

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ  
ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ  
УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ЕКСПЕРТИЗИ СОРТИВ РОСЛИН

Присяжнюк Л. М., Стариченко Є. М., Гринів С. М.,  
Таганцова М. М., Свинарчук О. В., Мельник С. І.

**Застосування  
програмного забезпечення GAIA  
в кваліфікаційній експертизі  
сортів рослин на відмінність,  
однорідність та стабільність**

Науково-методичні рекомендації

Вінниця  
ТОВ «ТВОРИ»  
2021

**Присяжнюк Л. М., Стариченко Є. М., Гринів С. М., Таганцова М. М.,  
Свинарчук О. В., Мельник С. І.** Застосування програмного забезпечення GAIA в ква-  
ліфікаційній експертизі сортів рослин на відмінність, однорідність та стабільність. Ві-  
нниця: «ТВОРИ», 2021. 24 с.

**Рецензенти:**

**Білоус С. Ю.**, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри ботаніки,  
дендрології та лісової селекції Національного університету біоресурсів і  
природокористування України

**Мокрієв М. В.**, кандидат економічних наук, доцент кафедри інформаційних  
систем і технологій, Національний університет біоресурсів і природокорис-  
тuvання України

Науково-методичні рекомендації розроблено в Українському інституті експерти-  
зи сортів рослин. В науково-методичних рекомендаціях представлено результати до-  
сліджень, проведених в Українському інституті експертизи сортів рослин. Авторами  
запропоновано застосування програмного забезпечення GAIA в рамках проведення  
кваліфікаційної експертизи сортів рослин на відмінність, однорідність та стабільність.  
Показано можливість поєднання аналізу сортів за морфологічними ознаками та ДНК  
маркерами.

Рекомендації призначенні для спеціалістів Українського інституту експертизи сортів  
рослин, селекціонерів, спеціалістів наукових установ, викладачів університетів та аспі-  
рантів, які вивчають теоретичні та методологічні основи сучасної селекції, експертизи  
сортів рослин та проводять роботу по застосуванню сучасних методів статистичної об-  
робки даних.

Методичні рекомендації розглянуті, схвалені та рекомендовані до видання Вчену  
Радою Українського інституту експертизи сортів рослин, протокол № 3 від «25» лютого  
2021 року.

**Зміст**

ВСТУП	4
1. ПІДГОТОВКА ФАЙЛІВ ДАНИХ	6
2. ІМПОРТ ДАНИХ, ОЗНАК ТА ХАРАКТЕРИСТИК	11
3. ПІДГОТОВКА ТА ЗАВАНТАЖЕННЯ ФАЙЛІВ ВАГИ ОЗНАК	13
4. ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ СЕСІЙ ТА ПОРІВНЯННЯ СОРТІВ	19
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	24

## **ВСТУП**

Програмне забезпечення (ПЗ) GAIA розроблене спеціалістами GEVES (Група по вивченню та контролю сортів та насіння Франції) для оцінки сортів, що проходять кваліфікаційну експертизу на відмінність, однорідність та стабільність (ВОС) та поєднує аналіз прояву морфологічних ознак та електрофоретичних (або ДНК) характеристик сортів.

Мета використання даного програмного забезпечення полягає в наступному: для кожного сорта-кандидата виявити відмінні (GAIA-відмінні сорти) та подібні сорти на основі морфологічних ознак та молекулярних характеристик з-поміж загальновідомих сортів. Застосування GAIA дає можливість зменшити кількість сортів робочої колекції загальновідомих сортів, які висіваються поряд із сортами-кандидатами для визначення відмінності. За даними GEVES, в рамках експертизи на ВОС ліній кукурудзи вдається зменшити кількість пар ліній, які порівнюються в польових умовах майже на 90% [5; 6]. Слід зазначити, що можливості GAIA передбачають також визначення відмінності не тільки між сортом-кандидатом і сортом із робочої колекції загальновідомих сортів, але й сортів-кандидатів між собою.

Принцип аналізу ґрунтуються на оцінці дистанцій між 2 сортами та заснований на додаванні відмінностей, що спостерігаються для різних характеристик (якісні, кількісні морфологічні ознаки та електрофоретичні (ДНК) характеристики). Кожна відмінність, яка спостерігається, зважується експертом певної культури у відповідності зі значенням різниці між ступенями прояву і значимістю кожної ознаки. Слід зазначити, що виявлення GAIA-відмінних сортів (або чітко-відмінних) засноване на встановленні порогових значень сумарної відмінності за ознаками, що вивчаються (морфологічні, ДНК, ізоферменти, запасні білки). Такі порогові значення визначаються експертом, який працює з певним ботанічним таксоном на основі свого досвіду та статистичного аналізу даних, виходячи з того, що відмінність GAIA-відмінних сортів є чіткою та не викликає сумніву, а також буде спостерігатись в наступних випробуваннях.

Загальними принципами роботи з програмою є:

- створення нової бази даних;
- внесення результатів польової експертизи та молекулярно-генетичного аналізу в базу даних. Внесені дані включають: ботанічний таксон, що випробовується; пункти досліджень (два повторення або дві різні точки географічного розміщення); перелік сортів (код заявики та назва сорту); роки випробувань; ознаки, які розподіляються на якісні, кількісні та електрофоретичні (ДНК); матриці зважування (значимості) різниці ступеня прояву кожної ознаки (для кількісних ознак розраховується вища та нижня межа значимості різниці між двома сортами); тип молекулярних дистанцій (дистанції

за Роджером); характеристики для кожного сорту (якісні, кількісні ознаки, електрофоретичні (ДНК) характеристики, біомолекулярні дистанції); параметри сесії для порівняння сортів між собою та з сортами робочої колекції загальновідомих сортів (референсними сортами), які включають порогові значення відмінностей за сумарною вагою (значимістю) за досліджуваними характеристиками;

- порівняння сортів, що випробовуються. Дана частина роботи з програмою передбачає порівняння сортів в межах одного циклу (повторності або географічного розташування) або в межах двох;

- виведення даних результатів порівнянь за визначеними в сесіях параметрами. Існує можливість табличного та графічного представлення результатів аналізу. На основі отриманих даних робиться висновок про ступінь відмінності сортів за різними типами ознак, визначається доцільність продовження експертизи з метою встановлення чіткої відмінності в польовому досліді [2].

В науково-методичних рекомендаціях подається алгоритм роботи з ПЗ GAIA для експертизи ліній кукурудзи за морфологічними ознаками відповідно до методики проведення експертизи сортів рослин групи зернових на відмінність, однорідність і стабільність для виду *Zea mays L.* із застосуванням 9 SSR маркерів в якості додаткового методу аналізу [1; 3].

## 1. ПІДГОТОВКА ФАЙЛІВ ДАНИХ

1.1. При роботі з програмним забезпеченням GAIA передбачено декілька способів внесення даних: імпорт даних з текстових файлів (.txt) із структурою відповідно до типу даних, що імпортуються (рис. 1.1), внесення даних безпосередньо у робоче вікно ПЗ (рис. 1.2) та імпорт даних з файлу Microsoft Excel, який генерується ПЗ (рис. 1.3).

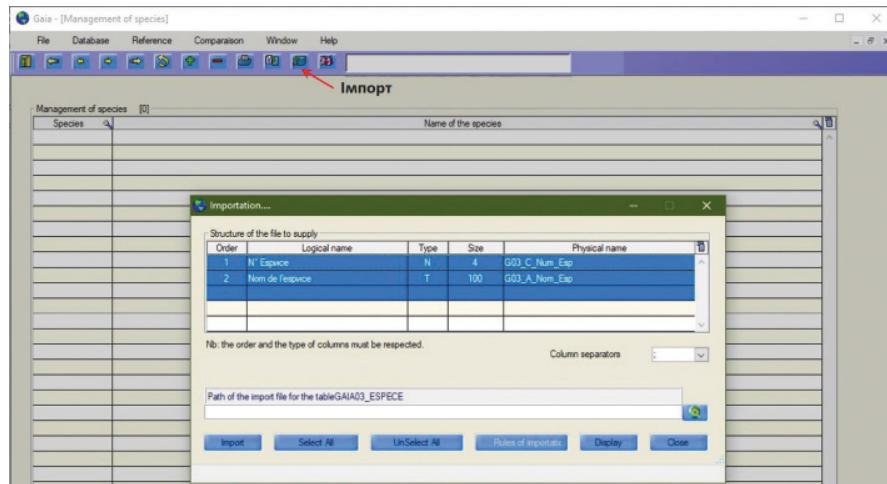


Рис. 1.1. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт даних з текстових файлів

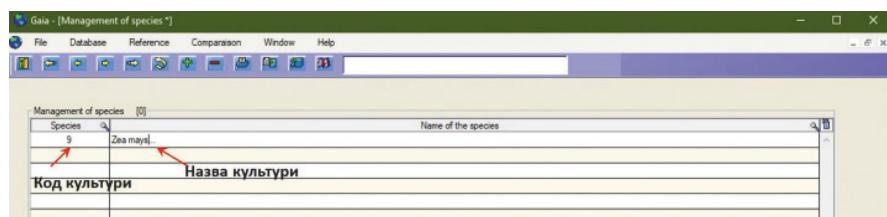


Рис. 1.2. Робоче вікно ПЗ GAIA: внесення даних безпосередньо у робоче вікно

1.2. При роботі з новою базою даних найбільш зручним інструментом для завантаження даних є імпорт даних із файлу Microsoft Excel. Згенерований файл має ім'я GaiaData, розширення .xls та містить 8 активних аркушів, які відповідають робочим вікнам ПЗ GAIA: Види (Ботанічні таксони), Сорти, Випробування, Характеристики (ознаки), якісні ознаки, дані молекулярного аналізу (електрофоретичні характеристики, ДНК маркери) кількісні ознаки та біомолекулярні дистанції (рис. 1.4). До певних типів даних вказані необхідні підказки, наприклад, позначення типу ознаки (якісна, кількісна, електрофоретична), тип біомолекулярних дистанцій та ін.

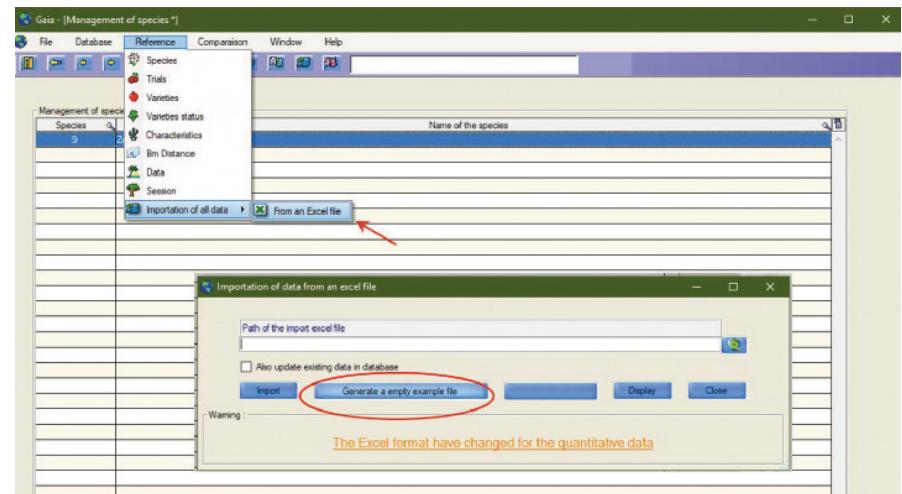


Рис. 1.3. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт даних з файлу Microsoft Excel

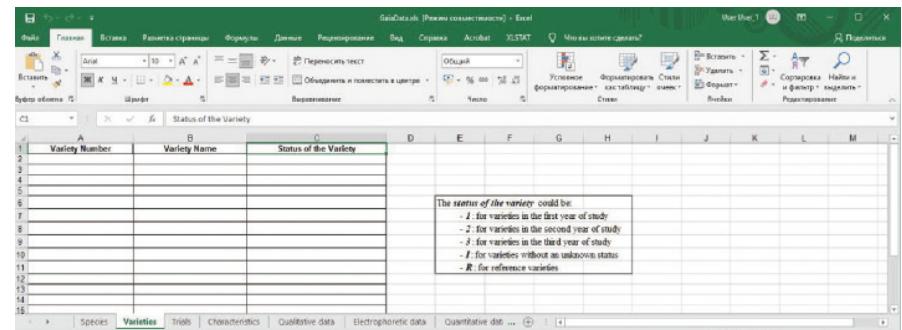


Рис. 1.4. Робоче вікно програми Microsoft Excel файлу для імпортування даних

1.3. Аркуш Види (Ботанічні таксони) (**Species**) містить поля для внесення коду культури та назви ботанічного таксону.

1.4. Аркуш Сорти (**Varieties**) містить інформацію щодо номеру заявки, назви сорту та статусу сорту. Статус сорту в даному ПЗ означає рік випробування певного сорту або позначення як референсного (сорту робочої колекції загальновідомих сортів). На цьому аркуші також розміщено підказки щодо кодування статусу сорту (рис. 1.5).

1.5. На аркуші Випробування (**Trials**) знаходиться інформація про точки випробування: код пункту дослідження та його назва.

1.6. Аркуш Характеристики (**Characteristics**) містить номер ознаки, її повну та коротку назву відповідно до методики проведення кваліфікаційної експертизи на ВОС (рис. 1.6).

**Рис. 1.5.** Робоче вікно програми Microsoft Excel файлу для імпортування даних: аркуші Види (Ботанічні таксони) та Сорти

**Рис. 1.6.** Робоче вікно програми Microsoft Excel файлу для імпортування даних: аркуші Випробування та Характеристики

**1.7.** На АРКУШІ ЯКІСНІ ОЗНАКИ (**Qualitative data**) вводяться номер заявки, статус сорту, номер циклу (в даному випадку – код пункту дослідження) та дані якісних ознак. Слід зазначити, що дані вводяться в порядку чергування для всіх (мінімум 2) пунктів, де про-

водяться випробування певної культури. Ступені прояву якісних ознак позначаються цифрами від 1 до 9.

**1.8.** АРКУШ ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ (**Electrophoretic data**) містить дані молекулярного аналізу (ДНК маркери, ізоензими, запасні білки) та складається з наступних полів: номер заявки, статус сорту та прояв молекулярних характеристик, пронумерованіх відповідним чином на аркуші. Характеристики вводяться в бінарному вигляді (рис. 1.7). В науково-методичних рекомендаціях для дослідження ліній кукурудзи застосовувались 9 SSR маркери, тому в якості кожної характеристики використано маркер+алель, яка ідентифікована для досліджуваних ліній. Наприклад, за маркером umc1061 ідентифіковано 6 алелів, розміри яких становлять: 96, 100, 105, 108, 111 та 114 п.н. Тому кожну окрему характеристику записано як: umc1061.96, umc1061.100, umc1061.105, umc1061.108, umc1061.111 та umc1061.114.

**Рис. 1.7.** Робоче вікно програми Microsoft Excel файлу для імпортування даних: аркуші Якісні ознаки та Електрофо雷тичні характеристики

**1.9.** На аркуші КІЛЬКІСНІ ОЗНАКИ (**Quantitative data**) необхідно заповнити наступні поля: номер заявки, статус сорту, рік випробування, кількість повторень, кількість рослин на повторення, код пункту дослідження та безпосередньо дані вимірювань кількісних ознак. Причому, на цьому аркуші спочатку вносяться дані по одному пункту дослідження, а нижче – по другому.

**1.10.** Останній аркуш файлу Microsoft Excel БІОМОЛЕКУЛЯРНІ ДИСТАНЦІЇ (**Biomolecular distance**) містить два поля з номером заявки

(для пари сортів, між якими розраховані генетичні дистанції), тип дистанцій та значення генетичних дистанцій (рис. 1.8).

1.11. Внесення даних за допомогою текстових файлів передбачає створення текстових файлів з певною структурою відповідно до типу даних. Кожний файл відповідає окремому аркушу у файлі Microsoft Excel та має таку структуру. На рисунку 1.9 показано приклади завантаження текстових файлів для розділу меню GAIA Види (Ботанічні таксони) та Сорти. Окрім структури у робочому вікні імпорту текстових файлів вказується максимальна кількість символів для кожного поля.

	Variety Number	Variety Status	Year	Replicates	Plant per replicate	Trial Number	14	21	22	23	24	25	26	27	28	29	31
1	1790962_R		2020	1	10	282	3.4	20.2	15.4	10.7	200.4	71.9	7.7	7.5	13.9	3.58	12.8
2	1790963_R		2020	1	10	282	7.27	24.5	17.4	14.1	35.3	8	6.3	15.6	3.5	14	
3	1890904_R		2020	1	10	282	11.7	34.3	24.9	19.7	170.3	67.5	7.61	6.88	13.2	3.75	16.8
4	1890909_R		2020	1	10	282	6.2	33.8	24.9	19.3	181	51	7.95	10.9	16.2	3.65	13.4
5	1690909_R		2020	1	10	117	9.4	34.6	26.5	16.4	197.3	71.2	9.0	4.88	18.7	4.8	16.6
6	17909030		2020	1	10	117	5	34.6	26.5	17.5	187	69	8.62	5.2	15.6	3.96	13.2
7	17909123		2020	1	10	117	13.6	43.5	31.6	20.4	197.3	67.7	7.41	4	14.4	4.24	14.2
8	17996132		2020	1	10	117	8.6	32.6	23.2	16.9	177.3	64.2	7.7	4.32	14.1	3.95	13.2
9	17996141		2020	1	10	117	7.52	37.4	29.8	23.9	208	74	7.68	5.64	16.7	3.55	14.2
10	17962577		2020	1	10	117	15.41	35.6	24.5	20.5	212.1	67.2	3.74	4.12	22.6	4.36	14.2
11			2020	1	10												

	Variety Number	Type of Distance*	Value of Distance
1	19909203	ROG	0.73
2	19909210	ROG	0.73
3	19909210	ROG	0.641
4	19909195	ROG	0.641
5	19909209	ROG	0.73
6	19909195	ROG	0.73
7	19909207	ROG	0.73
8	19909221	ROG	0.73
9	19909206	19909217	0.829
10	19909220	19909217	0.829
11	19909205	19909217	0.778
12	19909219	19909217	0.778

Рис. 1.8. Робоче вікно програми Microsoft Excel файлу для імпортування даних: аркуші Кількісні ознаки та Біомолекулярні дистанції

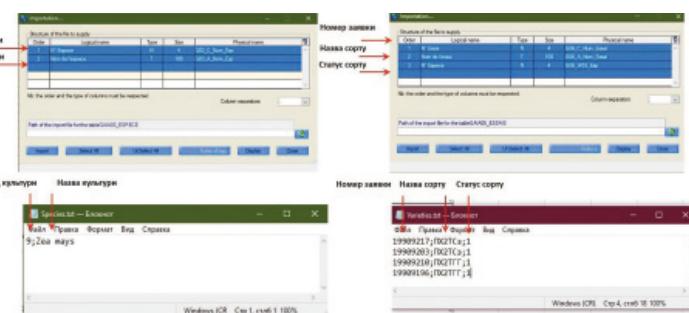


Рис. 1.9. Робочі вікна імпорту текстових файлів GAIA (зверху) зі структурою текстових файлів та текстових файлів із відповідними даними (внизу)

## 2. ІМПОРТ ДАНИХ, ОЗНАК ТА ХАРАКТЕРИСТИК

2.1. Перед початком роботи в ПЗ GAIA необхідно створити базу даних. Для цього у меню База даних (Database) обрати пункт Створити (Create) (рис. 2.1).

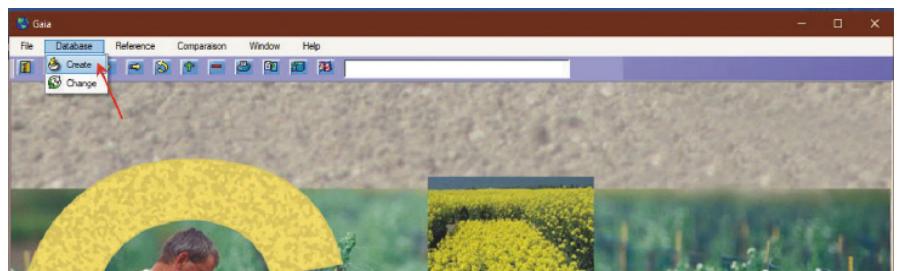


Рис. 2.1. Робоче вікно ПЗ GAIA: створення бази даних

2.2. У вікні, що відкрилось, обрати папку, де буде створена база даних та натиснути Створити (Create) (рис. 2.2). В процесі створення ПЗ запропонує дублювати (Duplicate) базу даних, від чого потрібно відмовитись. Після створення бази даних з'явиться повідомлення, що ви працюєте у створеній базі даних.

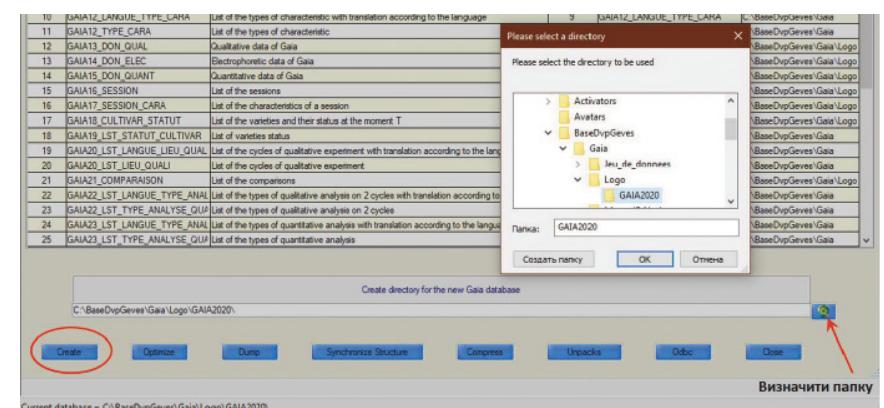


Рис. 2.2. Робоче вікно ПЗ GAIA: створення бази

2.3. Перед імпортом даних із підготовленого файлу Microsoft Excel у меню Reference обрати пункт Біомолекулярні дистанції (Bm Distance) та задати тип дистанцій: за Роджером «ROG» та «Roger's» (рис. 2.3).

2.4. У меню Reference обрати пункт Імпорт всіх даних «з файлу Microsoft Excel» (Importation of all data from an Excel file) (рис. 1.3). У вікні, що відкрилось, обрати файл для імпорту, вказати «Оновити також існуючі дані в базі» (Also update existing data in database) та натиснути Імпорт (Import) (рис. 2.4).

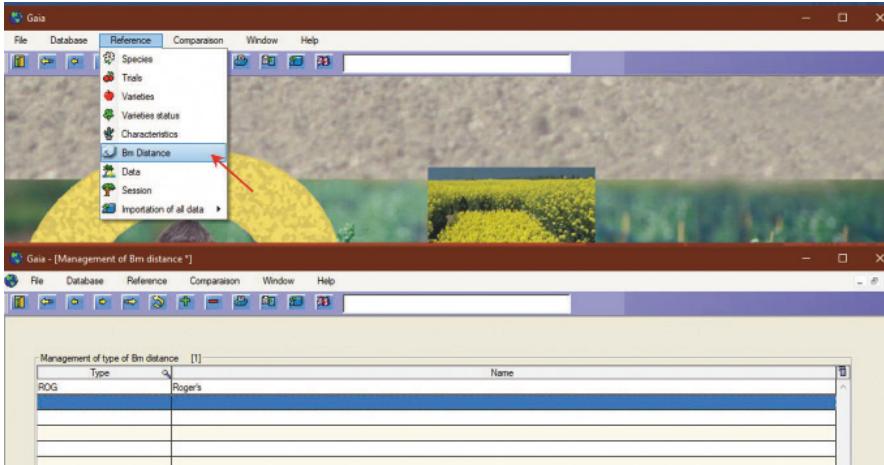


Рис. 2.3. Робоче вікно ПЗ GAIA: внесення типу дистанцій

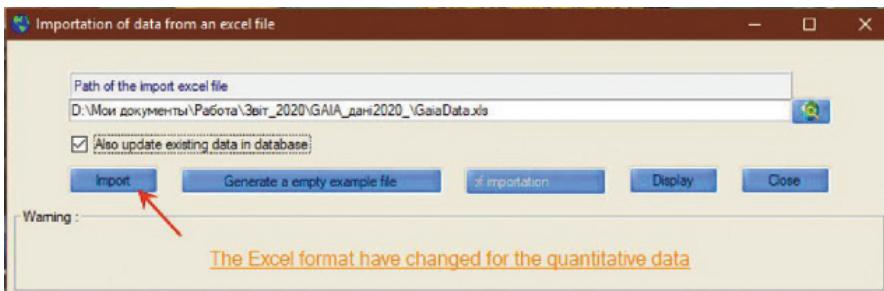


Рис. 2.4. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт даних з файлу Microsoft Excel

2.5. Після завантаження з'явиться вікно текстового файлу з повідомленнями про успішний імпорт та/або з повідомленням про помилки, що виникли під час завантаження даних.

2.6. В результаті всі пункти меню **Reference** будуть заповнені даними, відповідно до підготовленого файла Microsoft Excel. Наступним кроком підготовки до аналізу сортів є завантаження файлів із вагами різниці ступеня прояву ознак.

### 3. ПІДГОТОВКА ТА ЗАВАНТАЖЕННЯ ФАЙЛІВ ВАГИ ОЗНАК

3.1. Ваги (значимість) різниці ступенів прояву якісних, кількісних ознак та електрофоретичних (ДНК) характеристик завантажуються у ПЗ GAIA після імпорту всіх характеристик та даних, описаних в розділі 1 та 2 науково-методичних рекомендацій.

3.2. Для імпорту значень ваги різниці ступеня прояву якісних морфологічних ознак готують текстовий файл із структурою, яку відображену у пункті Характеристики (**Characteristics**) меню **Reference**. Для цього у вікні, що відкриється, виділити будь-яку якісну ознаку, поряд стане активною вкладка **Якісні ваги (Qualitative weightings)**. Перейти на цю вкладку та натиснути **Import** (рис. 3.1).

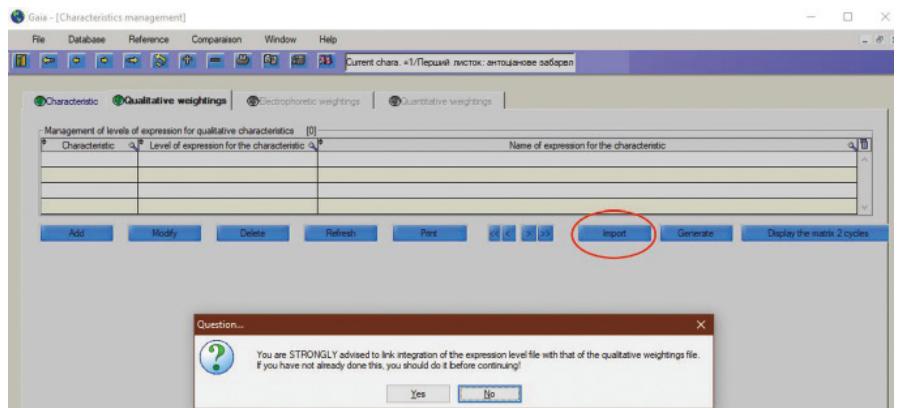


Рис. 3.1. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт ваги різниці ступенів прояву якісних ознак

3.3. Одразу з'явиться повідомлення про рекомендацію спочатку завантажити ступень прояву якісних ознак. Натиснути **Yes**. Після цього з'явиться повідомлення із запитанням чи потрібно пов'язати ступінь прояву із якісними ознаками, що завантажуються. Натиснути **Yes** (рис. 3.2).



Рис. 3.2. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт ваги різниці ступенів прояву якісних ознак (повідомлення щодо ступенів прояву та якісних ознак)

3.4. У наступному вікні вказана структура текстового файла та максимальна кількість символів в кожному полі. Відповідно до цієї структури підготувати текстовий файл (; - розділення між полями)

(рис. 3.3). Коли файл сформовано та збережено, натиснути Імпорт (Import) та завантажити ступені прояву якісних ознак.

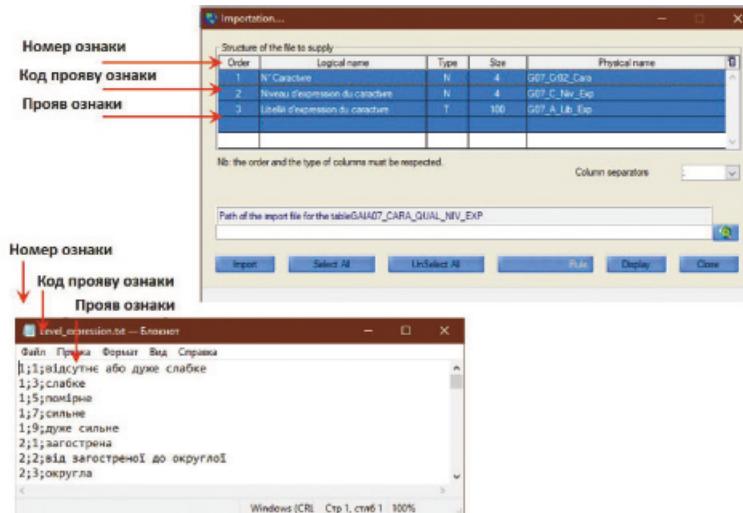


Рис. 3.3. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт та структура текстового файлу для ступенів прояву якісних ознак

3.5. В наступному вікні відображається структура файлу та можливість завантаження ваги різниці ступеня прояву якісних ознак за 2 цикли (тобто, можна визначити різні ваги для різних пунктів дослідження) (рис. 3.4). В науково-методичних рекомендаціях спеціалістами відділу кваліфікаційної експертизи на ВОС сортів рослин Українського інституту експертизи сортів рослин визначені ваги різниці ступеня прояву якісних та кількісних морфологічних ознак для кукурудзи звичайної на основі їх досвіду та з урахуванням значимості групових ознак, рекомендованих методикою проведення експертизи сортів рослин групи зернових на відмінність, однорідність і стабільність для виду *Zea mays* L.

3.6. Для імпорту значень ваги різниці ступеня прояву кількісних морфологічних ознак готовують текстовий файл із структурою, яку відображено у пункті Характеристики (Characteristics) меню Reference. Для цього у вікні, що відкриється, виділити будь яку кількісну ознако, поряд стане активною вкладка Кількісні ваги (Quantitative weightings). Перейти на цю вкладку та натиснути Імпорт (Import) (рис. 3.5).

3.7. У вікні, що відкриється обрати Мінімальні дистанції у випробуваннях (Minimal distances in trials) (1) та натиснути Ok. В наступному вікні відображено структуру файлу та можливість завантаження мінімального та максимального значення мінімальної дистанції кількісних ознак (рис. 3.6).

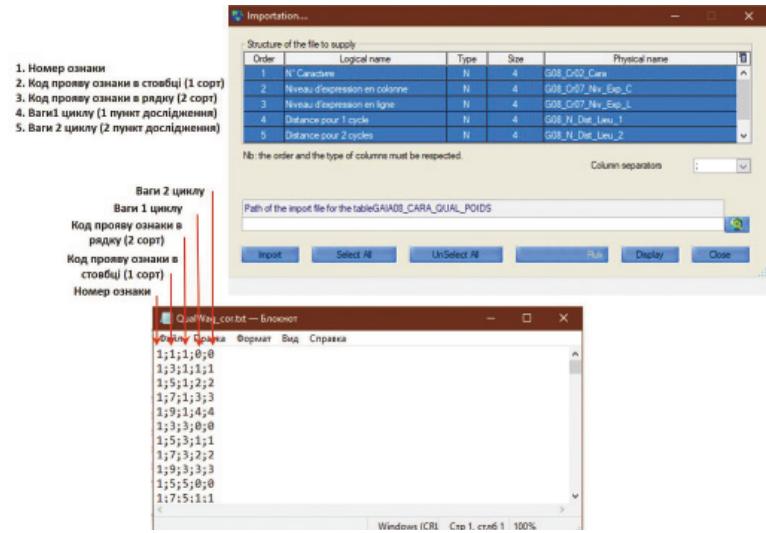


Рис. 3.4. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт та структура текстового файлу для ваги різниці ступеня прояву якісних ознак

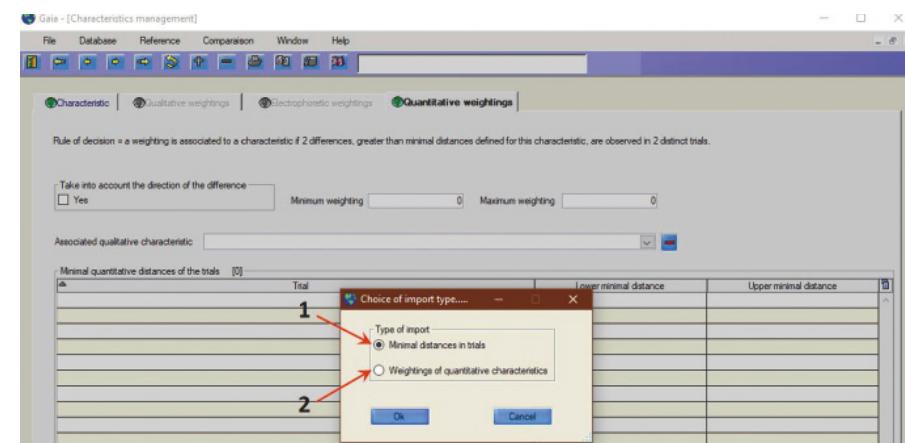
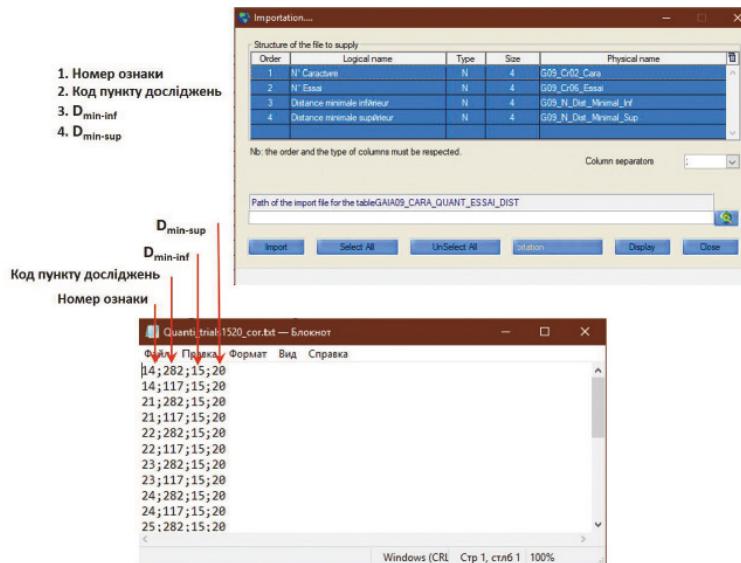


Рис. 3.5. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт ваги різниці ступенів прояву кількісних ознак (визначення типу імпорту)

3.8. Для кожного випробування та кожної ознакої спеціаліст повинен визначити два мінімальних значення для розрахунку ваги кількісних ознак: найнижче значення мінімальної дистанції  $D_{min-inf}$  - величина, що використовується як основа мінімального значення ваги  $P_{min}$  та найвище значення мінімальної дистанції  $D_{min-sup}$  - величина, що використовується як основа максимального значення ваги  $P_{max}$ . Різниця між двома сортами має бути більшою за встановлені



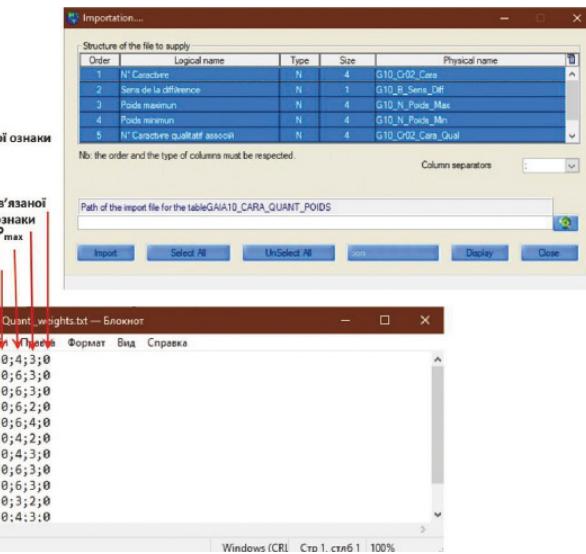
**Рис. 3.6.** Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт та структура текстового файлу для встановлення мінімального та максимального значення мінімальної дистанції кількісних ознак

певні порогові значення. Такі порогові значення можуть бути встановлені довільно або розрахована (15 або 20% середнього значення вимірюваної величини для кожного випробування, або НІР (найменша істотна різниця) на рівні 1 та 5% значущості тощо). Для аналізу ліній кукурудзи обрано порогові значення різниці – 15 та 20% середнього значення для кожного випробування. Тому структура текстового файлу, що імпортується, включає, окрім номеру ознаки та пункту досліджень, значення 15 та 20 для кожної ознаки та кожного пункту випробування (рис. 3.6).

3.9. Виходячи із умови про мінімальні дистанції між сортами, що спостерігаються для кожної ознаки та пункту випробування, для визначення ваги  $P_{\min}$  встановлено мінімальне значення якості різниця більша за  $D_{\min-inf}$ . За умови, що різниця між середніми значеннями величини кількісної ознаки більша за  $D_{\min-sup}$  встановлено максимальне значення ваги  $P_{\max}$ . У випадку, якщо різниця менша за  $D_{\min-inf}$ , значення ваги становить нуль.

**3.10.** Після імпорту мінімального та максимального значення мінімальної дистанції кількісних ознак на вкладці Кількісні ваги (**Quantitative weightings**) натиснути Імпорт (**Import**) та обратити Ваги кількісних ознак (**Weightings of quantitative characteristics**) (2) (рис. 3.5). У вікні, що відкрилось, імпортувати ваги кількісних ознак, які визначені спеціалістом ( $P_{\min}$  та  $P_{\max}$ ) на основі  $D_{\min\text{-}inf}$  та  $D_{\min\text{-}sup}$  відповідно до представленої структури файлу (рис. 3.7). Для ваги кількісних ознак передбачено урахування напряму різниці,

тобто в більшу чи меншу сторону відрізняються два сорти за величиною значення кількісної ознаки. Якщо відповідь на питання, що стосується напряму різниці, було «плюс» - у відповідне поле записується тип 1, якщо різниця не враховується – 0. В ПЗ GAIA також можливо пов'язати кількісну ознаку з певною якісною. Якщо такий зв'язок не визначено, у відповідне поле текстового файлу ваги кількісних ознак ввести 0.



**Рис. 3.7.** Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт та структура текстового файлу ваги кількісних ознак

3.11. Для імпорту значень ваги електрофоретичних (ДНК) ознак готують текстовий файл із структурою, яку відображену у пункті Характеристики (**Characteristics**) меню **Reference**. Для цього у вікні, що відкриється, виділити будь яку електрофоретичну (ДНК) ознаку, поряд стане активною вкладка Електрофоретичні ваги (**Electrophoretic weightings**). Перейти на цю вкладку та натиснути Імпорт (**Import**).

3.12. У вікні, що відкриється, вказано структуру текстового файлу для імпорту ваги електрофоретичних (ДНК) ознак (рис. 3.8). В науково-методичних рекомендаціях описано застосування 9 SSR маркерів для аналізу ліній кукурудзи. Тому ваги хромосоми (в цьому випадку SSR маркеру) встановлювались за такою схемою: чим вище значення PIC (polymorphism information content) для певного маркера, тим вище його вага. Ваги різниці визначались за частотою ідентифікованого алелю за певним маркером: чим вище частота, тим вище значення ваги різниці. Номери хромосом записані по розташуванню мікросателітного локуса [4]. Оскільки, на номер

хромосоми виділено тільки один символ, у текстовому файлі ваги електрофоретичних (ДНК) ознак хромосома 10 записана як 0.

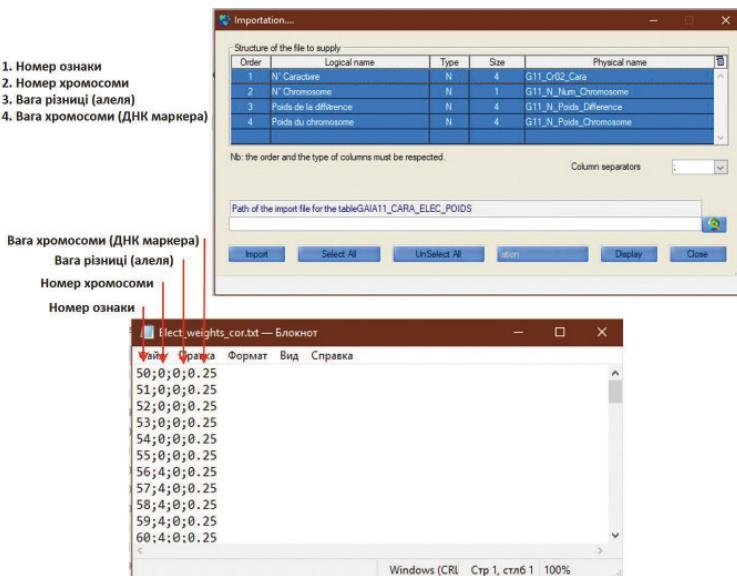


Рис. 3.8. Робоче вікно ПЗ GAIA: імпорт та структура текстового файлу ваги електрофоретичних (ДНК) ознак

#### 4. ВІЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ СЕСІЙ ТА ПОРІВНЯННЯ СОРТІВ

4.1. Після того, як всі дані та ваги завантаженні, необхідно визначити параметри сесій для порівняння сортів. Для цього в меню Reference обрати пункт Сесії (Sessions). У вікні, що відкрилось, натиснути +, щоб додати сесію. У відповідне поле ввести назву сесії, обрати з випадаючого списку вид та тип дистанції та задати порогові значення, які будуть визначати GAIA-відмінних. Для ліній кукурудзи, які проходили кваліфікаційну експертизу на ВОС, базуючись на досвіді GEVES, задані дві сесії з пороговими значеннями 6 та 9, фенотиповою межею 4 та 6, генотиповою межею 0,30.

Порогове значення відмінності (**Distinction threshold**) - це порогове значення, вище якого 2 сорти вважаються GAIA-відмінними. Фенотипова межа (**Phenotypic limit**): це мінімальна фенотипова дистанція, яку необхідно отримати при якісному та/або кількісному аналізі для врахування біомолекулярних дистанцій. Якщо фенотипова межа дорівнює 6, це означає, що біомолекулярні дистанції будуть поєднуватися з дистанціями GAIA лише для пари сортів з дистанціями GAIA, що вище або рівні 6. Генотипова межа (**Genotypic limit**) - це мінімальна біомолекулярна дистанція для пари сортів для поєднання біомолекулярних дистанцій та дистанції GAIA. Якщо межа генотипового рівня дорівнює 0,3, це означає, що біомолекулярні дистанції будуть поєднуватися з дистанціями GAIA лише для пари сортів з біомолекулярними дистанціями більше або рівними 0,3.

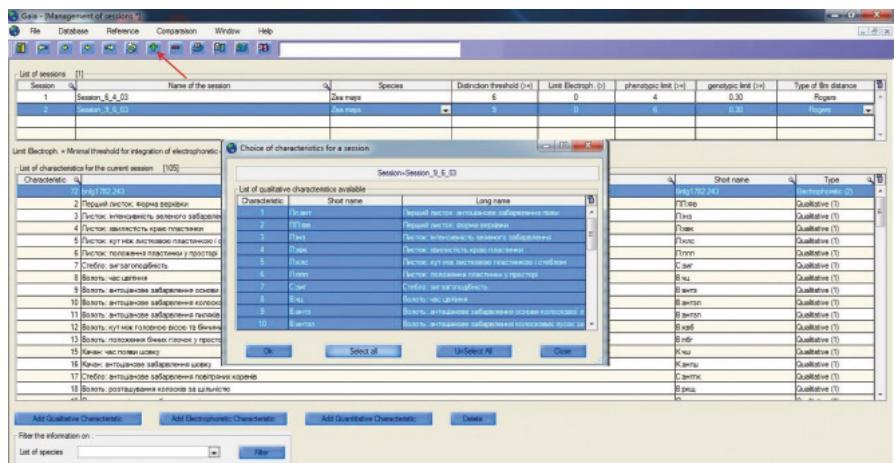


Рис. 4.1. Робоче вікно ПЗ GAIA: створення сесій для порівнянь сортів

4.2. Для кожної створеної сесії додати ознаки, за якими буде проходити порівняння сортів. Натиснути Додати Якісні ознаки (Add Qualitative Characteristic). У вікні, що відкрилось, натиснути Обра-

ти все (**Select all**) та натиснути **Ok**. Додати кількісні та електрофоретичні (ДНК) ознаки шляхом натискання відповідних кнопок (**Add Electrophoretic Characteristic** та **Add Quantitative Characteristic**).

4.3. Для проведення порівнянь сортів зайдіть в меню **Comparison** та обрати **Визначення (Definition)**. У вікні, що відкрилось, натисніть + для того, щоб створити порівняння. Із випадаючого меню обрати тип порівняння (**Type of comparison**), ввести назву порівняння, обрати ботанічний таксон та сесію у відповідних полях (**Species** та **Session**) (рис. 4.2).

4.4. Тип порівняння (**Type of comparison**) може бути:

**Якісний (Qualitative):** для аналізу використовуються лише дані якісних ознак;

**Електрофоретичний (Electrophoretic):** для аналізу використовуються лише електрофоретичні дані (дані ДНК аналізу);

**Кількісний (Quantitative):** для аналізу використовуються лише дані кількісного аналізу;

**Qualit+Electr:** спочатку аналіз даних якісних ознак, далі, для GAIA-НЕ відмінних сортів, аналіз електрофоретичних даних;

**Qualit+Quantit:** спочатку аналіз даних якісних ознак, далі, для GAIA-НЕ відмінних сортів, аналіз на основі кількісних ознак

**Electr+Quantit:** спочатку аналіз електрофоретичних даних далі, для GAIA-НЕ відмінних сортів, аналіз даних кількісних ознак.

**Qualit+Electr+Quantit:** спочатку аналіз даних якісних ознак, далі для GAIA-НЕ відмінних сортів, аналіз електрофоретичних даних та в кінці якщо сорти залишаються GAIA-НЕ відмінними, проводиться аналіз даних за кількісними ознаками;

**Qualit+Bm:** спочатку аналіз даних за якісними ознаками, далі, для GAIA-НЕ відмінних сортів, поєднання з біомолекулярними дистанціями відповідно до меж, визначених у сесії;

**Quanti+Bm:** спочатку аналіз даних кількісних ознак, далі для GAIA-НЕ відмінних сортів, поєднання з біомолекулярними дистанціями відповідно до меж, визначених у сесії;

**Qualit+Quanti+Bm:** аналіз за фенотипом за якісними ознаками, далі для GAIA-НЕ відмінних сортів, аналіз за даними кількісних ознак і в кінці для сортів, які залишились GAIA-НЕ відмінними, поєднання з біомолекулярними дистанціями відповідно до меж, визначених у сесії.

4.5. У цьому ж вікні визначіть параметри оцінки за якісними ознаками (**Qualitative parameters**): список циклів для оцінки за якісними ознаками (**List of cycles for qualitative experiment**) – обрати із випадаючого списку Цикл 1 для оцінки за якісними ознаками (**Cycle 1 of qualitative experiment**) (тобто дані, які надійшли з основного пункту дослідження). Для кількісних ознак в полі параметрів оцінки за кількісними ознаками – обрати тип аналізу **Minimalist** (зважування, пов’язане з найменшою різницею). В полі параметри порівняння (**Comparison parameters**) обрати рівень експертизи (**Status**). Після внесен-

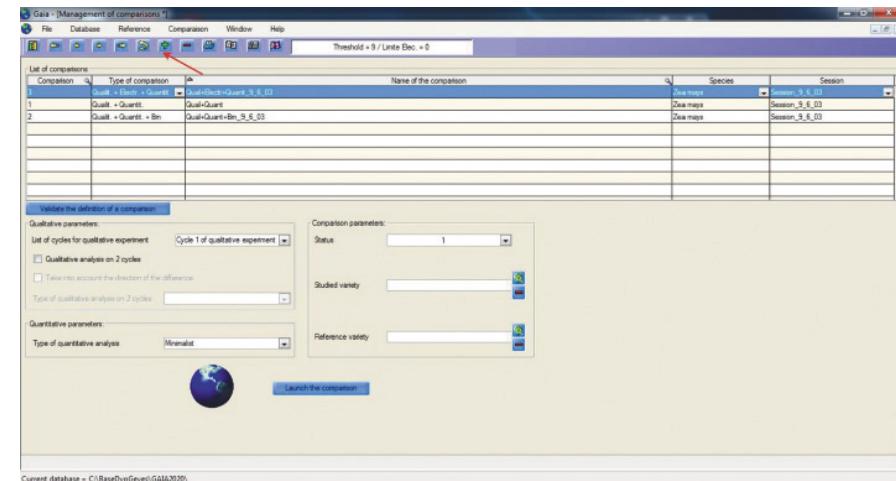


Рис. 4.2. Робоче вікно ПЗ GAIA: створення та встановлення параметрів порівнянь сортів

ня всіх параметрів – натиснути **Застосувати визначення порівняння (Validate the definition of a comparison)** та натиснути **Запуск порівняння (Launch the comparison)**. В залежності від вибраного типу, порівняння триває декілька хвилин. Після того, як порівняння здійснено, з’явиться повідомлення про загальний час тривалості порівняння.

4.6. Для перегляду результатів порівняння, в меню **Comparison** обрати **Перегляд (View)** та визначити тип відображення: у вигляді дерева (**Tree view**) або табличному вигляді (**Tabular view**).

4.7. У разі вибору перегляду результата в вигляді дерева, відкривається вікно, що містить перелік порівнянь, таблицю для відображення дистанцій GAIA-НЕ відмінних сортів та безпосередньо список сортів, у вигляді дерева (рис. 4.3).

4.8. Для застосування результатів порівнянь потрібно натиснути **Відобразити дерево (Display tree)**.

4.9. У випадку, коли сорти виявилися GAIA-відмінними, справа в таблиці не відображається ніякої додаткової інформації. У разі, коли сорти GAIA-НЕ відмінні, в таблиці вказані ознаки, за якими одна пара або більше сортів найбільш подібні (рис. 4.4).

4.10. В табличному відображені результатів порівнянь, вказані одразу найбільш подібні сорти. Ознаки розділені за типом та мають окремі вкладки у вікні представлення результатів (рис. 4.5). Зліва в таблиці відмічені GAIA-відмінні сорти за тим типом порівнянь, який було обрано у верхній частині вікна.

4.11. У випадку застосування біомолекулярних дистанцій як в табличному вигляді, так і у вигляді дерева, передбачено графічний перегляд результатів порівняння (рис.4.6). Для цього потрібно натиснути **Застосувати біомолекулярні дистанції (Impact of Bm distance)** у вікні представлення результатів.

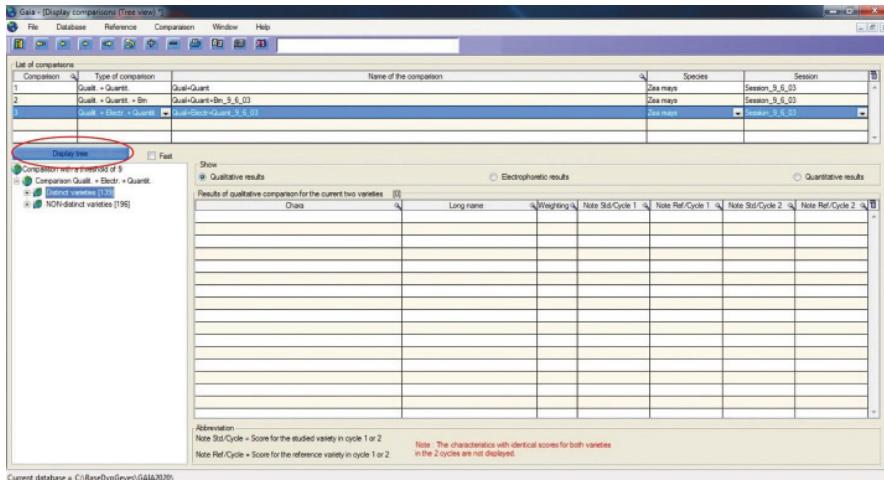


Рис. 4.3. Робоче вікно ПЗ GAIA: перегляд порівнянь сортів у вигляді дерева

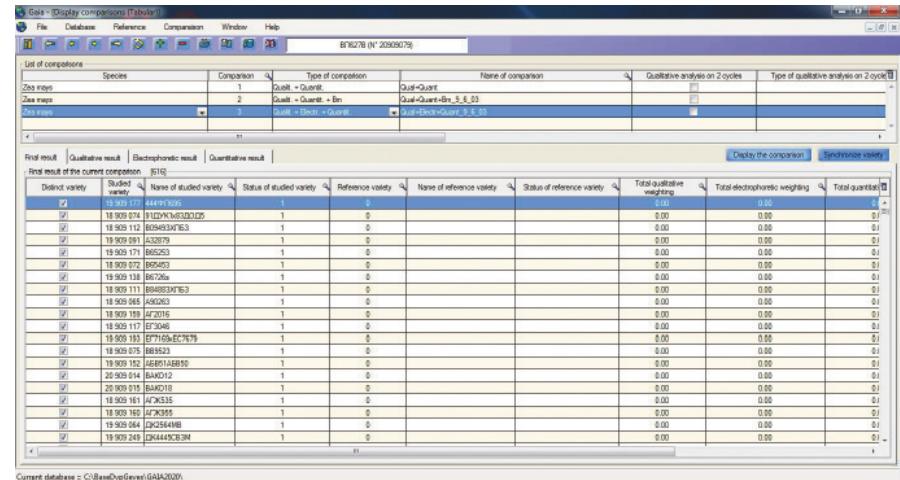


Рис. 4.5. Робоче вікно ПЗ GAIA: перегляд порівнянь сортів у табличному вигляді для GAIA-відмінних та GAIA-НЕ відмінних сортів

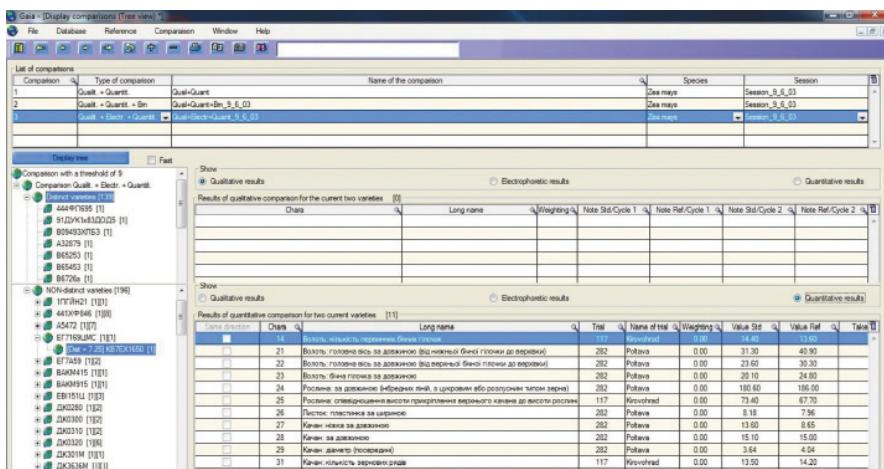


Рис. 4.4. Робоче вікно ПЗ GAIA: перегляд порівнянь сортів у вигляді дерева для GAIA-відмінних та GAIA-НЕ відмінних сортів

4.12. На рисунку 4.6 крапками різного кольору позначені пари сортів, які виявилися GAIA-НЕ відмінними за обраним типом порівняння. Для перегляду та обробки отриманих даних порівнянь існує функція передачі результатів в Microsoft Excel.

Отже, застосування програмного забезпечення GAIA для аналізу сортів рослин, які проходять кваліфікаційну експертизу на ВОС дозволяє оцінити сорти за якісними, кількісними ознаками, передбаченими методиками проведення експертизи, а також використовувати додаткові методи аналізу сортів, такі як ДНК мар-

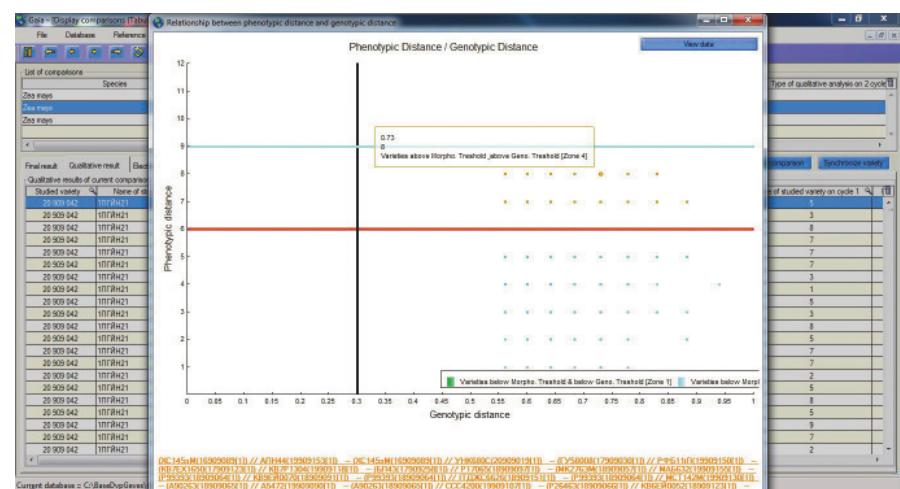


Рис. 4.6. Робоче вікно ПЗ GAIA: перегляд порівнянь сортів у табличному вигляді за застосуванням біомолекулярних дистанцій

кері. Отримані результати порівнянь можна використовувати для формування бази даних, включаючи дані молекулярно-генетичного аналізу, та в подальшому застосовувати для підбору сортів робочої колекції загальновідомих сортів.

## **Список використаних літературних джерел**

1. Методика проведення експертизи сортів рослин групи зернових на відмінність, однорідність і стабільність. 2020. С. 48-55. URL: [https://sops.gov.ua/uploads/page/Meth\\_DUS/Method\\_grain2020.pdf](https://sops.gov.ua/uploads/page/Meth_DUS/Method_grain2020.pdf)
2. Guitouni C., Chevalier C. GAIA user's guide. France: GEVES, 2010. 61 p.
3. ISO/TR 17623:2015 Molecular biomarker analysis - SSR analysis of maize. 2015. URL: <https://www.iso.org/standard/60171.html>
4. Maize Genetics and Genomics Database. URL: <https://www.maizegdb.org/>
5. TWC/21/4. GAIA SOFTWARE: crop expert phenotypic distances between varieties. 2003. URL: [https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/twc/21/twc\\_21\\_4.pdf](https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/twc/21/twc_21_4.pdf)
6. TWC/25/13. GAIA SOFTWARE. 2007. URL: [https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/twc/25/twc\\_25\\_13.pdf](https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/twc/25/twc_25_13.pdf)

## **Застосування програмного забезпечення GAIA в кваліфікаційній експертизі сортів рослин на відмінність, однорідність та стабільність**

Науково-методичні рекомендації підготували:  
Присяжнюк Л. М., Стариченко Є. М., Гринів С. М., Таганцова М. М.,  
Свинарчук О. В., Мельник С. І.

Схвалено до друку Вчену радою  
Українського інституту експертизи сортів рослин,  
протокол №3 від «25» лютого 2021 р.

Комп'ютерна верстка Бойко А. І.

Формат 64x90/16. Папір крейдований.  
Друк цифровий. Гарнітура Schoolbook. Умов. друк. арк. Обл.-вид. арк.  
Наклад 50 прим. Зам. №

Віддруковано з оригіналів замовника.  
ТОВ «ТВОРИ»  
21027 м. Вінниця, вул. Келецька, 51а, прим.143  
Тел.: (0432) 603-000, 69-67-69  
e-mail: [info@tvoru.com.ua](mailto:info@tvoru.com.ua)  
<http://www.tvoru.com.ua>

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців,  
виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції  
серія ДК № 6188 від 18.05.2018 р.