаптивною відповіддю.

Існує зв'язок між зниженим розміром крони (через знижене кушіння і менші листки) і зниженим споживанням води сільськогосподарською культурою у період цвітіння. Є висока кореляція ( $r^2=0,9$ ) між розміром крони і споживанням води сільськогосподарською культурою у дослідженнях із ROS і лізіметрами.

Підвищена доступність води у періоді цвітіння також досягається через поліпшену досяжність води (більш легка екстракція води і більш глибоке і краще латеральне поширення коріння).

Ознака "залишатися зеленим" збільшує біомасу на одиницю листової поверхні у періоді цвітіння. Передбачаючи, що маси кореня еквівалентні (або щонайменше не значно менше), ці відмінності можуть бути пояснені відмінностями у транспірації на одиницю листової поверхні (T/LA) і/або ефективність транспірації (TE). Дослідження із лізіметрами вказують на те, що збільшення T/LA, а не TE, викликає збільшення біомаси, які спостерігаються, на одиницю листової поверхні. Потрібно зазначити, що збільшення T/LA зустрічалось тільки в умовах слабого VPD; T/LA фактично знижувалася в умовах сильного VPD, мабуть, як механізм збереження води.

Більш висока TE в лініях Stg1 також спостерігалася в умовах більш сильного VPD. Збільшення TE через інтрогресію Stg1 може відбуватися завдяки а) пропорційно більш високій фотосинтетичній здатності у порівнянні із продиговою провідністю, через більше дрібне, більше тонке і більше зелене листя і/або б) зменшенню в транспірації при одночасній підтримці біомаси. Дослідження із лізіметрами вказують на те, що обидва із цих механізмів сприяють підвищенню TE в лініях Stg1, при цьому основним механізмом є зниження транспірації.

Зміни в транспірації на одиницю листової поверхні можуть відбуватися завдяки а) кількості продихів, б) розміру продигового отвору, с) зміні часу відкриття і закриття продиху відносно VPD і/або d) кількості клітин біля основи ворсинок (які впливають на граничний шар і T/LA). Інтрогресія Stg1 в RTx7000 знижувала кількість продихів і збільшувала кількість клітин біля основи ворсинок на одиницю листової поверхні в листках 7 і 10; обидва механізми можуть зберігати воду, знижуючи T/LA.

Інтрогресія Stg1 в RTx7000 змінювала анатомію листка, збільшуючи кількість клітин оболонки, які оточують судинний пучок. Збільшена кількість клітин оболонки судинного пучка також могла сприяти збільшенню фотосинтетичної асиміляції і ТЕ.

Відмінності у морфології листків (наприклад, листки 7 і 10) очевидні між Tx7000 і Stg1. У цьому випадку, мали місце більша кількість і більш дрібні оболонки, які оточують судинний пучок, біля Stg1. Збільшена кількість клітин оболонки судинного пучка також могли сприяти збільшенню фотосинтетичної асиміляції і ТЕ.

Збільшене споживання води під час наливання зерна досягається через (i) підвищену доступність води у періоді цвітіння і (ii) поліпшену досяжність води (більш легка екстракція води і більш глибоке і краще латеральне поширення коріння) під час наливання зерна.

а) Підвищена доступність води у період цвітіння

Застосування води сільськогосподарською культурою (CWU) перед періодом цвітіння негативно корелювало із CWU після періоду цвітіння в експерименті із ROS. Загалом, 25%-е збільшення споживання води після періоду цвітіння (80 проти 60 мм) приводило до 25%-му збільшення урожаю зерна (400 проти 300 г/м<sup>2</sup>). Це переводиться в 50 кг/га зерна на кожний додатковий мм доступної води.

б) Підвищена доступність води під час наливання зерна

Збільшене споживання води під час періоду наливання зерна демонструвалося із Stg1, як в умовах із низькою, так і високою щільністю в експерименті із ROS. Це було передусім завдяки (i) зниженому споживанню води у період цвітіння в умовах високої густоти, і (ii) підвищеної доступності води під час наливання зерна при низькій густоті.

Область Stg1 надає адаптацію до засухи через зв'язок між продукцією біомаси у період до і після цвітіння. Область Stg1 знижує співвідношення біомас у періоді до:після цвітіння до нижче критичного рівня, збільшуючи урожай зерна і стійкість до вилягання.

Відстрочене старіння листка (ознака "залишатися зеленим"), більш високий урожай зерна і стійкість до вилягання є наслідками більш високого статусу води у рослини під час наливання зерна (через підвищене споживання води під час наливання зерна).

Інтрогресія Stg1 в початковий RTx7000 збільшувала статус води рослини в середині наливання зерна, як показано а) більш високим відносним вмістом води (RWC) і б) більш низьким водним потенціалом листка (LWP).

Більш високий урожай зерна і більший розмір зерен є наслідками підвищеної доступності води під час наливання зерна.

Більш високий урожай зерна, більший розмір зерен і підвищена стійкість до вилягання не є взаємовиключаючими (тобто, всі три ознаки демонструються Stg1).

Переваги в урожаї і розмірі зерен відносно вище в умовах важкої граничної засухи, ніж в умовах помірної граничної засухи.

Дослідження вказують на те, що найбільший сприятливий ефект від генів "залишатися зеленим" у початковий RTx7000 (нібрідні) зустрічається у діапазоні урожаю 1-3 т/га (12-22%), із подальшим меншим, але все ще значним, сприятливим ефектом у діапазоні урожаю 3-4 т/га (8-10%). Однак, була невелика втрата, асоційована із цими областями (2-4%) при більш високих рівнях урожаю (5-8 т/га) через більш вологі умови. Потрібно зазначити, що ці діапазони урожаю були б значно вище у гібридах. Оскільки середній урожай зерна сорго для гібридів в північному зерновому поясі становить приблизно 2,5 т/га, сприятливий ефект від генів "залишатися зеленим" повинен бути значним. Ніякого скорочення урожаю зерна в умовах більшого зволоження (вода не обмежує) через ознаку "залишатися зеленим" в гібридах не спостерігалось.

Інтрогресія Stg1 в RTx7000 також збільшила розмір зерен у середньому на 11% в умовах важкої граничної засухи. Не було ніякого впливу цього QTL на розмір зерен в умовах помірної граничної засухи або у відсутність засухи.

Кожний із ключових механізмів Stg1 картується в ту ж саму область, вказуючи на дію одного гена із множинними плейотропічними ефектами.

Приклад 2

Знижене кушіння (фізіологічні польові дослідження NIL)

Дані показують вплив Stg1 на кушіння і в умовах наводненості (HW) і в умовах нестачі води (LW). Відмінності у розвитку крони перед цвітінням були значною мірою наслідком відмінностей у кушінні серед ліній. Кількість стебел на м<sup>2</sup> у період цвітіння була найкращою загальною мірою ефекту кушіння на динаміку крони. Кількості стебел на м<sup>2</sup> були еквівалентні при обох водних режимах (12,89), вказуючи на те, що знижене кушіння є конститутивною ознакою. Генотипи розрізнялися значно ( $P < 0,001$ ) за цим параметром, в межах від 8,59 до 16,67. Однак, генотип і обробка не взаємодіяли значно для цього параметра.

Кількість стебел на м<sup>2</sup> аналізували з точки зору їх статусу Stg, і середні категорії представлені у таблиці 2. RTx7000 давав на 41% більше ( $P < 0,05$ ) стебел/м<sup>2</sup>, ніж B35 (14,07 проти 10,00). Інтрогресія однієї тільки області Stg1 в RTx7000 (6078-1) знижувала кількість стебел/м<sup>2</sup> значно ( $P < 0,05$ ) у порівнянні із RTx7000 (9,40 проти 14,07). У порівнянні із Stg1 окремо, додаткові інтрогресії і Stg2 і Stg4 збільшували кількість стебел до 10,49 (1,2 комбінації) і 10,74 (1,4 комбінації). Потрібно вказати на те, що ці три майже ізоляції, які не містять області Stg (2212-3, 2235-11 і 6120-16) також демонстрували сильне кушіння, еквівалентне Tх7000. Отже, повне ранжування кушіння в цих лініях може бути представлене як Stg1 < B35 < Stg4 < Stg2 < Stg3 < відсутність < RTx7000.

У періоді цвітіння кількість стебел високо корелювало ( $r^2=0,71$ ) із загальною площею зеленої листової поверхні (GLAA; Фіг. 1).

Таблиця 2

Stg статус	Кількість ліній	Стебел/м <sup>2</sup> A
Stg1 область		
1	1	9,40
1,2	2	10,49
1,4	1	10,74
RTx7000	7	14,07
LSD (0,05)		4,06

Кількість стебел на м<sup>2</sup> в рекурентному батьку (RTx7000) і різні лінії, які містять інтрогресії Stg1 QTL, як окремо, так і в комбінації із іншим Stg QTL.

Відмінності у зеленій листовій поверхні у період цвітіння (GLAA) з'являлися передусім через відмінності у зеленій листовій поверхні відростків у періоді цвітіння (GLAA<sub>t</sub>), оскільки GLAA<sub>t</sub> високо корелювала із GLAA ( $r^2=0,78$ ), проте, листкова поверхня головного стебла не корелювала.

Зелену листову поверхню відростків у період цвітіння аналізували із точки зору статусу Stg, і середні категорії представлені у таблиці 3. RTx7000 мав майже у вісім разів більше ( $P < 0,05$ ) GLAA<sub>t</sub>, ніж B35 (15460 проти 1980). Інтрогресія області Stg1 окремо в RTx7000 (6078-1) знижувала GLAA<sub>t</sub> значно ( $P < 0,05$ ) у порівнянні із RTx7000 (3121 проти 15460). У порівнянні із Stg1 окремо, додаткові інтрогресії або Stg2, або Stg4 збільшували GLAA<sub>t</sub> до 4187 (1,2 комбінації) і 4797 (1,4 комбінації). Всі лінії, які містять Stg1 (в будь-якій комбінації), достовірно відрізнялися ( $P < 0,05$ ) по GLAA<sub>t</sub> від Stg1 окремо. Потрібно вказати на те, що GLAA<sub>t</sub> у цих трьох майже ізоляціях, які містять області Stg (2212-3, 2235-11 і 6120-16), достовірно не відрізнялася від RTx7000. Отже, достовірне ранжування ( $P < 0,05$ ) по GLAA<sub>t</sub> у цих лініях являє собою B35 = Stg1 = Stg4 < Stg2 = Stg3 < відсутність = RTx7000.

Таблиця 3

Stg статус	Кількість ліній	Зелена площа відростків площа у періоді цвітіння (см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> )
Stg1 область		
1	1	3121
1,2	2	4187
1,4	1	4797
RTx7000	7	15460
LSD (0,05)		5282

Зелена листкова поверхня відростків у періоді цвітіння в рекурентному батьку (RTx7000) і різні лінії, які містять інтрогресії Stg1 QTL, як окремо, так і в комбінації із іншим Stg QTL.

Зелена листкова поверхня і кількість стебел на м<sup>2</sup> у період цвітіння високо корелювали в обробках із високою (HD) і низькою щільністю (LD) в експерименті із укриттям від дощу (Фіг. 2). Інтрогресія області Stg1 або Stg1a в RTx7000 знижувала кількість стебел на м<sup>2</sup> і GLAAt при обох щільностях.

#### 5 Приклад 3

Знижене кушіння - дослідження із тонким генетичним картуванням

10 Популяцію тонкого генетичного картування Stg1 вирощували в полі в умовах високої і низької густоти три роки підряд. Кількість стебел на одну рослину вимірювали у періоді цвітіння кожний рік і проводили загальний аналіз по всіх роках. У цілому, RTx7000 продукував на 47% більше стебел на одну рослину, ніж 6078-1 (1,85 проти 1,26; Фіг. 3).

15 У цих польових дослідженнях, ознаку (кількість стебел на одну рослину) картували в 60-генному блоці між маркерними генами tpx563 і tpx581 (Фіг. 4). Умовне значення 1,54 стебел на одну рослину давало оптимальне розділення між сильним і слабким кушінням з метою генетичного картування (тобто, рекомбінантні гени із менше 1,54 стебел відносили до BB генотипів, в той час як такі із більше 1,54 стеблами відносили до TT генотипів). Спуск по маркерних генах показує, що мутація із набуванням нової функції (слабке кушіння) досягалася в трьох генотипах (10564-2, 10704-1 і 10620-4) при маркерних генах tpx542 або tpx563. Дані вказують на те, що точковий розрив в гені знаходиться між tpx563 і txa3676, оскільки один рекомбінантний ген (10568-2) продемонстрував фенотип високе кушіння, в той час як три інших (10620-4, 10704-1 і 10564-2) продемонстрували фенотипи слабе кушіння при цьому точковому розриві. Ген компонента носія, із виділенням ауксину 5 розташований в цільовій області і, тому, є серйозним кандидатом (Таблиця 4), оскільки ауксин, як відомо, впливає на ріст другорядних зародків у рослин.



Таблиця 4

Назва гена/маркера	Фізичний LG	Фізична стартова позиція	Кінцева позиція	Довжина	Анотація JGI
txp563	3	65,208,189	65,208,485	296	
Sb03g037190	3	65,209,678	65,211,603	1,925	«подібний із пентапептидом (PPR)-повторюваним білком»
Sb03g037200	3	65,222,350	65,226,307	3,957	«схожий із передбачуваною дифосфонуклеотид фосфатазою 1»
Sb03g037210	3	65,227,168	65,227,630	462	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037220	3	65,234,620	65,235,162	542	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037230	3	65,236,723	65,237,917	1,194	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037240	3	65,240,591	65,246,229	5,638	«схожий із передбачуваною ДНК-(А-гуанінової або аденинової області) ліази»
Sb03g037250	3	65,246,632	65,250,387	3,755	«схожий із білком Os01g0801100»
Sb03g037260	3	65,251,637	65,253,986	2,349	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037270	3	65,259,345	65,261,566	2,221	«схожий із попередником бета-1,3-кляканизи»
Sb03g037280	3	65,262,639	65,266,128	3,489	«схожий із білком, подібним гліцерил-3-фосфат дегідрогенази»
Sb03g037290	3	65,267,421	65,270,348	2,927	«схожий із мультисубодиничним білком»
Sb03g037293	3	65,272,234	65,272,633	399	«схожий із Os09g0292300 білком»
Sb03g037296	3	65,273,390	65,274,334	944	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037300	3	65,280,789	65,281,319	530	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037310	3	65,284,987	65,294,633	9,646	«схожий із білком Os01g082000»
Sb03g037330	3	65,295,725	65,296,295	570	«мало схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037340	3	65,303,733	65,305,041	1,308	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037350	3	65,310,051	65,313,194	3,143	«схожий із передбачуваним компонентом носія із виділенням ауксину 5»
txp441	3	65,312,684	65,313,085	401	
Sb03g037360	3	65,319,087	65,321,178	2,091	«схожий із фосфат/фосфоенліпидуват транслокатором, подібним білку»
Sb03g037360	3	65,319,833	65,321,178	1,545	«схожий із фосфат/фосфоенліпидуват транслокатором, подібним білку»
Sb03g037370	3	65,334,279	65,335,675	1,396	«схожий із цистатином»
Sb03g037370	3	65,334,279	65,335,675	1,396	«схожий із цистатином»
Sb03g037380	3	65,339,180	65,342,378	3,198	«схожий із цитохромом P450»
Sb03g037390	3	65,353,300	65,355,651	2,351	«схожий із передбачуваним білком нодулін MtN21»
txp548	3	65,353,690	65,354,064	374	
Sb03g037400	3	65,360,048	65,363,895	3,847	«схожий із 50S рибосомним білком L34»
Sb03g037400	3	65,361,649	65,363,895	2,246	«схожий із 50S рибосомним білком L34»
Sb03g037410	3	65,365,754	65,367,069	1,315	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037420	3	65,367,248	65,368,532	1,284	«схожий із білком у порожнині тилакоїду 20 кДа»
Sb03g037423	3	65,372,022	65,374,178	2,156	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037426	3	65,377,633	65,377,797	164	«передбачуваний білок»
Sb03g037430	3	65,379,179	65,380,287	1,108	«передбачуваний білок»
Sb03g037440	3	65,382,179	65,384,675	2,496	«слабо схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037450	3	65,388,656	65,390,929	2,273	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037460	3	65,391,595	65,394,474	2,879	«схожий із цикліні laZm»
Sb03g037470	3	65,395,511	65,401,947	6,436	«схожий із Os01g0805700 білком»
txp570	3	65,396,787	65,397,183	396	
Sb03g037480	3	65,407,894	65,410,649	2,755	«схожий із передбачуваним ланцюгом ДНК-залежної РНК полімерази II 23»
Sb03g037480	3	65,407,894	65,410,649	2,755	«схожий із передбачуваним ланцюгом ДНК-залежної РНК полімерази II 23»
Sb03g037490	3	65,412,740	65,415,968	3,228	«схожий із ланцюгом тубуліну бета-2/бета-3»
Sb03g037500	3	65,416,497	65,419,202	2,705	«схожий із хромосомного послідовністю chr8scaffold_29, Дроблення повного геному»
Sb03g037510	3	65,422,190	65,425,057	2,867	«схожий із білками, подібними з білками сімейства F-бокс»
Sb03g037520	3	65,432,183	65,433,007	824	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком P0702B09.7»
sPb-9429	3	65,448,961			
Sb03g037530	3	65,453,690	65,457,006	3,316	«схожий із білками сімейства I as-1 який експресований»
Sb03g037540	3	65,458,431	65,461,769	3,338	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037550	3	65,463,190	65,467,200	4,010	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037560	3	65,467,680	65,472,835	5,155	«схожий із Ocs-елементам'язувальний фактором 3.2»
Sb03g037570	3	65,485,324	65,487,344	2,020	«схожий із передбачуваною кальційзалежною протеїназою»
Sb03g037575	3	65,498,061	65,503,236	5,175	«слабо схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037580	3	65,504,787	65,508,973	4,186	«схожий із білком із лейцинобагаченими повторами»
Sb03g037590	3	65,513,699	65,516,568	2,869	«схожий із білком, подібним дегідрогенази»
Sb03g037600	3	65,517,440	65,519,915	2,475	«схожий із імовірним U3 малим нуклеолічним РНК-асоційованим білком 11»
Sb03g037610	3	65,520,796	65,524,603	3,807	«схожий із білком домена III рибонуклеази у хлоропласті»
Sb03g037620	3	65,524,940	65,528,396	3,456	«схожий із передбачуваним неохарактеризованим білком»
Sb03g037630	3	65,528,969	65,531,465	2,496	«схожий із новим кальмодулінподібним білком»
Sb03g037640	3	65,577,963	65,582,051	4,088	«схожий із субодиницею альфа типу-3 протеасоми»
Sb03g037645	3	65,584,698	65,588,296	3,598	«схожий із субодиницею альфа типу-3 протеасоми»
Sb03g037650	3	65,589,894	65,590,289	395	«схожий із білком, подібним інгібітору протеази серину»
Sb03g037660	3	65,611,172	65,614,571	3,399	«схожий із білком 113 домена SET»
Sb03g037670	3	65,615,936	65,620,911	4,975	«схожий із білком сімейства екзостозинів»
txp581	3	65,634,826	65,636,402	1,576	

Таблиця 4 являє собою список генів, розташованих між маркерними генами txp581 і txp563. Потрібно зазначити, що серйозний кандидат на слабе кушіння (компонент носія, із виділенням ауксину 5) розташований у блоці із 18 генами між маркерними генами txp563 і txp441.

5

Приклад 4

Знижене кушіння (дослідження із тонким генетичним картуванням Stg1 в ROS)

Субпопуляцію популяції тонкого генетичного картування Stg1 вирощували в полі із укриттям від дощу (ROS) в умовах із лишком і недоліком води, при цьому кожний варіант водних умов ділили на умови із високою і низькою щільністю. Це створювало чотири водних режими із рівнем дефіциту води, який збільшується: HWLD (найменше піддані стресу) < HWHD < LWLD < LWHD (найбільш піддані стресу). Кількість стебел на одну рослину вимірювали на 44 день після проростання на кожній ділянці. Відмінності були найбільш очевидними в умовах із низькою щільністю (LD), оскільки експресія ознаки кушіння максимізована в цьому варіанті. У середньому RTx7000, 10568-2 і 10709-5 продукували на 27% більше стебел на одну рослину, ніж 6078-1 і 10604-5 в умовах LWLD (2,05 проти 1,62; Фіг. 5), і на 23% більше стебел на одну рослину в умовах HWLD (1,49 проти 1,22). Ген "слабкого кушіння" картували в 152-генному блоці між tpx563 і tpx442 (ту ж саму область ідентифікували в польових дослідженнях із тонким генетичним картуванням; Фіг. 6), який містить ген-кандидат (компонент носія, із виділенням ауксину 5).

#### Приклад 5

Знижене кушіння (дослідження із тонким генетичним картуванням Stg1 в голку)

Провели три додаткових дослідження із тонким генетичним картуванням на популяції Stg1 в регульованих умовах в голку. У цих дослідженнях кушіння аналізували більш детально у порівнянні із більш ранніми польовими дослідженнями. Підраховували загальну кількість відростків і, більш специфічно, підраховували кількість відростків, які з'явилися із пазух листків 2 (T2), 3 (T3) і 4 (T4). Наявність або відсутність T2 служило найкращим індикатором загального потенціалу кушіння для даного рекомбінантного гена. T2 також була самою кращою ознакою для тонкого генетичного картування гена.

У цьому експерименті за загальну кількість відростків брали суму T2, T3 і T4, де T2 був паростком, який з'явився із пазухи листка 2 (і так далі для T3 і T4), включаючи повторні паростки. Значну генотипічну варіацію спостерігали для всіх ознак, які стосуються кушіння у цьому дослідженні (Таблиця 5) із наслідуваністю, загалом, вище 30.

Таблиця 5

Ознака	Середнє для ознаки	P-величина (генотип)	Дисперсія помилок	avSED	CV%	варіант гена	Hsq
Кушіння							
K-сть відростків_макс	2.151	0.001	0.656	0.557	37.659	0.081	33.090
присутність_T2	0.408	0.000	0.204	0.316	110.676	0.038	42.715
присутність_T3	0.901	0.001	0.080	0.193	31.351	0.007	24.781
присутність_T4	0.831	0.015	0.132	0.237	43.787	0.004	10.651
gleaf_T	1.658	0.001	0.880	0.656	56.558	0.117	34.700
stem_T	0.801	0.003	0.226	0.332	59.334	0.027	32.261
bio_T	2.442	0.002	2.006	0.986	58.005	0.242	32.533
bio.GLA_T-співвідношення	50.259	0.010	39.356	4.716	12.482	4.510	31.429

У таблиці 5 наведений підсумок середніх значень, які передбачаються, P-величини і наслідуваність ознак кушіння, виміряні в урожай L11. Істотні відмінності ( $P < 0,05$ ) затінені жовтим кольором, в той час як випадки, де наслідуваність  $> 20$  затінені зеленим кольором.

Окремий аналіз даних T2, T3 і T4 виявив, що 6078-1 не утворював T2 паростки ні в одному із цих чотирьох повторів, у той час як RTx7000 утворював T2 паростки в 2 із 4 повторів (Фіг. 7).

Відмінності були також очевидні в числі T3. 6078-1 утворював T3 відросток в 1 із 4 повторів, в той час як RTx7000 утворював T3 відросток у всіх 4 повторах (Фіг. 8).

Число T4 відростків також варіювало середовищ генотипів. 6078-1 утворював T4 відросток в 3 із 4 повторів, в той час як RTx7000 утворював T4 відросток у всіх 4 повторах. Отже, інтрогресія Stg1 істотно запобігала росту T2 і T3 відростків у початковий RTx7000.

Аналіз "ознаки маркерного гена x" ідентифікував область розміром 7 см між txa3676 і tpx442, яка містить приблизно 60 генів, значно ( $P < 0,05$ ) для всіх ключових ознак кушіння за винятком



наявності T4 (Таблиця 6), вказуючи на те, що ген(и) кушіння розташований у цьому блоці. Потрібно указати на те, що вершина цього блоку є тим же самим точковим розривом (між txa3676 і txp536), як вже ідентифіковано польовими дослідженнями із тонким генетичним картуванням, підтверджуючи попередній результат із більш специфічним фенотипом (T2) у контрольованих умовах.

Таблиця 6

номер маркера	ім'я маркера	тип маркера	см	К-ть відростків-макс (L11)	bio_T (L11)	gleaf_T (L11)	stem_T (L11)	GLA_T (L11)	присутність_T2 (L11)	присутність_T3 (L11)	присутність_T4 (L11)
1	txa2506	оригінальний	125.2-127.5	0.82	0.86	0.78	0.98	0.65	0.02	0.52	0.03
2	txp114	обидва	134.7-135.6	0.02	0.11	0.05	0.23	0.13	0.02	0.17	0.66
3	txa2179	оригінальний	135.6-140	0.67	0.50	0.46	0.59	0.36	0.37	0.21	0.28
4	CORN031	оригінальний	135.6-140	0.74	0.18	0.17	0.22	0.13	0.35	0.37	0.31
5	TS196	оригінальний	140-142.5	0.74	0.18	0.17	0.22	0.13	0.35	0.37	0.31
6	txp196	новий	140-142.5	0.12	0.67	0.74	0.83	0.95	0.06	0.79	0.80
7	txa2961	оригінальний	142.5	0.74	0.18	0.17	0.22	0.13	0.35	0.37	0.31
8	BH245191	оригінальний	145.5-147.3	0.31	0.84	0.86	0.97	0.94	0.14	0.64	0.88
9	BG411222	обидва	145.5-147.3	0.03	0.04	0.04	0.03	0.02	0.29	0.06	0.05
10	txp439	новий	145.5-147.3	0.52	0.67	0.75	0.66	0.79	0.13	0.90	0.84
11	txp440	новий	145.5-147.3	0.36	0.67	0.72	0.56	0.77	0.03	0.86	0.81
12	txp542	новий	145.5-147.3	0.58	0.27	0.25	0.14	0.27	0.04	0.80	0.71
13	txp563	новий	149.1-150.3	0.30	0.36	0.36	0.32	0.24	0.04	0.88	0.85
14	txa3676	оригінальний	149.1-150.3	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.03	0.08	0.39
15	txa2986	оригінальний	150.3	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.03	0.08	0.39
16	txp581	новий	150.3-151.9	0.03	0.03	0.01	0.06	0.03	0.02	0.62	0.63
17	txp587	новий	151.9-156.2	0.05	0.02	0.01	0.04	0.03	0.04	0.38	0.74
18	txp446	новий	151.9-156.2	0.04	0.01	0.00	0.01	0.00	0.03	0.45	0.42
19	txp442	оригінальний	151.9-156.2	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.03	0.08	0.39
20	txp38	оригінальний	158.3-161.4	0.18	0.09	0.11	0.08	0.18	0.03	0.09	0.33
21	txa3390	оригінальний	158.3-161.4	0.31	0.14	0.15	0.14	0.22	0.04	0.16	0.21

P&lt;0.05

P&lt;0.10

У таблиці 6 наведений підсумок P-величин для різних ознак кушіння, виміряних в урожаї L11. Значні відмінності ( $P < 0,05$ ) затінені жовтим кольором, в той час як відмінності із ( $P < 0,1$ ) затінені зеленим кольором.

Аналіз точкового розриву цих ліній, який згідно із їх генотипом (BB або TT) 'піднімається' або 'опускається' в цікавлячій області, проводили, щоб додатково точно визначити ген слабого кушіння. Був ясно видний дуже чіткий розрив, який відділяє лінії, які утворювали відросток T2 у повторах 0-2 (група із слабким кушінням; 8 рекомбінантних генів), від тих, які утворювали T2 відросток у повторах 3-4 (група із сильним кушінням; 8 рекомбінантних генів) [Таблиця 7, Фіг. 9].

Таблиця 7

Ім'я генома	присутність_T2 (L11)	присутність_T3 (L11)	присутність_T4 (L11)	tillema_max (L11)
NIL10604-1-476-2	1.013	0.714	0.795	2.551
NIL10604-1-502-11-2	0.781	1.006	0.715	2.634
NIL10604-1-318-1	0.770	0.956	0.920	2.628
NIL10604-1-451-7	0.769	0.970	0.930	2.675
NIL10604-1-502-142-1	0.768	0.993	0.956	2.809
NIL10604-1-319-1	0.757	1.043	0.938	2.678
NIL10604-1-110-2	0.752	1.034	0.972	2.761
NIL10604-1-182-1	0.714	1.016	1.001	3.090
NIL10604-1-195-5	0.498	0.914	0.467	2.016
NIL10604-1-8-1	0.487	0.758	1.024	2.235
NIL10604-1-222-1	0.481	0.695	0.917	2.071
NIL10604-1-157-5	0.472	0.527	0.519	1.729
NIL10604-1-56-7	0.419	1.026	0.899	2.296
NIL10604-1-501-327-3	0.259	0.753	0.402	1.377
NIL10604-1-477-4	0.017	1.049	1.038	2.066
NIL10604-1-359-3	-0.045	1.002	0.519	1.523

Таблиця 7 показує наявність відростків (Т1-Т3) і загальну кількість відростків для восьми рекомбінантних генів сильного кушіння (коричневе затінення) і восьми рекомбінантних генів слабого кушіння (затінення зеленого кольору) із популяції тонкого генетичного картування Stg1.

Підіймаючись по маркерних генах на Фіг. 10, мутація із набуванням нової функції (слабке кушіння) досягається у рекомбінантному гені 10604-1-157-5 при маркерному гені tpr587. Це означає, що ген(и) слабого кушіння знаходиться у блоці, який поширюється вниз до (але не включаючи) tpr446 і вгору до (але не включаючи) tpr581. Підіймаючись по маркерних генах, мутація із набуванням нової функції (слабке кушіння) досягається в трьох рекомбінантних генах (10604-1-195-5, 10604-1-56-7, 10604-1-477-4) при одному із трьох маркерних генів: tpr563, txa3676 або txa2986 (бракуючі дані про маркерний ген не дозволяють отримати більш точне місцезорозташування). Однак, якби мутація із набуванням нової функції не була б досягнута до txa3676, ген міг би знаходитися тільки у блоці, який тягнеться вниз до (але не включаючи) txa2986. Отже, область не накладається із областю, виділеною за допомогою 10604-1-157-5, вказуючи на те, що генотипування або фенотипування є неправильним для цього рекомбінантного гена. Передбачаючи, що 10604-1-157-5 є неправильним (за будь-якою причиною), всі інші рекомбінантні гени картують ген у блоці між tpr563 і tpr581, який містить ген-кандидат (компонент носія, із виділенням ауксину 5).

Субпопуляцію ліній застосовували в цьому експерименті, щоб підтвердити область гена кушіння. Більше повторів на кожний рекомбінантний ген (20) застосовували, щоб додатково знизити дисперсію помилки і збільшити дозволяючу потужність між лініями. Попередні результати вказують на наявність гена кушіння між маркерними генами txa3676 і tpr536 (та ж сама область як ідентифіковано раніше). Отже, п'ять досліджень тонкого генетичного картування, включаючи три польових дослідження і два дослідження в голку, всі вказують на наявність гена слабого кушіння в одному і тому ж місці.

Аналіз точкового розриву тих ліній, які, згідно із їх генотипом (ВВ або ТТ), 'піднімаються' або 'опускаються' по цікавлячій області, проводили, щоб додатково точно визначити ген слабого кушіння. Був ясно видний чіткий розрив, який відділяє лінії, які утворювали загальну кількість відростків > 2,5 (група із сильним кушінням; 5 рекомбінантних генів) від тих, які утворювали

загальну кількість відростків < 2,5 (група із слабким кушінням; 3 рекомбінантних гени) [Таблиця 8, Фіг. 11].

Таблиця 8

Генотип	T1	T2	T2.1	T3	T3.1	T4	Загальна кількість відростків
10604-1-502-11-2	0.00	0.79	0.00	1.00	0.00	1.00	2.79
10604-1-110-2	0.11	0.67	0.00	1.00	0.00	1.00	2.72
10604-1-359-3	0.00	0.63	0.00	1.00	0.05	1.00	2.68
10604-1-318-1	0.06	0.59	0.00	1.00	0.00	1.00	2.65
10604-1-502-142-1	0.00	0.58	0.00	1.00	0.00	1.00	2.58
10604-1-8-1	0.00	0.53	0.00	1.00	0.00	1.00	2.42
10604-1-157-5	0.00	0.47	0.00	1.00	0.00	0.95	2.42
10604-1-222-1	0.00	0.45	0.00	1.00	0.00	1.00	2.40

5

Таблиця 8 показує наявність відростків (T1-T4), включаючи повторні паростки і загальну кількість відростків для п'яти рекомбінантних генів сильного кушіння (коричневе затінення) і трьох рекомбінантних генів слабого кушіння (зелене затінення) із популяції тонкого генетичного картування Stg1.

10

Підіймаючись по маркерних генах на Фіг. 12, мутація із набуванням нової функції (слабке кушіння) досягається у рекомбінантному гені 10604-1-157-5 при маркерному гені tpr587. Однак, просування далі через маркерний ген tpr581, і можливо txa2986 і txa3676, все ж не надає функцію в 10604-1-359-3 або 10604-1-318-1, вказуючи на те, що або генотипування або фенотипування 10604-1-157-5 було помилковим. Мутація із набуванням нової функції досягається при маркерному гені tpr563 у 10604-1-8-1, вказуючи на те, що низький ген кушіння знаходиться у блоці, розташованому від tpr563 вгору до (але не включаючи) tpr542 і вниз до (але не включаючи) txa3676. Це та ж сама область, що і виділена в трьох польових дослідженнях і в попередньому дослідженні в голку. Отже, ген PIN4 у сорго зернове (позначений у даному описі "SbPIN4") є серйозним кандидатом на ген слабого кушіння Stg1.

15

20

#### Приклад 6

#### Менші листки

Загалом, інтрогресія області Stg1 в RTx7000 знижувала розмір листків (у довжину і ширину) в умовах хорошого зволоження і в умовах обмеження води, вказуючи на конститутивну дію гена. Однак, скорочення розміру листка, загалом, було більше в умовах обмеження води, вказуючи на в деякій мірі адаптивну (індуцибельну) відповідь у доповнення до конститутивної відповіді. Отже, Stg1 забезпечує два механізми для зниження розміру крони: а) знижене кушіння і б) зменшений розмір листків. Об'єднані, ці два механізми забезпечують достатню міру пластичності для зміни рослиною архітектури крони у відповідь на фактори менеджменту і/або навколишнього середовища.

25

30

Ряд досліджень із лізіметрами особливо корисні в оцінці патернів розміру листків при рівнях дефіциту тиску водяної пари (VPD), які змінюються (Фіг. 13A-D). Не дивлячись на те, що горшки регулярно поливали в обох експериментах, розмір крони відрізнявся між сезонами, мабуть, через сезонні відмінності у температурі і VPD, створюючи умови високого (1,8 кПа) і низького (1,3 кПа) VPD. Для головної гілки і самого великого відростка (T3), скорочення розміру листків було значним як в умовах високого, так і низького VPD (Фіг. 13A-D), не дивлячись на те, що скорочення почалося пізніше в умовах низького VPD у порівнянні із високим VPD у головній гілці (L12 проти L9) і T3 (L7 проти L5).

35

Однак для інших відростків (T4-T6), розподіл листків за розміром відрізнявся помітно між експериментами. У той час як не було ніякої відмінності у розмірі листків між RTx7000 і 6078-1 при високому VPD, листків 6078-1 було значно менше при низькому VPD. Це вказує на адаптивну (індуцибельну) відповідь на зменшення листка при певних умовах навколишнього середовища для відростків T4-T6.

40

#### Приклад 7



Менші листки (дослідження із укриттям від дощу)

Експерименти проводили під укриттям від дощу (ROS), щоб оцінити вплив області Stg1 при двох щільностях сільськогосподарської культури, таким чином, створюючи два рівні водного дефіциту (висока щільність = сильний стрес; низька щільність = слабкий стрес). Загалом кушіння було слабким або було відсутнім при HD (20 рослин/м<sup>2</sup>) і було нормальним при LD (10 рослин/м<sup>2</sup>).

Розмір крони був менше в обидва роки при вирощуванні із високою щільністю (HD), відображаючи більший водний дефіцит, який створюється цією умовою. У обидва роки при більш помірному (LD) і більш важкому водному дефіциті (HD), розміри листків були, загалом, менше у 6078-1 (Stg1) у порівнянні із RTx7000. Виключенням було те, де патерн розподілу листків за розміром був схожим для 6078-1 і RTx7000 при більш помірному водному дефіциті (LD), все ж листки було значно меншими у 6078-1 (до 18% менший) при сильному водному дефіциті (HD), вказуючи на адаптивну відповідь рослин із Stg1 на збільшення водного дефіциту. Фактично, інтрогресія області Stg1 в RTx7000 знижувала розмір чотирьох самих великих листків (L10-L13) в середньому на 16,5% при більш сильному водному дефіциті (HD). Оскільки кушіння було слабким для обох генотипів при цій обробці, зниження розміру листків у 6078-1 повинно було помітно зменшити розмір крони і отже, споживання води сільськогосподарською рослиною (маючи на увазі схожу транспірацію на одиницю листової поверхні).

Потрібно указати на те, що механізм зменшення листків, асоційований із Stg1, імовірно, працює як у присутності кушіння (LD), так і у відсутності кушіння (HD), але, імовірно, найкраще виражений при HD, коли, як правило, зустрічається одностебельність і умови сильного дефіциту води.

#### Приклад 8

Менші листки (дослідження із тонким генетичним картуванням Stg1 із укриттям від дощу)

Субпопуляцію популяції тонкого генетичного картування Stg1 вирощували у полі із укриттям від дощу (ROS) в умовах надлишку і нестачі води, при цьому кожну водну обробку ділили на умовах високої і низької густоти. Це створювало чотири водних режими із рівнем водного дефіциту, що збільшується: HWLD (найменше піддані стресу) < HWHD < LWLD < LWHD (найбільш піддані стресу). Область кожного повністю розгорнутого листка головного стебла вимірювали для всіх генотипів у всіх обробках.

Інтрогресія цілої області Stg1 (6078-1) і, більш специфічно, меншої області, позначеної 10604-5, приводила до скорочення розміру листків 9-13 в умовах нестачі води і високої густоти (Фіг. 14). Наприклад, у порівнянні із RTx7000, у L11 він складав на 9% і на 16% менше для 10604-5 і 6078-1, відповідно. Оскільки кушіння було незначним у цій обробці, відмінності в розмірі крони були, по суті, через відмінності у розмірі листків.

В умовах низької густоти на розподіл листків за розміром впливало кушіння, приводячи до деяких кросоверів, у порівнянні із високою щільністю (див. Фіг. 14). Однак, варто указати, що 10604-5 утворював менші листки 9-13 відносно 10709-5, 10568-2 і RTx7000, як при HD, так і при LD обробці.

Ген "листка невеликого розміру", картований в 152-генний блок між txp563 і txp442 (та ж сама область, ідентифікована для гена слабого кушіння), який містить ген-кандидат (компонент носія, із виділенням ауксину 5), див. Фіг. 15.

#### Приклад 9

Менші листки (дослідження із тонким генетичним картуванням в голку)

Листкова поверхня варіювала значно ( $P < 0,001$ ) серед генотипів із наслідуваністю, яка наближається до 60 для листків 4 і 5. Інтрогресія області Stg1 в RTx7000 знижувала площу листків 1-6 (Фіг. 16). Наприклад, площа L6 була на 22% вище у RTx7000 (67,4 см<sup>2</sup>), ніж у 6078-1 (55,3 см<sup>2</sup>), хоч ця відмінність не була значущою на рівні  $P=0,05$ . Площа L6 коливалася від 47,8 см<sup>2</sup> до 93,9 см<sup>2</sup> (LSD [0,05] = 21) із наслідуваністю 42.

Відмінності в площі листової поверхні були швидше завдяки відмінностям у довжині листків (Фіг. 17), ніж ширині листків (Фіг. 18). У той час як площа листової поверхні експонентно росла із номером листка (Фіг. 21), довжина листка збільшувалася лінійно (Фіг. 17). Залежність між шириною листка і номером була параболичною (Фіг. 18). Отже, відмінність в площі листової поверхні між 6078-1 і RTx7000 із збільшенням номера листка була, головним чином, через відмінність у довжині листків між цими генотипами. Це вказує на те, що функція генів, які знижують розмір листка, більш ймовірно, пов'язана із збільшенням клітини (довжина листка), ніж розподілом (ширина листка).

Алометрична залежність у популяції тонкого генетичного картування Stg1 між площею листка (n) і площею листка (n+1) вказує на істотну зміну у приблизно Листка 8 (одночасний із

початком цвітіння). Після цього, збільшення у розмірі листка, відбувається із меншою швидкістю.

- Інтрогресія області Stg1 в RTx7000 знижувала площу листків 9-11 (Фіг. 19), так само як листків 1-6 (розглянутих раніше). Площа L9 варіювала значно ( $P=0,06$ ) середовищ генотипів, в межах від 234-300 см<sup>2</sup>, із наслідуваністю 21 (Таблиця 8). Площа L9 була на 8% вище у RTx7000 (263 см<sup>2</sup>), ніж 6078-1 (244 см<sup>2</sup>) [Фіг. 19]. Схожі тенденції були очевидні для листків 10 і 11.

Таблиця 9

ознака розмір листка	середня ознака	P-величина (Генотип)	дисперсія помилки	avSED	CV%	варіант гена	Hsq
L6_GLA	54.122	0.016	88.256	10.871	17.358	23.256	51.315
L7_GLA	103.157	0.317	213.237	14.083	14.156	16.947	24.122
L8_GLA	178.469	0.179	535.126	19.269	12.962	7.623	5.391
L9_GLA	266.844	0.060	673.230	18.676	9.724	45.684	21.348
L10_GLA	342.756	0.506	1029.389		9.361	1.177	0.455
L11_GLA	383.560	0.374	848.058		7.592	3.098	1.440
L11_DW	1.955	0.522	0.058		12.372	0.000	0.000
SLW_L9_L11	50.083	0.030	17.372	3.073	8.322	0.956	18.041

- У таблиці 9 наведений підсумок середніх значень, які передбачаються, P-величин і наслідуваності ознак розміру листка, виміряних в урожаї L11. Значущі відмінності ( $P < 0,05$ ) затінені жовтим кольором, у той час як наслідуваності  $> 20$  затінені зеленим кольором. GLA = площа зелених листків. DW = суха вага. SLW\_L9\_L11 = питома вага листка.

- Велика частина варіації у площі зеленої листової поверхні в урожаї листків 11, пояснювалася відмінністю у кушінні. Однак, листки 9-11 було менше у 6078-1 у порівнянні із RTx7000. Ці відмінності були значущими ( $P < 0,05$ ) при t<sub>pr</sub>114 (134,7-135,6 cM) і між маркерними генами t<sub>xa</sub>3676 і t<sub>pr</sub>442 (149,1-156,2 cM) [Таблиця 10]. Потрібно зазначити, що 'слабке кушіння' і 'невеликі листки' були обидва асоційовані із однією і тією ж областю між маркерними генами t<sub>xa</sub>3676 і t<sub>pr</sub>442, вказуючи на можливість того, що один ген, регулює обидві ознаки архітектури крони.

Таблиця 10

номер маркера	ім'я маркера	тип маркера	сm	L1_GLA (L6)	L2_GLA (L6)	L7_GLA (L11)	L8_GLA (L11)	L9_GLA (L11)	L10_GLA (L11)	L11_GLA (L11)	L6_DM (L6)	L11_DW (L11)	SLW_L6 (L6)	SLW_L9_L11 (L11)
1	txa2506	оригінальний	25.2-127.5	0.08	0.70	0.99	0.40	0.47	0.74	0.91	0.88	0.28	0.97	0.38
2	txp114	обидва	34.7-135.6	0.31	0.15	0.06	0.41	0.03	0.08	0.01	0.57	0.47	0.82	0.05
3	txa2179	оригінальний	135.6-140	0.38	0.61	0.67	0.68	0.50	0.50	0.97	0.92	0.64	0.90	0.56
4	CORN031	оригінальний	135.6-140	0.63	0.57	0.66	0.87	0.67	0.43	1.00	0.52	0.61	0.70	0.69
5	TS196	оригінальний	140-142.5	0.63	0.57	0.66	0.87	0.67	0.43	1.00	0.52	0.61	0.70	0.69
6	txp196	новий	140-142.5	0.85	0.02	0.06	0.21	0.02	0.32	0.38	0.34	0.45	0.07	0.06
7	txa2961	оригінальний	142.5	0.63	0.57	0.66	0.87	0.67	0.43	1.00	0.52	0.61	0.70	0.69
8	BH24519	обидва	145.5-147.3	0.67	0.28	0.02	0.30	0.02	0.60	0.66	0.22	0.72	0.03	0.22
9	BG41 1222	оригінальний	145.5-147.3	0.74	0.92	0.22	0.32	0.15	0.21	0.88	0.26	0.95	0.35	0.93
10	txp439	новий	145.5-147.3	0.73	0.60	0.09	0.30	0.03	0.58	0.69	0.28	0.91	0.03	0.81
11	txp440	новий	145.5-147.3	0.82	0.73	0.01	0.27	0.06	0.06	0.63	0.07	0.78	0.02	0.66
12	txp542	новий	145.5-147.3	0.34	0.74	0.05	0.27	0.31	0.22	0.72	0.16	0.79	0.08	0.83
13	txp563	новий	149.1-150.3	0.16	0.57	0.45	0.21	0.79	0.98	0.28	0.63	0.73	0.56	0.55
14	txa3676	оригінальний	149.1-150.3	0.50	0.30	0.43	0.20	0.10	0.03	0.69	0.29	0.22	0.22	0.16
15	txa2986	оригінальний	150.3	0.50	0.30	0.43	0.20	0.10	0.03	0.69	0.29	0.22	0.22	0.16
16	txp581	новий	150.3-151.9	0.03	0.11	0.60	0.87	0.22	0.19	0.01	0.91	0.49	0.91	0.52
17	txp587	новий	151.9-156.2	0.13	0.29	0.49	0.91	0.07	0.23	0.05	0.93	0.78	0.81	0.38
18	txp446	новий	151.9-156.2	0.27	0.43	0.91	0.89	0.31	0.21	0.08	0.58	0.66	0.47	0.37
19	txp442	оригінальний	151.9-156.2	0.50	0.30	0.43	0.20	0.10	0.03	0.69	0.29	0.22	0.22	0.16
20	txp38	оригінальний	158.3-161.4	0.09	0.75	0.25	0.07	0.03	0.52	0.55	0.57	0.09	0.51	0.12
21	txa3390	оригінальний	158.3-161.4	0.15	0.70	0.42	0.05	0.02	0.40	0.19	0.62	0.06	0.49	0.26

P&lt;0.05

P&lt;0.10

У таблиці 10 наведений підсумок Р-величин для різних ознак розміру листка, виміряних в урожаї L11. Істотні відмінності ( $P < 0,05$ ) затінені жовтим кольором, у той час як відмінності ( $P < 0,1$ ) затінені зеленим кольором. GLA = площа зеленого листків. DM = суха маса. DW = суха вага. SLW = питома вага листка.

## Приклад 10

Менші листки (дослідження із тонким генетичним картуванням в голку)

Номер листка і довжина лінійно корелювали для батьківських рослин популяції тонкого генетичного картування Stg1 (Фіг. 20). Інтрогресія Stg1 в RTx7000 приводила до скорочення довжини листків 8-10, при цьому L10 був на 7% коротше у 6078-1, ніж у RTx7000 (550 проти 592 мм).

З метою генетичного картування вибирали 'хвости' популяції тонкого генетичного картування Stg1. Два генотипи демонстрували особливо довгі листки (10604-1-157-5 і 10604-1-318-1), і три генотипи демонстрували особливо короткі листки (10604-1-222-1, 10604-1-501-327-3 і 6078-1).

Мутація із набуванням нової функції (короткий листок) досягалася в рекомбінантному гені 10604-1-222-1 між маркерними генами txa2986 і txp542. Це означало, що ген(и) невеликого листка знаходиться у блоці, який тягнеться вниз до (але не включаючи) txp581 і вгору до (але не включаючи) txp440. Отже ген 'невеликого листка' картується в ту ж саму область як і ген 'слабкого кушіння'.

З метою генетичного картування вибирали 'хвости' популяції тонкого генетичного картування Stg1 (Фіг. 21). Три генотипи демонстрували особливо довгі листки (10604-1-157-5, 10604-1-318-1 і RTx7000), і два генотипи демонстрували особливо короткі листки (10604-1-222-1 і 6078-1).

Підіймаючись по маркерних генах на Фіг. 22, мутація із набуванням нової функції (короткий листок) досягалася в рекомбінантному гені 10604-1-222-1 між маркерними генами txa2986 і tpr542. Це означало, що ген(и) невеликого листка розташовується у блоці, який тягнеться вниз до (але не включаючи) tpr581 і вгору до (але не включаючи) tpr440. Отже, ще раз, ген "невеликого листка" картується в ту ж саму область, що і ген "слабкого кушіння". Потрібно зазначити, що довжина листка у L9 і L10 картується в ту ж саму область.

Багаторазові дослідження вказують на те, що ген (або гени), які викликають фенотип слабкого кушіння і невеликого листка розташовані між маркерними генами tpr563 і txa2986 (Фіг. 23). Пояснення є один геном із множинними плеiotропними ефектами. Підвищена доступність ауксину могла б пояснити обидва фенотипи, і слабке кушіння і невеликий листок, які спостерігаються у рослин, які містять цю область. Ген компонента носія, із виділенням ауксину 5, розташовані в цільовій області і тому ідентифікований як кандидат.

#### Приклад 11

Ознака "залишатися зеленим" посилює пластичність архітектури крони через конститутивні і адаптивні відповіді

Підвищена доступність води у період цвітіння досягається через знижене споживання води завдяки двом механізмам (знижене кушіння і менші листки) у рослин, які містять область Stg1, (Фіг. 24). Обидва механізми, окремо, імовірно, знижують розмір крони у середньому приблизно на 9%. Механізм "слабкого кушіння" домінує у середовищах із низькою щільністю, коли потенціал кушіння високий. Механізм "невеликого листка" домінує у середовищах із високою щільністю, коли потенціал кушіння низький. Об'єднані, ці два механізми забезпечують сільськогосподарські рослини із значною пластичністю для зміни архітектури крони у відповідь на тяжкість водного обмеження.

Ознака "залишатися зеленим" демонструє і конститутивні і адаптивні відповіді (Фіг. 25). Розмір крони із Stg1 знижується приблизно на 5%, навіть коли вода не обмежує (конститутивна відповідь). Розмір крони додатково знижується (адаптивна реакція) при помірній засусі (~10%) і більш важкій засусі (~15%). Слабке кушіння є передусім конститутивною відповіддю, хоч менший розмір листка у відростків у відповідь на збільшення водного дефіциту є адаптивною відповіддю. Невеликий розмір листка є і конститутивною і адаптивною відповіддю.

#### Приклад 12

Зв'язок між зниженим розміром крони (через знижене кушіння і менші листки) і зниженим споживанням води сільськогосподарською культурою у періоді цвітіння.

Знижене споживання води сільськогосподарською культурою у періоді цвітіння може бути викликане а) меншим розміром крони із еквівалентною транспірацією на одиницю листової поверхні, б) еквівалентним розміром крони із більш низькою транспірацією на одиницю листової поверхні або с) меншим розміром крони і більш низькою транспірацією на одиницю листової поверхні. Дослідження із ROS показали, що в умовах надлишку води область Stg1, і особливо рекомбінантний ген, який містить ген-кандидат Stg1 (10604-5), демонстрував знижене споживання води через менший розмір крони, а не більш низької транспірації на одиницю листової поверхні. Високі кореляції ( $r^2=0.9$ ) між розміром крони і споживанням води сільськогосподарською культурою спостерігалися в дослідженнях із лізиметрами і ROS.

#### (а) Економія води завдяки меншому розміру листка

Кушіння було незначним в цьому експерименті завдяки високій густоті сільськогосподарської культури. Отже, відмінності у розмірі крони відбувалися через відмінності в розмірі листків (Фіг. 27), як показано високою кореляцією між розміром листка 12 і загальною площею зеленої листової поверхні у періоді цвітіння (Фіг. 28).

У свою чергу площа зеленої листової поверхні у періоді цвітіння високо корелювала із споживанням води сільськогосподарською культурою у періоді цвітіння (Фіг. 29). Відносно RTx7000 ці дві лінії, які містять ген-кандидат Stg1 (6078-1 і 10604-5), обидві демонстрували менші листки (L10-L13), більш низьку площу зеленої листової поверхні у періоді цвітіння (GLAA), і знижене водоспоживання сільськогосподарською культурою у періоді цвітіння.

(б) Економія води завдяки зниженій транспірації на одиницю листової поверхні (дослідження із лізиметрами)

Транспірація (Т) дорівнює утворенню площі листової поверхні (LA) на питому транспірацію (Т/LA). У умовах високого VPD LA була приблизно однаковою між Stg1 і RTx7000 (11795 проти 11628 см<sup>2</sup>), все ж Т/LA була менше для Stg1, ніж Тx7000 (2,60 проти 2,85), приводячи до меншої кількості споживаної води на одну рослину (Т) із Stg1, ніж RTx7000 (30,7 проти 32,8 л). Отже, економія води для Stg1 (у середовищі із високим VPD) досягалася повністю шляхом скорочення Т/LA, вказуючи на те, що це є конститутивною стратегією збереження води, яка забезпечується

Stg1. У цьому випадку, більш висока ефективність транспірації (TE) для Stg1 була наслідком еквівалентної біомаси і більш низької транспірації.

Більш широкий аналіз, який порівнює чотири Stg QTL (Stg1, Stg2, Stg3 і Stg4) із RTx7000, допомагає поставити відповідь Stg1 в перспективу. В умовах високого VPD T/LA позитивно корелювала із T, однак в умовах низького VPD, T/LA негативно корелювала із T ( $r^2=0,52$ ). Зелена листкова поверхня і транспірація позитивно корелювали і в умовах низького і високого (Fig. 29) VPD. У обох експериментах, Stg QTL знижували площу зеленої листкової поверхні і транспірацію у порівнянні із RTx7000.

(с) Економія води завдяки зниженню листкової поверхні

Транспірація (T) дорівнює утворенню LA на T/LA. В умовах низького VPD LA була на 31% менше для Stg1, ніж RTx7000 (4898 проти 7082 см<sup>2</sup>). Це трохи змістилося через збільшення на 9% T/LA для Stg1 у порівнянні із RTx7000 (5,15 проти 4,70). Чистий результат становив 22% скорочення споживання води на одну рослину (T) для Stg1 у порівнянні із RTx7000 (25,6 проти 32,7 l), передусім завдяки зменшеному розміру крони. Збільшення T/LA, яке демонструється Stg1, може самостійно бути механізмом адаптації до засухи, шляхом охолодження листка і дозволяючи фотосинтезу продовжуватися.

Здатність T/LA змінюватися, імовірно, особливо важлива для регуляції водного статусу рослини. В умовах високого VPD зниження T/LA для Stg1 було ключовим механізмом для зниження T і збільшення TE. В умовах низького VPD збільшення T/LA для Stg1 могло сприяти підтримці функції листка через охолодження.

Дослідження із лізиметрами на підвиборці тонкого генетичного картування Stg1 дають додаткове розуміння цієї області. В умовах високого VPD LA на одну рослину було менше для 10604-5 (місце гена-кандидата Stg1), ніж для RTx7000 (10283 проти 11628 см<sup>2</sup>), все ж T/LA була еквівалентна для 10604-5 і RTx7000 (~2,86), приводячи до меншої кількості споживаної води на одну рослину для 10604-5, ніж RTx7000 (28,0 проти 32,8 l). Отже, економія води для 10604-5 досягалася повністю за рахунок скорочення розміру крони.

В умовах низького VPD LA на одну рослину була менше у всіх лініях Stg1 у порівнянні із RTx7000, приводячи до економії води у всіх лініях Stg1. Тому було важко провести тонке генетичне картування цієї області, оскільки всі рекомбінантні гени відповідали однаково на 6078-1.

(d) Симуляція агрономічних умов

Культиватором саджали по 5 рослин/м<sup>2</sup> із відстанню між рядами в 1 м. Глибина ґрунту = 1800 мм; ґрунт PAWC = 324 мм; N без обмеження. Результати показані на Fig. 64A-C.

Обробки

HT Сильне кушіння (2 відростки/рослини).

LT Слабке кушіння (1 відросток/рослина).

WW Добре зволожені (Починаючи із 100% насиченого водою профілю і дощового живлення).

TS Граничний стрес (Починаючи із наполовину насиченого водою профілю [162 мм] і відсутність дощового живлення після саджання).

Приклад 13

Підвищена доступність води у період цвітіння може також бути досягнута через поліпшену досяжність води завдяки більш легкій екстракції води і/або більш глибокому і кращому латеральному поширенню коріння рослин, які містять область Stg1

Коренева маса і співвідношення корінь:паростки (Fig. 30) були вище для Stg1, ніж для RTx7000 на стадії листка 6. Мала місце значна трансгресивна сегрегація цих ознак у популяції тонкого генетичного картування Stg1. Зв'язок між масою кореня і співвідношенням корінь:відростки дає можливість додаткового генетичного поліпшення у цих ознаках.

Відношення кореневої маси на одиницю листкової поверхні може бути застосоване як індекс адаптації до засухи на стадії сходів, оскільки воно об'єднує в собі здатність рослини отримувати доступ до води (коренева маса) із здатністю рослини споживати воду (листова поверхня). Більший індекс вказує на велику здатність отримувати доступ до води на одиницю листкової поверхні. Stg1 демонстрував більше відношення маси кореня до листкової поверхні у RTx7000 завдяки більшій масі кореня і меншій площі листкової поверхні.

У дослідженні із тонким генетичним картуванням Stg1 індекс збору урожаю кореня (співвідношення корінь:загальна біомаса) на стадії L6, картувався в txa3676 і txa2986, те ж саме місцерозташування, що і ген-кандидат Stg1 (Таблиця 11).



Таблиця 11

номер	маркера	ім'я	маркера	тип	маркера	LA	L1_GLA (L6)	L2_GLA (L6)	L7_GLA (L11)	L8_GLA (L11)	L9_GLA (L11)	L10_GLA (L11)	L11_GLA (L11)	L6_DM (L6)	L11_DM (L11)	SLW_L6 (L6)	SLW_L8_L11 (L11)	bio_max (L11)	bio_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)	bio_T_T (L11)
1	ba2506	оригінальний	125.2-127.5	0.08	0.70	0.09	0.40	0.47	0.74	0.91	0.68	0.28	0.97	0.38	0.82	0.86	0.78	0.98	0.65	0.02	0.52	0.03	0.63	0.86	0.32	0.31	0.50	0.80
2	ba2114	обидва	134.7-135.6	0.31	0.15	0.06	0.41	0.03	0.08	0.01	0.57	0.47	0.82	0.05	0.02	0.11	0.05	0.23	0.13	0.02	0.17	0.86	0.82	0.72	0.55	0.56	0.69	0.34
3	ba2179	оригінальний	135.6-140	0.38	0.81	0.87	0.88	0.50	0.50	0.97	0.82	0.84	0.90	0.58	0.87	0.50	0.46	0.59	0.38	0.37	0.21	0.28	0.98	0.89	0.25	0.24	0.94	0.90
4	CORN031	оригінальний	135.6-140	0.63	0.57	0.86	0.87	0.67	0.43	1.00	0.52	0.61	0.70	0.69	0.74	0.18	0.17	0.22	0.13	0.35	0.37	0.31	0.79	0.85	0.43	0.42	0.80	1.00
5	TS196	оригінальний	140-142.5	0.63	0.57	0.86	0.87	0.67	0.43	1.00	0.52	0.61	0.70	0.69	0.74	0.18	0.17	0.22	0.13	0.35	0.37	0.31	0.79	0.85	0.43	0.42	0.80	1.00
6	ba2196	новий	140-142.5	0.85	0.02	0.06	0.21	0.02	0.32	0.38	0.34	0.45	0.07	0.06	0.12	0.67	0.74	0.83	0.95	0.06	0.79	0.80	0.99	0.76	0.40	0.41	0.93	0.09
7	ba2861	оригінальний	142.5	0.63	0.57	0.86	0.87	0.67	0.43	1.00	0.52	0.61	0.70	0.69	0.74	0.18	0.17	0.22	0.13	0.35	0.37	0.31	0.79	0.85	0.43	0.42	0.80	1.00
8	ba28101	обидва	145.3-147.3	0.87	0.28	0.02	0.30	0.02	0.60	0.68	0.22	0.72	0.03	0.22	0.31	0.84	0.86	0.97	0.94	0.14	0.84	0.88	0.81	0.73	0.83	0.84	0.73	0.32
9	ba21122	оригінальний	145.3-147.3	0.74	0.92	0.22	0.32	0.15	0.21	0.88	0.26	0.95	0.35	0.93	0.03	0.04	0.04	0.03	0.02	0.29	0.06	0.05	0.74	0.71	0.66	0.68	0.83	0.91
10	ba438	новий	145.3-147.3	0.73	0.60	0.09	0.30	0.03	0.56	0.69	0.28	0.91	0.03	0.81	0.52	0.87	0.75	0.86	0.79	0.13	0.90	0.84	0.61	0.50	0.43	0.44	0.61	0.85
11	ba440	новий	145.3-147.3	0.82	0.73	0.01	0.27	0.06	0.06	0.53	0.07	0.78	0.02	0.66	0.36	0.97	0.72	0.56	0.77	0.03	0.86	0.81	0.15	0.17	0.39	0.40	0.15	0.74
12	ba542	новий	145.3-147.3	0.34	0.74	0.05	0.27	0.31	0.22	0.72	0.16	0.79	0.08	0.83	0.58	0.27	0.25	0.14	0.27	0.04	0.80	0.71	0.03	0.02	0.25	0.26	0.04	0.82
13	ba583	новий	149.1-150.3	0.16	0.57	0.45	0.21	0.79	0.98	0.26	0.63	0.73	0.56	0.55	0.30	0.36	0.36	0.32	0.24	0.84	0.86	0.65	0.48	0.48	0.37	0.37	0.66	0.03
14	ba3670	оригінальний	149.1-150.3	0.50	0.30	0.43	0.20	0.10	0.03	0.69	0.29	0.22	0.22	0.16	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.03	0.08	0.39	0.28	0.24	0.04	0.04	0.37	0.81
15	ba2986	оригінальний	150.3	0.50	0.30	0.43	0.20	0.10	0.03	0.69	0.29	0.22	0.22	0.16	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.03	0.08	0.39	0.28	0.24	0.04	0.04	0.37	0.81
16	ba581	новий	150.3-151.9	0.03	0.11	0.80	0.87	0.22	0.19	0.01	0.91	0.49	0.91	0.52	0.03	0.03	0.01	0.06	0.03	0.02	0.62	0.63	0.74	0.88	0.56	0.80	0.77	0.57
17	ba587	новий	151.9-156.2	0.13	0.29	0.49	0.91	0.07	0.23	0.05	0.93	0.78	0.81	0.38	0.05	0.02	0.01	0.04	0.03	0.04	0.38	0.74	0.71	0.78	0.66	0.57	0.83	0.80
18	ba446	новий	151.9-156.2	0.27	0.43	0.91	0.89	0.31	0.21	0.08	0.58	0.66	0.47	0.37	0.04	0.01	0.00	0.01	0.00	0.03	0.45	0.42	0.78	0.94	0.69	0.80	0.60	0.77
19	ba442	оригінальний	151.9-156.2	0.50	0.30	0.43	0.20	0.10	0.03	0.69	0.29	0.22	0.22	0.16	0.02	0.04	0.05	0.03	0.02	0.03	0.08	0.39	0.28	0.24	0.04	0.04	0.37	0.81
20	ba38	оригінальний	156.3-161.4	0.09	0.75	0.25	0.07	0.03	0.52	0.55	0.57	0.09	0.51	0.12	0.18	0.09	0.11	0.08	0.18	0.03	0.09	0.33	0.10	0.14	0.70	0.71	0.10	0.48
21	ba3390	оригінальний	156.3-161.4	0.15	0.70	0.42	0.05	0.02	0.40	0.19	0.82	0.08	0.49	0.26	0.31	0.14	0.15	0.14	0.22	0.04	0.16	0.21	0.15	0.23	0.92	0.91	0.13	0.84

P&lt;0.05

P&lt;0.10

Leaf area

Tilering

Biomass

BioGLA

SPAD

Таблиця 11 є збагаченням Р-значень для різного розміру листка (сіне затінення), проростаючи (коричневе затінення) і біомаса (сіре затінення) ознаки, виміряні в зборах урожаю L6 і L11. Істотні відмінності ( $P < 0,05$ ) затінені жовтим кольором, у той час як відмінності ( $P < 0,1$ ) затінені зеленим кольором.

Більш високе співвідношення маси кореня до листової поверхні, продемонстроване Stg1 в стадії L6, може пояснити, чому споживання води на ранній стадії росту сільськогосподарської культури було більше (20-50 DAE) у порівнянні із RTx7000 при обробці LWLD (Фіг. 31). Ще не ясно, чи була підвищена доступність води під час наливання зерна, продемонстрована Stg1, у порівнянні із RTx7000 (Фіг. 31) завдяки більш легкій екстракції води і/або більш сильному поширенню коріння.

У експерименті із камерою для кореня в Gatton, Квінсленд, Австралія (Van Oosterom et al. (2010) supra), нижня гравіметрична межа екстракції води була на 0,26% нижче для A35 (Ознака "залишатися зеленим"), ніж для AQL39 (старіючі) гібридні. A35 містить область Stg1, тоді як AQL39 не містить. Беручи до уваги, що об'ємна щільність була 1,3 г см<sup>-3</sup>, і глибина ґрунту була 150 см, це потенційно могло збільшувати доступність води в полі на > 5 мм протягом усього життєвого циклу сільськогосподарської культури.

#### Приклад 14

Ознака "залишатися зеленим" збільшує біомасу на одиницю листової поверхні у період цвітіння. Беручи до уваги, що маси коренів еквівалентні (або щонайменше не значно менші), ці відмінності можуть бути пояснені відмінностями в транспірації на одиницю листової поверхні і/або ефективності транспірації

Біомаса головного стебла на одиницю листової поверхні (B/LA) у період цвітіння була на ~24% більше для Stg1, ніж RTx7000 в умовах слабого водного стресу (35,2 проти 26,2 г/м<sup>2</sup>/см<sup>2</sup>) і умовах сильного водного стресу (40,6 проти 31,4 г/м<sup>2</sup>/см<sup>2</sup>) (Таблиця 12). B/LA головного стебла у період цвітіння було на ~14% вище в умовах сильного водного стресу, ніж в умовах слабого водного стресу і для Stg1 і для RTx7000, тобто B/LA збільшувався із дефіцитом води. Потрібно зазначити, що B/LA відростка було еквівалентне для Stg1 і RTx7000 в умовах слабого і сильного водного стресу.

Таблиця 12

Stg статус	Число ліній	Біомаса головного стебла на одиницю листової поверхні у період цвітіння (г/м <sup>2</sup> /см <sup>2</sup> )x1000		Біомаса відростка на одиницю листової поверхні у період цвітіння (г/м <sup>2</sup> /см <sup>2</sup> )x1000		Загальна біомаса на одиницю листової поверхні у період цвітіння (г/м <sup>2</sup> /см <sup>2</sup> )x1000	
		Слабкий водний стрес	Сильний водний стрес	Слабкий водний стрес	Сильний водний стрес	Слабкий водний стрес	Сильний водний стрес
Stg1 область							
1	1	35,17	40,61	19,42	22,38	31,83	39,73
1,2	2	31,70	34,70	18,40	19,77	28,02	33,16
1,4	1	28,12	30,88	22,68	16,53	28,66	26,69
Без областей							
RTx7000	7	26,21	31,36	18,04	20,61	21,20	25,81
LSD (0,05)		6,70	6,70	5,90	5,90	5,96	5,96

У Таблиці 12 показані біомаси на одиницю листової поверхні головного стебла, проростків і загальна для RTx7000 (рекурентний батько) деякої кількості майже ізогенних ліній, які містять різні інтрогресії Stg1, вирощених в умовах високого і низького дефіциту води в Biloela, Квінсленд, Австралія.

Докладні вимірювання споживання води вказують на те, що більш висока біомаса на одиницю листової поверхні, яка спостерігається в лініях Stg1 в Biloela, була, ймовірно, завдяки більш високій транспірації на одиницю листової поверхні, а не TE.

#### Слабкий водний стрес

Stg1 і RTx7000 показали еквівалентне B/LA в умовах слабого дефіциту води. Однак, T була на ~7 % нижче для Stg1, завдяки на ~10 % більш низькому T/LA, яке, у свою чергу, збільшило TE на ~9 % (Фіг. 53). Тому, Stg1 не змінював біомасу, але споживання води було меншим, у порівнянні із RTx7000.

#### Сильний водний стрес

У умовах сильного водного стресу B/LA було на ~6 % вище для Stg1 у порівнянні із RTx7000. B/LA позитивно корелювало із T/LA, але не із TE. Отже, більш високе B/LA, виявлене Stg1, мало місце завдяки більш високому T/LA. Загалом, B/LA позитивно корелювало із T/LA і негативно корелювало із TE в умовах сильного водного стресу.

У цьому випадку із Stg1 споживання води було на ~22 % менше, ніж у RTx7000 під час періоду до цвітіння. Тому, із Stg1 було б значно більше доступної води для наливання зерна, незважаючи на більш низьку біомасу у період цвітіння.

#### Приклад 15

Підвищена TE при інтрогресії Stg1 може відбуватися завдяки а) пропорційно більш високій фотосинтетичній здатності у порівнянні із продиговою провідністю, через менших, більш тонких і більше зелених листків або б) зменшенню в транспірації на одиницю листової поверхні, при підтримці біомаси на одиницю листової поверхні

У популяції тонкого генетичного картування Stg1 довжина і зеленість (SPAD) листка 10 високо негативно корелювали ( $r^2=0,72$ , Фіг. 32). Отже, зменшення розміру листка в цій популяції збільшувало концентрацію азоту в листку. Інтрогресія Stg1 в початковий RTx7000 зменшувало довжину L10 на ~7 % (від 592 до 550 мм) і збільшувало SPAD у L10 на ~4 % (із 47,1 до 48,9).

Більше зелене листя може збільшувати фотосинтетичну здатність і тому ефективність використання води. У підвиборці із популяції тонкого генетичного картування Stg1, фотосинтез збільшувався за рахунок значення SPAD до досягнення плато при SPAD ~48,5 (Фіг. 33). Однак, лінія (6078-1) із самим високим значенням SPAD (51,6) демонструвала відносно низьку швидкість фотосинтезу (32,1 MJ/м<sup>2</sup>/день). Цей результат або а) аномальний, або б) вказує на реальне зниження в фотосинтезі при високих значеннях SPAD.

Зеленість листка (SPAD) і WUE (заснований на індексі, обчисленому програмним забезпеченням Licor), позитивно корелювали у підвиборці із популяції тонкого генетичного картування Stg1 (Фіг. 34). Жодна із інтрогресій Stg1 не наближалася до такого значення як у 6078-1 (0,8), незважаючи на відносно високу SPAD у 10604-5 і 10709-5 NIL.

У порівнянні із RTx7000 і іншими Stg QTL, Stg1 демонстрував більше зелений листок (вище значення SPAD) і вище за WUE (заснований на індексі, обчисленому програмним забезпеченням Licor) [Fig. 35].

#### Приклад 16

Підвищена TE при інтрогресії Stg1 може відбуватися завдяки а) пропорційно більш високій фотосинтетичній здатності у порівнянні із продиховою провідністю, через менших, більше тонких і більше зелених листків або б) зменшенню в транспірації на одиницю листової поверхні, при підтримці біомаси на одиницю листової поверхні

Ефективність транспірації (TE) негативно корелювала із транспірацією на одиницю листової поверхні (T/LA) в умовах слабкого і сильного VPD (Fig. 36) для ряду Stg NIL, включаючи рекурентного батька (RTx7000). Однак, ранжування Stg NIL відносно RTx7000 залежало від умов VPD. Наприклад, T/LA для Stg1 було нижче відносно RTx7000 в умовах сильного VPD, але все ж вище, ніж для RTx7000 в умовах слабкого VPD.

В умовах високого VPD нахил негативної кореляції між T/LA і TE був крутим, таким, що невелике зменшення в T/LA із 2,9 мм/см<sup>2</sup> (Stg4) до 2,6 мм/см<sup>2</sup> (Stg1), приводило до значного збільшення TE із 4,2 г/м<sup>2</sup>/мм (Stg4) до 5,1 г/м<sup>2</sup>/мм (Stg1) [Fig. 36]. Градієнт був менш крутим в умовах слабкого VPD, таким чином, що в шість разів більше зменшення в T/LA приводило до збільшення TE на одиницю у порівнянні із умовами сильного VPD (1,2 проти 0,2 одиниць). Потрібно зазначити, що для еквівалентного TE, Stg1 демонстрував більш високе T/LA, ніж RTx7000 (5,1 проти 4,6 мм/см<sup>2</sup>) в умовах слабкого VPD. Це може забезпечувати механізм для листків Stg1, щоб залишитися більш холодними в певних умовах навколишнього середовища.

#### Приклад 17

Зміни в транспірації на одиницю листової поверхні можуть відбуватися завдяки а) кількості продихів, б) діаметру продихового відкриття, с) зміні у виборі часу відкриття і закриття продихів відносно VPD і/або d) кількості клітин біля основи ворсинок (які впливають на граничний шар і на T/LA)

Інтрогресія Stg1 в RTx7000 по-різному впливала на T/LA залежно від умов VPD. Відносно RTx7000, Stg1 збільшувала T/LA на ~9 % в умовах слабкого VPD і зменшувала T/LA на ~10 % в умовах сильного VPD. T/LA, серед іншого, може регулюватися а) кількістю продихів на одиницю листової поверхні, б) розміром продихового відкриття, с) вибором часу відкриття і закриття і/або d) кількістю клітин біля основи ворсинок (які впливають на граничний шар і на T/LA). Проводили вимірювання двох із цих чотирьох компонентів (а і d). У одному експерименті із укриттям від дощу збирали окремі листки із ділянки обробки із високою щільністю в межах зрошуваного контролю, видаляли кутикули, і робили знімки поверхні кутикули. Ці зображення застосовували для визначення а) кількості продихів на одиницю листової поверхні, б) кількості епідермальних клітин на одиницю листової поверхні і с) кількості клітин біля основи відростків на одиницю листової поверхні.

Одночасно робили поперечні зрізи листка. Попередній аналіз цих даних вказує на те, що інтрогресія Stg1 в RTx7000 змінювала анатомію листка. Відмінності в морфології листків (наприклад, листки 7 і 10) очевидні між RTx7000 і Stg1. У цьому випадку, більше і більше дрібні оболонки, оточували судинний пучок, із Stg1. Підвищена кількість клітин в оболонці, оточували судинний пучок, також, ймовірно, могла сприяти збільшенню фотосинтетичної асиміляції (PNAS 2007) і TE.

#### Приклад 18

Збільшене споживання води під час наливання зерна досягається через (i) підвищену доступність води у періоді цвітіння і (ii) кращу досяжність води (більш легка екстракція води і більш глибоке і краще латеральне поширення коріння) під час наливання зерна

##### а) Підвищена доступність води у період цвітіння

Споживання води сільськогосподарською культурою (CWU) перед періодом цвітіння негативно корелювало із CWU після періоду цвітіння в експерименті із ROS (Fig. 37). Наприклад, збереження 20 мм води до періоду цвітіння (165 проти 185 мм) дозволяло споживати додаткові 20 мм після періоду цвітіння (80 мм проти 60 мм). Так вся вода, збережена до періоду цвітіння споживалася сільськогосподарською культурою після періоду цвітіння. Загалом, 25 %-е збільшення споживання води після періоду цвітіння в цьому експерименті приводило до 25 %-ого збільшення урожаю зерна (400 проти 300 г/м<sup>2</sup>). Це переводиться в 50 кг/га зерна на кожний додатковий мм доступної води. У той час як ці дані підтверджують концепцію того, що підвищене споживання води під час наливання зерна, досягається через поліпшену досяжність води у періоді цвітіння, це не говорить нам що-небудь про підвищену доступність води під час наливання зерна.

б) Підвищена доступність води під час наливання зерна

Підвищене споживання води під час періоду наливання зерна демонструвалося із Stg1 і при обох обробках, із низькою і високою щільністю, в експерименті із ROS. Це було передусім завдяки (i) підвищеній доступності води у періоді цвітіння в умовах високої густоти, і (ii) підвищеної доступності води під час наливання зерна в умовах низької густоти (Фіг. 38a і b).

У дослідженні RTx7000 і чотирьох NIL Stg (Stg1, Stg2, Stg3 і Stg4), CWU до і після періоду цвітіння негативно корелювали в експерименті із ROS в умовах низької густоти (Фіг. 39). У цьому випадку, збереження ~25 мм води до періоду цвітіння (168 проти 191 мм) сприяло споживанню ~50 мм після періоду цвітіння (135 мм проти 86 мм), вказуючи на те, що і підвищена доступність води (~25 мм) і досяжність (~25 мм) були однаково важливі. Однак, Stg1 був аномальний в цьому прикладі, оскільки високе споживання води після періоду цвітіння було пов'язане із високим споживанням води до періоду цвітіння. Поясненнями цієї аномалії для Stg1 є а) помилка в даних про воду перед періодом цвітіння, б) помилка в даних про воду у період після цвітіння або с) немає помилок у вимірюванні води (просто Stg1 по-різному відповідав на інші NIL). Аналіз даних про біомасу показує, що по деяких причинах Stg1 давав велику біомасу перед періодом цвітіння в умовах LWLD в порівнянні до інших NIL, вказуючи на те, що патерни споживання води перед періодом цвітіння просто відображали продукцію біомаси в цьому експерименті. Проте, цей приклад дійсно представляє свідчення підвищеної доступності води для Stg1 під час періоду наливання зерна.

#### Приклад 19

Зв'язок між продукцією біомаси у період до і після цвітіння

В умовах низької густоти (LD) зниження біомаси у період цвітіння на 23 % (із 700 до 640 г/м<sup>2</sup>) збільшувало біомасу у період після цвітіння більш, ніж в два рази (із ~200 до 425 г/м<sup>2</sup>). В умовах LD Stg1 давав схожу із RTx7000 біомасу у період до цвітіння (~610 г/м<sup>2</sup>), але все ж давав меншу біомасу у період після цвітіння (265 проти 327 г/м<sup>2</sup>). Проте, в умовах HD, Stg1 і RTx7000 давали схожу біомасу перед періодом цвітіння (~840 г/м<sup>2</sup>), але все ж Stg1 давав більше біомаси у період після цвітіння (195 проти 17 г/м<sup>2</sup>).

Зв'язок між GLAA і співвідношенням біомаси до:після періоду цвітіння є критичним для історії із Stg1. GLAA повинна бути знижена в < 3 разів, щоб гарантувати доступність відповідної води для наливання зерна, і це є критичною роллю гена Stg1. У цьому експерименті Stg1 знижував GLAA відповідно, щоб досягнути співвідношення біомас до:після періоду цвітіння, яке < 3 в умовах LD, але не HD. В умовах HD, потрібно зазначити, що інтрогресія Stg1 в RTx7000 знижувала GLAA із 31200 до 29300 см<sup>2</sup>/м<sup>2</sup>, знижуючи співвідношення біомас до:після періоду цвітіння із 8,2 до 6,5 (але все ще не до < 3). Це підкреслює важливість відповідних стратегій регуляції, таких як щільність сільськогосподарської культури, в максимізації обмежених водних ресурсів.

Негативний зв'язок між GLAA і масою стебла у період після цвітіння також є критичним в історії із Stg1. Більш низька GLAA, і отже, знижене споживання води у період цвітіння, була пов'язана із більш високою масою стебла у періоді після цвітіння (компонент стійкості до вилягання). Інтрогресія Stg1 в RTx7000 збільшувала масу стебла у періоді після цвітіння в обох умовах, LD (крайне збільшення) і HD (значуще збільшення) умови.

Зв'язок між співвідношенням біомаси до:після періоду цвітіння (PPBR) і біомасою у період після цвітіння інформативно. Дві обробки густоти забезпечують континуум у діапазоні PPBR від < 2 до > 8. Скорочення PPBR від > 8 до ~3 приводило до поступового збільшення біомаси у період після цвітіння. Однак, додатково скорочення PPBR нижче 3 приводило до відносно різкого збільшення в біомасі у період після цвітіння, мабуть, оскільки, більше води було доступно під час наливання зерна, коли співвідношення PPBR опустилося нижче 3. Інтрогресія Stg1 в RTx7000 збільшувала біомасу у період після цвітіння при HD, але не при LD.

Зв'язок між співвідношенням біомас до:після періоду цвітіння (PPBR) і біомасою стебла у період після цвітіння є в такій же мірі інформативним. Маса стебла у період після цвітіння є компонентом стійкості до вилягання. Аналіз цього компонента забезпечує деяке розуміння того, як інтрогресії Stg впливають на стійкість до вилягання. Скорочення PPBR із > 8 до ~4 приводило до поступового збільшення маси стебла у період після цвітіння. Однак, додаткове скорочення PPBR нижче 4 приводило до відносно різкого збільшення в масі стебла у період після цвітіння. Інтрогресія Stg1 в RTx7000 збільшувала масу стебла у період після цвітіння при обох умовах, LD (крайне збільшення) і HD (значне збільшення).

Зв'язок між PPBR і урожаєм зерна був менше зрозумілим у цьому експерименті. У той час як урожай зерна був вище для Stg1, ніж для RTx7000 при обох щільностях, більш високий урожай міг бути пояснений тільки більш низьким PPBR для Stg1 при HD.

Досліджували дві інтрогресії Stg1 в цьому експерименті: а) 6078-1 (ціла область Stg1), і b) 10946-5 (рекомбінантний ген, який охоплює приблизно 1/3 області Stg1 між маркерними генами Sb03QGM116 і Sb03QGM106).

5 Скорочення біомаси перед періодом цвітіння на 20 % (із 920 до 735 г/м<sup>2</sup>) збільшувало біомасу у період після цвітіння приблизно на 100 % (від 200 до 400 г/м<sup>2</sup>) [Фіг. 40]. Загалом, біомаса перед періодом цвітіння для RTx7000=Stg2 > Stg3=Stg4 > Stg1 і біомаса у період після цвітіння для Stg1 > Stg3=Stg4 > Stg2 > RTx7000. Дані для Stg1 при LD були аномальними.

10 Розмір крони, як очевидно із GLAA, значною мірою визначав співвідношення біомас до:після періоду цвітіння (Фіг. 41). При обох обробках, із високою і низькою щільністю, інтрогресія Stg1 у початковий RTx7000 знижувала GLAA, яка, у свою чергу, знижувала співвідношення біомас до:після періоду цвітіння до < 3, гарантуючи відповідну доступність води для наливання зерна в цих умовах водного обмеження.

15 Розмір крони, як очевидно із GLAA, був визначальним фактором маси стебла у період після цвітіння (PASM) [Фіг. 42]. При обох обробках, із високою і низькою щільністю, інтрогресія Stg1 або Stg1a у початковий RTx7000 знижували GLAA, яка, у свою чергу, збільшила PASM. Приблизно на 40 г/м<sup>2</sup> більше стовбурового резерву використовувалося при HD у порівнянні із LD, відображаючи більш сильний стрес, який заподіюється цією обробкою.

20 Зв'язок між співвідношенням біомас до:після періоду цвітіння (PPBR) і біомасою у період після цвітіння (PAB) був тісним (Фіг. 43). Дві обробки густоти забезпечують континуум у діапазоні PPBR від < 1,5 до > 4. Скорочення PPBR від ~4,5 до ~3,5 не надало впливу на PAB. Однак, додатково скорочення PPBR нижче ~3,5 привело до відносно різкого збільшення в PAB, мабуть, оскільки, більше води було доступно під час наливання зерна, коли співвідношення PPBR впало до менше 3,5. Інтрогресія Stg1 в RTx7000 знижувала PPBR до менше 3 і при HD, і при LD, таким чином, збільшуючи PAB при обробках із обома густинами.

25 Співвідношення біомас до:після періоду цвітіння (PPBR) також впливало на стійкість до вилягання (Фіг. 44). У цьому випадку маса стебла у період після цвітіння (PASM) береться як замісник оцінки стійкості до вилягання. При високій і низькій густоті PPBR негативно корелювало із біомасою стебла у період після цвітіння. Таким чином, високе співвідношення біомас до:після періоду цвітіння збільшувало кількісно стовбуровий резерв, який знову мобілізується під час наливання зерна, таким чином, скорочення біомаси стовбура і збільшуючи імовірності вилягання. У порівнянні із RTx7000 Stg1a значно знижував стовбуровий резерв, який мобілізується при LD (~5 проти 65 г/м<sup>2</sup>) і при HD (~80 проти 140 г/м<sup>2</sup>). У порівнянні із RTx7000 Stg1 значно знижував кількісно стовбуровий резерв, який мобілізується при HD (~80 проти 140 г/м<sup>2</sup>), але не при LD. Міра, до якої мобілізувався стовбуровий резерв, була більше при HD, ніж при LD, відображаючи більший дефіцит води при HD. Наприклад, відмінність в мобілізації стовбурового резерву між HD і LD була дворазовою для RTx7000 (приблизно 140 проти 70 г/м<sup>2</sup>).

30 Урожай зерна залишався низьким (при точці відліку ~4,2 т/га), доти, доки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння попадало нижче ~3 (HD) або ~2,5 (LD) [Фіг. 45]. Нижче за ці критичні значення урожай зерна збільшувався значно для кожного подальшого кроку зниження у цих співвідношеннях із швидкістю збільшення урожаю зерна трохи вище при LD, ніж при HD. Це вказує на те, що доступність води у період після цвітіння була тісно пов'язана із GLAA і біомасою у період до цвітіння, і що певне скорочення в GLAA було необхідне, щоб гарантувати відповідну доступність води для наливання зерна. При обох щільностях Stg1 знижував співвідношення біомас до:після періоду цвітіння нижче критичних рівнів, приводячи до збільшення урожаю в 28 % (LD) і 22 % (HD), відносно RTx7000. Ці дані дають критичний зв'язок між дією гена Stg1 (знижений розмір крони у періоді цвітіння) і урожаєм зерна при граничній засусі. Потрібно зазначити, що інтрогресія Stg1a вплинула деякий чином на скорочення PPBR (при HD і LD) і збільшення урожаю зерна (тільки при LD) відносно RTx7000, але не в однаковій мірі як Stg1. Отже, немає переконливих доказів із цього експерименту, що ключовий ген Stg1 розташовується в області Stg1a. Це підтримує докази, представлені раніше, оскільки найбільш серйозний кандидат на Stg1 (SbPIN4) розташований вище місця інтрогресії Stg1a.

50 Досліджували чотири інтрогресії Stg1 в цьому експерименті: а) 6078-1 (ціла область Stg1 між маркерними генами txa2179 і tpx38), b) 10709-5 (рекомбінантний ген, який охоплює приблизно 1/3 області Stg1 між маркерними генами Sb03QGM106 і tpx38), c) 10604-5 (рекомбінантний ген, який охоплює приблизно 3/4 області Stg1 між маркерними генами txa2506 і tpx565), і d) 10568-2 (рекомбінантний ген, який охоплює майже 1/2 області Stg1 між маркерними генами txa2506 і tpx563) [Фіг. 46].

60 При низькій густоті (LD), біомаса у періоді до цвітіння варіювала тільки в межах ~5 % (від 522 до 552 г/м<sup>2</sup>) серед генотипів, все ж біомаса у період після цвітіння варіювала майже у подвійному розмірі (від 173 до 313 г/м<sup>2</sup>). Це вказує на те, що на істотні відмінності в біомасі у

період після цвітіння впливало щось інше, на відміну від біомаси перед періодом цвітіння, наприклад, відмінності в доступності води. Наприклад, 10709-5 і RTx7000 обидва давали біомасу  $\sim 550$  г/м<sup>2</sup> перед періодом цвітіння, все ж рекомбінантний ген Stg1 (10709-5) давав біомасу у період після цвітіння на  $\sim 60$  % більше (310 проти 130 г/м<sup>2</sup>).

5 У умовах високої густоти (HD), біомаси у період до і після цвітіння високо негативно корелювали. Інтрогресія Stg1 в RTx7000 знижувала біомасу перед періодом цвітіння на 9 % і збільшувала біомасу у період після цвітіння на 23 %.

10 Споживання води сільськогосподарською культурою (CWU) у періоді цвітіння краще розрізнялося між генотипами, ніж біомаса у період до цвітіння. Комбінуючи дані при HD і LD, імовірно, що біомаса у період після цвітіння (PAB) залишалася низькою (в точці відліку  $\sim 150$  г/м<sup>2</sup>), доти, доки CWU у періоді цвітіння не опускалося нижче  $\sim 180$  мм. Нижче цього критичного значення, PAB збільшувався із кожним подальшим зниженням в CWU аж до рівня 175 мм, при цьому PAB виходило на плато, яке дорівнює приблизно 310 г/м<sup>2</sup>. Подальші зниження в CWU у періоді цвітіння нижче 175 мм не приводили до додаткового PAB.

15 Розмір крони, як очевидно із GLAA, значною мірою визначав відношення біомас до:після періоду цвітіння (PPBR). При обох обробках, і при високій і при низькій густоті, інтрогресія Stg1 (або специфічні рекомбінантні гени, такі як 10709-5) у початковий RTx7000 знижувала GLAA, яка, у свою чергу, знижувала співвідношення біомас до:після періоду цвітіння, таким чином, збільшуючи доступність води для наливання зерна в цих умовах водного обмеження. Значення

20 PPBR для 6078-1, імовірно, було аномальним (дуже високе), оскільки цей генотип розташовується набагато вище за лінію регресії GLAA/PPBR.

Розмір крони, як очевидно із GLAA, був визначальним фактором для маси стебла у період після цвітіння (PASM). При обробці із високою щільністю інтрогресії Stg1 (або рекомбінантні гени Stg1, такі як 10604-5 і 10709-5) в початковий RTx7000 знижувала GLAA, яка, у свою чергу, збільшувала PASM. Приблизно, на 60 г/м<sup>2</sup> більше стовбурового резерву використовувалося при

25 HD у порівнянні із LD, відображаючи більш високий вплив, який надається цією обробкою. Ще раз дані для 6078-1 при LD, імовірно, є аномальними.

Зв'язок між співвідношенням біомас до:після періоду цвітіння (PPBR) і біомасою у період після цвітіння (PAB) був тісним. Дві обробки густоти забезпечують континуум у діапазоні PPBR від  $< 2$  до  $> 5$ , хоч нахил регресії був більше для LD, ніж для HD. При HD, зниження PPBR із  $\sim 6$  до  $\sim 3,5$  приводило до поступового збільшення PAB від  $\sim 130$  г/м<sup>2</sup> (RTx7000) до  $\sim 180$  г/м<sup>2</sup> (10604-5). Додаткове зниження PPBR менше  $\sim 3$  при LD приводило до більш різкого збільшення PAB, мабуть, оскільки більше води було доступно під час наливання зерна, при падінні

30 співвідношення PPBR нижче трьох.

Співвідношення біомас до:після періоду цвітіння (PPBR) також впливало на стійкість до вилягання. У цьому випадку масу стебла у період після цвітіння (PASM) застосовували як базу для оцінки стійкості до вилягання. При високій і низькій густоті PPBR негативно корелював із біомасою стебла у періоді після цвітіння. Таким чином, високе співвідношення біомас до:після періоду цвітіння збільшувало кількісно стовбуровий резерв, знову мобілізований під час

40 наливання зерна, таким чином, скорочуючи біомасу стовбура і збільшуючи імовірності вилягання. У порівнянні із RTx7000 Stg1 значно знижував стовбуровий резерв, мобілізований при HD ( $\sim 100$  проти 160 г/м<sup>2</sup>). Міра мобілізації стовбурового резерву була більше при HD, ніж при LD, відображаючи більший дефіцит води при HD. Наприклад, відмінність в мобілізації стовбурового резерву між HD і LD була більш, ніж дворазовою для RTx7000 (приблизно 160 проти 60 г/м<sup>2</sup>). Цікаво, що PASM збільшувався із зменшенням PPBR у всьому діапазоні PPBR (1,5-6), тоді як урожай зерна, і в меншій мірі PAB, збільшувалися тільки тоді, коли PPBR опадав

45 нижче  $\sim 3$ . Це вказує на те, що відносно невелика економія води перед періодом цвітіння все ще може поліпшити стійкість до вилягання, не дивлячись на те, що велика економія води була необхідна для отримання відповіді в урожаї зерна.

Урожай зерна залишався низьким (в точці відліку  $\sim 3,1$  т/га), поки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння не опускалося нижче  $\sim 3$ . Нижче цих критичних значення урожай зерна значно збільшувався із кожним подальшим зниженням в цьому співвідношенні. Оскільки жодна із інтрогресій Stg1 не знижувала PPBR до  $< 3$  при HD, ніякі сприятливі ефекти для урожаю від Stg1 не були отримані у цій обробці. При LD деякі інтрогресії Stg1 знижували PPBR нижче

50 критичного рівня, приводячи до збільшення урожаю в 12 % (10568-2) і 5 % (10709-5), відносно RTx7000. Ці дані описують критичний зв'язок між дією гена Stg1 (знижений розмір крони у періоді цвітіння) і урожаєм зерна при граничній засусі.

CWU під час наливання зерна залишався низьким (в точці відліку  $\sim 60$  мм), поки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння не опускалося нижче  $\sim 3,5$  (Фіг. 47). Нижче за це

60 критичне значення CWU під час наливання зерна збільшувався значно для кожного подальшого

кроку зниження цього відношення. Оскільки жодна із інтрогресій Stg1 не знижувала PPBR до < 3,5 при HD, ніякого збільшення в CWU під час наливання зерна не отримували від рекомбінантних генів Stg1 у цій обробці. При LD деякі інтрогресії Stg1 (і RTx7000) знижували PPBR нижче критичного рівня, збільшуючи CWU під час наливання зерна до ~80 мм у порівнянні із базовою лінією при HD (~60 мм).

Зв'язок між CWU під час наливання зерна і урожаєм зерна був позитивним (Фіг. 48). Однак кореляція між цими параметрами була відносно низькою ( $r^2=0,23$ ), ймовірно через високу варіабельність вимірювань ґрунтової води у полі.

#### Приклад 20

Відстрочене старіння листка (ознака залишатися зеленим) є наслідком більш високого статусу води в рослині під час наливання зерна (через збільшене споживання води)

Статус води у рослині визначали по FL-2 (два листки під криючим листком) в середині стадії наливання зерна застосовують за допомогою двох методів: водний потенціал листка (LWP) і відносний вміст води (RWC). LWP вимірювали в полі за допомогою бомби високого тиску. Після визначення LWP в полі, зразок того ж самого листка вміщували на лід і, протягом декількох хвилин, переносили в лабораторію на відстані приблизно 300 м для визначення RWC стандартними методами.

RWC FL-2 негативно корелювало із відносною швидкістю старіння листка в середині наливання зерна і в умовах високої і низької густоти в ряді Stg NIL, включаючи рекурентного батька. Функції кореляції для HD і LD були паралельні, але із зміщенням на приблизно 0,35 одиниць старіння листка, тобто для заданого рівня RWC, скажемо 70, відносні швидкості старіння листка дорівнювали 2,1 і 2,45 для LD і HD, відповідно. Інтрогресія області Stg1 в RTx7000 збільшувала RWC на середині стадії наливання зерна (FL-2) і знижувала відносну швидкість старіння листка і при HD, і при LD, хоч вплив був більш сильним при HD.

У свою чергу, відносна швидкість старіння листка високо негативно корелювала із площею зеленої листової поверхні в зрілості (GLAM) при HD і LD (Фіг. 49) із більш високими швидкостями старіння листка, продемонстрованими при HD. Stg1 давала більш ніж в два рази більше GLAM, ніж RTx7000 при HD (2106 проти 859  $\text{cm}^2/\text{m}^2$ ) і на 19 % більше GLAM при LD (2145 проти 1725  $\text{cm}^2/\text{m}^2$ ), див. також Фіг. 50.

#### Приклад 21

Підвищена стійкість до вилягання є наслідком більш високого статусу води у рослини під час наливання зерна (через підвищене споживання води)

Велика маса стовбура в зрілості є компонентом стійкості до вилягання. RWC на середині стадії наливання зерна (FL-2) високо негативно корелювала із масою стовбура в зрілості для ряду Stg NILів, вирощених в умовах обмеженого водопостачання при двох щільностях сільськогосподарської культури (Фіг. 51). Інтрогресія Stg1 в RTx7000 збільшувала RWC на середині стадії наливання зерна (FL-2) і масу стовбура в зрілості при HD і LD, при цьому більшій стрес був при HD. Відносно RTx7000, Stg1 збільшувала масу стовбура в зрілості на 9 % при LD (224 проти 203  $\text{g}/\text{m}^2$ ) і 29 % при HD (286 проти 204  $\text{g}/\text{m}^2$ ). Отже, сприятливий ефект Stg1, із точки зору стійкості до вилягання, збільшувався із ростом рівня водного дефіциту.

Біомаса у період після цвітіння, головним чином, складається із а) маси стебла у період після цвітіння (PASM), мірою мобілізованого стовбурового резерву і компонента стійкості до вилягання і б) урожаю зерна. Виробники зерна вимагають максимізації як урожаю зерна, так і стійкості до вилягання, тобто вони не хочуть одного за рахунок іншого. Маса стебла у періоді після цвітіння високо лінійно корелювала із PAB за умовами HD і LD (Фіг. 52). У той час як Stg1 здійснював невеликий вплив на PASM при більш слабкій засусі (LD), кількість сухої маси, переміщеної із стебла під час наливання зерна, була набагато менше для Stg1 у порівнянні із RTx7000 (85 проти 139  $\text{g}/\text{m}^2$ ) при більш важкій засусі (HD). Це приводило до більшої маси стовбура в зрілості для Stg1 відносно RTx7000 (286 проти 204  $\text{g}/\text{m}^2$ ), який, у свою чергу, повинен мати підвищену стійкість до вилягання.

У той час як кореляція між PASM і PAB була високою при HD і LD (Фіг. 51), кореляції між урожаєм зерна і PAB були низькими при обох щільностях (Фіг. 52). Stg1 інтрогресії в RTx7000 збільшувала урожай зерна при HD і LD, хоч PAB було вище тільки при HD. Потрібно зазначити, що більш високий урожай зерна для Stg1 у порівнянні із RTx7000 (290 проти 184  $\text{g}/\text{m}^2$ ) при HD досягався із значно меншою кількістю стовбурового резерву для Stg1, ніж для RTx7000 (85 проти 139  $\text{g}/\text{m}^2$ ), вказуючи на те, що потреба у вуглеці під час наливання зерна значною мірою покривалася поточною фотоасиміляцією і стовбуровим резервом для Stg1 і RTx7000, відповідно.

Потенційний компроміс між PASM і урожаєм зерна виділений на Фіг. 53. При HD Stg1 досягав найбільшого урожаю зерна при будь-якій інтрогресії (290  $\text{g}/\text{m}^2$ ), зберігаючи втрату маси стовбура до 85  $\text{g}/\text{m}^2$ . У порівнянні із RTx7000 Stg1 оптимізував компроміс між урожаєм зерна і



PASM. Подальше зниження у споживанні стовбурового резерву за допомогою Stg24 (38 г/м<sup>2</sup>) приводило до більш низького урожаю зерна (263 г/м<sup>2</sup>). При LD Stg1 також давав високий урожай зерна відносно RTx7000 (282 проти 214 г/м<sup>2</sup>), споживаючи небагато менше стовбурового резерву (46 проти 50 г/м<sup>2</sup>). Тому при обох щільностях Stg1 давав більш високі урожай зерна і стійкість до вилягання, ніж RTx7000.

Регресія між PASM і масою стовбура в зрілості була відносно плоскою для різних інтрогресій Stg при HD і LD, хоч RTx7000 випадав нижче ліній регресії в обох випадках. Для заданого рівня споживання стовбурового резерву (наприклад, ~140 г/м<sup>2</sup> при HD або 50 г/м<sup>2</sup> при LD), інтрогресія області Stg в RTx7000 значно збільшувала стовбурову масу в зрілості, вказуючи на те, що деякий інший фактор (наприклад, міцність стовбура), у доповнення до кількості стовбурового резерву був важливий.

Маса стебла у період після цвітіння (PASM) високо лінійно корелювала із PAB за умовами HD і LD (Фіг. 54). Функції кореляції при HD і LD були майже паралельні із зміщенням на приблизно 50 г/м<sup>2</sup>, тобто для заданого рівня PAB, скажімо 300 г/м<sup>2</sup>, PASM складала на ~50 г/м<sup>2</sup> менше при HD, ніж при LD (~100 проти ~50 г/м<sup>2</sup>). Це відображає більш високий рівень впливу в обробці HD. При HD і Stg1 і Stg1a споживали ~80 г/м<sup>2</sup> стовбурового резерву у порівнянні із майже 140 г/м<sup>2</sup> для RTx7000, все ж Stg1, давала на ~28 % PAB більше, ніж Stg1a при еквівалентному споживанні стовбурового резерву. При LD, Stg1a і в меншій мірі Stg1, обидва збільшували PAB відносно RTx7000. Однак, у той час як Stg1a приводила до споживання на ~60 г/м<sup>2</sup> менше стовбурового резерву, ніж RTx7000, Stg1 приводила до споживання на ~20 г/м<sup>2</sup> більше стовбурового резерву, ніж RTx7000.

Урожай зерна позитивно корелював із PAB при HD і LD. При HD, Stg1 випереджав за урожаєм RTx7000 на 24 %, хоч Stg1a був еквівалентний RTx7000 за урожаєм зерна. При LD, Stg1 і Stg1a випереджали за урожаєм RTx7000 на 42 % і 20 %, відповідно.

У цьому експерименті не було ніякого компромісу між PASM і урожаєм зерна, оскільки кореляція між цими параметрами була позитивною і лінійною для обох густот сільськогосподарської культури (Фіг. 55). При HD Stg1 демонстрував самі високі стовбурову масу і урожай зерна для всіх інтрогресій Stg, підтверджуючи, що урожай зерна і стійкість до вилягання не є взаємовиключаючими.

Зв'язок між PASM і стовбуровою масою в зрілості позитивно корелював при HD і негативно корелював при LD. При HD PASM і стовбурова маса в зрілості були обидва значно вище для Stg1, ніж для RTx7000. При LD стовбурова маса в зрілості була вище для Stg1, ніж для RTx7000 (314 проти 271 г/м<sup>2</sup>), хоч Stg1 приводила до споживання більшої кількості стовбурового резерву у порівнянні із RTx7000 (87 проти 66 г/м<sup>2</sup>). Загалом, Stg1 збільшувала стовбурову масу в зрілості на 22 % (HD) і 16 % (LD) у порівнянні із RTx7000. Крім того, Stg1a приводила до споживання значно меншої кількості стовбурового резерву, ніж RTx7000 при обох щільностях сільськогосподарської культури.

Маса стебла у період після цвітіння (PASM) високо лінійно корелювала із PAB за умовами HD і LD (Фіг. 56). Спадкова мінливість у споживанні резерву стебла у період після цвітіння коливалася від ~30 до 110 г/м<sup>2</sup> при LD, і від ~100 до 160 г/м<sup>2</sup> при HD, відображаючи більш високий рівень впливу при обробці HD. При HD, батьківська Stg1 (6078-1) і два із рекомбінантних генів Stg1 (10604-5 і 10709-5) приводили до споживання значно меншої кількості стовбурового резерву у порівнянні із RTx7000 (~100 проти 160 г/м<sup>2</sup>), при цьому все ж продукували більше PAB, ніж RTx7000 (~170 проти 130 г/м<sup>2</sup>). При LD, тільки один із рекомбінантних генів Stg1 (10568-2) приводили до значно меншого споживання стовбурового резерву, ніж RTx7000 (~30 проти 60 г/м<sup>2</sup>), і давали більше PAB, ніж RTx7000 (~310 проти 230 г/м<sup>2</sup>).

Урожай зерна позитивно корелював із PAB при LD і негативно корельований при HD, хоч, загалом (комбінація HD і LD), залежність була позитивною, вважаючи RTx7000 (HD) викидом в даних.

У цьому експерименті не було ніякого компромісу між PASM і урожаєм зерна, оскільки кореляція між цими параметрами була позитивною і лінійною для обох густот сільськогосподарської культури. При HD батьківська Stg1 (6078-1) демонструвала високу стовбурову масу і урожай зерна у порівнянні із іншими інтрогресіями Stg1. Дані RTx7000 були аномалією при HD, демонструючи низьку стовбурову масу, і високий урожай зерна. При LD 10709-5 і 10568-2 демонстрували високі маси стовбурів і урожаї зерна у порівнянні із RTx7000.

Зв'язок між PASM і стовбуровою масою в зрілості позитивно корелював при обох щільностях. При HD і PASM і стовбурова маса в зрілості були значно вище для 6078-1 і 10709-5, ніж для RTx7000. При LD тільки один рекомбінантний ген Stg1 (10568-2) випереджав RTx7000 по PASM і стовбуровій масі в зрілості.



## Приклад 22

Більш високий урожай зерна є наслідком більш високого статусу води в рослині під час наливання зерна

Інтрогресія Stg1 у початковий RTx7000 збільшувала статус води рослини в середині наливання зерна, як указано за допомогою а) більш високого відносного вмісту води (RWC) в FL-2 при LD і HD, більш низького водного потенціалу листка (LWP) в FL-2 при LD і HD. У цілому, рослини випробовували більший стрес при LD, ніж при HD в цьому експерименті, який показує більш низьке RWC при LD. Однак, корисний ефект Stg1 на статус води в рослині був більш істотним при HD, коли RWC було на 26 % вище для Stg1, ніж для RTx7000.

RWC в середині наливання зерна в FL-2 позитивно корелювало із урожаєм зерна при HD і LD. При більш високих рівнях дефіциту води у рослини ( $RWC < 73$ ), урожай зерна був вище при LD, ніж при HD для заданого рівня RWC. RWC і урожай зерна були вище для Stg1, ніж для RTx7000 при обох щільностях сільськогосподарської культури. Наприклад, для Stg1 при HD 26 %-е збільшення RWC було пов'язане із 58 %-им збільшенням урожаю зерна відносно RTx7000.

Водний потенціал листка (LWP) в FL-2 в середині наливання зерна негативно корелював із урожаєм зерна за умовами HD і LD (Фіг. 57). При обох щільностях Stg1 демонстрував більш низький LWP (менше піддане стресу) і більш високий урожай зерна відносно RTx7000. Ці дані, разом із даними RWC, забезпечують переконливі докази зв'язку між більш високим статусом води в рослині під час наливання зерна із підвищеним урожаєм зерна завдяки області Stg1.

## Приклад 23

Більш високий урожай зерна і більший розмір зерен є наслідками підвищеної доступності води під час наливання зерна

Критичним по відношенню до гіпотези про функцію Stg1 є зв'язок між споживанням води до і після періоду цвітіння і, згодом, зв'язок між споживанням води у період після цвітіння і урожаєм зерна. Ген Stg1 не має великого значення на польовому рівні, якщо немає ніякого зв'язку між підвищеною доступністю води під час наливання зерна і або урожаєм зерна або розміром зерен.

По-перше, важливо встановити зв'язок між співвідношенням біомас до:після періоду цвітіння (PPBR) і споживанням води сільськогосподарською культурою (CWU) під час наливання зерна. CWU під час наливання зерна залишався низьким (при точці відліку  $\sim 85$  і  $95$  мм для LD і HD, відповідно), поки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння не опускалося нижче  $\sim 3$  і  $2,5$  для LD і HD, відповідно (Фіг. 58). Нижче цього критичного значення CWU під час наливання зерна збільшувалося значно для кожного наступного кроку зниження цього співвідношення. При обох щільностях інтрогресії Stg1 знижували PPBR досить, щоб значно збільшити CWU у порівнянні із RTx7000.

По-друге, важливо показати зв'язок між CWU під час наливання зерна і урожаєм зерна. Загалом, ці параметри позитивно пов'язані в експерименті із ROS крім двох відмітних викидів в даних при LD (Stg2 і Stg3) [Фіг. 59]. Інтрогресія Stg1 в RTx7000 збільшувала і CWU під час наливання зерна і урожай зерна при обох щільностях сільськогосподарської культури.

Нарешті, зв'язок між PPBR і урожаєм зерна в умовах обмеженого водопостачання завершує картину (Фіг. 59). Урожай зерна залишався низьким (при точці відліку  $\sim 410$  г/м<sup>2</sup>), поки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння не опускалося нижче  $\sim 2,7$  (Фіг. 59). Нижче цього критичного значення урожай зерна збільшувався значно для кожного наступного кроку зниження цього співвідношення. При обох щільностях інтрогресії Stg1 знижували PPBR досить, щоб значно збільшити урожай зерна у порівнянні із RTx7000. Ці дані показують критичний зв'язок між дією гена Stg1 (знижений розмір крони у періоді цвітіння) і урожаєм зерна при граничній засусі.

CWU під час наливання зерна позитивно корелювало із розміром зерен і при обробці HD і при LD (Фіг. 60). Інтрогресія Stg1 в RTx7000 значно збільшила розмір зерен при HD, але не при LD.

Зв'язок між PPBR і розміром зерен в умовах обмеженого водопостачання підкреслює важливість збереження води перед періодом цвітіння як визначального фактора розміру зерен (Фіг. 61). Розмір зерен залишався низьким (при точці відліку  $\sim 17$  і  $17,5$  мг для HD і LD, відповідно), поки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння не опускалося нижче  $\sim 2,7$  (Фіг. 61). Нижче цього критичного значення, розмір зерен, збільшувався значно для кожного наступного кроку зниження цього співвідношення. При HD, але не при LD, інтрогресії Stg1 знижували PPBR досить, щоб значно збільшити розмір зерен у порівнянні із RTx7000. Ці дані показують критичний зв'язок між дією гена Stg1 (знижений розмір крони у періоді цвітіння) і розміром зерна при граничній засусі.

CWU під час наливання зерна залишалося низьким (при точці відліку ~58 мм для HD), поки співвідношення біомас до:після періоду цвітіння не опускалося нижче ~3,5 (Фіг. 62). Потрібно зазначити, що PPBR не знижувався нижче критичного порога ні для якого генотипу при HD, отже, CWU під час наливання зерна залишалося відносно низьким для всіх генотипів у цій обробці. Однак, оскільки для генотипів значення опускалися нижче цього критичного значення при обробці LD, CWU під час наливання зерна збільшувалося значно для кожного наступного кроку зниження цього відношення. Тільки один рекомбінантний ген Stg1 (10709-5) збільшував CWU під час наливання зерен у порівнянні із RTx7000.

Загалом, CWU під час наливання зерна і урожай зерна позитивно корелювали за об'єднаними наборами даним для обробок HD і LD, при цьому генотипи показували більше споживання води і продукцію більшої кількості зерна при LD (Фіг. 63). Однак, зв'язок між цими параметрами не був дуже сильним. Також конкретні рекомбінантні гени Stg1 стійко випереджали RTx7000 по кількості урожаю при обробках HD і LD.

#### Приклад 24

#### Генетичний аналіз QTL і PIN

#### Аналіз QTL

Дані за ознакою залишатися зеленим QTL збирали із 7 досліджень (Crasta et al. (1999) Molecular and General Genetics 262:579-588; Hausmann et al. (2002) theoretical and Applied Genetics 106:133-142; Kebede et al. (2001) Theoretical and Applied Genetics 103:266-276; Srinivas et al. (2009) Theor Appl Genet 118:703-717; Subudhi et al. (2000) Theor App Genet 101:733-741; Tao et al. (2000) Theor Appl Genet 100:1225-1232; Xu et al. (2000) Genome 43:461-469). В 7 дослідженнях ідентифікували 47 індивідуальних QTL і нанесли на консенсусну карту сорго (Mace et al. (2009) BMC Plant Biol. 9:13). Якщо передбачувані довірчі інтервали (CI) QTL для однієї і тієї ж ознаки накладалися, то ці QTL групували в мета-QTL. Дев'ять мета-QTL ознаки "залишатися зеленим" ідентифікували таким чином. QTL однієї і тієї ж ознаки класифікували як окремі QTL, якщо їх CI не накладалися, і середні значення для QTL розташовувалися на відстані менше ніж або дорівнює 15 см один від одного.

Аналіз QTL шляхом статистичної комп'ютерної обробки (SML) (Bedo et al. (2008) BMC Genetics 9:35) проводили на ряді із більш, ніж 500 записів у випробуванні DEEDI сорго рут із чоловічими особинами. 23 QTL, ідентифіковані із імовірністю < 0,05, також наносили на консенсусну карту.

#### Генний аналіз PIN

Всі доступні PIN-гени в рисі і Arabidopsis досліджували за допомогою NCBI (www.ncbi.org). Всього ідентифікували послідовності для 9 рисових PIN-генів (OsPIN1, OsPIN1b, OsPIN1c, OsPIN2, OsPIN3a, OsPIN3b, OsPIN4, OsPIN5, OsPIN6) і 3 PIN-генів Arabidopsis (AtPIN1, AtPIN2, AtPIN4). Всі гени (білкові послідовності) досліджували за допомогою BLAST на WGS сорго (www.gramene.org) і 100 кращих попадань ідентифікували. Порівнювали бал (S-величина: міра схожості, яка вивчається, із показаною послідовністю), E-величину (імовірність випадкова того, що існує інше вирівнювання із схожістю більшою, ніж дана S-величина), %ID і довжину гомологічної ділянки послідовностей для кожного із 1200 попадань. Залежність між 4 мірами аналізували, і S-величину вибирали як головну міру для оцінки імовірності схожості послідовностей. Після аналізу розподілу значень S бала, виділяли 3 категорії S балів (> 1000; > 499 і < 1000; < 499), і створювали список 11 генів сорго із балами > 499 (тобто в перших 2 категоріях). Див. таблицю 13.

Таблиця 13

ID гена сорго	Цільовий ген	JGI анотація
Sb02g029210	OsPIN6	"подібний білку Os09g0505400"
Sb03g029320	OsPIN3a	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 3a"
Sb03g032850	OsPIN1	"подібний передбачуваному неохарактеризованому білку"
Sb03g037350	OsPIN5	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 5"
Sb03g043960	OsPIN6	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 6"
Sb04g028170	OsPIN1	"подібний компоненту носія, із виділенням ауксину 1"
Sb05g002150	OsPIN1b	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 1b"

Таблиця 13 (продовження)

ID гена сорго	Цільовий ген	JGI анотація
Sb07g026370	OsPIN4	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 4"
Sb10g004430	OsPIN1	"подібний передбачуваному компоненту носія, із виділенням ауксину 3b"
Sb10g008290	OsPIN1c	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 1c"
Sb10g026300	OsPIN2	"подібний вірогідному компоненту носія, із виділенням ауксину 2"

## Порівняння

- 5 Із 11 ідентифікованих PIN ортологів 10 (90,9 %), вирівняні по відомому QTL за ознакою "залишатися зеленим". Тільки один із 11 PIN-генів сорго (Sb03g043960 на SBI-03, відмічений сірою зіркою на Фіг. 65 і 66) не був вирівняний ні по одному із наведених QTL. Із 79 зображених на графіках QTL (23 SML-QTL і 56 із літератури/мета-QTL) 30 (38 %) вирівняні за ортологами PIN.

## Приклад 25

- 10 Аналізи PIN2, PIN3, PIN4 і PIN5

Джерело ознаки "залишатися зеленим" BTx642 (B35) і майже ізогенні лінії (NIL), які містять Stg1, Stg2, Stg4 QTL, що так само як контрастує старіючу лінію Tx7000, вирощували в кореневих трубках в теплиці.

- 15 Мета експерименту полягала в тому, щоб виміряти рівні експресії генів, які ідентифіковані у даному описі як гени-кандидати ознаки "залишатися зеленим" в умовах хорошого зволоження і після впливу на рослини стресу від засухи для того, щоб бачити, чи є які-небудь відмінності в експресії у рослин із ознакою залишатися-зеленою у порівнянні із старіючими рослинами.

Експеримент розділили на дві частини: ранній стрес від засухи (Exp1) і пізній стрес від засухи (Exp2).

- 20 Результати раннього експерименту із стресом від засухи показані у таблиці 14.

Таблиця 14

Ген	ID гена	Гомолог рису	Stg QTL	Коментар
SbPIN2	Sb03g029320	OsPIN3a	Stg2	Stg2 кандидат
SbPIN3	Sb03g032850	OsPIN1	Stg1	Верхній Stg1 QTL
SbPIN4	Sb03g037350	OsPIN5	Stg1	Stg1-кандидат
SbPIN5	Sb03g043960	OsPIN6	Stg1	Нижній Stg1 QTL

Підсумок основних відмінностей в експресії цих PIN-генів наведений нижче (Таблиця 15 і фіг. 67A-D).

25

Таблиця 15

Ген	Головні тканини	Відповідь на WD	Диференційна експресія
SbPIN4 (Stg1-кандидат)	WW: мало в листку, багато в корінні, WD: мало в листку, багато в корінні	Більш низька експресія в більшості тканин	WW: вище в Tx7000 проти BTx642 і Stg1 в корінні, (Фіг. 1), WD: вище для Stg1 і BTx642 проти Tx7000 в листку, стеблах і верхньому корінні (Фіг. 2)
SbPIN2, (Stg2-кандидат)	WW: багато в листку, мало в корінні, WD: багато в листку, мало в корінні	Збільшення в корінні, зменшення в стеблах	WW: вище в Stg2/BTx642 проти Tx7000 в стеблі і корінні (Фіг. 3), WD: вище в BTx642 і в меншій мірі Stg2 проти Tx7000 в більшості тканин крім старого коріння (Фіг. 4)

Таблиця 15 (продовження)

Ген	Головні тканини	Відповідь на WD	Диференційна експресія
SbPIN3	Невеликий розкид середовищ тканин	Слабка відповідь на WD	WD: мало в BTx642/Stg1 проти Tx7000
SbPIN5	WW: багато в листку, мало в корінні, WD: багато в листку, мало в корінні	Збільшення в корінні, не сильна зміна в листку	WW: вище для Stg1 (і в набагато меншій мірі Tx642) проти Tx7000 у верхньому молодому корінні особливо, WD: вище для Stg1 (і в меншій мірі) BTx642 проти Tx7000 в стеблі

Емергентні патерни ідентифікували для SbPIN4 і SbPIN2, Stg1 і Stg2, відповідно.

У обох випадках експресія цих генів була вищою в лініях із ознакою "залишатися зеленим" у порівнянні із старіючою лінією у відповідь на водний дефіцит.

Ці два PIN-гени показали відмінності в тканині-специфічності. SbPIN4, загалом (за всіма умовами), більш сильно експресувався в корінні і стеблах і менше експресувався в листку, в той час як SbPIN2, загалом, показав більш сильну експресію в листку і стеблах і більш слабку експресію в корінні).

Приклад 26

Визначення локусів StgX

У таблицях 1B і 1C наведені приклади локусів, розташованих в: Stg1: область тонкого генетичного картування між tpx563 і tpx581, яка містить 60 анотованих генів, більш велика середня область між tpx440 і tpx580, яка містить 307 анотованих генів, кандидати в хвості між tpx580 і tpx38, які містять 178 анотованих генів; Stg2: область тонкого генетичного картування між tpx512 і tpx2, яка містить 15 анотованих генів, більш велика область між tpx31 і tpx530, що містить 241 ген, що анотується; Stg3a: вся область між tpx298 і sPb-2568, яка містить 520 анотованих генів; Stg3b: вся область між sPb-2568 і tpx179, яка містить 291 ген, який анотується; Stg4: вся область, визначена tpx283 і tpx15, яка містить 306 анотованих генів, те як ці різні локуси вписуються в різну біохімічний і фізіологічний шляхи зображено на Фіг. 68.

У одному із варіантів здійснення локус в Stg1 вибраний із PIN5, GID1L2, P45098A1, нечутливих до індол-3-ацетату і брасиностероїдів.

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться в Stg2 і є компонентом носія, який виділяє ауксин 3a (PIN3a).

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться в Stg3a, вибраний із білка, подібного білку, який відповідає за старіння листка (Sb02g023510), білка, подібного білку, який відповідає за старіння листка (Sb02g023520), RAMOSA1 C2H2 із доменом "цинкові пальці" білка фактора транскрипції (Sb02g024410), передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g024540), білка, схожого із білком, подібним білку, чутливому до дегідратації (Sb02g024670), білка, схожого із транспортером глюкози (Sb02g024690), WRKY білка фактора транскрипції 76 (Sb02g024760), глутамінсинтазаподібного білка (Sb02g025100), білка, який асоційований із старінням DH (Sb02g025180), передбачуваної аланінамінотрансферази (Sb02g025480), білка, подібного ауксин-індукованому білку (Sb02g025610), білка, подібного ауксин-індукованому білку (Sb02g025620), передбачуваного білка із непарною відповіддю в дальній червоній області (Sb02g025670), білка, подібного (цитохром-P450)-монооксигеназі CYP92A1 (Sb02g025820), ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g025960), аспартатамінотрансферази (Sb02g026430), білка, подібного 8'-гідроксилазі 3 абсцизинової кислоти (Sb02g026600), білка, схожого із етилен-зв'язувальним білком (Sb02g026630) і сімейства передбачуваних ауксин-індукованих білків (Sb02g027150).

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться в Stg3b, вибраному із передбачуваного ауксин-незалежного прискорювача росту (Sb02g027470), Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g028420), білка, подібного білку Os09g0505400 (OsPIN9) (Sb02g029210), Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 17 (Sb02g029300), білка, схожого із ауксин-індукованим білком (Sb02g029630).

У одному із варіантів здійснення локус знаходиться в Stg4, вибраному із рецептора брасиностероїду LRR (Sb05g006842), рецептора брасиностероїду LRR (Sb05g006860), передбачуваного білка із непарною відповіддю в дальній червоній області (Sb05g007130), цитохрому P450 84A1 (Sb05g007210), рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g007270), рецептора

гібереліну GID1L2 (Sb05g007290), сахароза-фосфат синтази (Sb05g007310), аквапорину SIP1-1 (Sb05g007520), гібереліну 20 оксидази 2 (Sb05g008460), OslAA29 - ауксин-чутливого білка (Sb05g008510), OslAA29 - ауксин-чутливого білка (Sb05g008512), білка-рецептора гібереліну GID1L2 (Sb05g008610), білка, подібного амінотрансферазі, передбачуваного білка (Sb05g009410), індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb05g010310), індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb05g010320), індол-3-оцтової кислоти амідопохідної сполуки (Sb05g010326), цитохрому P450 86A2 (Sb05g010360), цитохрому P450 51, передбачуваного білка (Sb05g011296), цитохрому P450 51, передбачуваного білка (Sb05g011430), триацилгліцеролліпази, білка старіння листка, білка GO біосинтезу жасминової кислоти (Sb05g013160), регулятора росту, такого як (Sb05g015590), цитохрому P450 78A4 (Sb05g016750), білка, подібного білку із сімейства ABC-транспортів, експресованого білка (Sb05g017120) і Squamosa промотор-зв'язувального подібного білка 19 (Sb05g017510).

Фахівці в даній області оціняють, що аспекти, наведені у даному описі, можуть легко мати варіації і модифікації крім, зокрема, описаних. Необхідно розуміти, що ці аспекти включають всі такі варіації і модифікації. Аспекти, наведені у даному описі, також включають всі стадії, властивості, композиції і сполуки, на які робиться посилання або вказані в цій специфікації, індивідуально або все разом, і будь-хто і всі комбінації будь-яких двох або більше із стадій або властивостей.

#### Бібліографія

- Andrade et al. (2002) *Crop Sci.* 42:1173-1179.  
 Bedo et al. (2008) *BMC Genetics* 9:35.  
 Borrell et al. (2000a) *Crop Sci.* 40:1026-1037.  
 Borrell et al. (2000b) *Crop Sci.* 40:1037-1048.  
 Borrell and Hammer (2000) *Crop Sci.* 40:1295-1307.  
 Christopher et al. (2008) *Aust. J. Agric. Res.* 59:354-364.  
 Crasta et al. (1999) *Molecular and General Genetics* 262:579-588.  
 Domagalska and Leyser (2011) *Bat Rev Mol Cell Biol* 12:211-221.  
 Forestan and Varotto (2009) *Plant Physiology*.  
 Friml et al. (2003) *Current Opinion in Plant Biology* 6:7-12.  
 Garud et al. (2002) *Int. Sorghum and Millets Newsl.* 43:63-65.  
 Hammer et al. (1997) *Aust. J. Agric. Res.* 48:649-655.  
 Hammer (2006) *Agric. Sci.* 19:16-22.  
 Harris et al. (2007) *J. Exp. Bot.* 58:327-338.  
 Hausmann et al. (2002) *Theoretical and Applied Genetics* 106:133-142.  
 Henderson et al. (1998) *Aust. J. Plant Physiol.* 25:111-123.  
 Henzell et al. (1997) *Australia Int. Sorghum and Millets Newsl.* 38:1-9.  
 Jiao et al. (2010) *Nature Genetics* 42:541-544.  
 Jordan et al. (2003) *Theor. Appl. Genet.* 106:559-567.  
 Kashiwagi et al. (2006) *Plant Physiology and Biochemistry* 44:152-157.  
 Kassahun et al. (2010) *Euphytica* 72:351-362.  
 Kebede et al. (2001) *Theoretical and Applied Genetics* 103:266-276.  
 Mace et al. (2009) *BMC Plant Biol.* 9:13.  
 Manschadi et al. (2006) *Funct. Plant. Biol.* 33:823-837.  
 Miura et al. (2010) *Nature Genetics* 42:545-549.  
 Mortlock and Hammer (1999) *J. Crop Prod.* 2:265-286.  
 Passioura (1977) *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* 43:117-120.  
 Rashotte et al. (2000) *Plant Cell* 13:1683-1697.  
 Reddy et al. (2008) *Euphytica* 159:191-198.  
 Rosenow et al. (1983) *Agric. Water Manag.* 7:207-222.  
 Sadras and Connor (1991) *Field Crops Res.* 26:227-239.  
 Spano et al. (2003) *J. Exp. Bot.* 54:1415-1420.  
 Springer (2010) *Nature Genetics* 42:475-476.  
 Srinivas et al (2009) *Theor Appl Genet* 118:703-717.  
 Subudhi et al. (2000) *Theor Appl Genet* 101:733-741.  
 Tao et al. (2000) *Theor Appl Genet* 100:1225-1232.  
 Tenkouano et al. (1993) *Theor. Appl. Genet.* 85:644-648.  
 Turner (2004) *J. Exp. Bot.* 55:2413-2425.  
 Van Oosterom and Hammer (2008) *Field Crops Res.* 108:259-268.  
 Van Oosterom et al. (2010a) *Field Crops Res.* 115:19-28.  
 Van Oosterom et al. (2010b) *Field Crops Res.* 115:29-38.

Wang et al. (2009) *Molecular Plant* 2(4):823-831.

Xin et al. (2009) *Field Crops Res.* 111:74-80.

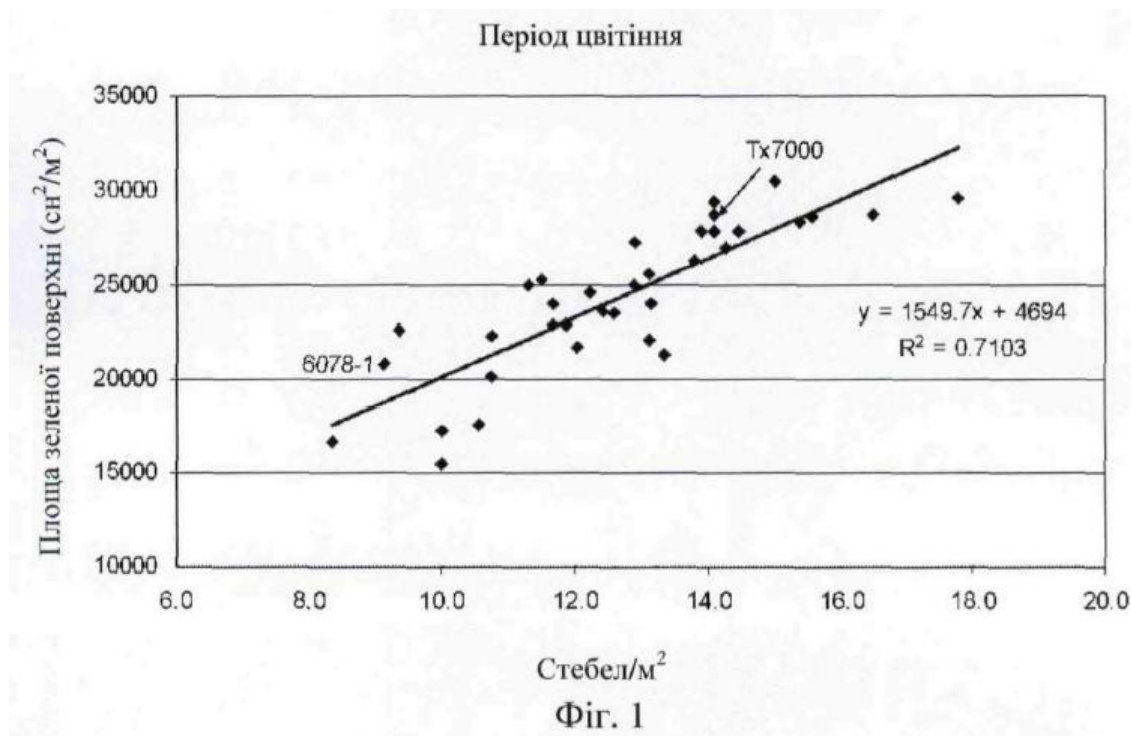
Xu et al. (2000) *Genome* 43:461-469.

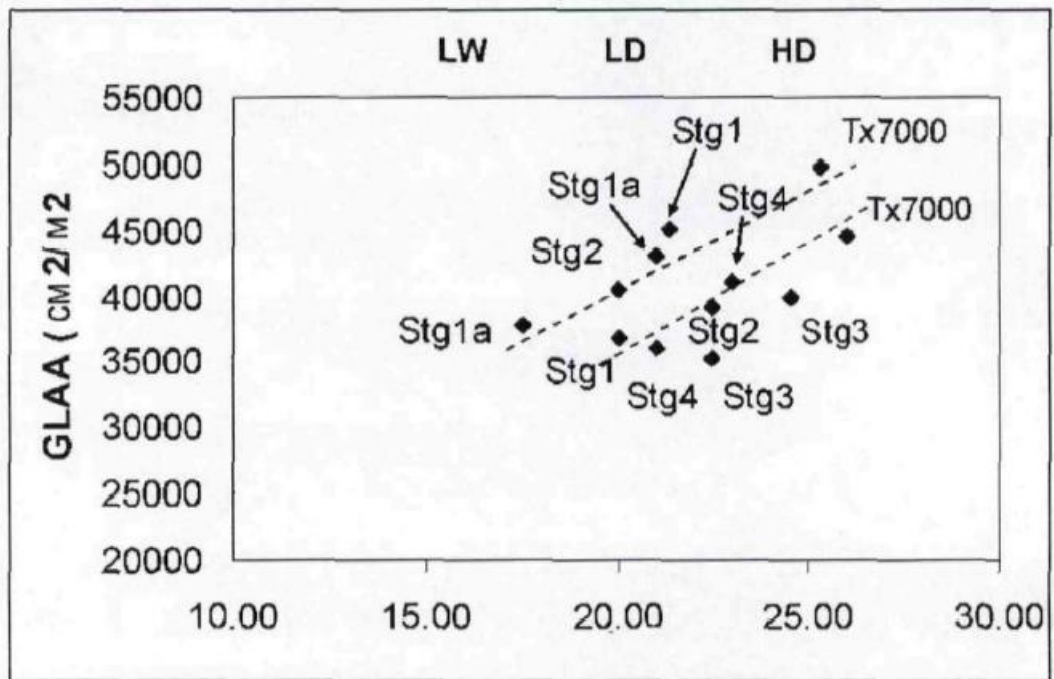
Zheng et al. (2009) *Plant Breed* 128:54-62.

5

### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

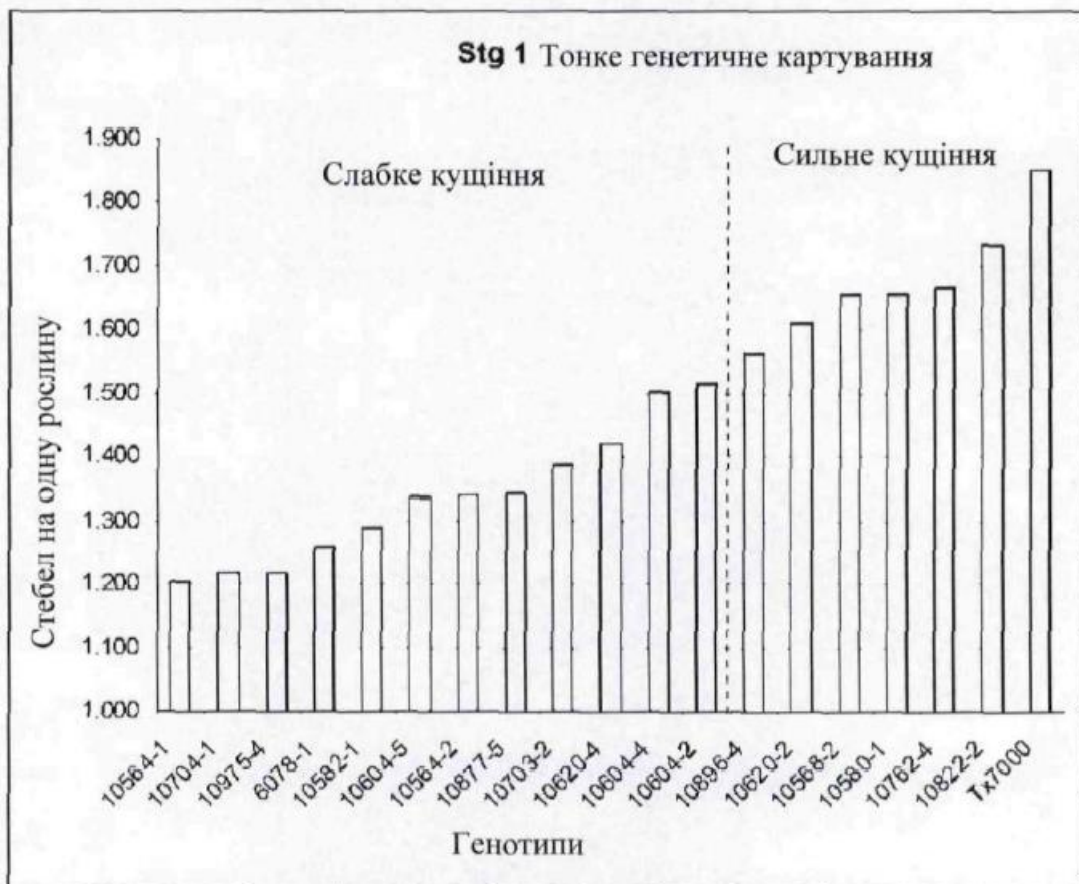
1. Спосіб отримання генетично модифікованої рослини, яка ефективніше використовує воду, ніж генетично немодифікована рослина тих же самих видів, де вказаний спосіб включає стадію введення в рослину або батьківську рослину послідовності нуклеїнової кислоти, яка кодує SbPIN1 і яка асоційована з фенотипом "залишатися зеленим", причому включає в себе зсув в споживанні води на період після цвітіння або підвищену доступність води під час росту сільськогосподарської культури або підвищену ефективність транспірації, що приводить до збільшення індексу збирання урожаю і урожаю зерна в умовах обмеженого водопостачання, і причому SbPIN1 кодується геном сорго ID Sb02g029210, що розташований від пари основ 64347327 до пари основ 64350341.
2. Спосіб за п. 1, в якому генетично модифікована рослина є рослиною сорго.
3. Спосіб за п. 1, в якому генетично модифікована рослина вибрана з пшениці, вівса, кукурудзи, ячменю, жита і рису.
4. Спосіб за п. 1, в якому генетично модифікована рослина вибрана з абаки, люцерни, мигдалю, яблуні, спаржі, банана, квасолі, ожини, кормових бобів, каноли, кеш'ю, каваї, нуту, цитрусових, кокосового горіха, кави, кукурудзи, бавовнику, фіги, льону, винограду, земляного горіха, гашишу, кенафи, лаванди, оману, гриба, маслини, цибулі, гороху, арахісу, груші, американського проса, картоплі, рамі, рапсу, пажитниці, сої, полуниці, цукрового буряку, цукрової тростини, соняшнику, батату, колоказії, чаю, тютюну, томата, тритикале, трюфеля і яму.
5. Спосіб за п. 1, в якому фенотип "залишатися зеленим" додатково включає фенотип, вибраний з підвищеної пластичності архітектури крони, зменшеного розміру крони, збільшеної біомаси на одиницю листової поверхні в період цвітіння, більш високої ефективності транспірації, підвищеного споживання води під час наливання зерна, зниженого утворення біомаси в період до і після цвітіння і затримки старіння.
6. Спосіб за п. 1, в якому фенотип "залишатися зеленим" додатково включає більший розмір зерна.





Стебел/м² у період цвітіння

Фіг. 2



Фіг. 3



	Tx7000	NIL10877-5	NIL10975-4	NIL10604-4	6078-1	NIL10582-1	NIL10604-2	NIL10604-5	NIL10564-1	NIL10568-2	NIL10620-4	NIL10704-1	NIL10564-2	NIL10620-2	NIL10703-2	NIL10822-2	NIL10762-4	NIL10896-4	NIL10580-1
txa2506	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	TT	BB	BB	TT	BB	BB	BB	TT
txa2179	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT
txp114	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
CORN031	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT
TS196	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT
txp196	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	BB	BB	BB	TT
txa2961	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT
BH245191	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT
BG411222	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT
txp439	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	x	BB	x	BB	TT	TT	TT	TT	TT
txp440	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	x	BB	x	x	TT	TT	TT	TT	TT
txp542	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	BB	x	BB	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp563	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	x	x	x	x	TT	x	TT	TT	TT	TT
txa3676	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	BB	TT	TT	TT	TT
txa2986	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	BB	TT	TT	TT	TT
txp581	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp587	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp446	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp442	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03Q GM106	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03Q GM109	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03Q GM110	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03Q GM121	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp580	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp564	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp565	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txa3380	TT	BB	BB	TT	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp572	TT	BB	BB	TT	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp583	TT	BB	BB	TT	BB	BB	BT	BT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03Q GM116	TT	BB	BB	TT	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp447	TT	BB	BB	TT	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp38	TT	BB	BB	TT	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txa3008	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txa422	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT

Fig. 4



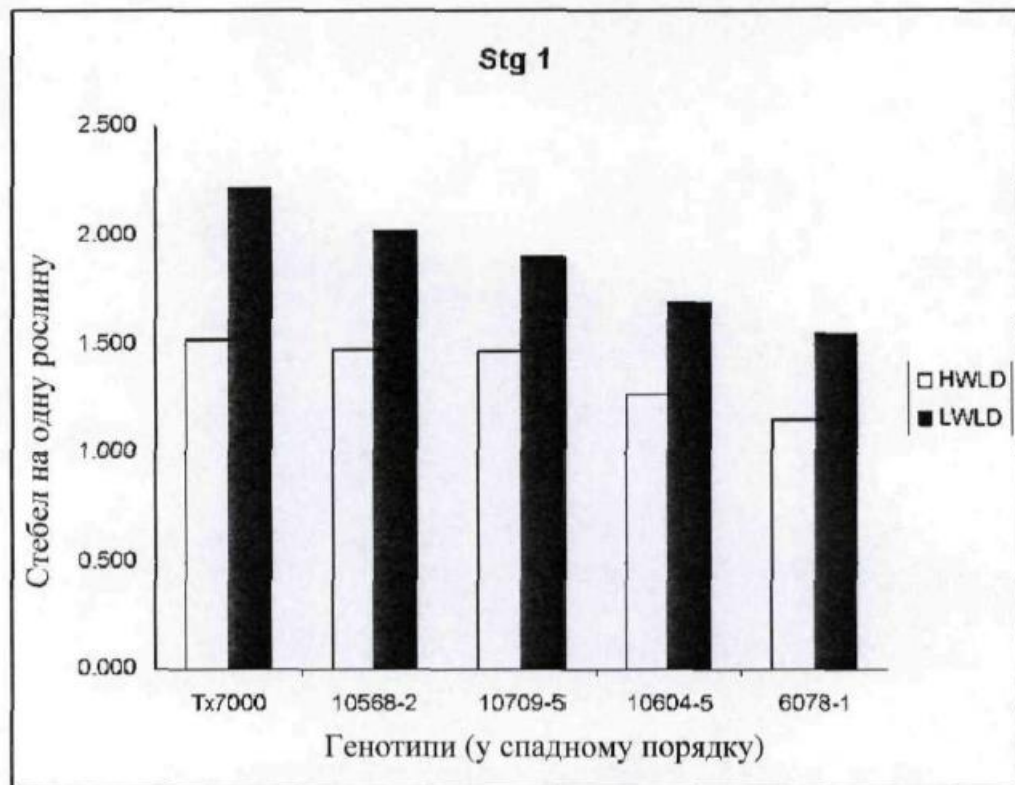
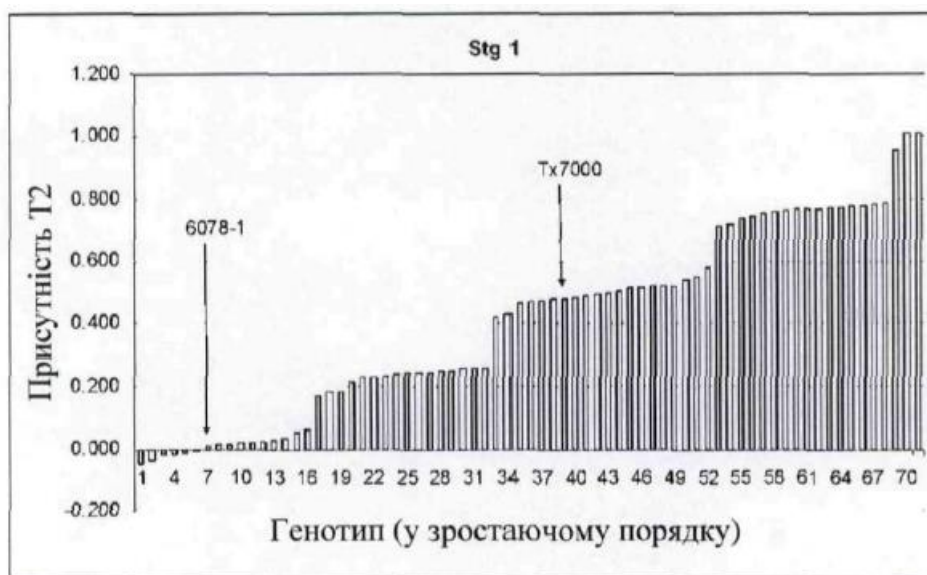


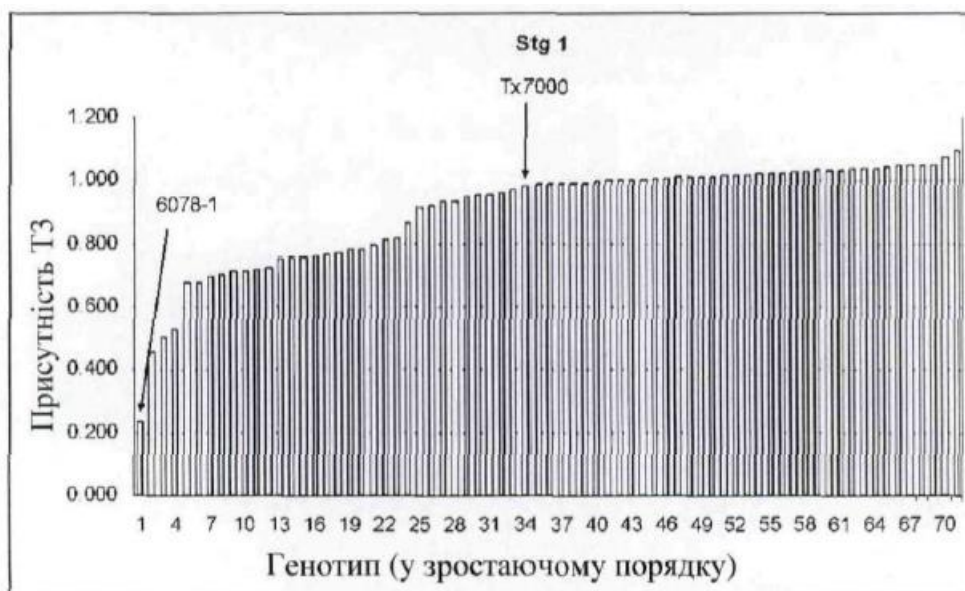
Fig. 5

	Tx7000	NIL10709-5	6078-1	NIL10604-5	NIL10568-2
txa2506	TT	TT	TT	BB	BB
txa2179	TT	TT	BB	BB	BB
txp114	TT	TT	BB	BB	BB
CORN031	TT	TT	BB	BB	BB
TS196	TT	TT	BB	BB	BB
txp196	TT	TT	BB	BB	BB
txa2961	TT	TT	BB	BB	BB
BH245191	TT	TT	BB	BB	BB
BG411222	TT	TT	BB	BB	BB
txp439	TT	TT	BB	BB	BB
txp440	TT	TT	BB	BB	BB
txp542	TT	TT	BB	BB	BB
txp563	TT	TT	BB	BB	x
txa3676	TT	TT	BB	BB	TT
txa2986	TT	TT	BB	BB	TT
txp581	TT	TT	BB	BB	TT
txp587	TT	TT	BB	BB	TT
txp446	TT	TT	BB	BB	TT
txp442	TT	TT	BB	BB	TT
Sb03QGM106	TT	x	BB	BB	TT
Sb03QGM109	TT	BB	BB	BB	TT
Sb03QGM110	TT	BB	BB	BB	TT
Sb03QGM121	TT	BT	BB	BB	TT
txp580	TT	BT	BB	BB	TT
txp564	TT	x	BB	BB	TT
txp565	TT	x	BB	BB	TT
txa3390	TT	BB	BB	TT	TT
txp572	TT	x	BB	TT	TT
txp583	TT	x	BB	BT	TT
Sb03QGM116	TT	BT	BB	TT	TT
txp447	TT	x	BB	TT	TT
txp38	TT	BB	BB	TT	TT
txa3008	TT	TT	TT	TT	TT
txa422	TT	TT	TT	TT	TT

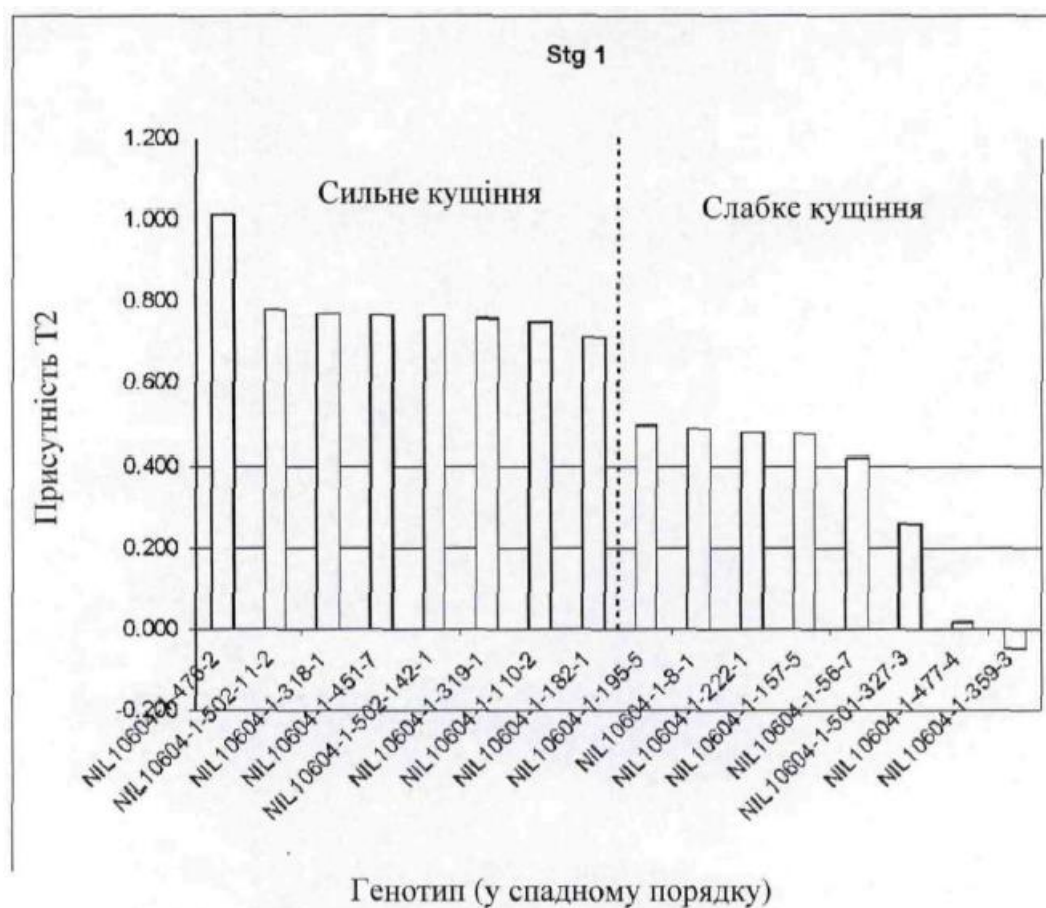
Fig. 6



Фіг. 7



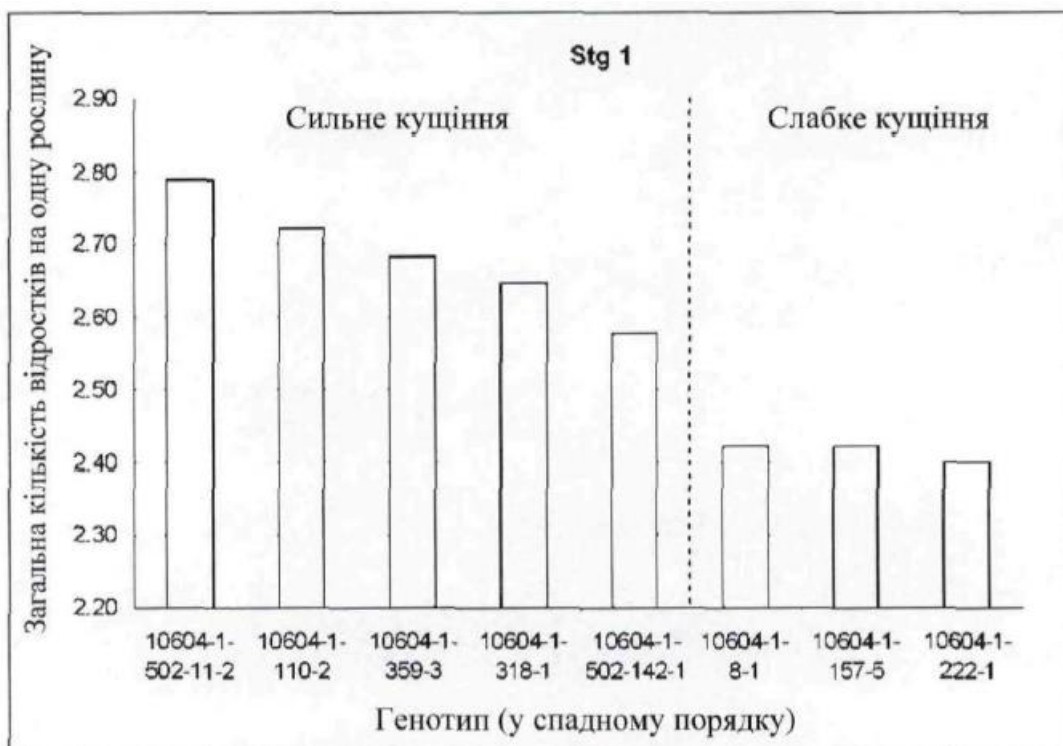
Фіг. 8



Фіг. 9

	NIL10604-1-502-11-2	NIL10604-1-502-142-1	NIL10604-1-110-2	NIL10604-1-157-5	NIL10604-1-359-3	NIL10604-1-318-1	NIL10604-1-8-1	NIL10604-1-222-1	NIL10604-1-501-327-3	NIL10604-1-477-4	NIL10604-1-56-7	NIL10604-1-195-5	NIL10604-1-182-1	NIL10604-1-451-7	NIL10604-1-319-1	NIL10604-1-476-2
txa2506	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
txa2179	x	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp114	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
CORN031	x	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
TS196	x	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp196	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txa2961	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
BH245191	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
BG411222	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp439	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp440	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT
txp542	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT
txp563	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT
txa3676	TT	TT	TT	TT	x	x	BB	BB	BB	x	x	x	x	TT	TT	TT
txa2986	TT	TT	TT	TT	x	x	BB	BB	BB	x	x	x	x	TT	TT	TT
txp581	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp587	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp446	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp442	TT	BT	BB	BB	BB	BT	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03QGM106	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03QGM109	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM110	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM121	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp580	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp564	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp565	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txa3390	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
txp572	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp583	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03QGM116	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp447	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp38	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT

Fig. 10



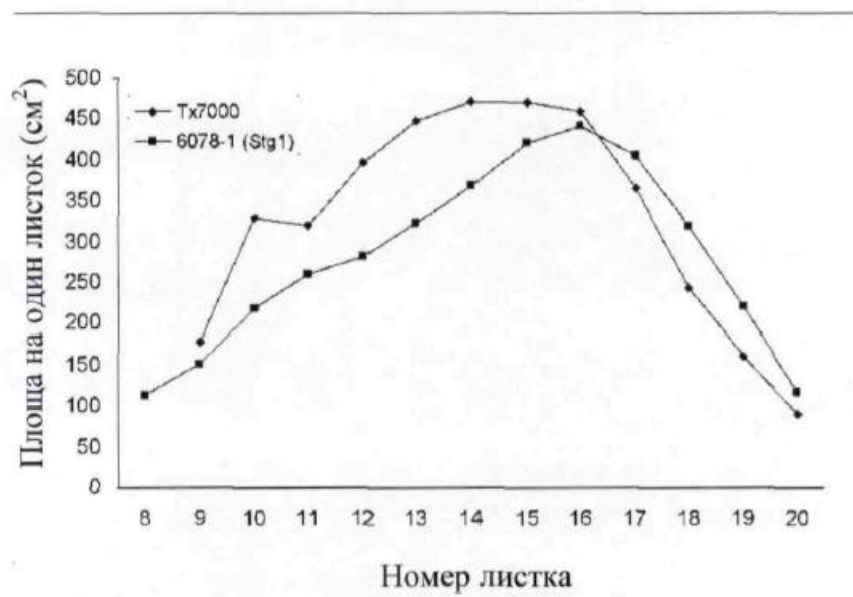
Фіг. 11



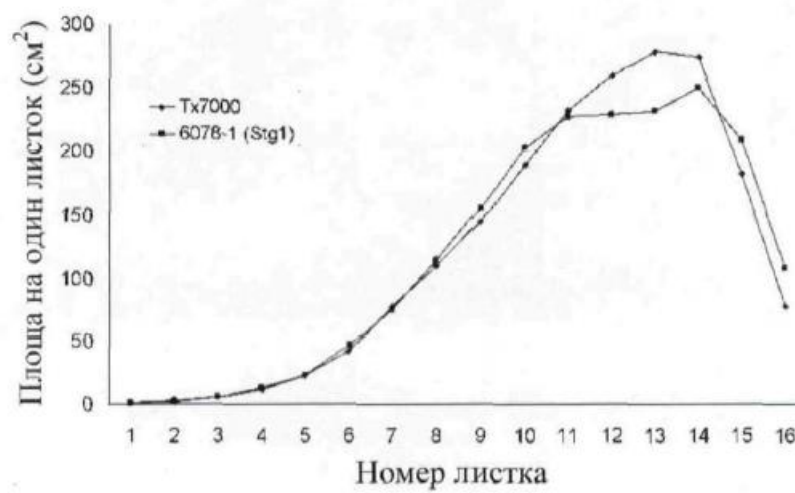
	NIL10604-1-502-11-2	NIL10604-1-502-142-1	NIL10604-1-110-2	NIL10604-1-157-5	NIL10604-1-359-3	NIL10604-1-318-1	NIL10604-1-8-1	NIL10604-1-222-1
txa2506	x	x	x	x	x	x	x	x
txa2179	x	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp114	BB	BB	TT	TT	TT	TT	TT	TT
CORN031	x	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT
TS196	x	x	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp196	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txa2961	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
BH245191	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
BG411222	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp439	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp440	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp542	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB
txp563	TT	TT	TT	TT	TT	TT	BB	BB
txa3676	TT	TT	TT	TT	x	x	BB	BB
txa2986	TT	TT	TT	TT	x	x	BB	BB
txp581	TT	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB
txp587	TT	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB
txp446	TT	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp442	TT	BT	BB	BB	BB	BT	BB	BB
Sb03QGM106	TT	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM109	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM110	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM121	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp580	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp564	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txp565	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	BB
txa3390	x	x	x	x	x	x	x	x
txp572	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp583	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
Sb03QGM116	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp447	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
txp38	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT

Фиг. 12

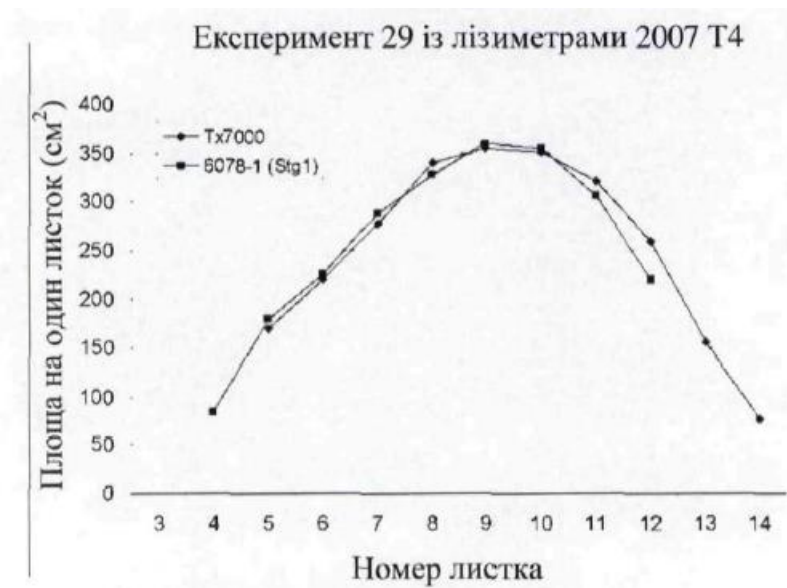




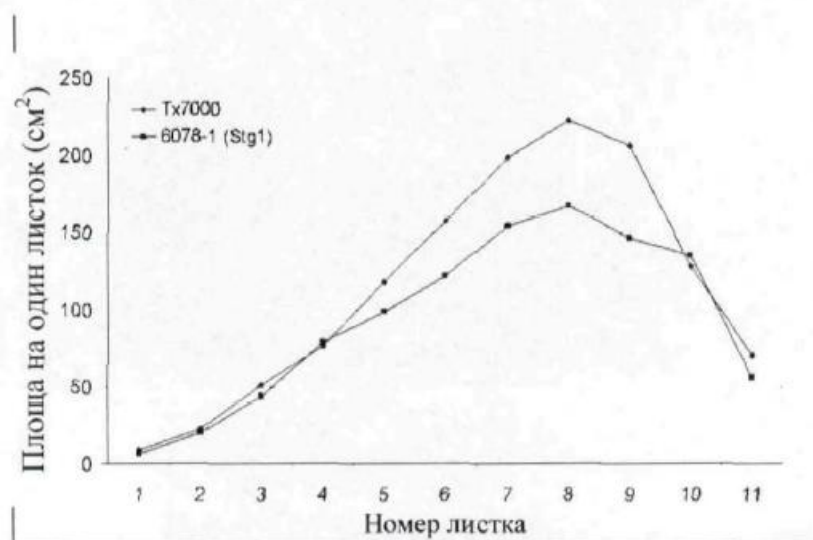
Фіг. 13А



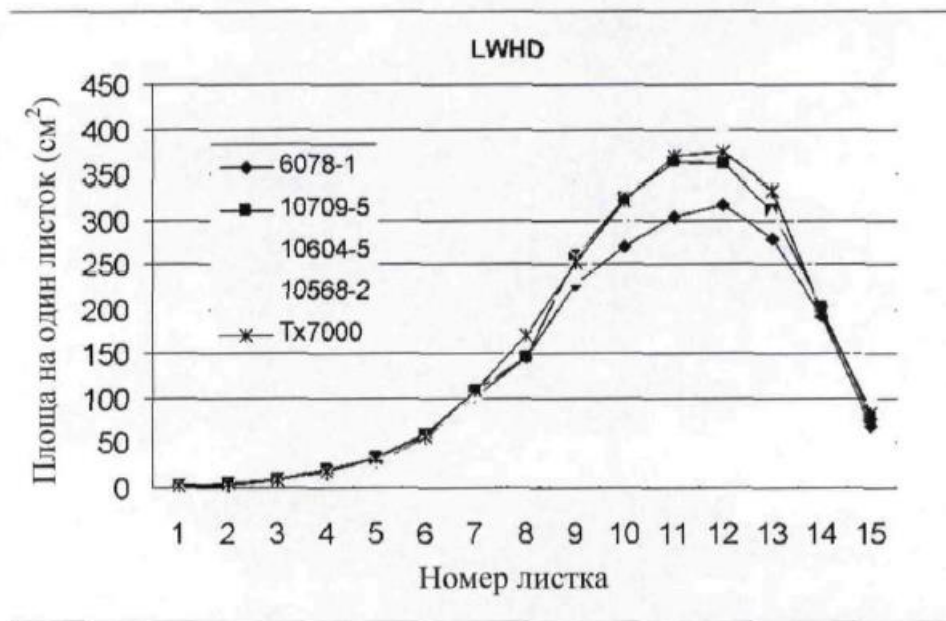
Фіг. 13В



Фіг. 13С



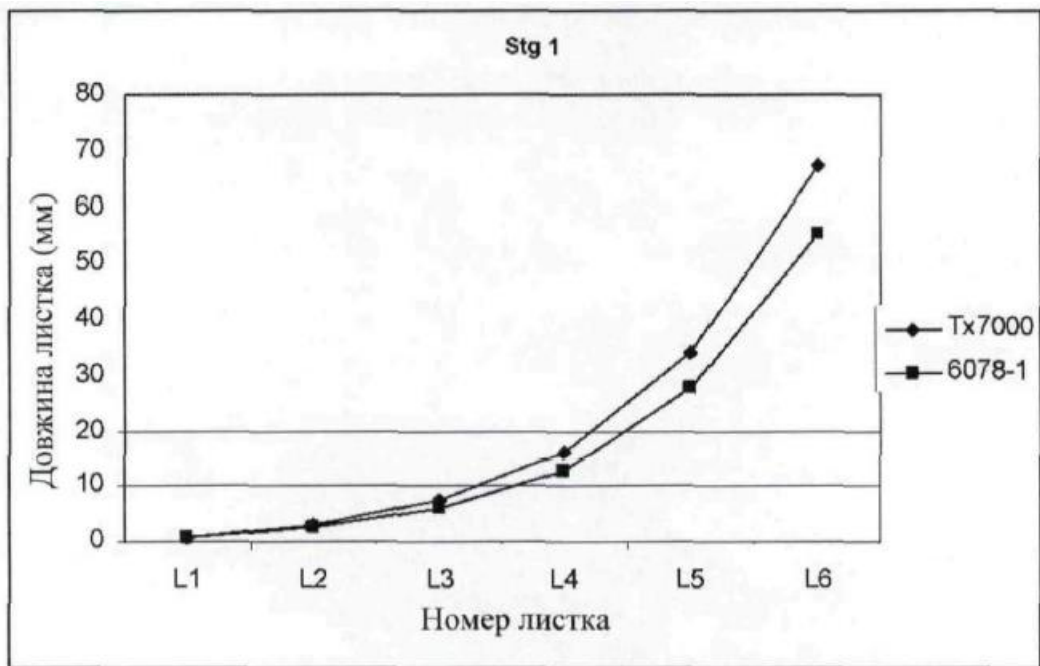
Фіг. 13D



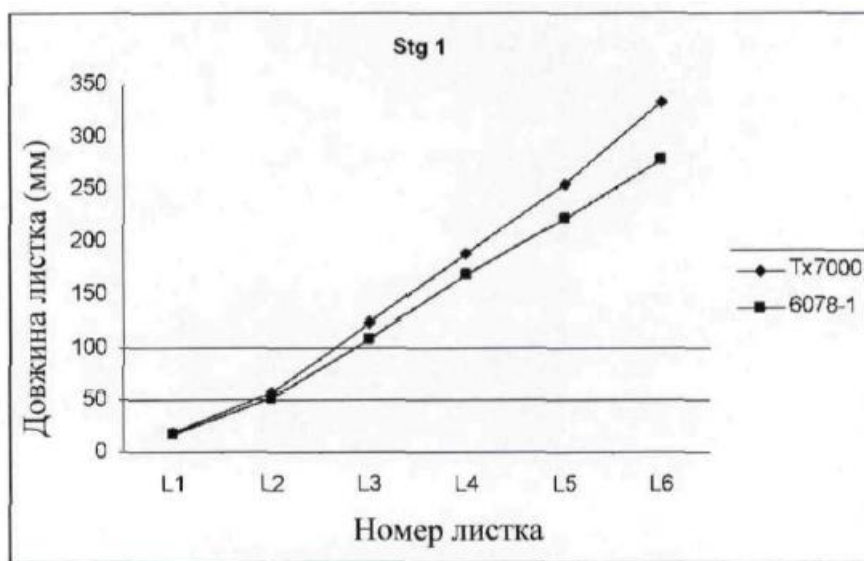
Фіг. 14

	Tx7000	NIL10709-5	607B-1	NIL10604-5	NIL10568-2
txa2506	TT	TT	TT	BB	BB
txa2179	TT	TT	BB	BB	BB
txp114	TT	TT	BB	BB	BB
CORN031	TT	TT	BB	BB	BB
TS196	TT	TT	BB	BB	BB
txp196	TT	TT	BB	BB	BB
txa2961	TT	TT	BB	BB	BB
BH245191	TT	TT	BB	BB	BB
BG411222	TT	TT	BB	BB	BB
txp439	TT	TT	BB	BB	BB
txp440	TT	TT	BB	BB	BB
txp542	TT	TT	BB	BB	BB
txp563	TT	TT	BB	BB	x
txa3676	TT	TT	BB	BB	TT
txa2986	TT	TT	BB	BB	TT
txp581	TT	TT	BB	BB	TT
txp587	TT	TT	BB	BB	TT
txp446	TT	TT	BB	BB	TT
txp442	TT	TT	BB	BB	TT
Sb03QGM106	TT	x	BB	BB	TT
Sb03QGM109	TT	BB	BB	BB	TT
Sb03QGM110	TT	BB	BB	BB	TT
Sb03QGM121	TT	BT	BB	BB	TT
txp580	TT	BT	BB	BB	TT
txp564	TT	x	BB	BB	TT
txp565	TT	x	BB	BB	TT
txa3390	TT	BB	BB	TT	TT
txp572	TT	x	BB	TT	TT
txp583	TT	x	BB	BT	TT
Sb03QGM116	TT	BT	BB	TT	TT
txp447	TT	x	BB	TT	TT
txp38	TT	BB	BB	TT	TT
txa3008	TT	TT	TT	TT	TT
txa422	TT	TT	TT	TT	TT

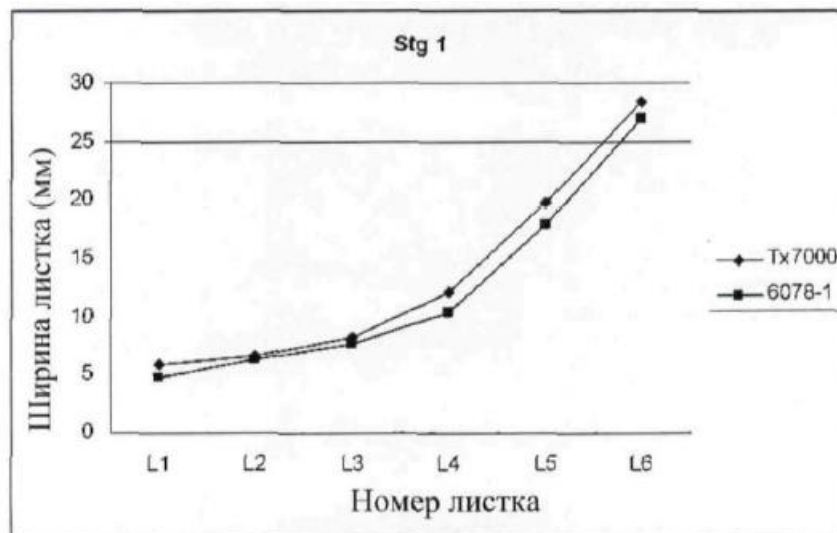
Fig. 15



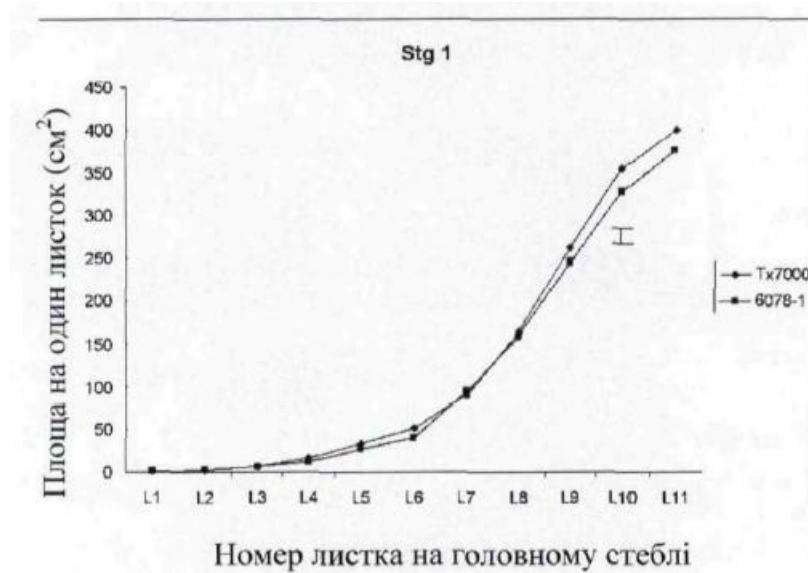
Фіг. 16



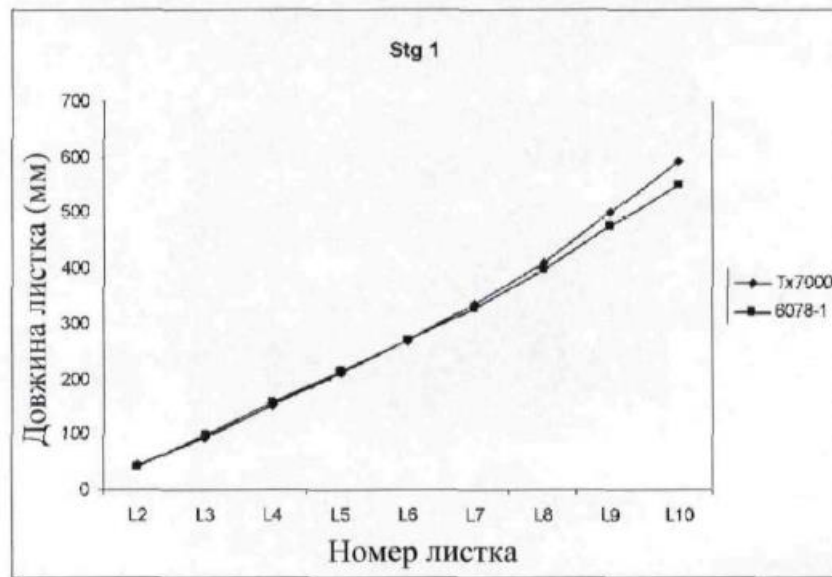
Фіг. 17



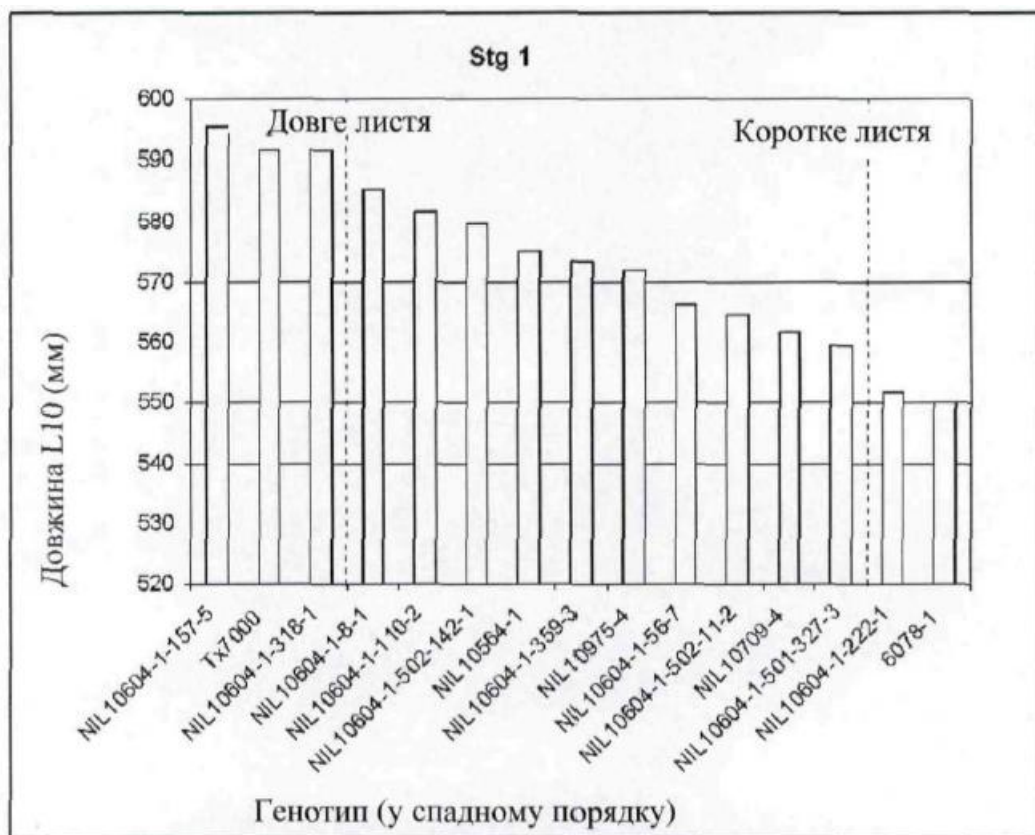
Фіг. 18



Фіг. 19



Фіг. 20



Фіг. 21



	Tx7000	NIL 10604-1-157-5	NIL 10604-1-318-1	NIL 10604-1-222-1	6078-1
txa2506	TT	x	x	x	TT
txa2179	TT	TT	TT	TT	BB
txp114	TT	TT	TT	TT	BB
CORN031	TT	TT	TT	TT	BB
TS196	TT	TT	TT	TT	BB
txp196	TT	TT	TT	TT	BB
txa2961	TT	TT	TT	TT	BB
BH245191	TT	TT	TT	TT	BB
BG411222	TT	TT	TT	TT	BB
txp439	TT	TT	TT	TT	BB
txp440	TT	TT	TT	TT	BB
txp542	TT	TT	TT	BB	BB
txp563	TT	TT	TT	BB	BB
txa3676	TT	TT	x	BB	BB
txa2986	TT	TT	x	BB	BB
txp581	TT	TT	BB	BB	BB
txp587	TT	BB	BB	BB	BB
txp446	TT	BB	BB	BB	BB
txp442	TT	BB	BT	BB	BB
Sb03QGM106	TT	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM109	TT	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM110	TT	BB	BB	BB	BB
Sb03QGM121	TT	BB	BB	BB	BB
txp580	TT	BB	BB	BB	BB
txp564	TT	BB	BB	BB	BB
txp565	TT	BB	BB	BB	BB
txa3390	TT	x	x	x	BB
txp572	TT	TT	TT	TT	BB
txp583	TT	TT	TT	TT	BB
Sb03QGM116	TT	TT	TT	TT	BB
txp447	TT	TT	TT	TT	BB
txp38	TT	TT	TT	TT	BB

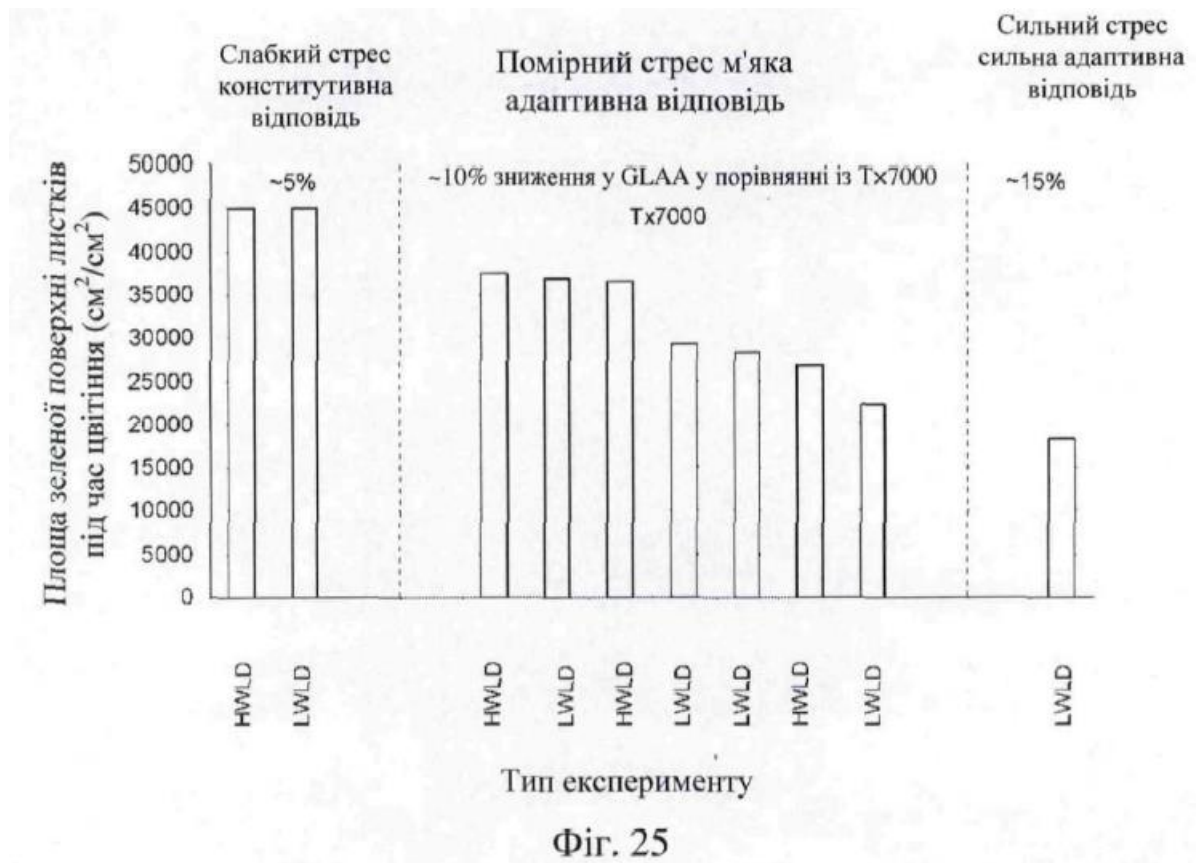
Dir. 22

Маркери	Стебел на одну рослину (Поле 2004-06) аналіз точкового розриву	Стебел на одну рослину (ROS 2004-06) аналіз точкового розриву	Загальна кількість відростків (Ігла 2008 урожай L11) Аналіз маркерних генів х ознаки	Біомаса відростків (Ігла 2008 урожай L11) Аналіз маркерних генів х ознаки	Маса стебел відростків (Ігла 2008 урожай L11) Аналіз маркерних генів х ознаки	Площа зеленої поверхні листя відростків (Ігла 2008 урожай L11) Аналіз маркерних генів х ознаки	Площа зеленої поверхні листя відростків (Ігла 2008 урожай L11) Аналіз маркерних генів х ознаки	Присутність T2 (Ігла 2008) аналіз точкового розриву	Стебел на одну рослину (Ігла 2010) аналіз точкового розриву	Розподіл листків за розміром (ROS 2006) аналіз точкового розриву	Площа L9 (Ігла 2008) Аналіз маркерних генів х ознаки	Площа L10 (Ігла 2008) Аналіз маркерних генів х ознаки	Площа L11 (Ігла 2008) Аналіз маркерних генів х ознаки	Довжина L9 (Ігла 2010) аналіз точкового розриву	Довжина L10 (Ігла 2010) аналіз точкового розриву
			Низький ген кушніня								Ген маленького листка				
txa2506															
txa2179															
txp114															
CORN031															
TS196															
txp196															
txa2961															
BH245191															
BG411222															
txp439															
txp440															
txp542															
txp563															
txa3676															
txa2986															
txp581															
txp587															
txp446															
txp442															
Sb03QGM106															
Sb03QGM109															
Sb03QGM110															
Sb03QGM121															
txp580															
txp564															
txp565															
txa3390															
txp572															
txp583															
Sb03QGM116															
txp447															
txp38															
txa3006															
txa422															

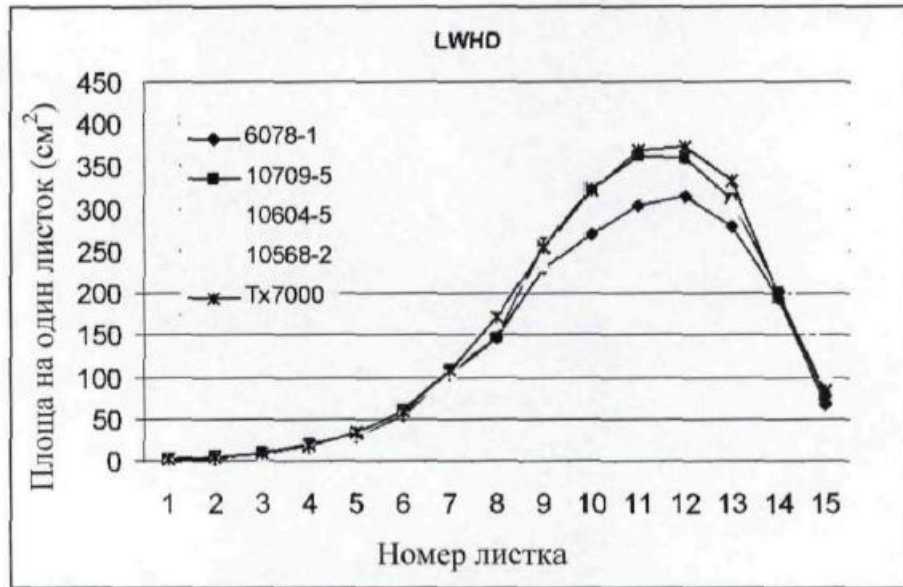
Фіг. 23



Фіг. 24



Фіг. 25



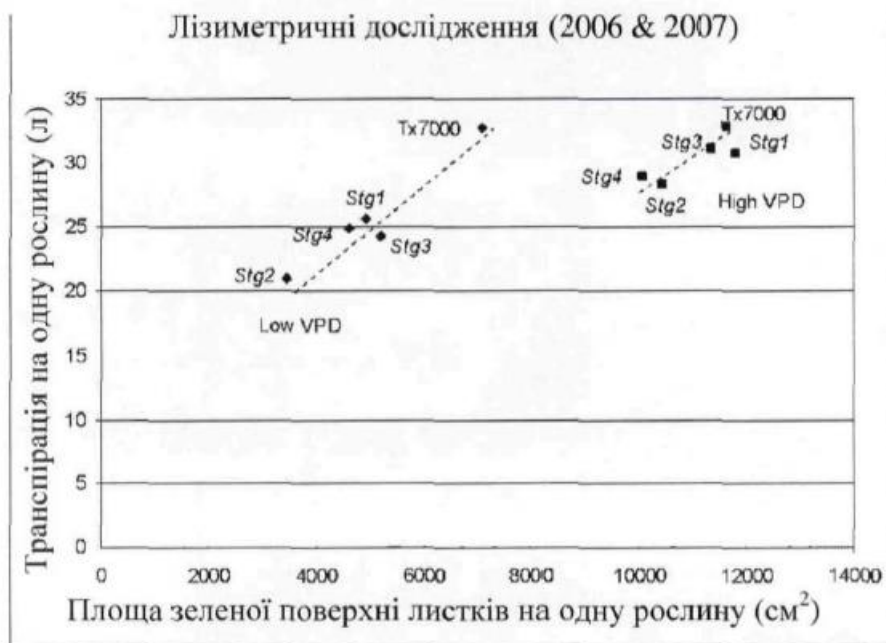
Фіг. 26



Фіг. 27

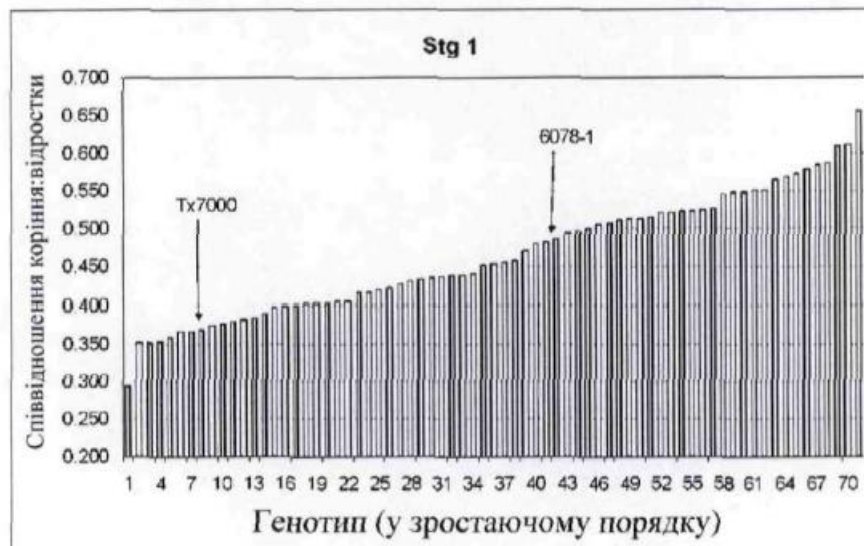


Фіг. 28

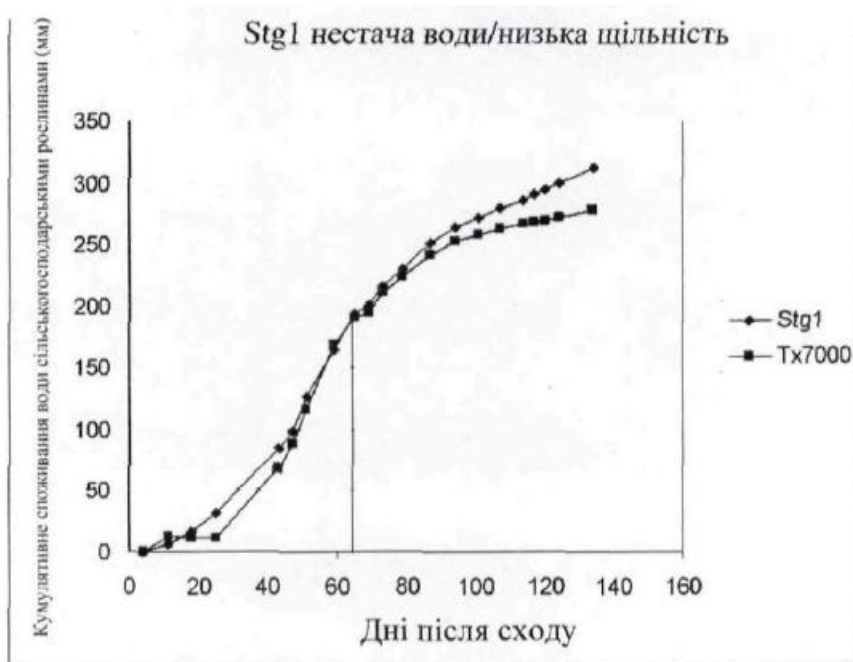


Фіг. 29

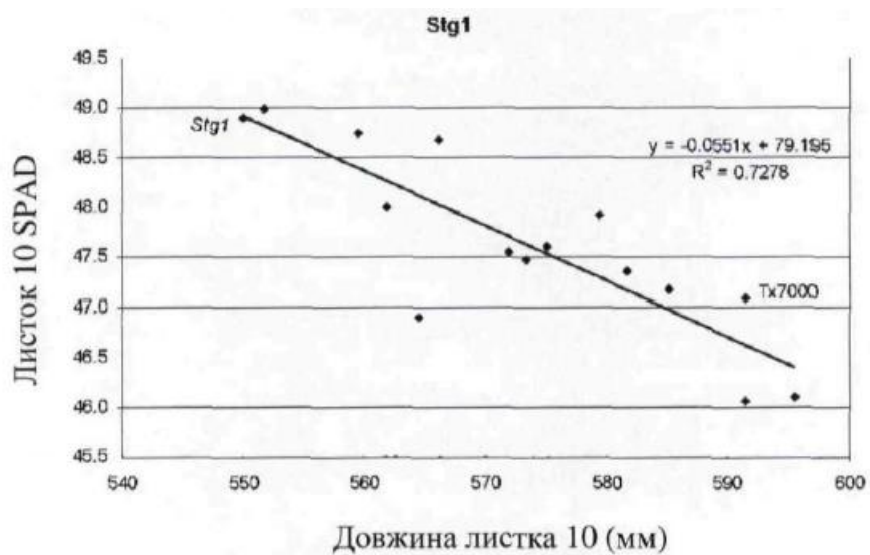




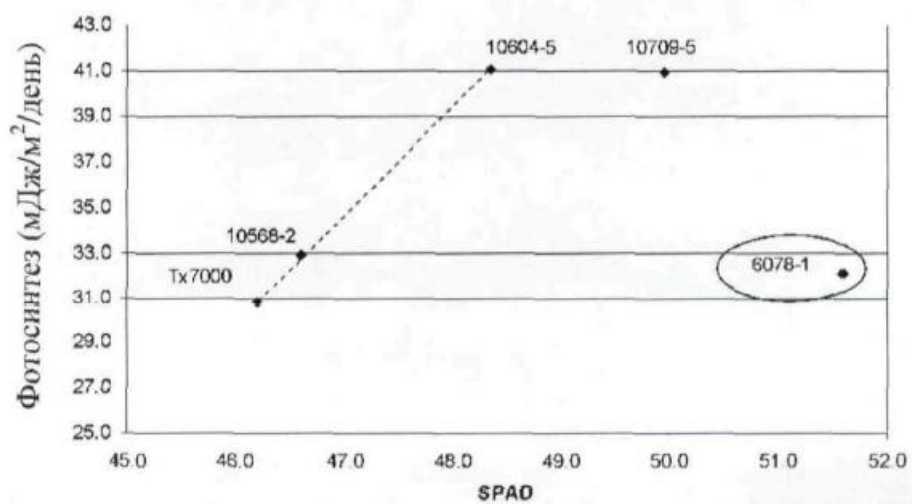
Фіг. 30



Фіг. 31



Фіг. 32



Фіг. 33



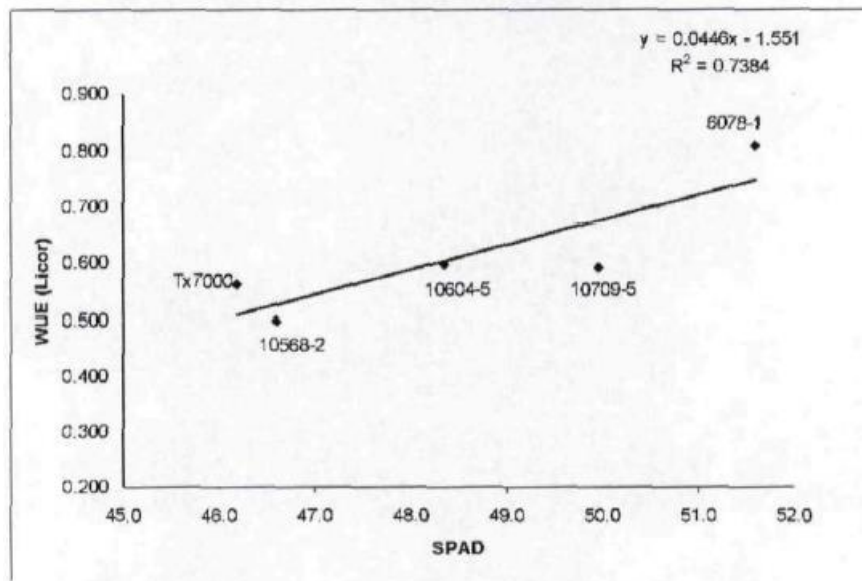


Fig. 34

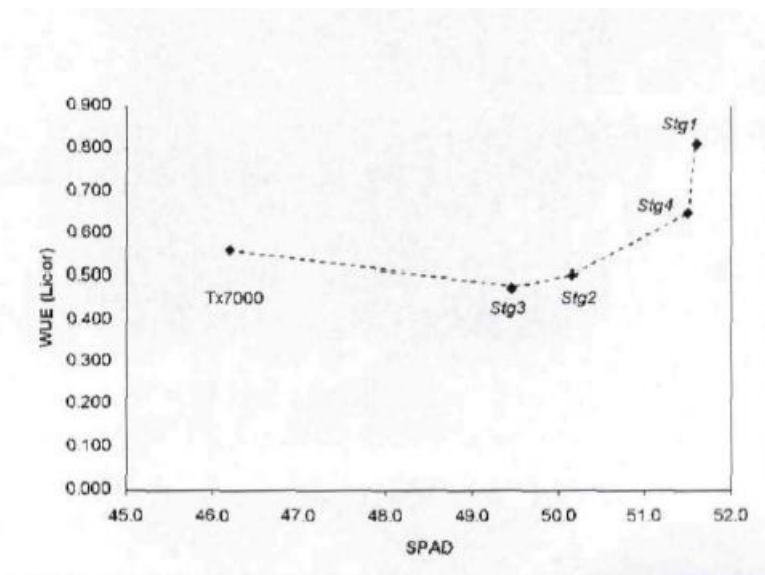
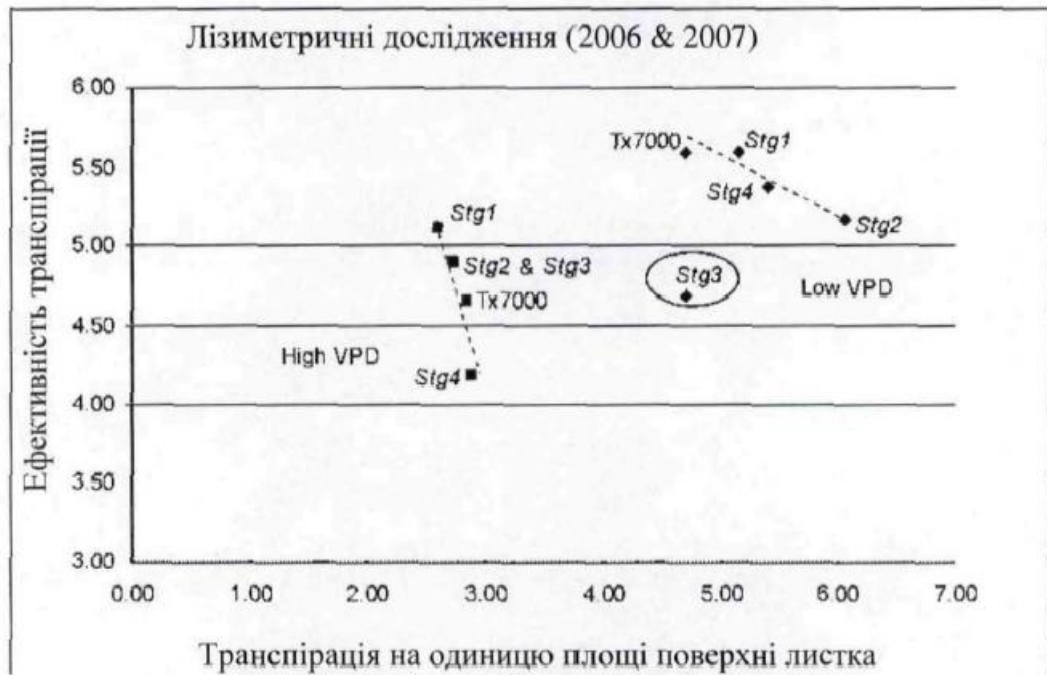
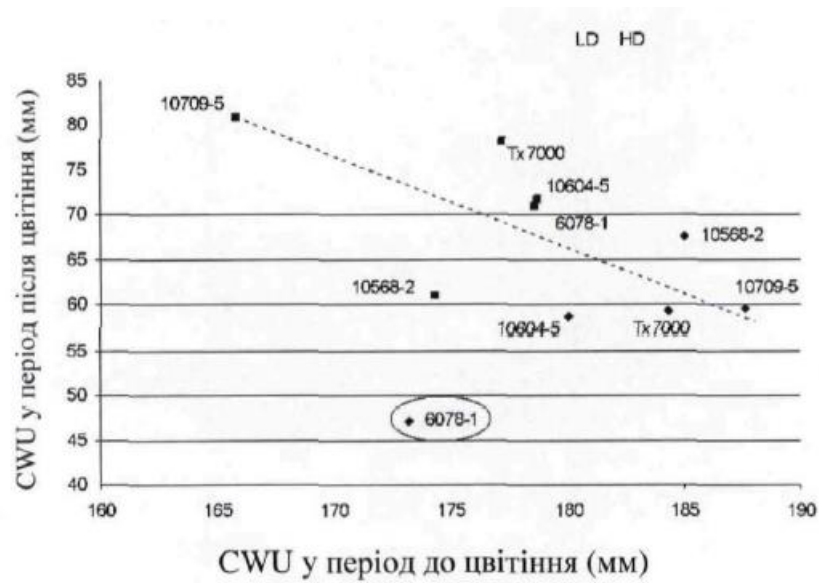


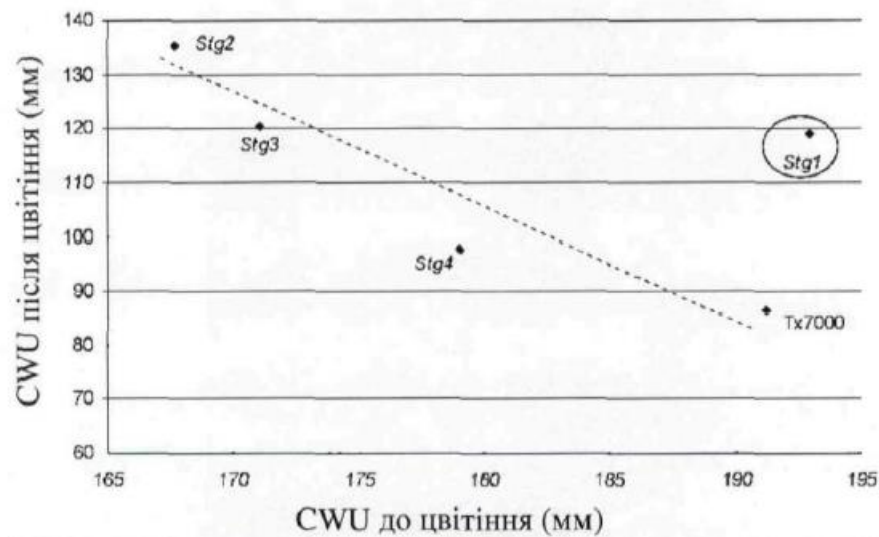
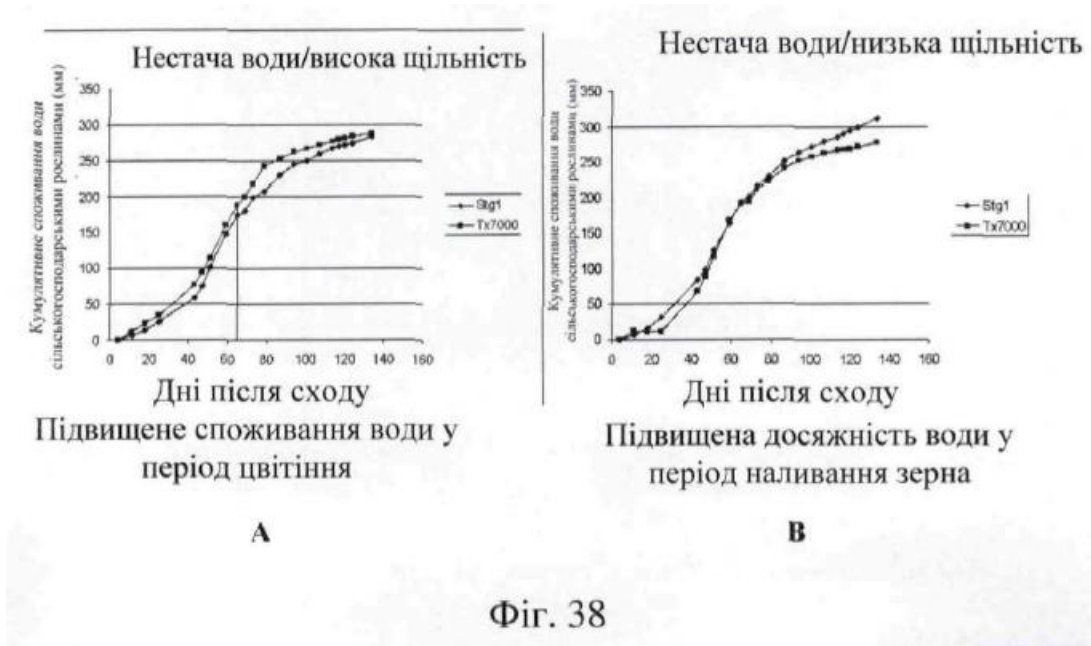
Fig. 35

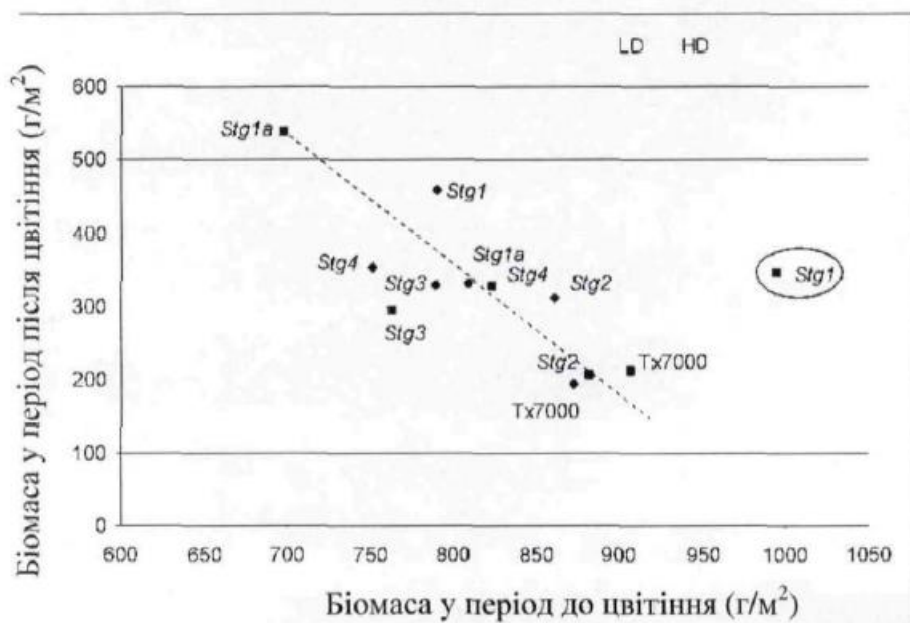


Фіг. 36

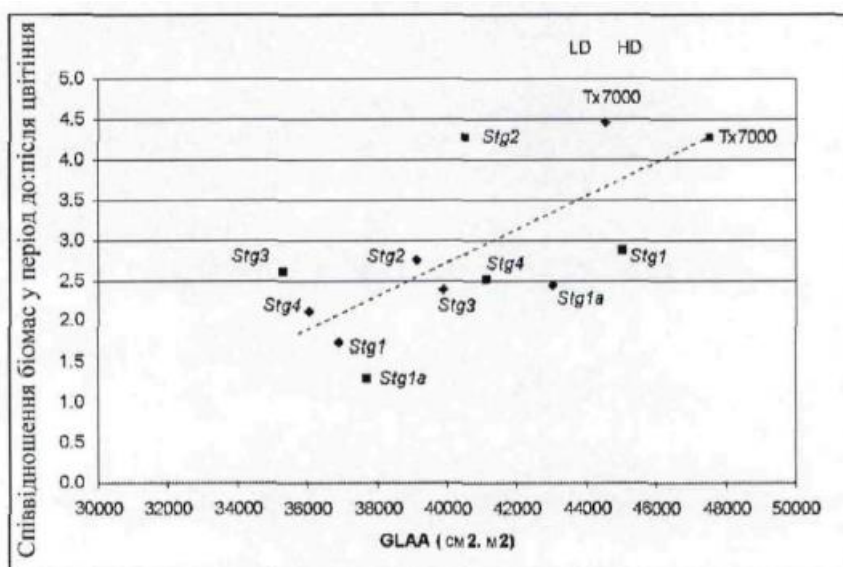


Фіг. 37

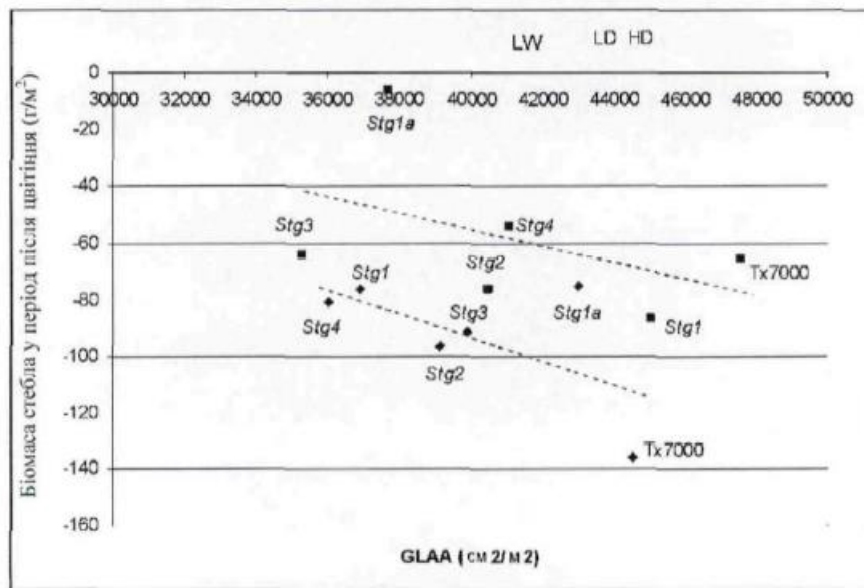




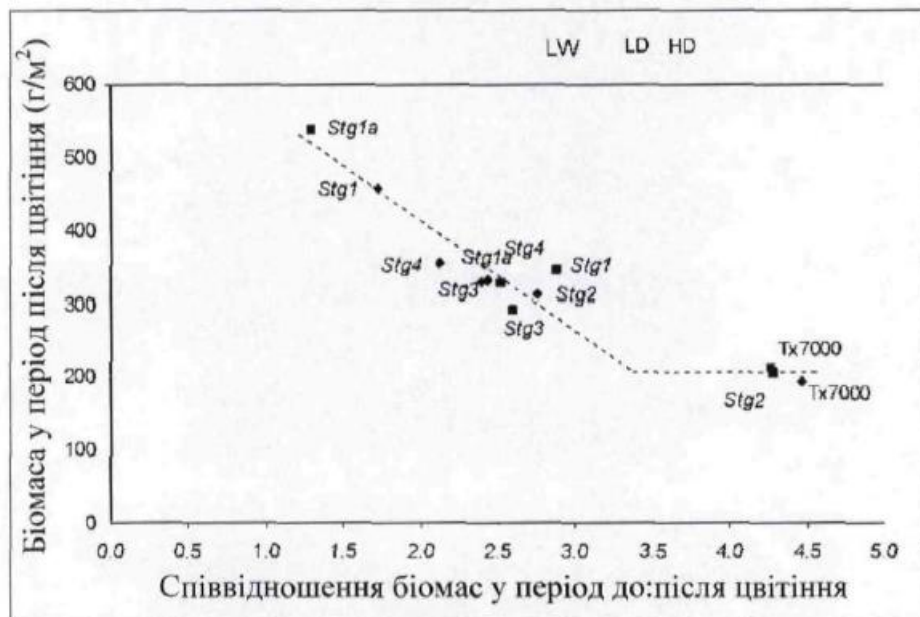
Фіг. 40



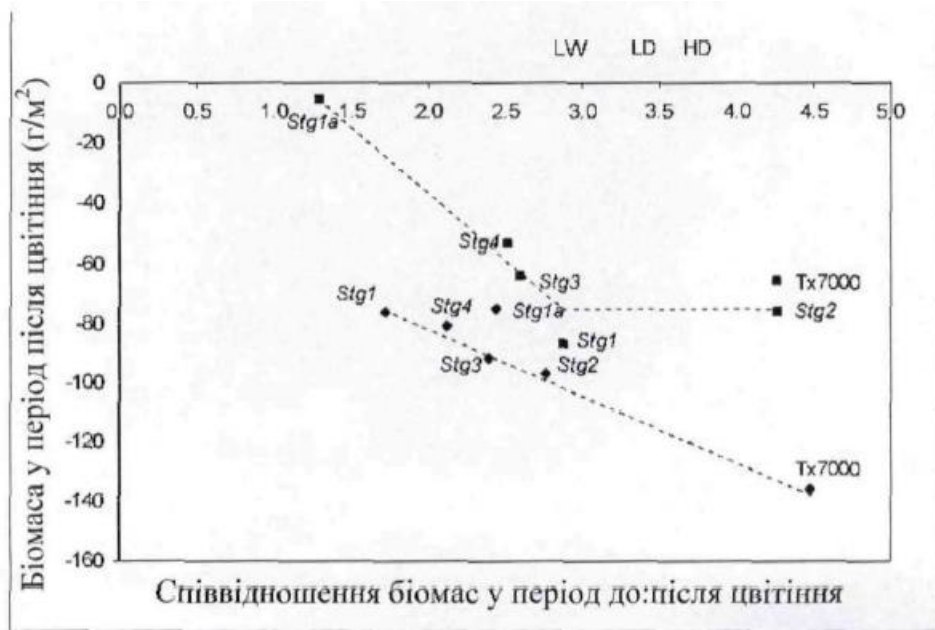
Фіг. 41



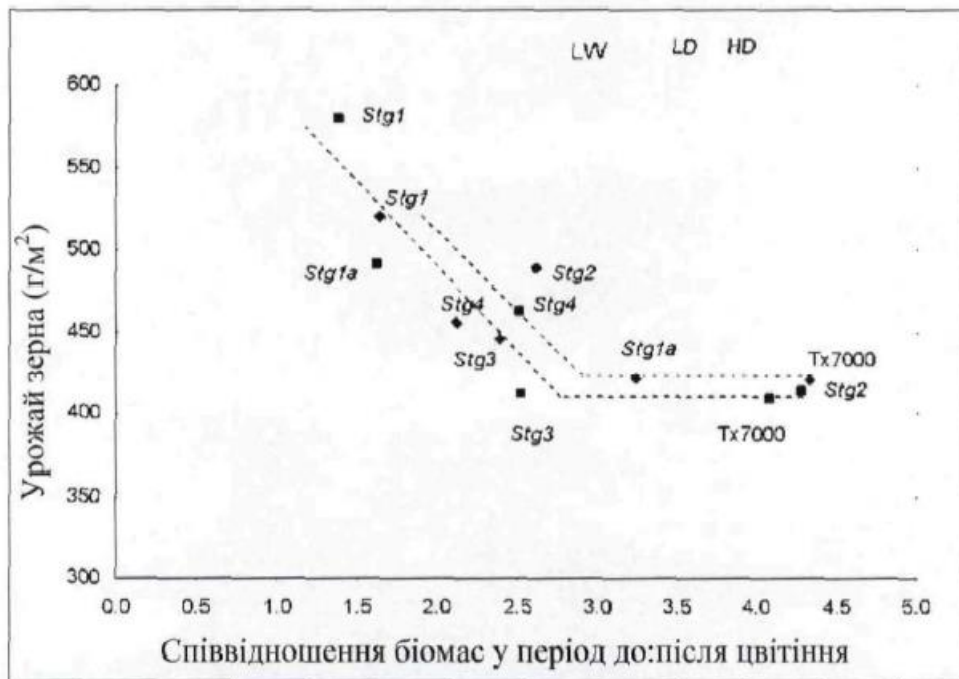
Фіг. 42



Фіг. 43



Фіг. 44

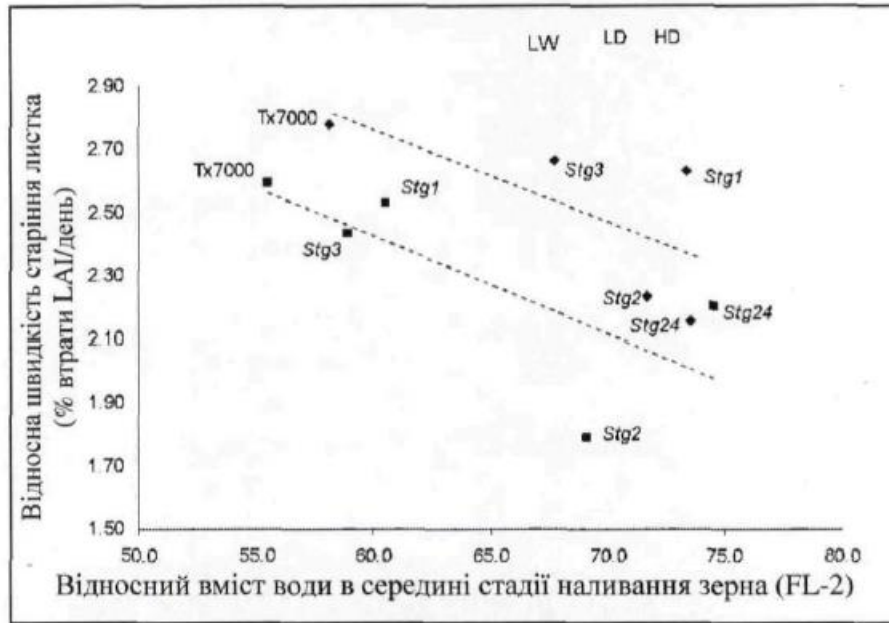


Фіг. 45

	Tx7000	NIL10709-5	6078-1	NIL10604-5	NIL10568-2
txa2506	TT	TT	TT	BB	BB
txa2179	TT	TT	BB	BB	BB
txp114	TT	TT	BB	BB	BB
CORN031	TT	TT	BB	BB	BB
TS196	TT	TT	BB	BB	BB
txp196	TT	TT	BB	BB	BB
txa2961	TT	TT	BB	BB	BB
BH245191	TT	TT	BB	BB	BB
BG411222	TT	TT	BB	BB	BB
txp439	TT	TT	BB	BB	BB
txp440	TT	TT	BB	BB	BB
txp542	TT	TT	BB	BB	BB
txp563	TT	TT	BB	BB	x
txa3676	TT	TT	BB	BB	TT
txa2986	TT	TT	BB	BB	TT
txp581	TT	TT	BB	BB	TT
txp587	TT	TT	BB	BB	TT
txp446	TT	TT	BB	BB	TT
txp442	TT	TT	BB	BB	TT
Sb03QGM106	TT	x	BB	BB	TT
Sb03QGM109	TT	BB	BB	BB	TT
Sb03QGM110	TT	BB	BB	BB	TT
Sb03QGM121	TT	BT	BB	BB	TT
txp580	TT	BT	BB	BB	TT
txp564	TT	x	BB	BB	TT
txp565	TT	x	BB	BB	TT
txa3390	TT	BB	BB	TT	TT
txp572	TT	x	BB	TT	TT
txp583	TT	x	BB	BT	TT
Sb03QGM116	TT	BT	BB	TT	TT
txp447	TT	x	BB	TT	TT
txp38	TT	BB	BB	TT	TT
txa3008	TT	TT	TT	TT	TT
txa422	TT	TT	TT	TT	TT

Fig. 46

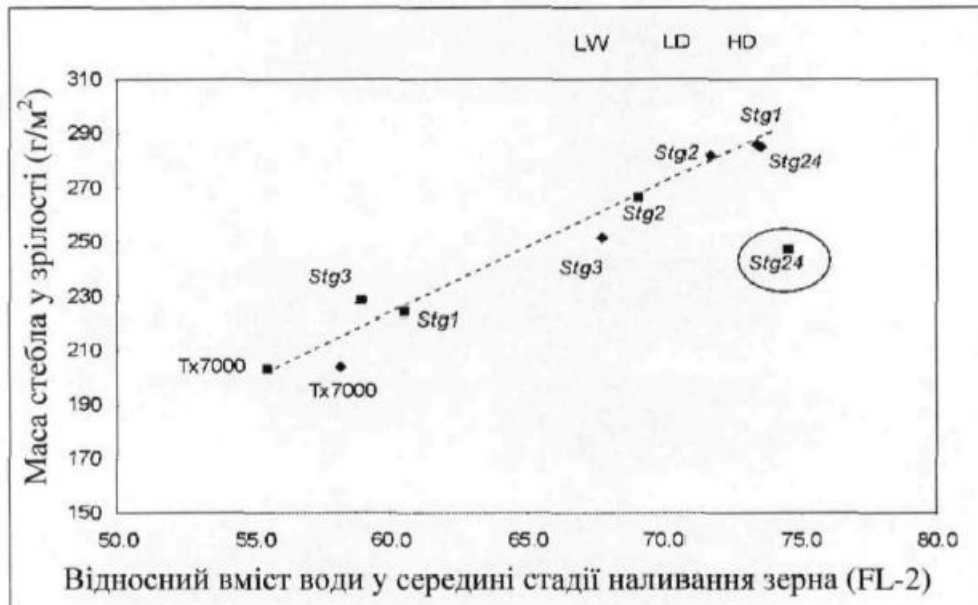




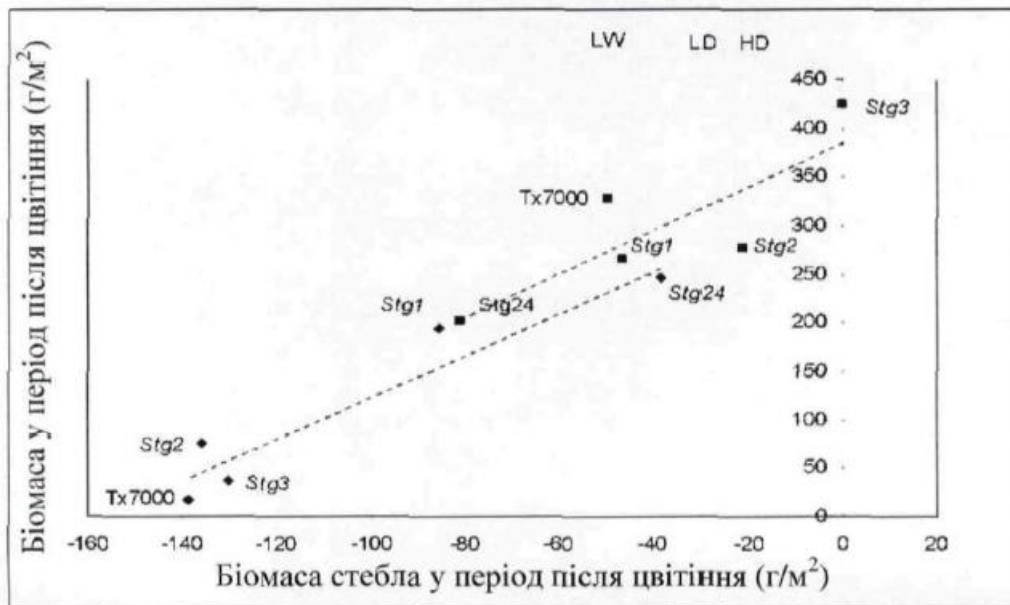
Фіг. 47



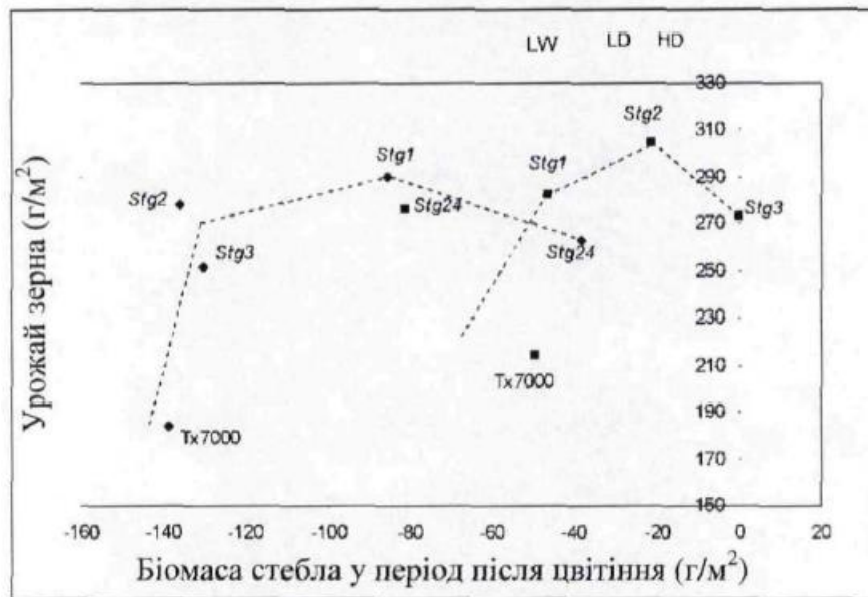
Фіг. 48



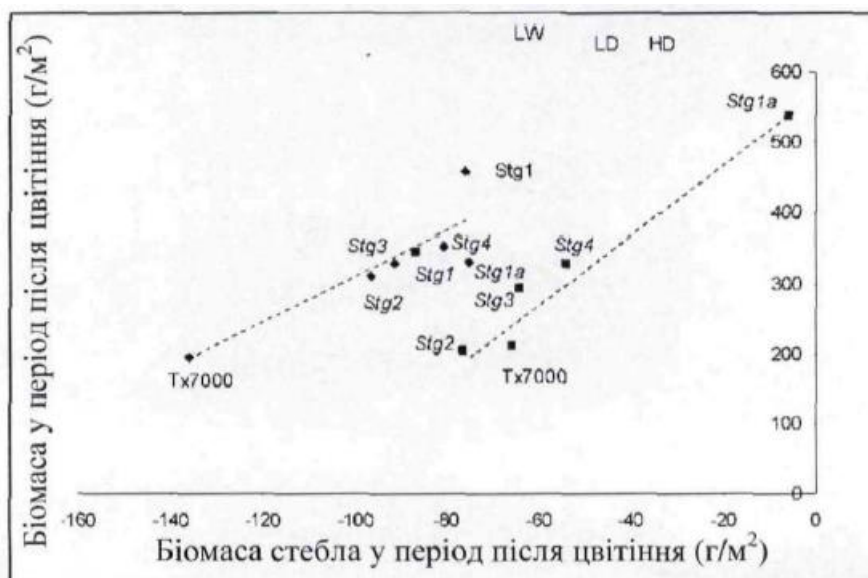
Фіг. 49



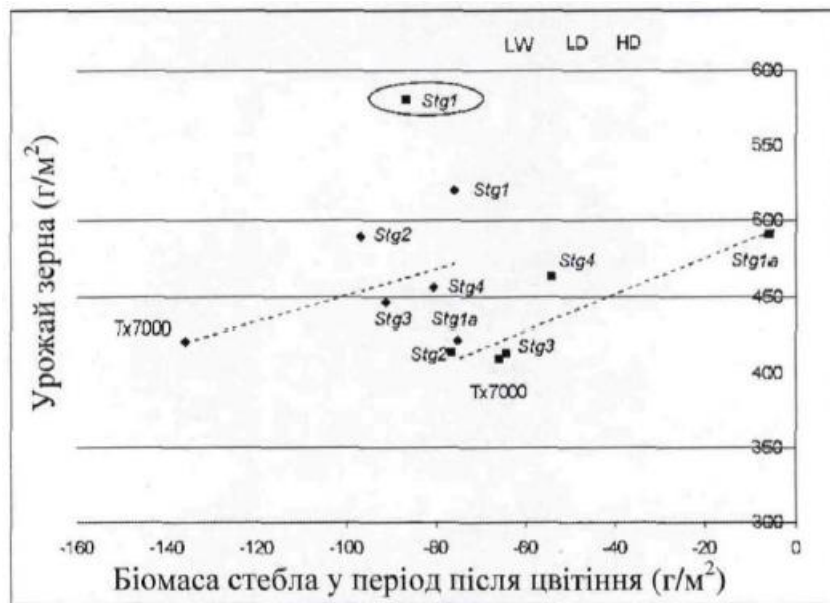
Фіг. 50



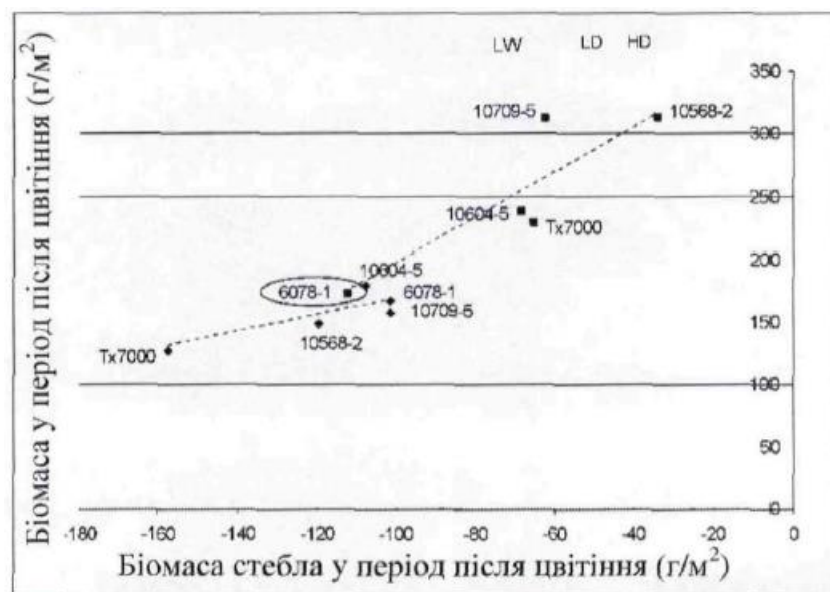
Фіг. 51



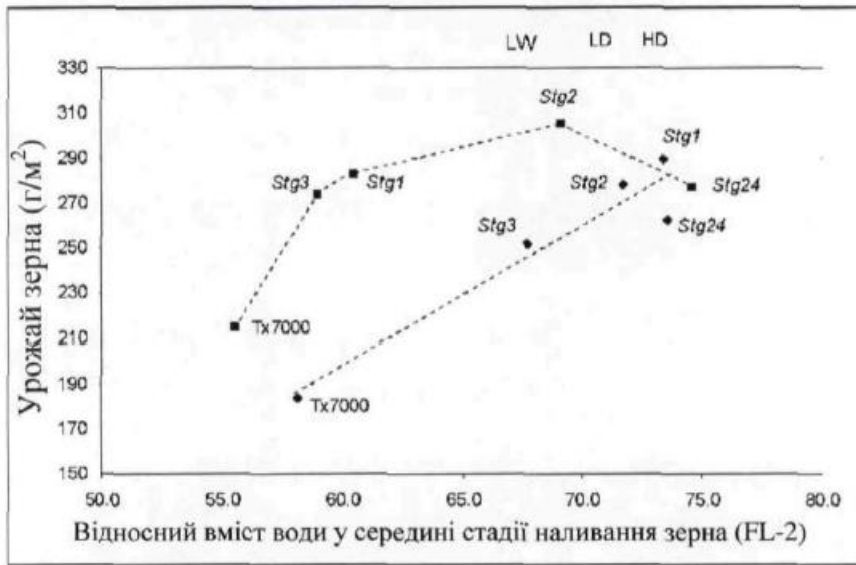
Фіг. 52



Фіг. 53



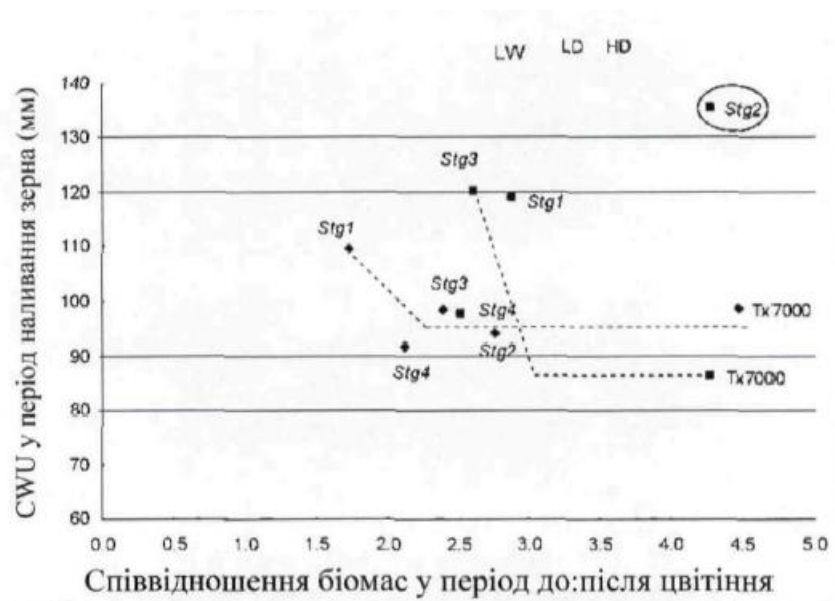
Фіг. 54



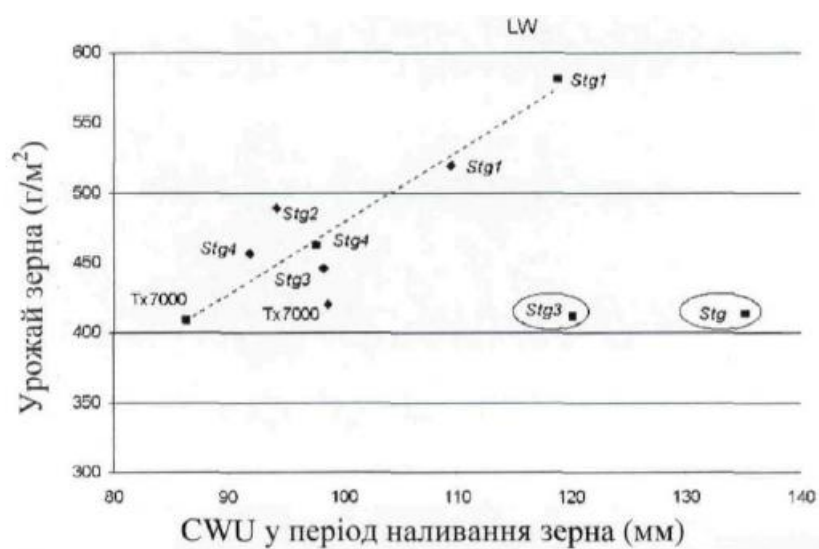
Фіг. 55



Фіг. 56

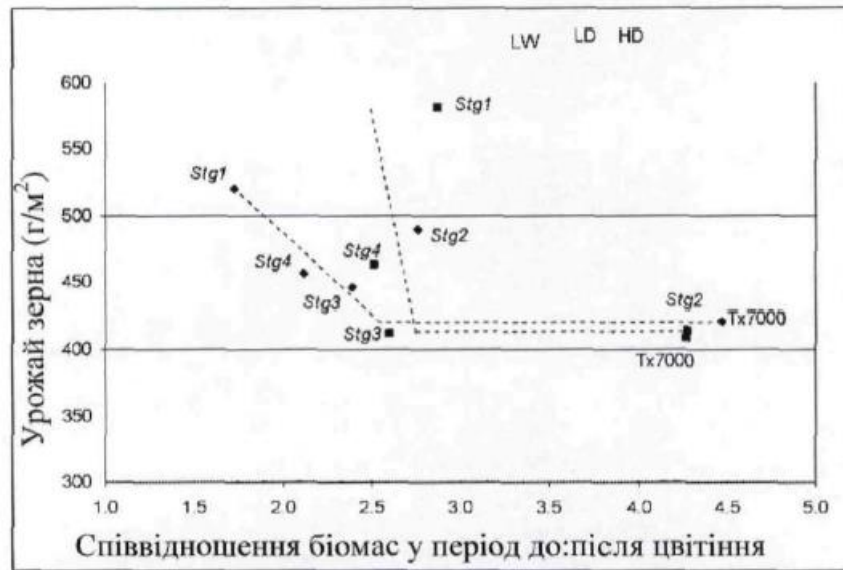


Фіг. 57

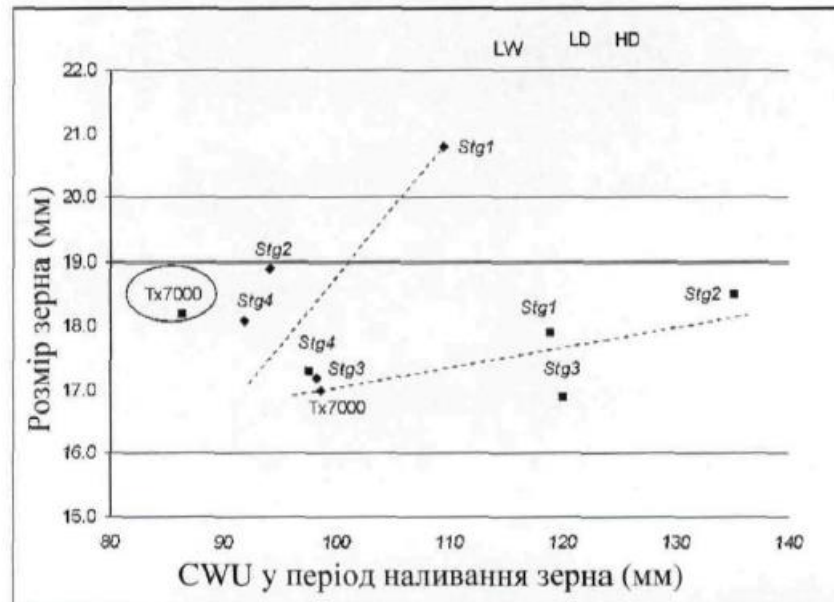


Фіг. 58

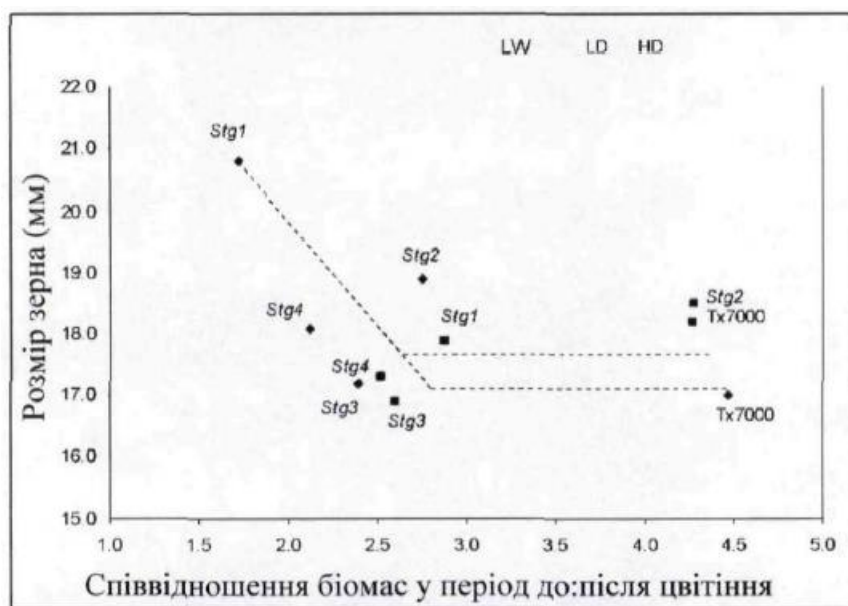




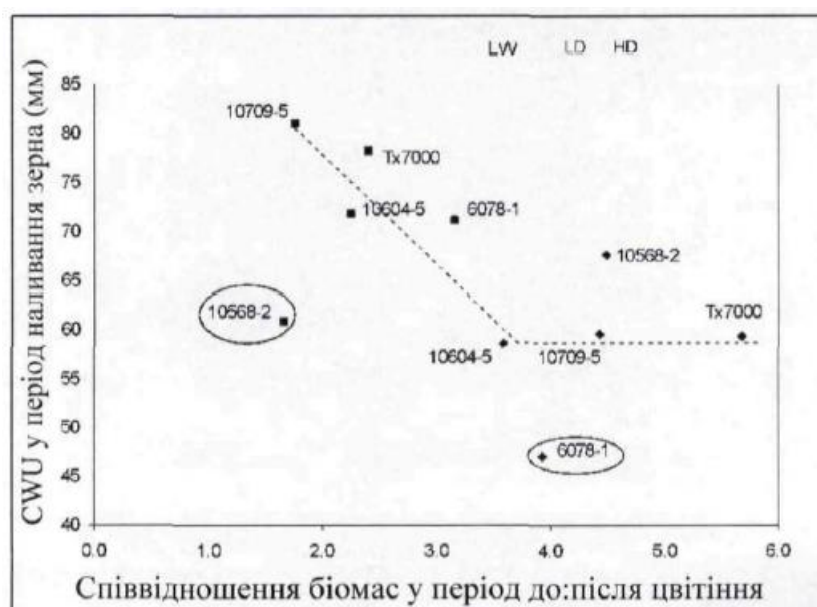
Фіг. 59



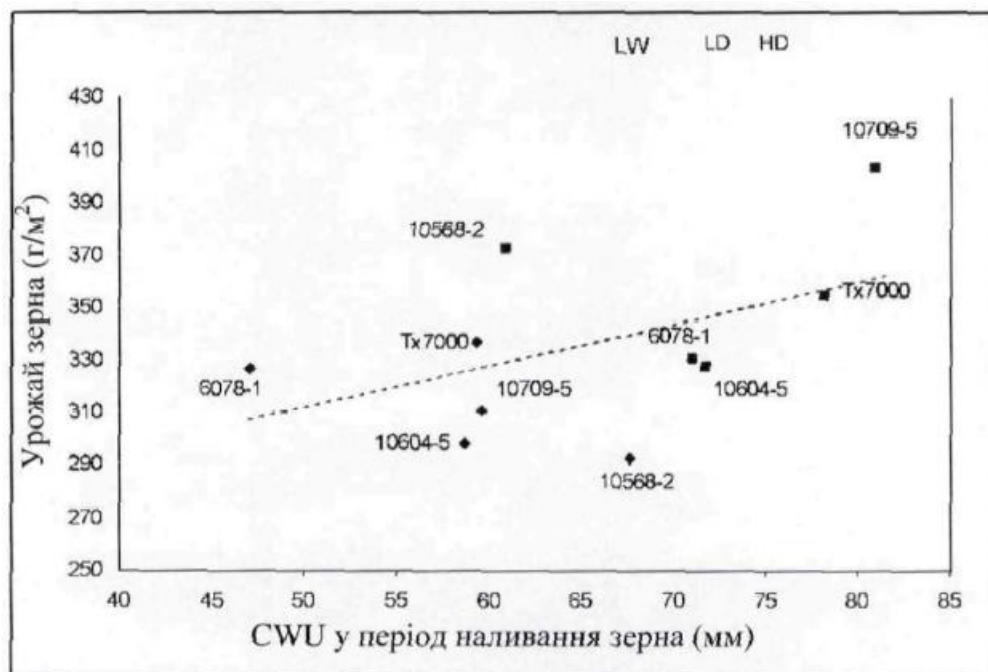
Фіг. 60



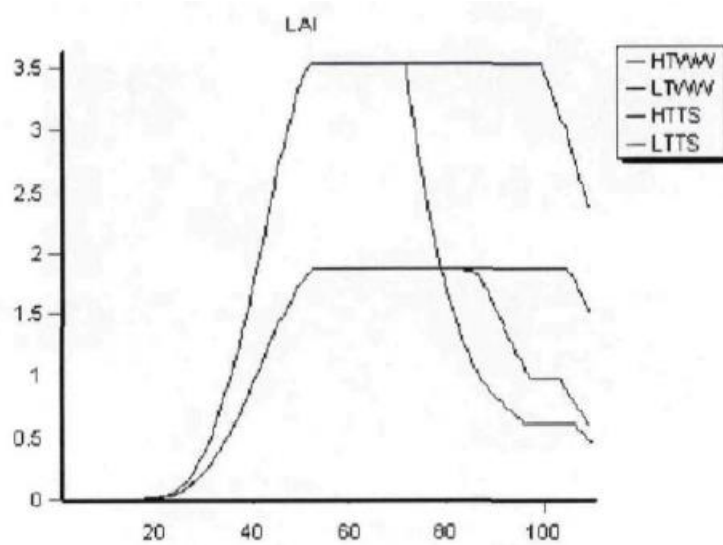
Фіг. 61



Фіг. 62



Фіг. 63



Фіг. 64A

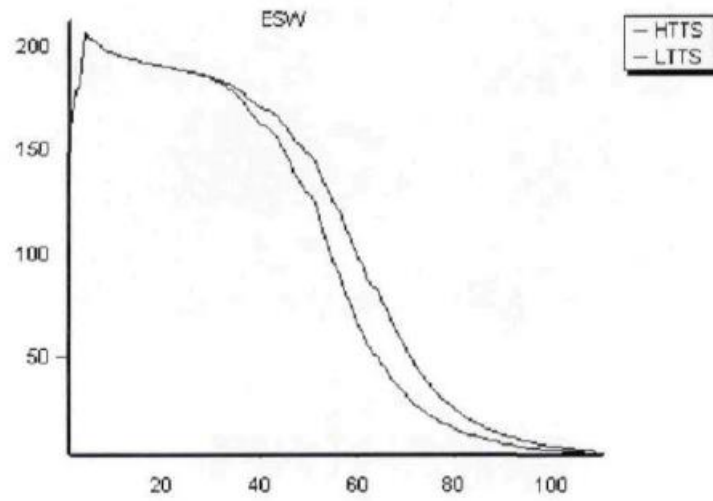


Fig. 64B

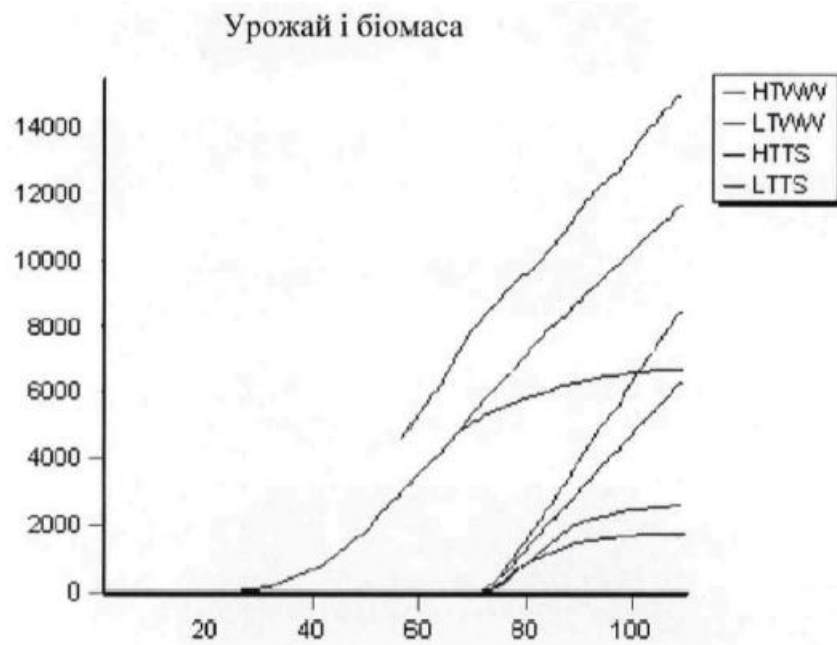


Fig. 64C

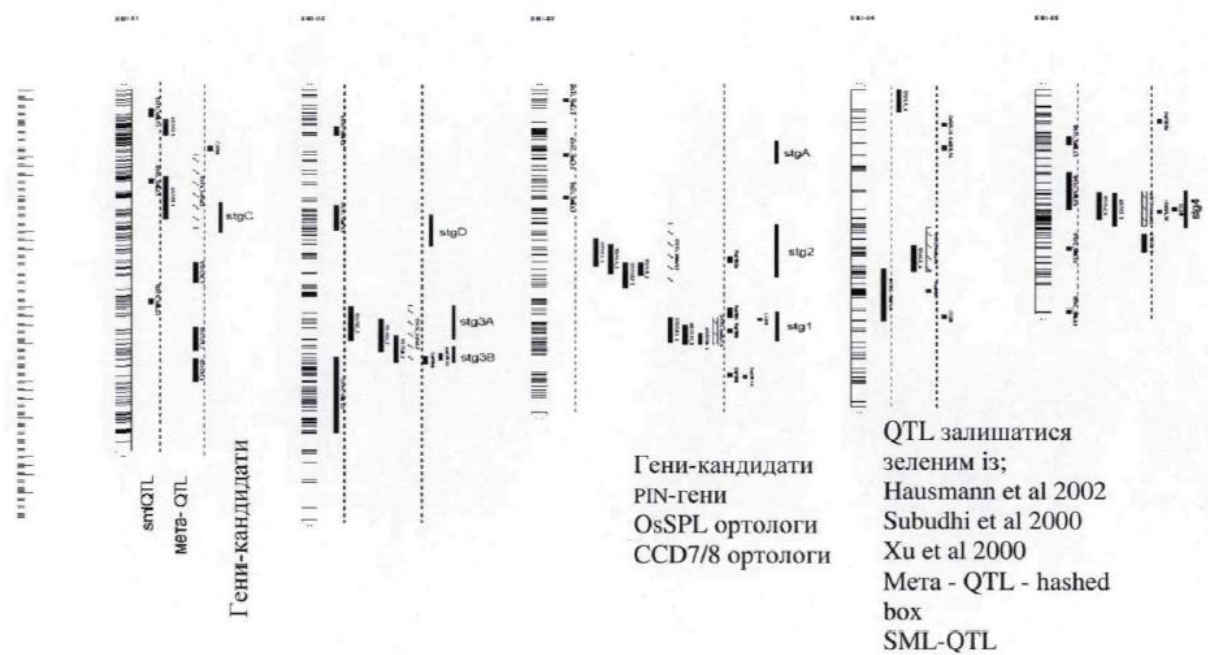


Fig. 65

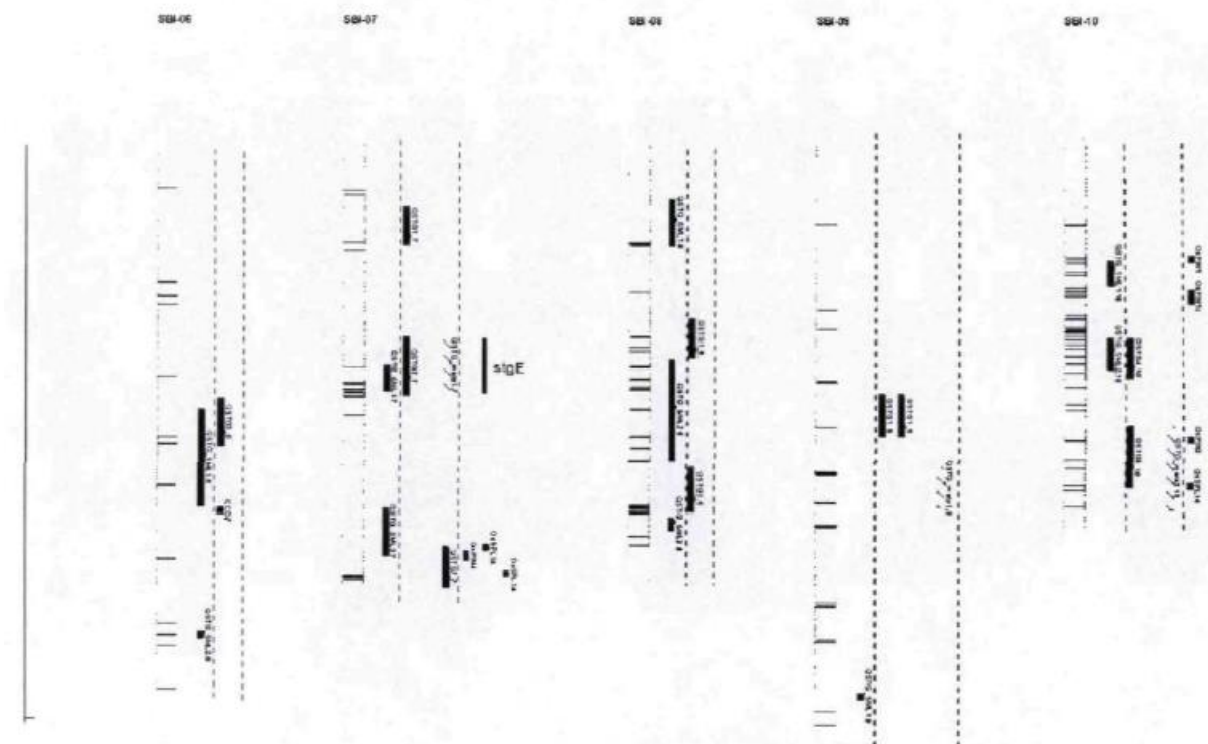


Fig. 66



Фіг. 67А



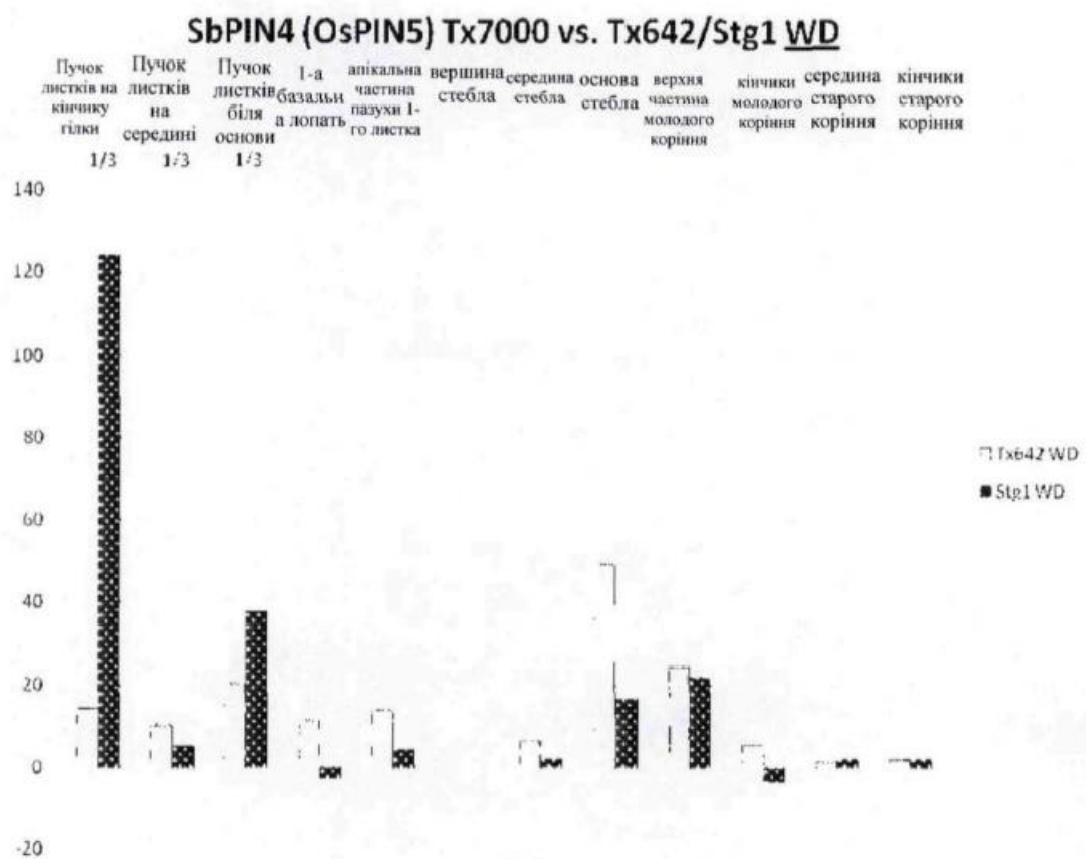


Fig. 67B

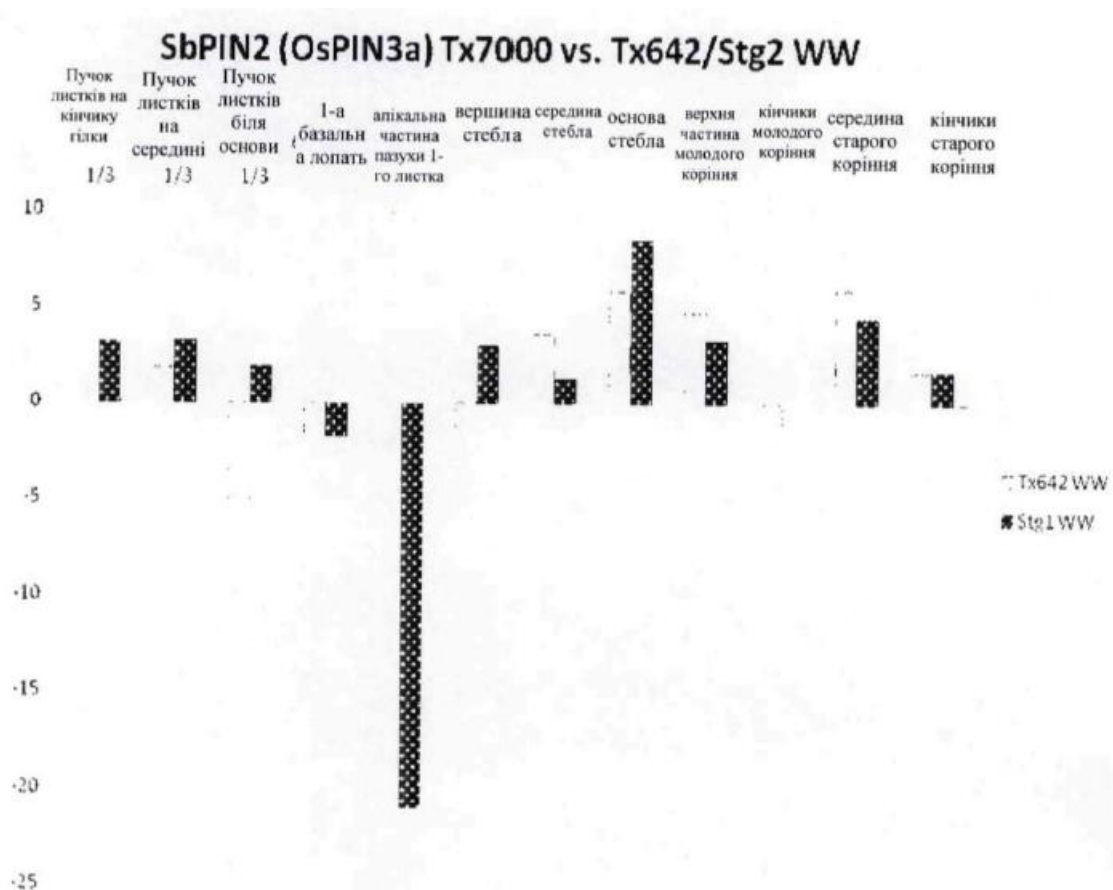
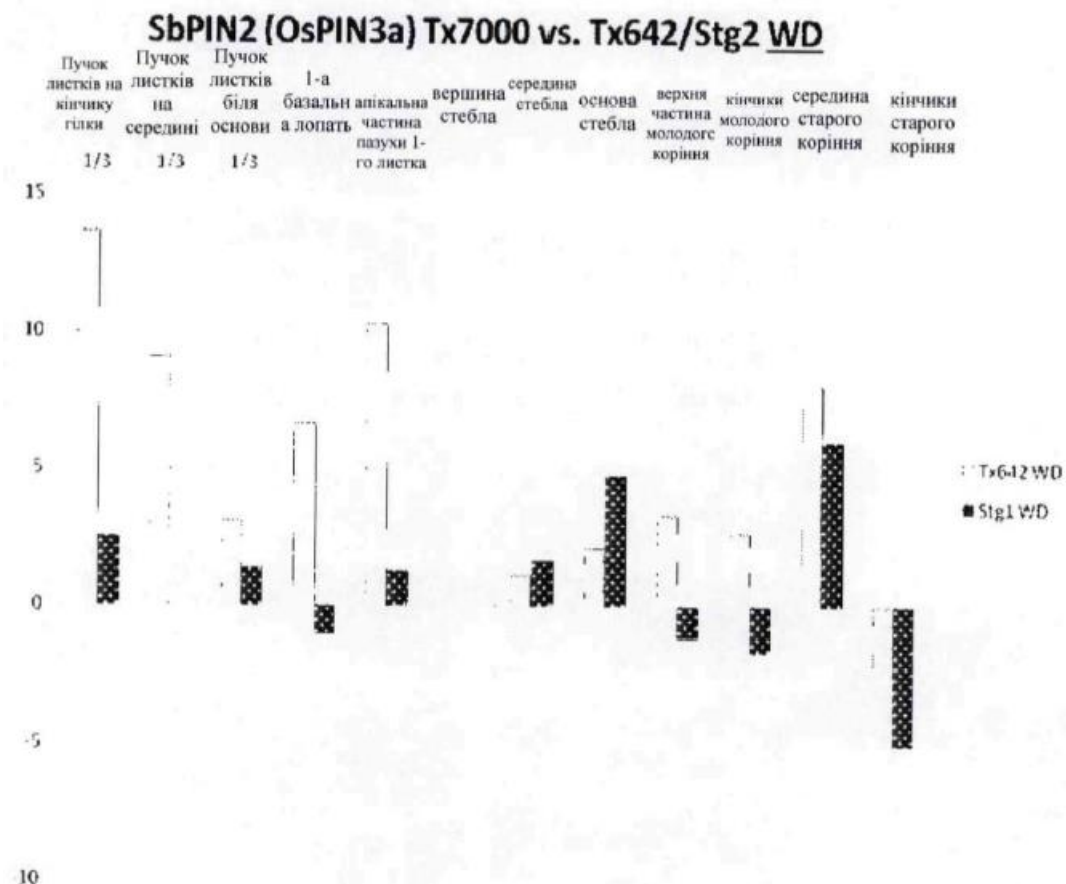
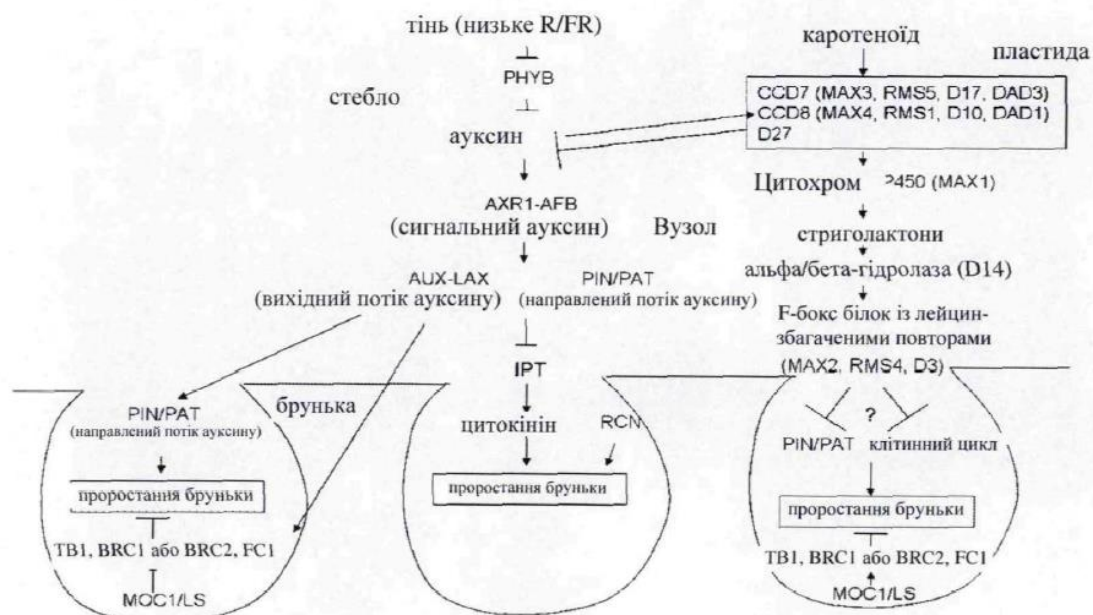


Fig. 67C



Фіг. 67D



Фіг. 68

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601