

УДК 57.084.5:582.998:581.143.5

Адаптивність гібридів F_1 соняшника, створених за комплексною системою добору ліній з господарсько-цінними ознаками, у різних агрокліматичних зонах

В. О. Бабич^{1,2*}, І. Ю. Боровська², Я. Ю. Шарипіна², Я. Ф. Парій², Ю. В. Симоненко^{1,2}

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03143, Україна, *e-mail: vikuhababych@gmail.com

²Всеукраїнський науковий інститут селекції, вул. Васильківська, 30, м. Київ, 03022, Україна

Мета. Визначити екологічну пластичність та урожайність гібридів F_1 соняшника, створених на основі материнських та батьківських ліній, що були відібрані за прискореною системою добору ліній, стійких до гербіцидів (імідазолінової та сульфонілсечовинної груп) та вовчка соняшникового (*Orobanche cumanica* Wallr.). **Методи.** Статистичний аналіз гібридів F_1 соняшника проведено за допомогою методів варіаційної статистики, регресійного та дисперсійного аналізу за використання пакету прикладних програм Microsoft Office Excel 2016. Для прискореної системи добору ліній використовували молекулярно-біологічні, біотехнологічні та класичні методи селекції. Для цілеспрямованого відбору закріплювачів стерильності соняшника було використано молекулярний SCAR-маркер HRG01 для ідентифікації гену відновлення фертильності пилку (Rf_1). Для прискореного створення батьківських ліній, стійких до трибенурон-метилу, було використано культуру незрілих зародків. **Результати.** Наведено результати тестування гібридів F_1 соняшника у Київській, Чернігівській, Черкаській (Уманський та Шполянський р-н), Хмельницькій, Харківській, Херсонській та Одеській областях. Гібриди створено на основі відібраних ліній, добір яких проводили за прискореною системою добору ліній, стійких до гербіцидів [імідазолінової (ІМІ-гібриди) та сульфонілсечовинної (SU-гібриди) груп] і до вовчка соняшникового. Стандартами, з якими порівнювали гібриди, виступали: для ІМІ-гібридів – гібриди 'NK Neoma' (Syngenta) та 'ES Genesis' (Euralis), а для SU-гібридів – 'SY Sumiko' (Syngenta) та 'P64LE25' (Pioneer). Було встановлено, що серед SU-гібридів UA 2/106 мав більшу на 3,9% урожайність порівняно зі стандартами ('SY Sumiko' та 'P64LE25'). Для ІМІ-гібридів встановлено, що гібриди UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 мають таку саму врожайність – 2,76 т/га, що й стандарт 'NK Neoma'. ІМІ-гібриди UA 1/92, UA 1/102 мають врожайність 2,91 т/га, що й стандарт 'ES Genesis'. **Висновки.** Завдяки прискореній системі добору ліній соняшника було відібрано вихідний селекційний матеріал, на основі якого було створено гібриди F_1 . Гібриди аналізували за показником урожайності. Найурожайнішим серед протестованих SU-гібридів був UA 2/106, серед ІМІ-гібридів – UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84, UA 1/92 та UA 1/102.

Ключові слова: *Helianthus annuus* L.; гібрид; урожайність; випробування.

Вступ

Соняшник (*Helianthus annuus* L.) є основною олійною культурою в Україні, в 2020 році він вирощувався на площі понад 6 мільйонів гектарів [1]. У промисловому виробництві використовують високоврожайні гібриди соняшника, що характеризуються комплексом певних господарсько-цінних ознак, таких як: стійкість до гербіцидів сульфонілсечовинної та імідазолінової груп, стійкість проти хвороб та шкідників, стійкість проти вовчка соняшникового (*Orobanche cumanica* Wallr.). Для

створення гібридів F_1 соняшника використовують цитоплазматичну чоловічу стерильність (ЦЧС), де основними компонен-

Viktoria Babych
<http://orcid.org/0000-0002-1022-9250>

Irina Borovska
<http://orcid.org/0000-0002-9498-7269>

Yaroslava Sharypina
<http://orcid.org/0000-0001-5078-1608>

Yaroslav Parii
<http://orcid.org/0000-0001-8813-3120>

Yuri Symonenko
<http://orcid.org/0000-0002-5597-3315>

тами гібрида є закріплювач стерильності пилку соняшника (Nrf_1rf_1), його стерильний аналог (Srf_1rf_1) та відновник фертильності пилку соняшника (N/SRf_1Rf_1) [2]. Добір кожного компонента за цінними ознаками (стійкість до гербіцидів і рослини-паразита вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.) є довготривалим селекційним процесом, що триває протягом 6 років, а з тестуванням гібридів та їхньою подальшою реестрацією триває 12 років [2, 3].

Використання молекулярно-біологічних, біотехнологічних та імунологічних методів (тестування ліній на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах для визначення стійкості вихідного матеріалу до рослини-паразита вовчка соняшникового) разом з класичними методами селекції дозволяє проводити прискорене створення та відбір батьківських ліній з господарсько-цінними ознаками. Наприклад, за використання молекулярних маркерів (RAPD, ALFP, SSR тощо) можливо провести ідентифікацію генів стійкості: до несправжньої борошністої роси (гени *Pl*) [3–5], до рослини-паразита вовчка соняшникового (гени *Or*) [3, 6, 7], до гербіцидів (гени *AHAS/ALS*) [3, 8, 9] та генів відновлення фертильності пилку (гени *Rf*) [10–14] у батьківських лініях соняшника. Даний метод дозволяє проводити цілеспрямовані добори серед вихідного матеріалу соняшника за даними генами (*Pl*, *Or*, *Rf*, *AHAS/ALS* тощо). Серед методів отримання батьківських компонентів з певними ознаками ефективним є метод культури незрілих зародків *in vitro*. Цей метод використовується також для вивчення соматичного ембріогенезу, органогенезу, регенерації [15–19], отримання рослин зі зміненими ознаками після їхньої генетичної трансформації [20], розмноження насіння з низькою життєздатністю, а також для отримання віддалених гібридів [2, 21].

Кінцевою метою відбору отриманих ліній соняшника є їхнє подальше схрещування для створення гібридів (F_1), що будуть мати певні визначені господарсько-цінні ознаки (стійкість до гербіцидів та до рослини-паразита вовчка соняшникового, посухи, підвищену врожайність та вміст олії, тощо).

Необхідною умовою для впровадження нових гібридів соняшника в промислове вирощування є випробування гібридів для об'єктивної оцінки їхнього генетичного потенціалу, конкурентоспроможності та адаптивності, щоб визначити зону вирощування для отримання максимального рівня урожай-

ності. Екологічні випробування дозволяють оцінити екологічну пластичність за урожайністю, що є одним з методів вивчення норми реакції за цією ознакою та зону вирощування [22–24].

Мета досліджень – визначення екологічної пластичності та урожайності гібридів F_1 соняшника в екологічному випробуванні, отриманих на основі материнських та батьківських ліній, що були відібрані за прискореною системою добору ліній, стійких до гербіцидів (імідазолінової та сульфонілсечовинної груп) та вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.).

Гібриди, що тестувались у 2020 р., було відібрано за прискореною системою добору вихідного матеріалу соняшника, стійкого до гербіцидів (імідазолінової та сульфонілсечовинної групи) та рослини-паразита вовчка соняшникового, розробленою впродовж 2016–2020 рр. Особливістю створеної системи прискореного добору є поетапне застосування комплексу біотехнологічних, молекулярно-біологічних та селекційних методів для прискорення та цілеспрямованого відбору ліній з бажаними господарсько-цінними ознаками.

Матеріали та методика досліджень

Рослинний матеріал

Гібриди соняшника створено на основі материнських та батьківських ліній, стійких до гербіцидів та вовчка, що були відібрані за прискореною системою добору.

Для створення гібридів, стійких до гербіцидів імідазолінової групи (гербіцид Євро-Лайтнінг виробничої системи Clearfield компанії BASF з діючою речовиною імізапін 15 г/л та імізамокс 33 г/л), використано наступний матеріал:

– материнські лінії – ВН320/‘NK Neoma’ (11/15), ВН320/‘NK Neoma’ (11/103), ВН320/‘NK Neoma’ (11/104), ВН039/‘ЕС Артміс’ (11/162), ВН3978/‘Драган’ (12/155) та ВН3978/‘Драган’ (12/156) [25];

– батьківська лінія – лінія 3 [26].

Для гібридів, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи (гербіцид Гранстар Голд 75 компанії DUPONT з діючою речовиною трибенурон-метил 750 г/кг), використано:

– материнські лінії – Ls8A/Lc1093B (9/10), Ls8A/Lc1093B (9/12), Ls8A/Lc1093B (9/117), Zoria FN/Lc1093B (9/138), Zoria FN/Lc1093B (9/166), A12/Lc1093B (10/124) та A12/Lc1093B (10/216) [25];

– батьківські лінії – ВН0118/SURES-2 (101/1), ВН0118/SURES-2 (101/4), ВН0118/SURES-2 (101/6), ВН0118/SURES-2 (101/7),

BH0218/SURES-2 (101/11, BH0218/SURES-2 (101/12), BH0218/SURES-2 (101/16), BH0218/SURES-2 (101/17), BH0218/SURES-2 (101/18), BH0318/SURES-2 (101/21), BH0318/SURES-2 (101/24), BH0318/SURES-2 (101/28), BH0318/SURES-2 (101/30) [26].

Система прискороного добору батьківських ліній проходила за схемою, представленою на рисунку 1. Робота з материнськими лініями проходила у два етапи: 1) виділення закріплювачів стерильності за використання SCAR-маркера HRG01; 2) виділення стійких до вовчка закріплювачів сте-

рильності на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах. Робота з батьківськими формами включала в себе: 1) дослідження регенераційної здатності ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до імідазолінонів та прискорене створення стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника за використання культури незрілих зародків соняшника; 2) виділення стійких до вовчка ліній-відновників фертильності пилку на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах.

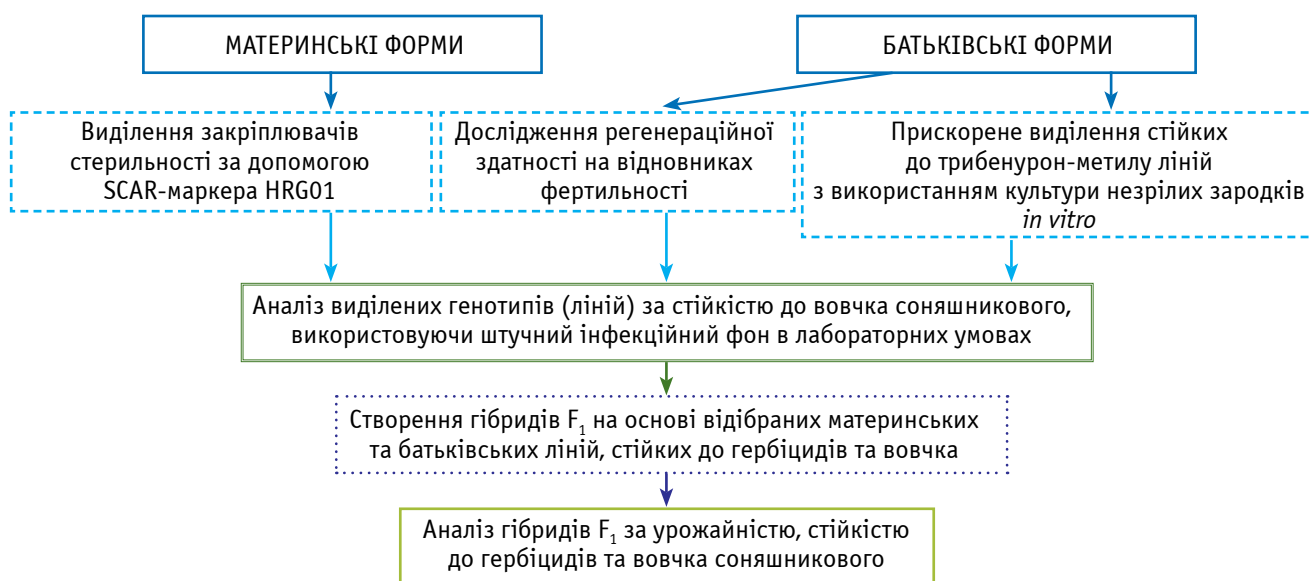


Рис. 1. Загальна схема прискороеної системи добору батьківських ліній соняшника

Ідентифікацію SCAR-маркера HRG01 проводили за допомогою ПЛР, використовуючи пару праймерів, що фланкують ділянку розміром 1,1 сМ між ОРК13_454 та ЕЗЗМ61_136 в 13 групі зчеплення соняшнику [11]. Нуклеотидна послідовність праймерів до локусу HRG01 була наступною: F праймер: 5'-TATGCATAATTAGTTATACCC-3'; R праймер: 5'-ACATAAGGATTATGTACGGG-3' [11]. ПЛР проводили з використанням наборів реагентів GenePak PCR Core, «Ізоген» (Росія). ДНК виділяли за допомогою СТАБ методу [27]. Реакційна суміш включала в себе: 0,2 мкл кожного праймера, 2 мкл PCR buffer 10xDreamTag™ GreenBuffer (Thermo Scientific), 0,2 мМ кожного дезоксирибонуклеозид трифосфату (dNTP) (Thermo Scientific), 2 одиниці полімерази DreamTag™ ДНК полімерази (Thermo Scientific), 20 нг геномної ДНК. Кінцевим об'ємом реакційної суміші було 20 мкл, до якої додатково було додано по 20 мкл мінеральної олії для запобігання випаровування реакційної суміші у зв'язку з тим, що кришка термостата не підігрівається. ПЛР проводили

у термоциклері «Терцик» (Росія) за програмою: початкова денатурація протягом 10 хв при 94 °С; 35 циклів – денатурація протягом 45 с при 94 °С; відпал протягом 45 с при 58 °С; елонгація протягом 60 с при 72 °С; остаточна елонгація протягом 6 хв при 72 °С для виявлення маркера HRG01.

Після завершення ПЛР продукти ампліфікації розділяли методом електрофорезу в 2% агарозному гелі, який забарвлювали бромистим етидієм. Для маркування довжини отриманих фрагментів використовували набір DNA ladders 50 bp (Thermo Scientific) [14].

Дослідження регенераційної здатності ліній-відновників фертильності соняшника, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, проводили на 4-х лініях-відновниках фертильності соняшника (2, 3, 19, 35) для індукції органогенезу в культурі *in vitro*. Для отримання культури *in vitro* використовували сім'ядолі, виділені з незрілих зародків соняшника, що відбирали на 21-й день після запилення. Така робота склада-

лась з наступних етапів: стерилізація насіння, виділення експлантів (сім'ядолі), індукція адвентивних пагонів та їхня елонгація, укорінення рослин-регенерантів та адаптація рослин-регенерантів в умовах теплиці.

21-денне незріле насіння замочували на один день у дистильованій воді для розм'якшення оболонки, після чого відокремлювали лушпиння від незрілого насіння та стерилізували незріле насіння в 70% етиловому спирті (1–2 хв), розчині побутового відбілювача «Білизна» (розведення у воді в співвідношенні 1:2) протягом 20 хв з подальшим промиванням стерильною дистильованою водою (тричі).

Для індукції адвентивних бруньок було використано 5 модифікацій середовища Мурасіге – Скуга (МС) [28], доповнене вітамінами B_5 [29], 3% цукрозою, 5 мг/л $AgNO_3$ та з такими регуляторами росту:

1) 2 мг/л N-ізопентеніламінопурину (2-іР), 0,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти (IAA), 0,1 мг/л тидіазуруну (TDZ) [26];

2) 2 мг/л N-ізопентеніламінопурину (2-іР), 0,5 мг/л піклорама, 0,1 мг/л тидіазуруну (TDZ);

3) 1 мг/л 6-бензиламінопурину (BAP), 1 мг/л α -нафтилоцтової кислоти (NAA), 0,1 мг/л гіберилінової кислоти (GA_3) [18];

4) 1 мг/л 6-бензиламінопурину (BAP), 0,25 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти (IAA), 0,1 мг/л гіберилінової кислоти (GA_3);

5) 2 мг/л кінетину (Kn), 0,5 мг/л α -нафтилоцтової кислоти (NAA).

Доводили рН середовища до $5,7 \pm 0,1$, використовуючи 1М розчин KOH або HCl та автоклали при 120 °C протягом 20 хвилин.

Проліферацію адвентивних бруньок проводили на середовищі 1 та на середовищі, доповненому 3 мг/л 6-бензиламінопурину (BAP) та 2 мг/л N-ізопентеніламінопурину (2-іР).

Для індукції морфогенезу частину експлантів культивували 21 добу при 16-годинному фотоперіоді за температури 25 °C, іншу частину експлантів культивували 14 діб в темряві та 7 діб при 16-годинному фотоперіоді за температури 25 °C.

Елонгацію адвентивних пагонів проводили на середовищах МС [28] з вітамінами B_5 [29], 3% цукрози, 5 мг/л $AgNO_3$, доповнених: 1) 0,1 мг/л 6-бензиламінопурином (BAP) [20]; 2) 1 мг/л N-ізопентеніламінопурином (2-іР), 0,5 мг/л 6-бензиламінопурином (BAP) [30]; 3) 0,2 мг/л гіберилінової кислоти (GA_3) [18]. Рослини-регенеранти,

що сформували добре розвинену кореневу систему, проходили адаптацію в умовах теплиці з 16/8 годинним фотоперіодом та температурним режимом 25 °C.

В результаті цих експериментів було встановлено оптимальні умови культивування для отримання максимальної частки регенерантів соняшника та розроблена ефективна система укорінення адвентивних пагонів, що дозволяє адаптувати рослини-регенеранти до умов теплиці [17].

Використання культури незрілих зародків соняшника для прискороного виділення стійких до трибенурон-метилу ліній. Дослідження, що здійснювалося протягом 2017–2019 рр., було розпочате зі схрещування ліній-відновників фертильності ВН0118, ВН0218 та ВН0318, що не містять стійкості до трибенурон-метилу з донором стійкості – SURES-2 (публічний ген ТВМ-стійкості *AHASL1-2*) [19].

Унаслідок схрещування ліній-відновників фертильності ВН0118, ВН0218 та ВН0318 з донором стійкості до трибенурон-метилу SURES-2 було отримано генотипи SURES-2/ВН0118, SURES-2/ВН0218, SURES-2/ВН0318. На 21-й день після цвітіння з кожного кошику було виділено по 30 незрілих насінин, що були введені в культуру *in vitro*. Для введення в культуру *in vitro* незріле насіння стерилізували в 70% етиловому спирті (1–2 хв), розчині побутового відбілювача «Білизна» (розведення у воді в співвідношенні 1:2) протягом 20 хв з подальшим промиванням стерильною дистильованою водою (тричі). Після стерилізації незрілого насіння зародок з ендоспермом очищали від лушпиння. Після чого його поміщали в чашки Петрі з базовим середовищем МС [28] з додаванням 0,1 мг/л 6-бензиламінопурину (BAP). На 10–14 день культивування в умовах *in vitro* було отримано проростки соняшника, що сформували коріння, які в подальшому були висаджені в ґрунт, де їх адаптували до умов теплиці та самозапильовали для отримання насіння I_1 .

Навесні 2018 року насіння I_1 , отримане з самозапильованих рослин-регенерантів, що пройшли адаптацію після культивування в культурі *in vitro*, висівали на селекційній базі Всеукраїнського наукового інституту селекції (ВНІС), що розташована в Обухівському районі Київської області в селі Безіменне. Рослини обробляли гербіцидом Гранстар Голд 75 з діючою речовиною трибенурон-метил в дозі 100 г/га. Для обприскування використовували селекційний об-

прискувач, створений інженерами компанії ВНІС за власною технологією, що дозволив рівномірно нанести гербіцид на листову пластину та точку росту рослин сояшника. Рослини, що відзначались відсутністю ознак гербіцидного стресу, примусово самозапилювали. Надалі у липні цього ж року з самозапиленних рослин, стійких до трибенурон-метилу, відбрали на 21-й день після цвітіння незрілі зародки та повторно вводили їх в культуру *in vitro* для проведення ще одного циклу самозапилення та отримання насіння I_3 .

У 2019 році насіння I_3 висівали на селекційному полі (Обухівський район Київської області, село Безіменне) та проводили обробку гербіцидом. Рослини, що відзначались стійкістю до гербіциду, знову примусово самозапилювали [19].

Тестування на стійкість до вовчка материнських та батьківських ліній. Тестування цих ліній проведено у відділі імунітету рослин до хвороб та шкідників компанії Всеукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС).

Для проведення такого тестування насіння рослини-паразита вовчка сояшникового збирали з рослини-господаря у фазі фізіологічної стиглості. Збір насіння проводили у Запорізькій, Харківській, Кіровоградській, Одеській, Донецькій, Луганській та Херсонській областях на полях гібридів сояшнику, стійких до раси E, F та G вовчка (відомості щодо стійкості гібридів було використано з каталогів компаній Limagrain, Syngenta, Pioneer, в яких є детальна інформація стосовно гібридів сояшника), а також з демонстраційних полів компаній-виробників насіння сояшнику, розташованих поряд з центральними трасами у кожній області, яке в подальшому просіювали з метою відокремлення сухих рослинних решток.

Насіння ліній-закріплювачів стерильності та ліній-відновників фертильності пилку сояшника висівали у горщики з інфікованою торфосумішшю, до складу якої входило 5 л торфу (= 1 кг 300 г), 2 кг піску та 2 г насіння вовчка.

Через 30–35 днів рослини сояшнику обережно вилучали з торфосуміші та проводили облік наявності бульбочок вовчка. Облік проводився візуально – визначали присутність чи відсутність бульбочок вовчка на кожній з досліджуваних рослин.

Як стандарти (St), з якими проводили порівняння рівня ураження рослин вовчком, були використані гібриди компанії Lima-

grain, а саме, 'LG 50505' (стійкий до G раси вовчка) – стандарт стійкості (St R «resistance») та 'LG 5665' (стійкий до E раси вовчка) – стандарт сприйнятливості (St S «susceptible») [26].

Методика екологічних випробувань гібридів F_1 та статистична обробка результатів.

Тестування гібридів сояшника проводили відповідно до загальноприйнятої для культури методики [31, 32]. У відповідності до методик [33, 34] проведено розрахунок параметрів екологічної пластичності та стабільності гібридів сояшника. За розрахунку коефіцієнту лінійної регресії (b_i) було встановлено рівень екологічної пластичності гібридів. За використання середньоквадратичного відхилення від лінії регресії (S_i^2) було встановлено стабільність гібрида до різноманітних умов вирощування, де X_i – середнє значення ознаки I генотипу за пунктами, I_i – індекс середовища. За коефіцієнтом екологічної пластичності (b_i) гібриди поділено на три групи:

1) високопластичні $b_i > (1 + \sigma)$ – за сприятливих умов (в умовах з максимальним проявом ознаки) прояв ознаки підвищується;

2) середньопластичні $b_i = (1 \pm \sigma)$ – прояв ознаки знаходиться на рівні середньої чутливості у вибірці досліджуваних гібридів;

3) низькопластичні $b_i = (1 - \sigma)$ – прояв ознаки знижується за сприятливих умов.

Гібриди створено у зимовому розсаднику, що знаходиться у Південній Америці (Чилі), місто Ранкагуа, впродовж 2019–2020 рр. Лінії, що було використано при створенні гібридів сояшника, попередньо було відібрано за описаною вище прискореною комплексною системою відбору.

Залежно від стійкості до певних гербіцидів, гібриди розділили на стійкі до гербіцидів сульфонілсечовинної групи (SU-гібриди) та стійкі до гербіцидів імідазолінової групи (IMI-гібриди). Стандартами, з якими порівнювали урожайність, були такі гібриди: для IMI-гібридів – гібрид компанії Syngenta 'NK Neoma' та Euralis 'ES Genesis', а для SU-гібридів – гібрид компанії Syngenta 'SY Sumiko' та Pioneer 'P64LE25', оскільки ці гібриди є одними з найурожайніших на території України.

Випробування гібридів F_1 провели впродовж 2020 року на 8 ділянках в Обухівському р-ні Київської обл., Борзнянському р-ні Чернігівської обл., Шполянському р-ні Черкаської обл., Уманському р-ні Черкаської обл., Теофіпольському р-ні Хмельницької обл., Первомайському р-ні Харківської обл.,

Новотроїцькому р-ні Херсонської обл., Кілівському р-ні Одеської обл. Посів гібридів проводили за рандомізованою схемою у дворазовій повторності. Гібриди були розділені на блоки, по 40 гібридів на блок, де 4 гібридами виступали стандарти.

Загальний розмір ділянки, на якій висаджували рослини, складав 20 м², розмір облікової ділянки 10 м². Густота стояння рослин перед збиранням урожаю відповідала рекомендованій для зони кількості – 60–65 тис. рослин на гектар у зоні достатнього зволоження і 50–55 тис. рослин – у зоні з дефіцитом вологи. Так, до зони достатнього зволоження належить Хмельницька, Київська та Чернігівська області, до зони недостатнього зволоження – Черкаська та Харківська, до зони дефіцитного зволоження – Херсонська та Одеська області.

Результати досліджень

Створення високоврожайного гібрида соняшника займає близько 12 років, з них на створення материнських та батьківських ліній необхідно від 6 до 8 років, тому в селекційні програми соняшника все частіше залучають різні методи, що дозволяють пришвидшити створення вихідного селекційного матеріалу соняшника. До таких методів, що дозволяють проводити цілеспрямовані відбори за певними ознаками, відносять: методи молекулярної біології, біотехнологічні методи (культура незрілих зародків, культура клітин та тканин *in vitro*), оцінка стійкості матеріалу до патогенів при використанні штучного інфекційного фону тощо.

Так, на сьогодні є роботи, що окремо направлені на використання молекулярних маркерів для визначення наявності певних генів, що відповідають за прояв ознаки [4–7]. Серед різних біотехнологічних методів, що використовуються для покращення ліній соняшника, використовують: культуру незрілих зародків, культуру протопластів та гаплоїдів [35]. Однак робота з соняшником обмежена регенераційною здатністю в культурі *in vitro* [36, 37]. Хоча вже описані методики вивчення регенерації соняшника шляхом прямого органогенезу [16, 30, 38], встановлено, що регенераційна здатність соняшника залежить від низки факторів, таких як: генотип, компоненти поживного середовища, тип та вік експланту, методи культивування в умовах *in vitro*. Тому, критичним моментом при розробці ефективного протоколу регенерації

соняшника є підбір умов культивування, вибір експланту та генотипу, що відзначатиметься високою регенераційною здатністю.

Запропонована нами система добору материнських та батьківських ліній соняшника з господарсько-цінними ознаками базується на поетапному поєднанні в одну комплексну систему використання біотехнологічних, молекулярно-біологічних та селекційних методів для прискореного добору ліній (рис. 2 та 3).

Система прискореного добору батьківських ліній проходила за схемою, представленою на рисунку 1. Молекулярний SCAR-маркера HRG01 використовували на материнських лініях для ідентифікації гену відновлення фертильності пилку (Rf_1). За допомогою цього методу було проведено цілеспрямований відбір закріплювачів стерильності серед материнських ліній, генотип яких – Nrf_1rf_1 [14]. Це пришвидшило виділення материнських ліній, що в подальшому були протестовані на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах за стійкістю до вовчка [25].

Роботу з батьківськими лініями проводили у двох напрямках: 1) досліджували регенераційну здатність шляхом прямого органогенезу на лініях-відновниках фертильності пилку, стійких до гербіцидів імідазолінової групи [17]; 2) прискорене створення ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, за використання культури незрілих зародків [19]. В результаті проведених досліджень з лініями-відновниками фертильності пилку соняшника, відібраний матеріал тестували на штучному інфекційному фоні з метою виділення стійких до вовчка ліній [26].

Отже, при використанні SCAR-маркера HRG01 можливо провести цілеспрямований добір закріплювачів стерильності соняшника. Було протестовано 477 ліній, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, серед яких 130 лінії ВН320/‘NK Neoma’, 156 лінії ВН039/‘ES Artimis’, 191 лінії ВН3978/‘Dragan’. В результаті встановлено, що закріплювачами стерильності ($Nrfrf$) [зразки, в яких не виявлено ген відновлення фертильності пилку (Rf_1)] у материнських лініях ВН320/‘NK Neoma’, є всі протестовані зразки, 107 серед лінії ВН039/‘ES Artimis’ (рис. 4) та 128 зразків у комбінації ВН3978/‘Dragan’. Загалом з 477 імідазолінових ліній закріплювачами стерильності пилку соняшника є 365.

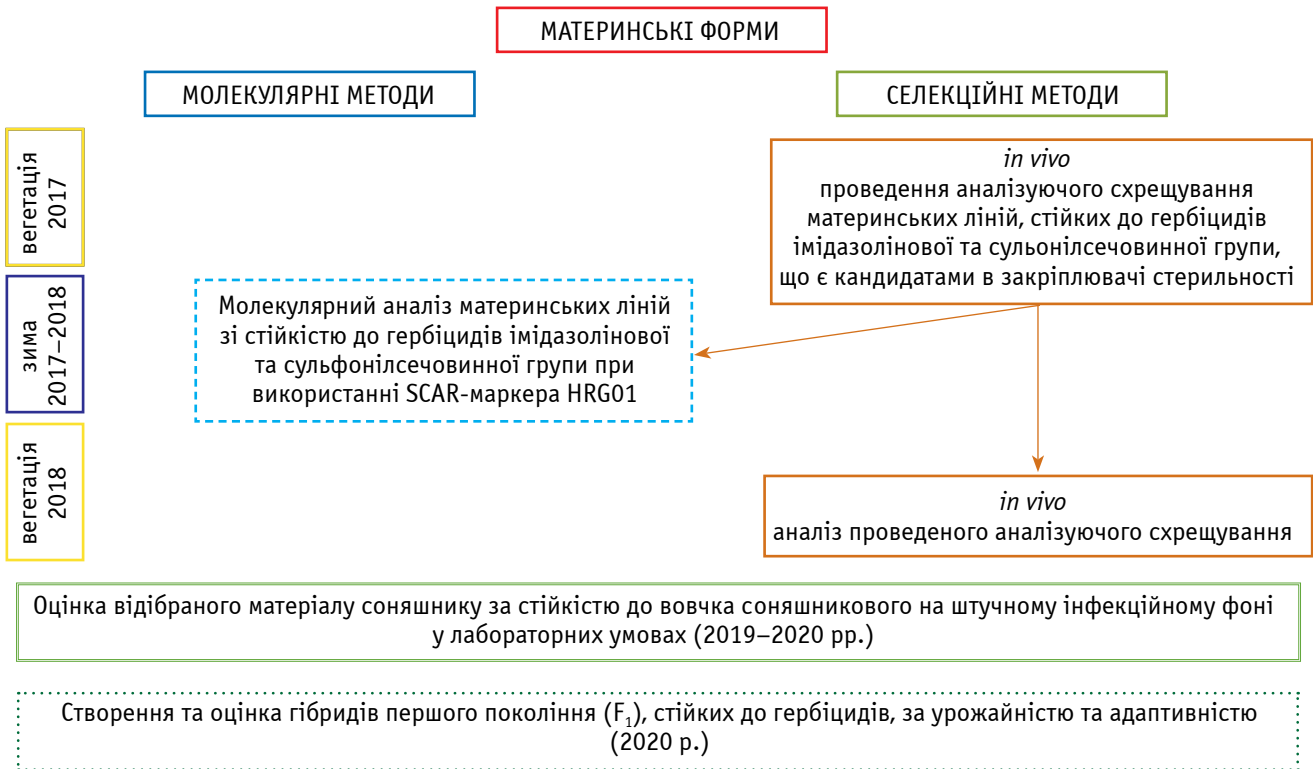


Рис. 2. Схеми дослідження при роботі з материнськими формами

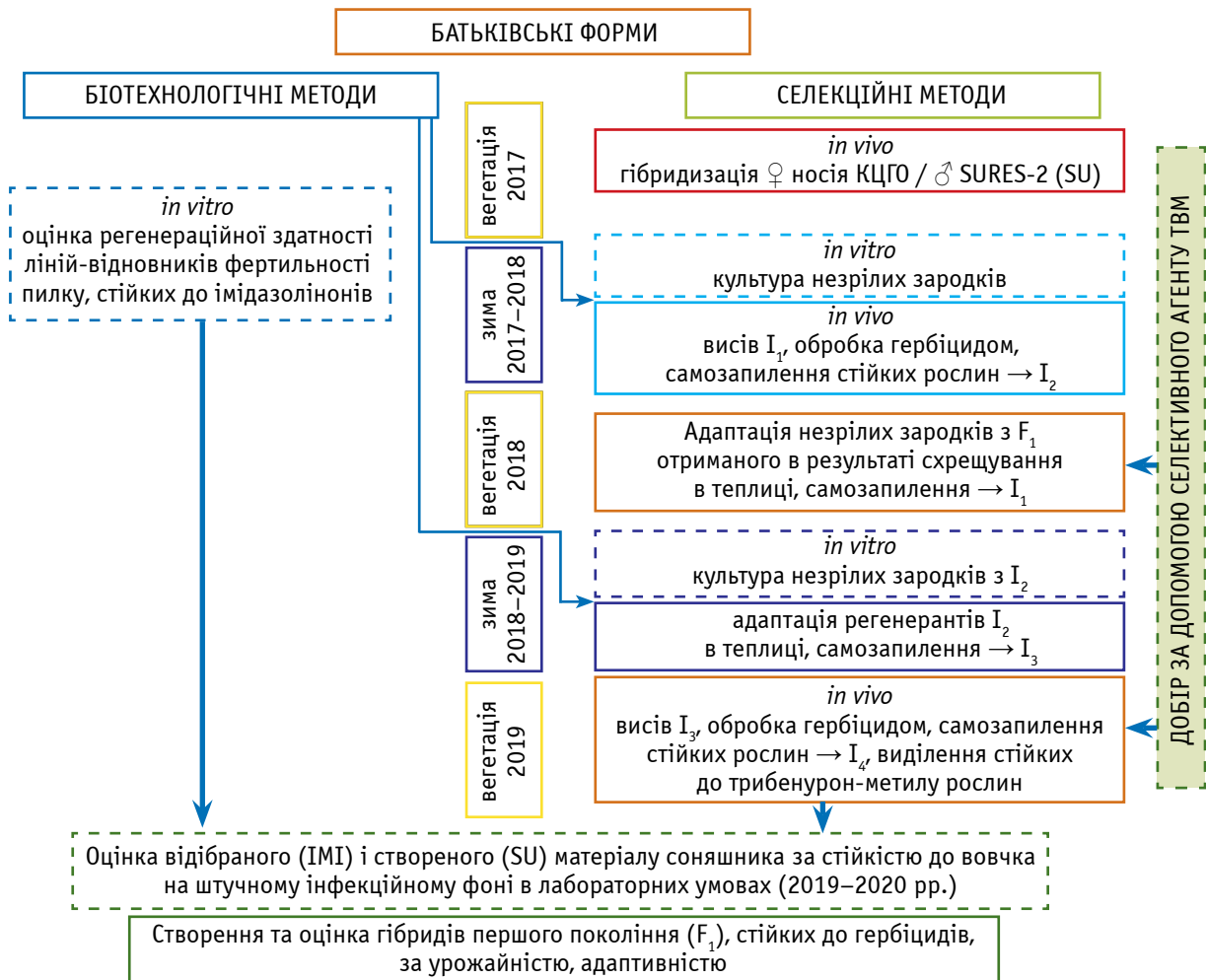


Рис. 3. Схеми дослідження при роботі з батьківськими формами

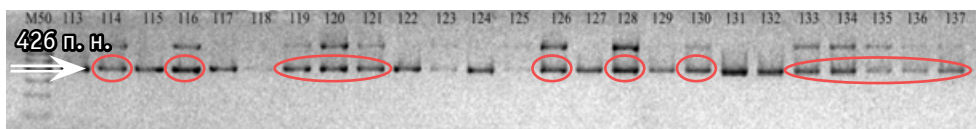


Рис. 4. Електрофореграма продуктів ампліфікації з використанням SCAR-маркера HRG01 материнської лінії ВН039/‘ЕС Артіміс’

При тестуванні 344 зразків ліній, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, де 105 зразків ліній комбінації Ls8A/Lc1093B, 120 зразків комбінації ‘Zoria FN’/Lc1093B та 119 зразків комбінації A12/Lc1093B, встановлено, що всі зразки є закріплювачами стерильності [14].

M50 – маркер молекулярної ваги DNA ladders 50 bp. Доріжки: 113, 115, 117, 122, 124, 127, 129, 131, 132 – індивідуальні рослини досліджуваних ліній (відсутність амплікона розміром 426 п. н.); 114, 116, 119–121, 126, 128, 130, 133–137 – амплікон спостерігається у рослинах.

Під час дослідження ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до імідазолінонів, за регенераційною здатністю, що складалось з індукції та елонгації адвентивних пагонів, укорінення та адаптації рослин-регенерантів до умов теплиці, за високою регенераційною здатністю виділено лінію 35. В результаті проведеного дослідження підібрано оптимальні умови культивування для отримання максимальної частки регенерантів соняшника та розроблено ефективну систему укорінення адвентивних пагонів, що дозволяє адаптувати рослини-регенеранти до асептичних умов [17].

В результаті схрещування ліній-відновників фертильності пилку соняшника ВН0118, ВН0218 та ВН0318 з донором стійкості до

трибенурон-метилу SURES-2 (публічний ген стійкості до трибенурон-метилу *AHASL1-2*) було отримано комбінації: ВН0118/SURES-2, ВН0218/SURES-2, ВН0318/SURES-2. В результаті поетапного культивування 21-денних незрілих зародків соняшника та з відбором стійких до трибенурон-метилу рослин (в польових умовах), протягом 2017–2019 рр. з кожної комбінації ВН0118/SURES-2, ВН0218/SURES-2, ВН0318/SURES-2 виділено по 10 ліній, гомозиготних за стійкістю до трибенурон-метилу [19].

Відібрані материнські (709 закріплювачів стерильності, з них 365 стійких до імідазолінонів та 344 стійких до трибенурон-метилу) та батьківські лінії (4 лінії зі стійкістю до імідазолінонів та 30 ліній з кожної комбінації ВН0118/SURES-2, ВН0218/SURES-2, ВН0318/SURES-2) були протестовані на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах для виділення стійких до вовчка ліній.

Тестування на штучному інфекційному фоні в умовах лабораторії проводили шляхом візуальної оцінки наявності вовчка (рис. 5) впродовж зимового періоду 2019 року.

При оцінюванні материнських ліній, стійких до імідазолінонів, на штучному інфекційному фоні встановлено, що високостійкими до G раси вовчка є три лінії з ВН320/‘NK Neoma’ (11/15, 11/103, 11/104);



Рис. 5. Візуальна оцінка наявності вовчка на лініях соняшника:
1 – стійка рослина (не виявлено вовчка);
2, 3 – сприйнятлива рослина до вовчка (виявлено бульбочки рослини-паразита)

Стойкість до вовчка ліній-закріплювачів стерильності соняшника

Лінії	Номер зразка	Загальна кількість рослин, шт.	Кількість стійких рослин	
			шт.	%
Лінії, стійкі до гербіцидів імідазолінової групи				
ВН320/'НК Неома'	11/15	20	20	100
	11/103	20	20	100
	11/104	20	20	100
ВН039/'ЕС Артіміс'	11/162	17	17	100
ВН3978/'Драган'	12/155	20	20	100
	12/156	20	20	100
Лінії, стійкі до гербіцидів сульфонілсечовинної групи				
Ls8A/Lc1093B	11/10	20	20	100
	11/12	20	20	100
	11/117	20	20	100
Zoria FN/Lc1093B	11/138	20	20	100
	11/166	19	19	100
A12/Lc1093B	12/124	20	20	100
	12/216	17	17	100
Стандарти				
LG 50505 (St R)	ст1	20	20	100
LG 5665 (St S)	ст2	20	20	0

одна лінія (11/162) з ВН039/'ES Artemis' та дві лінії з комбінації ВН3978/'Dragan' (12/155, 12/156). Серед ліній, стійких до трибенурон-метилу, виділено три лінії з Ls8A/Lc1093B (9/10, 9/12, 9/117) та по дві лінії з 'Zoria FN'/Lc1093B (9/138, 9/166) та A12/Lc1093B (10/124, 10/216), як високостійкі до G раси вовчка [25]. Результати візуальної оцінки наведено в таблиці 1.

Під час проведення оцінки батьківських ліній встановлено, що серед імідазолінових ліній (2, 3, 19, 35) на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах виділено лінію 35, як високостійку, оскільки ознак ураження вовчком не виявлено у 100% рослин. Серед стійких до трибенурон-метилу виділено по чотири високостійкі лінії до G раси вовчка з комбінацій ВН0118/SURES-2 (101/1, 101/4, 101/6, 101/7) та ВН0318/SURES-2 (101/21, 101/24, 101/28, 101/30), та п'ять ліній (101/11, 101/12, 101/16, 101/17, 101/18) з комбінації ВН0218/SURES-2 [26] (табл. 2).

Отже, за допомогою системи прискореного добору було проведено відбір материнських та батьківських ліній, що відзначаються стійкістю до гербіцидів (імідазолінової та сульфонілсечовинної груп) та вовчка соняшникового за короткий проміжок часу (2016–2020 рр.) [14, 17, 19, 25, 26].

Відібрані лінії були використані при створенні гібридів першого покоління соняшника, що були використані у випробуваннях у різних агроекологічних зонах України.

Під час випробування гібридів F₁ соняшника спостерігали, як умови середовища

впливають на урожайність. Тому пристосованість гібридів до різних агрокліматичних умов оцінювали за коефіцієнтом екологічної пластичності (b_i) та показником відтворення ними цієї ознаки за різних умов вирощування (S_i^2) [33, 34].

Встановлено, що для SU-гібридів найбільш комфортні умови вирощування та отримання високих врожаїв спостерігали в Чернігівській ($I_i = 1,29$) та Черкаській (Шполянський район) ($I_i = 1,00$) областях. Найменш комфортні умови вирощування були в Харківській ($I_i = -0,74$), Одеській ($I_i = -0,97$) та Херсонській ($I_i = -1,69$) областях.

Було встановлено, що серед гібридів, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, 50,5% гібридів мали високий рівень урожайності (2,55–2,91 т/га). Встановлено, що серед SU-гібридів найурожайнішим є гібрид UA 2/106 (2,91 т/га), оскільки за показником урожайності гібрид мав перевищення при порівнянні з гібридами-стандартами на 3,9%.

Серед гібридів, урожайність яких була в межах 2,55–2,91 т/га, найменш чутливим до умов вирощування був гібрид UA 2/110 з усередненою урожайністю 2,62 т/га, з коефіцієнтом екологічної пластичності $b_i = 0,72$ та показником стабільності $S_i^2 = 5,01$. До середньочутливих гібридів віднесли: UA 2/130, UA 2/131, UA 2/118, UA 2/184, UA 2/210, UA 2/166, UA 2/143, UA 2/187, UA 2/177, UA 2/192, UA 2/170, UA 2/209, UA 2/109, UA 2/115, UA 2/123, UA 2/106 з урожайністю 2,60–2,69 т/га та коефіцієнтом екологіч-

Таблиця 2

Стійкість до вовчка ліній-відновників фертильності пилку соняшника

Лінії	Номер зразка	Загальна кількість рослин, шт.	Кількість нестійких рослин		Кількість стійких рослин	
			шт.	%	шт.	%
Лінії, стійкі до гербіцидів сульфонілсечовинної групи						
ВН0118/SURES-2	101/1	20	0	0,0	20	100
	101/2	15	15	100	0	0,0
	101/3	13	13	100	0	0,0
	101/4	20	0	0,0	20	100
	101/5	16	2	12,5	14	87,5
	101/6	20	0	0,0	20	100
	101/7	18	0	0,0	18	100
	101/8	19	19	100	0	0,0
	101/9	14	14	100	0	0,0
	101/10	20	3	15,0	17	85,0
	Загальна кількість	175	66	37,7	109	62,3
ВН0218/SURES-2	101/11	12	0	0,0	12	100
	101/12	12	0	0,0	12	100
	101/13	19	19	100	0	0,0
	101/14	19	19	100	0	0,0
	101/15	15	15	100	0	0,0
	101/16	8	0	0,0	8	100
	101/17	20	0	0,0	20	100
	101/18	20	0	0,0	20	100
	101/19	21	19	90,5	2	9,5
	101/20	15	15	100	0	0,0
	Загальна кількість	161	87	54,0	74	46,0
ВН0318/SURES-2	101/21	20	0	0,0	20	100
	101/22	13	2	15,4	11	84,6
	101/23	18	5	27,8	13	72,2
	101/24	15	0	0,0	15	100
	101/25	14	13	92,9	1	7,1
ВН0318/SURES-2	101/26	13	10	76,9	3	23,1
	101/27	19	2	10,5	17	89,5
	101/28	13	0	0,0	13	100
	101/29	19	5	26,3	14	73,7
	101/30	18	0	0,0	18	100
Загальна кількість	162	37	22,8	125	77,2	
Лінії, стійкі до гербіцидів імідазолінової групи						
2	л1/1	20	3	15,0	17	85,0
3	л1/2	17	13	76,5	4	23,5
35	л1/3	20	0	0,0	20	100
19	л1/4	19	5	26,3	14	73,7
Стандарти						
LG 50505 (St R)	ст1	20	0	0,0	20	100
LG 5665 (St S)	ст2	20	20	100,0	0	0,0

ної пластичності $b_i = 0,89-1,12$. Гібриди, що відзначались максимальним проявом ознак з коефіцієнтом екологічної пластичності $b_i = 1,17-1,32$ були: UA 2/114, UA 2/235, UA 2/186, UA 2/189, UA 2/136, UA 2/162, UA 2/205, UA 2/207, UA 2/117, UA 2/206, UA 2/204 з урожайністю 2,63–2,81 т/га (табл. 3).

Для ІМІ-гібридів найбільш сприятливі умови відмічені в Черкаській області (Шполянський район) ($I_i = 1,09$), а несприятливі умови спостерігали в Харківській ($I_i = -0,39$), Одеській ($I_i = -0,07$) та Херсонській областях ($I_i = -1,82$).

Частка ІМІ-гібридів, урожайність яких була в межах 2,55–2,91 т/га, склала 46,2%. Серед них з високою пластичністю ($b_i = 1,18-1,29$) були гібриди UA 1/92, UA 1/102, UA 1/94, UA 1/62, UA 1/76 з урожайністю 2,61–2,91 т/га. А середньопластичними – UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84, UA 1/23, UA 1/61, UA 1/59, UA 1/60, UA 1/55, UA 1/89, UA 1/101, UA 1/86, UA 1/87, UA 1/83, UA 1/100 з урожайністю 2,60–2,76 т/га (табл. 4).

Крім того встановлено, що в серед ІМІ-гібридів, три гібриди – UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 з усередненими у 8 локаціях України показниками урожайності (2,76 т/га)

Урожайність та показники адаптивності SU-гібриди

Номер	Урожайність гібридів, т/га								Параметри адаптивності		
	Одеська обл.	Херсонська обл.	Черкаська обл. (Шполянський р-н)	Київська обл.	Черкаська обл. (Уманський р-н)	Хмельницька обл.	Харківська обл.	Чернігівська обл.	Середня урожайність	Коефіцієнт екологічної пластичності, b_i	Стабільність, S_i^2
Високопластичні											
UA 2/205	1,49	0,56	3,67	3,34	3,18	2,58	1,72	4,53	2,63	1,26	13,43
UA 2/206	1,06	0,85	4,09	2,95	3,14	3,61	1,24	4,24	2,65	1,30	14,43
UA 2/186	1,38	0,99	4,05	3,19	2,70	2,87	1,61	4,41	2,65	1,20	12,15
UA 2/117	1,16	0,44	3,80	3,37	2,55	3,07	2,24	4,58	2,65	1,30	14,32
UA 2/235	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,50	1,32	4,79	2,66	1,18	12,21
UA 2/207	1,29	0,48	3,66	3,18	3,35	3,18	1,80	4,33	2,66	1,27	13,66
UA 2/136	1,50	0,63	4,11	3,85	2,75	2,81	1,82	4,08	2,69	1,24	13,11
UA 2/189	1,06	0,80	3,49	2,99	2,96	3,98	1,94	4,49	2,71	1,21	12,62
UA 2/162	1,22	0,86	4,29	3,13	2,39	3,27	2,10	4,52	2,72	1,25	13,27
UA 2/114	1,95	0,75	3,70	3,39	2,94	3,13	1,93	4,64	2,80	1,17	11,62
UA 2/204	1,02	0,60	3,74	3,73	3,41	3,07	2,14	4,80	2,81	1,38	16,12
Середньопластичні											
UA 2/123	2,72	1,06	3,55	3,42	3,03	2,16	1,59	4,03	2,69	0,89	6,91
UA 2/192	2,05	1,23	3,59	2,88	2,77	2,86	1,73	4,10	2,65	0,91	6,97
UA 2/184	1,07	1,03	3,68	2,93	3,00	3,56	2,22	3,38	2,61	0,94	7,74
UA 2/109	1,86	0,86	3,48	3,94	2,81	2,59	2,16	3,62	2,67	0,94	7,67
UA 2/106	2,13	1,30	4,01	3,96	3,31	2,37	2,21	3,96	2,91	0,95	7,83
UA 2/131	1,97	0,67	3,15	3,75	2,99	2,15	2,16	3,94	2,60	0,97	8,08
UA 2/166	1,20	1,23	3,64	2,98	2,95	2,44	2,30	4,21	2,62	0,99	8,35
UA 2/143	1,84	0,96	3,64	3,44	2,67	2,74	1,81	3,95	2,63	1,00	8,45
UA 2/118	1,93	0,82	3,32	3,04	2,84	3,10	1,64	4,12	2,60	1,01	8,70
UA 2/170	1,71	0,94	3,70	3,28	3,18	2,89	1,76	3,76	2,65	1,01	8,67
UA 2/177	1,71	0,95	3,99	2,64	3,23	2,66	1,98	3,98	2,64	1,01	8,78
UA 2/210	1,50	0,63	3,52	2,65	3,23	3,96	1,76	3,63	2,61	1,04	9,47
UA 2/130	1,50	0,84	3,45	3,54	2,94	1,98	2,25	4,29	2,60	1,06	9,71
UA 2/187	2,13	0,75	3,28	2,92	2,85	3,21	1,42	4,51	2,64	1,08	10,05
UA 2/209	1,82	0,60	3,35	2,90	2,96	3,52	1,75	4,40	2,66	1,12	10,76
UA 2/115	1,98	0,53	4,20	3,44	2,74	3,25	1,71	3,61	2,68	1,12	10,79
Низькопластичні											
UA 2/110	3,30	0,94	3,13	3,25	1,90	3,41	1,38	3,68	2,62	0,72	5,01
Середнє	1,6	0,9	3,5	3,1	2,8	2,7	1,8	3,8	2,5	1,0	8,8
Індекс середовища (I_i)	-0,97	-1,69	1,00	0,52	0,24	0,15	-0,74	1,29	-	-	-
$HIR_{0,05}$	0,08	0,05	0,08	0,08	0,07	0,11	0,08	0,11	0,04	-	-
σ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	2,77

були за урожайністю на рівні зі стандартом 'NK Neoma'. А гібриди UA 1/92 та UA 1/102 з усередненою урожайністю 2,91 т/га відповідали рівню урожайності стандарту 'ES Genesis'.

Дослідження виконано у відділі генетичної інженерії Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України в рамках наукових проєктів III-1-15 «Вивчення фізіолого-біохімічних і молекулярно-біологічних особливостей функціонування та успадкування гетерологічних генів в рослинних системах» та III-1-20 «Цілеспрямовані

зміни геному та плейотропні ефекти у генетично трансформованих рослинних системах» впродовж 2016–2020 рр.

Висновки

Унаслідок прискореної системи добору материнських та батьківських ліній соняшника було відібрано матеріал, стійкий до гербіцидів та вовчка соняшникового, на основі якого було створено гібриди F_1 соняшника.

В результаті екологічних тестувань, проведених у Київській, Чернігівській, Чер-

Таблиця 4

Урожайність та показники адаптивності ІМІ-гібридів

Номер	Урожайність гібридів, т/га									Параметри адаптивності	
	Одеська обл.	Херсонська обл.	Черкаська обл. (Шполянський р-н)	Київська обл.	Черкаська обл. (Уманський р-н)	Хмельницька обл.	Харківська обл.	Чернігівська обл.	Середня урожайність	Коефіцієнт екологічної пластичності, b_1	Стабільність, S_1^2
Високопластичні											
UA 1/92	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	1,21	7,45
UA 1/102	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	1,21	7,45
UA 1/94	1,68	0,40	4,16	3,31	2,51	3,42	2,39	3,90	2,72	1,18	7,57
UA 1/62	0,98	0,66	4,16	3,06	2,83	3,28	1,57	4,31	2,61	1,29	8,39
UA 1/76	0,98	0,66	4,16	3,06	2,83	3,28	1,57	4,31	2,61	1,29	8,39
Середньопластичні											
UA 1/67	2,53	0,60	3,31	3,89	2,53	2,89	2,21	4,13	2,76	0,97	5,35
UA 1/66	2,76	0,39	3,69	4,19	2,51	2,83	2,28	3,40	2,76	0,97	5,63
UA 1/84	1,18	0,96	4,05	3,11	2,91	2,75	3,24	3,85	2,76	1,01	5,66
UA 1/23	1,84	0,63	4,04	3,88	2,71	2,89	2,27	3,74	2,75	1,11	6,53
UA 1/61	1,46	0,81	3,73	3,50	3,44	3,06	2,06	3,74	2,72	1,06	6,17
UA 1/59	1,71	1,09	3,38	3,97	2,69	2,66	2,64	3,65	2,72	0,89	4,32
UA 1/60	1,41	0,59	3,43	3,87	2,85	3,43	2,49	3,72	2,72	1,11	6,90
UA 1/55	1,74	0,76	3,74	3,89	3,22	3,03	1,59	3,73	2,71	1,10	6,43
UA 1/89	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,50	1,32	4,79	2,66	1,07	5,58
UA 1/101	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,50	1,32	4,79	2,66	1,07	5,58
UA 1/86	1,71	0,95	3,99	2,64	3,23	2,66	1,98	3,98	2,64	0,96	4,89
UA 1/87	1,50	0,63	3,52	2,65	3,23	3,96	1,76	3,63	2,61	1,02	6,21
UA 1/83	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	1,13	7,15
UA 1/100	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	1,13	7,15
Середнє	1,45	0,70	3,61	3,31	2,63	2,83	2,13	3,50	2,52	1,00	–
Індекс середовища (I_i)	-1,07	-1,82	1,09	0,79	0,11	0,31	-0,39	0,98	–	–	–
$HIR_{0,05}$	0,07	0,05	0,09	0,09	0,06	0,09	0,07	0,12	0,03	–	–
σ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,17	–

каській (Уманський та Шполянський райони), Хмельницькій, Харківській, Херсонській та Одеській областях було вивчено врожайність отриманих гібридів соняшника.

На підставі одержаних результатів встановлено, що серед гібридів, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, високоврожайним був гібрид UA 2/106, що показав збільшення врожайності на 3,9% в порівнянні з гібридами-стандартами 'SY Sumiko' та 'P64LE25'. А серед гібридів, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, урожайність на рівні з гібридом-стандартом 'NK Neoma' мали гібриди UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84, урожайність яких була 2,76 т/га. Урожайність на рівні з гібридом-стандартом 'ES Genesis' була у гібридів UA 1/92, UA 1/102, що складала 2,91 т/га.

У такий спосіб було визначено, що при застосуванні прискореної системи добору вихідного матеріалу можливе створення висо-

коврожайних гібридів соняшника за короткий проміжок часу (4 роки).

Використана література

- Vear F. Changes in sunflower breeding over the last fifty years. *Oilseeds & Fast Crops and Lipids*. 2016. Vol. 23, Iss. 2. D202. doi: 10.1051/ocl/2016006
- Шкорич Д., Сейлер Дж., Лью Ж. и др. Генетика и селекция подсолнечника. Харьков : НТМТ, 2015. 540 с.
- Dimitrijevic A., Horn R. Sunflower hybrid breeding: from markers to genomic selection. *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 8. P. 1–20. doi: 10.3389/fpls.2017.02238
- Qi L. L., Foley M. E., Cai X. W., Gulya T. J. Genetics and mapping of a novel downy mildew resistance gene, Pl_{18} , introgressed from wild *Helianthus argophyllus* in to cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2016. Vol. 129. P. 741–752. doi: 10.1007/s00122-015-2662-2
- Ma G. J., Markell S. G., Song Q. J., Qi L. L. Genotyping-by-sequencing targeting of a novel downy mildew resistance gene Pl_{20} from wild *Helianthus argophyllus* for sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2017. Vol. 130. P. 1519–1529. doi: 10.1007/s00122-017-2906-4
- Imerovski I., Dimitrijević A., Miladinović D. et al. Mapping of a new gene for resistance to broomrape races higher than *F. Euphytica*. 2015. Vol. 209, Iss. 2. P. 281–289. doi: 10.1007/s10681-015-1597-7

7. Louarn J., Boniface M.-C., Pouilly N. et al. Sunflower resistance to broomrape (*Orobancha cumanana*) is controlled by specific QTLs for different parasitism stages. *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. P. 590. doi: 10.3389/fpls.2016.00590
8. Sala C. A., Bulos M., Alteri E., Ramos M. L. Genetics and breeding of herbicide tolerance in sunflower. *Helia*. 2012. Vol. 35. P. 57–70. doi: 10.2298/HEL125057S
9. Sala C. A., Bulos M. Inheritance and molecular characterization of broad range tolerance to herbicides targeting acetohydroxy-acid synthase in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 2012. Vol. 124. P. 355–364. doi: 10.1007/s00122-011-1710-9
10. Попов В. М., Акініна Г. Є., Тереняк Ю. М., Кириченко В. В. Аналіз зчеплення маркерів HRG01, HRG02 та гена відновлення фертильності пилку соняшнику. *Вісник Харківського національного аграрного університету*. 2014. Вип. 3. С. 66–70.
11. Horn R., Kusterer B., Lazarescu E. et al. Molecular mapping of the *Rf₁* gene restoring pollen fertility in PET1-based *F₁* hybrids in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003. Vol. 106. P. 599–606. doi: 10.1007/s00122-002-1078-y
12. Markin N., Usatov A., Makarenko M. et al. Study of informative DNA markers of the *Rf₁* gene in sunflower for breeding practice. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2017. Vol. 53, Iss. 2. P. 69–75. doi: 10.17221/108/2016-CJGPB
13. Yue B., Vick B. A., Cai X., Hu J. Genetic mapping for the *Rf₁* (fertility restoration) gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by SSR and TRAP markers. *Plant Breeding*. 2010. Vol. 129, Iss. 1. P. 24–28. doi: 10.1111/j.1439-0523.2009.01661.x
14. Бабич В. О., Наконечна М. С., Попов В. М. та ін. Використання молекулярних маркерів для прискорення селекційного процесу при створенні закріплювачів стерильності соняшника. *Селекційно-генетична наука і освіта* : тези доповідей Міжнародної наукової конференції (м. Умань, 18–20 березня 2019 р.). Умань, 2019. С. 11–12.
15. Montathong K., Machikowa T., Muangsan N. Cytological and food reserve changes in sunflower cotyledons *in vitro*. *Suranaree Journal of Science & Technology*. 2019. Vol. 26, Iss. 2. P. 141–150.
16. Dagustu N., Sincik M., Bayram G., Bayraktaroglu M. Regeneration of fertile plants from sunflower (*Helianthus annuus* L.) – Immature embryo. *Helia*. 2010. Vol. 33, Iss. 52. P. 95–102. doi: 10.2298/HEL1052095D
17. Бабич В. О., Варченко О. І., Гнатюк І. С. та ін. Отримання фертильних рослин-регенерантів соняшнику (*Helianthus annuus* L.) шляхом органогенезу *in vitro*. *Агроекологічний журнал*. 2020. № 4. С. 116–123. doi: 10.33730/2077-4893.4.2020.219452
18. Fiore M. C., Trabace T., Sunseri F. High frequency of plant regeneration in sunflower from cotyledons via somatic embryogenesis. *Plant Cell Reports*. 1997. Vol. 16, Iss. 5. P. 295–298. doi: 10.1007/BF01088284
19. Бабич В. О., Варченко О. І., Кучук М. В. та ін. Використання культури незрілих зародків соняшника *in vitro* для швидкого створення відновників фертильності, стійких до трибенурон метилу. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Т. 27. С. 23–28. doi: 10.7124/FEE0.v27.1297
20. Lucas O., Kallerhoff J., Alibert G. Production of stable transgenic sunflowers (*Helianthus annuus* L.) from wounded immature embryos by particle bombardment and co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens*. *Molecular Breeding*. 2000. Vol. 6. P. 479–487. doi: 10.1023/A:1026583931327
21. Nenova N., Valkova D., Encheva J., Tahsin N. Promising lines as a result from interspecific hybridization between cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) and the perennial species *Helianthus ciliaris*. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special*. 2014. Vol. 2. P. 1654–1659.
22. Коломацька В. П., Кириченко В. В., Сивенко В. І., Леонова Н. М. Рівень та мінливість урожайності гібридів соняшнику в умовах Східної частини Лісостепу України. *Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області*. 2016. Вип. 21. С. 158–166.
23. Urumbayev K., Miklič V., Almishev U., Ovuka J. Testing of some NS-sunflower hybrids in the Northeast of Kazakhstan. *Helia*. 2017. Vol. 40, Iss. 67. P. 211–222. doi: 10.1515/helia-2017-0013
24. Cvejić S., Jocić S., Mladenov V. et al. Selection of sunflower hybrids based on stability across environments. *Genetika*. 2019. Vol. 51, Iss. 1. P. 81–92. doi: 10.2298/GENSR1901081C
25. Бабич В. О., Кучук М. В., Шарипіна Я. Ю. Виділення стійких до вовчка соняшникового (*Orobancha cumanana* Wallr.) закріплювачів стерильності соняшника. *Селекційно-генетична наука і освіта* : тези доповідей Міжнародної наукової конференції (м. Умань, 15 жовтня 2021 р.). Умань, 2020. С. 5–7.
26. Babych V., Kuchuk M., Sharypina Ya. et al. Efficiency of selection-biotechnology system of selection for creation of breeding source material of sunflower resistant to herbicides and broomrape. *Helia*. 2021. Vol. 4, Iss. 75. P. 131–145. doi: 10.1515/helia-2021-0012
27. Keb-Llanes M., González G., Chi-Manzanero B. et al. A rapid and simple method for small-scale DNA extraction in Agavaceae and other tropical plants. *Plant Molecular Biology Reporter*. 2020. Vol. 20. 299. doi: 10.1007/BF02782465
28. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, Iss. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
29. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. Nutrient requirement of suspensions cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*. 1968. Vol. 50, Iss. 1. P. 151–158. doi: 10.1016/0014-4827(68)90403-5
30. Sujatha M., Vijay S., Vasavi S. et al. Combination of thidiazuron and 2-isopentenyladenine promotes highly efficient adventitious shoot regeneration from cotyledons of mature sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2012. Vol. 111, Iss. 3. P. 359–372. doi: 10.1007/s11240-012-0202-1
31. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Изд. 3-е, испр. Минск : Вышэйшая школа, 1973. 320 с.
32. Доспехов Б. А. Планирование полевого опыта и статистическая обработка его данных. Москва : Колос, 1972. 207 с.
33. Eberhart S. A., Russell W. A. Stability Parameters for Comparing Varieties1. *Crop Science*. 1966. Vol. 6, Iss. 1. P. 36–40. doi: 10.2135/cropsci1966.0011183x0
34. Пакудин В. З., Лопатина Л. М. Оценка экологической пластичности и стабильности сортов сельскохозяйственных культур. *Сельскохозяйственная биология*. 1984. № 4. С. 109–113.
35. Dagustu N. *In Vitro* Tissue Culture Studies in Sunflower (*Helianthus* spp.). *Journal of Crop Breeding and Genetics*. 2018. Vol. 4, Iss. 1. P. 13–21. URL: <http://www.ekinjournal.com/images/bisab/seventh/2.pdf>
36. Moghaddasi M. S. Sunflower tissue culture. *Advances in Environmental Biology*. 2011. Vol. 5, Iss. 4. P. 746–755.
37. Davey M. R., Jan M. Sunflower (*Helianthus annuus* L.): Genetic Improvement Using Conventional and *In Vitro* Technologies. *Journal of Crop Improvement*. 2010. Vol. 24, Iss. 4. P. 349–391. doi: 10.1080/15427528.2010.500874
38. Tarek H., Françoise J., Gilbert A., Jean K. A new approach for efficient regeneration of a recalcitrant genotype of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by organogenesis induction on split embryonic axes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003. Vol. 73. P. 81–86. doi: 10.1023/A:1022689229547

References

1. Vear, F. (2016). Changes in sunflower breeding over the last fifty years. *Oilseeds & fast Crops and Lipids*, 23(2), D202. doi: 10.1051/ocl/2016006
2. Shkorich, D., Seiler, J., Liu, J., Jean, C.-Ch., Miller, J. F., & Charle, L. D. (2015). *Genetika i selekchia podsolnyha* [Sunflower genetics and breeding]. Kharkiv: NTMT. [in Russian]
3. Dimitrijevic, A., & Horn, R. (2018). Sunflower hybrid breeding: from markers to genomic selection. *Frontiers In Plant Science*, 8, 1–20. doi: 10.3389/fpls.2017.02238
4. Qi, L. L., Foley, M. E., Cai, X. W., & Gulya, T. J. (2016). Genetics and mapping of a novel downy mildew resistance gene, *Pl₁₈*, in-

- trogressed from wild *Helianthus argophyllus* in to cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 129, 741–752. doi: 10.1007/s00122-015-2662-2
5. Ma, G. J., Markell, S. G., Song, Q. J., & Qi, L. L. (2017). Genotyping-bysequencing targeting of a novel downy mildew resistance gene *Pl₂₀* from wild *Helianthus argophyllus* for sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 130, 1519–1529. doi: 10.1007/s00122-017-2906-4
 6. Imerovski, I., Dimitrijević, A., Miladinović, D., Dedić, B., Jocić, S., Tubić, N. K., & Cvejić S. (2015). Mapping of a new gene for resistance to broomrape races higher than *F. Euphytica*, 209(2), 281–289. doi: 10.1007/s10681-015-1597-7
 7. Louarn, J., Boniface, M.-C., Pouilly, N., Velasco, L., Pérez-Vich, B., Vincourt, P., & Muñoz, S. (2016). Sunflower resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) is controlled by specific QTLs for different parasitism stages. *Frontiers in Plant Science*, 7, 590. doi: 10.3389/fpls.2016.00590
 8. Sala, C. A., Bulos, M., Alteri, E., & Ramos, M. L. (2012). Genetics and breeding of herbicide tolerance in sunflower. *Helia*, 35, 57–70. doi: 10.2298/HEL125057S
 9. Sala, C. A., & Bulos, M. (2012). Inheritance and molecular characterization of broad range tolerance to herbicides targeting aceto-hydroxyacid synthase in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 124, 355–364. doi: 10.1007/s00122-011-1710-9
 10. Popov, V. M., Akinina, G. E., Terenyak, Y. M., & Kirichenko, V. V. (2014). Coupling analysis of markers HRG01, HRG02 and sunflower pollen fertility restoration gene. *Visnik Kharkivskogo nacionalnogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of Kharkiv National Agrarian University], 3, 66–70. [in Ukrainian]
 11. Horn, R., Kusterer, B., Lazarescu, E., M. Pręfe, M., & Friedt, W. (2003). Molecular mapping of the *Rf₁* gene restoring pollen fertility in PET1-based *F₁* hybrids in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 599–606. doi: 10.1007/s00122-002-1078-y
 12. Markin, N., Usatov, A., Makarenko, M., Azarin, K., Gorbachenko, O., Kolokolova, N., ... Gavrilova, V. (2017). Study of informative DNA markers of the *Rf₁* gene in sunflower for breeding practice. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 53, 69–75. doi: 10.17221/108/2016-CJGPB
 13. Yue, B., Vick, B. A., Cai, X., & Hu, J. (2010). Genetic mapping for the *Rf₁* (fertility restoration) gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by SSR and TRAP markers. *Plant Breeding*, 129(1), 24–28. doi: 10.1111/j.1439-0523.2009.01661.x
 14. Babych, V. O., Nakonechna, M. S., Popov, V. M., Kuchuk, M. V., Parii, M. F., & Parii, Y. F. (2019). The use of molecular markers to accelerate the selection process in creating sunflower sterility fixatives. In *Seleksino-henetichna nauka i osvita: tezy dopovidei Mizhnarodna naykova konferentsii* [Selection-genetic science and education: abstracts of reports of the International scientific conference] (pp. 11–12). March 18–20, 2019, Uman, Ukraine. [in Ukrainian]
 15. Montathong, K., Machikowa, T., & Muangsang, N. (2019). Cytological and food reserve changes in sunflower cotyledons *in vitro*. *Suranaree Journal of Science & Technology*, 26(2), 141–150.
 16. Dagustu, N., Sincik, M., Bayram, G., & Bayraktaroglu, M. (2010). Regeneration of fertile plants from sunflower (*Helianthus annuus* L.) – Immature embryo. *Helia*, 33(52), 95–102. doi: 10.2298/HEL1052095D
 17. Babych, V. O., Varchenkom O. I., Hnatiuk, I. S., Kuchuk, M. V., Parii, M. F., & Symonenko, Y. V. (2020). Obtaining fertile plants-regenerants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by organogenesis in *in vitro*. *Agroekologičeskij žurnal* [Agroecological Journal], 4, 116–123. doi: 10.33730/2077-4893.4.2020.219452 [in Ukrainian]
 18. Fiore, M. C., Trabace, T., & Sunseri, F. (1997) High frequency of plant regeneration in sunflower from cotyledons via somatic embryogenesis. *Plant Cell Reports*, 16(5), 295–298. doi: 10.1007/BF01088284
 19. Babych, V. O., Varchenko, O. I., Kuchuk, M. V., Parii, M. F., Parii, Y. F., & Symonenko, Y. V. (2020). Use of sunflower immature embryos culture in *in vitro* for fast creation of fertility restorer to tribenuron methyl herbicide. *Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv* [Factors in Experimental Evolution of Organisms], 27, 23–28. doi: 10.7124/FEE0.v27.1297 [in Ukrainian]
 20. Lucas, O., Kallerhoff, J., & Alibert, G. (2000). Production of stable transgenic sunflowers (*Helianthus annuus* L.) from wounded immature embryos by particle bombardment and co-cultivation with *Agrobacterium tumefaciens*. *Molecular Breeding*, 6, 479–487. doi: 10.1023/A:1026583931327
 21. Nenova, N., Valkova, D., Encheva, J., & Tahsin, N. (2014). Promising lines as a result from interspecific hybridization between cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) and the perennial species *Helianthus ciliaris*. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special*, 2, 1654–1659.
 22. Kolomatskaya, V. P., Kirichenko, V. V., Sivenko, V. I., & Leonova, N. M. (2016). The level and variability of yield of sunflower hybrids in the conditions of the Eastern part of the Forest-Steppe of Ukraine. *Visnik Centru naukovogo zabezpečennâ APV Harkivs'koï oblasti* [Bulletin of the Center for Science Provision of Agribusiness in the Kharkiv region], 21, 158–166. [in Ukrainian]
 23. Urumbayev, K., Miklič, V., Almishev, U., & Ovuka, J. (2017). Testing of some NS-sunflower hybrids in the Northeast of Kazakhstan. *Helia*, 40(67), 211–222. doi: 10.1515/helia-2017-0013
 24. Cvejić, S., Jocić, S., Mladenov, V., Banjac, B., Radeka, I., Jocković, M., & Miklič, V. (2019). Selection of sunflower hybrids based on stability across environments. *Genetika*, 51(1), 81–92. doi: 10.2298/GENSR1901081C
 25. Babych, V., Kuchuk, M., & Sharypina, Ya. (2021). Selecting resistant to broomrape (*Orobanche cunama* Wallr.) sunflower maintainers. In *Seleksino-henetichna nauka i osvita: tezy dopovidei Mizhnarodna naykova konferentsii* [Selection-genetic science and education: abstracts of reports of the International scientific conference] (pp. 5–7). October 15, 2021, Uman, Ukraine. [in Ukrainian]
 26. Babych, V., Kuchuk, M., Sharypina, M., Parii, M., Parii, Y., Borovska, I., & Symonenko, Y. V. (2021). Efficiency of selection-biotechnology system of selection for creation of breeding source material of sunflower resistant to herbicides and broomrape. *Helia*, 44(75), 131–145. doi: 10.1515/helia-2021-0012
 27. Keb-Llanes, M., González, G., Chi-Manzanero, B., & Infante, D. (2020). A rapid and simple method for small-scale DNA extraction in Agavaceae and other tropical plants. *Plant Molecular Biology Reports*, 20, 299. doi: 10.1007/BF02782465
 28. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
 29. Gamborg, O. L., Miller, R. A., & Ojima K. (1968). Nutrient requirement of suspensions cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50(1), 151–158. doi: 10.1016/0014-4827(68)90403-5
 30. Sujatha, M., Vijay, S., Vasavi, S., Sivaraj N., & Chander Rao, S. (2012). Combination of thidiazuron and 2-isopentenyladenine promotes highly efficient adventitious shoot regeneration from cotyledons of mature sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 111(3), 359–372. doi: 10.1007/s11240-012-0202-1
 31. Rokitsky, P. F. (1973). *Biologicheskaya statistika* [Biological statistics]. (3rd ed., rev. and enl.). Minsk: Vysheysthaya shkola [in Russian]
 32. Dospikhov, B. A. (1972). *Planirovanie polevogo opita i statisticheskoy obrabotke dannich* [Planning of field experience and statistical processing of its data]. Moscow: Kolos. [in Russian]
 33. Eberhart, S. A., & Russell W. A. (1966). Stability Parameters for Comparing Varieties 1. *Crop Science*, 6(1), 36–40. doi:10.2135/cropsci1966.0011183x0
 34. Pakudin, V. Z., & Lopatina, L. M. (1984). Evaluation of ecological plasticity and stability of varieties of agricultural crops. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 4, 109–113.
 35. Dagustu, N. (2018). *In Vitro* Tissue Culture Studies in Sunflower (*Helianthus* spp.). *Journal of Crop Breeding and Genetics*, 4(1), 13–21.

36. Moghaddasi, M. S. (2011). Sunflower tissue culture. *Advances in Environmental Biology*, 5(4), 746–755.
37. Davey, M. R., & Jan, M. (2010). Sunflower (*Helianthus annuus* L.): Genetic Improvement Using Conventional and *In Vitro* Technologies. *Journal of Crop Improvement*, 24(4), 349–391. doi: 10.1080/15427528.2010.500874
38. Tarek, H., Françoise, J., Gilbert, A., & Jean, K. (2003). A new approach for efficient regeneration of a recalcitrant genotype of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by organogenesis induction on split embryonic axes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 73, 81–86. doi: 10.1023/A:1022689229547

UDC 57.084.5:582.998:581.143.5

Babych, V. O.^{1,2*}, Borovska, I. Yu.², Sharypina, Ya. Yu.², Parii, Ya. F.², & Symonenko, Yu. V.^{1,2} (2021). Adaptability of F_1 sunflower hybrids, created according to an integrated system of line selection for economically valuable traits in various agroclimatic zones. *Plant Varieties Studying and Protection*, 17(4), 290–304. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.17.4.2021.249004>

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine, 148 Akademika Zabolotnoho St., 03143, Kyiv, Ukraine, *e-mail: vikuhababych@gmail.com

²Ukrainian Scientific Institute of Plant Breeding, 30 Vasylykivska St., Kyiv, 03041, Ukraine

Purpose. Determine the ecological plasticity and productivity of F_1 sunflower hybrids created on the basis of maternal and parental lines, selected according to an accelerated selection system of lines resistant to herbicides (imidazoline and sulfonylurea groups) and broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). **Methods.** Statistical analysis of F_1 sunflower hybrids was carried out using the methods of variation statistics, regression and analysis of variance using the Microsoft Office Excel 2016 application package. Molecular biological, biotechnological and classical selection methods were used for the accelerated system of line selection. Thus, for the purpose of targeted selection of sunflower sterility fixers, we used HRG01 molecular SCAR marker to identify the gene for the restoration of pollen fertility (Rf_1). To accelerate the creation of parental lines resistant to tribenuron-methyl, we used a culture of immature embryos *in vitro*. **Results.** The results of testing of F_1 sunflower hybrids at Kyiv, Chernihiv, Cherkasy (Uman and Shpolianskyi districts), Khmelnytskyi, Kharkiv, Kherson and Odesa regions. The hybrids were created on the basis of selected lines, chosen according to an

accelerated selection system for herbicide-resistant lines (imidazoline (IMI-hybrids) and sulfonylurea (SU-hybrids) groups) and broomrape (*Orobanche cumana* Wall). The standards for comparison with hybrids were: for IMI hybrids – hybrids ‘NK Neoma’ (Syngenta) and ‘ES Genesis’ (Euralis), and for SU-hybrids – ‘SY Sumiko’ (Syngenta) and ‘P64LE25’ (Pioneer). As a result, it was found that among SU-hybrids, UA 2/106 had a 3.9% higher yield when compared to the standards (‘SY Sumiko’ and ‘P64LE25’). And for IMI-hybrids it was found that hybrids UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 have the same yield of 2.76 t/ha as the ‘NK Neoma’ standard. IMI hybrids UA 1/92, UA 1/102 have the same yield of 2.91 t/ha as ‘ES Genesis’. **Conclusions.** F_1 hybrids were created on the basis of the original breeding material selected due to the accelerated system of sunflower lines selection. The hybrids were analyzed according to the yield indicator. The most productive among the tested SU-hybrids was UA 2/106 hybrid, among the IMI hybrids – UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84, UA 1/92 and UA 1/102.

Keywords: *Helianthus annuus* L.; hybrid; yield; test.

Надійшла / Received 07.11.2021
Погоджено до друку / Accepted 26.11.2021