

АНОТАЦІЯ

Ільченко А.С. Створення вихідного матеріалу для селекції соняшнику (*Helianthus annuus* L.) на стійкість до ALS-інгібуючих гербіцидів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 201 – Агронімія. – Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення, Інститут зрошувального землеробства НААН України, Херсон, 2021.

У дисертаційній роботі висвітлено результати досліджень з селекції вихідного матеріалу самозапилених ліній та гібридів соняшнику стійких до ALS-інгібуючих гербіцидів. Визначено, що сучасний селекційний процес поєднує методи традиційної селекції та добір за молекулярними маркерами (Marker Assisted Selection, MAS), що значно підвищує ефективність та скорочує строки створення нових генотипів. На вирішення цих завдань було спрямоване дослідження.

Експериментальні дослідження виконувались на полях наукової сівозміни СГІ-НЦНС відділу селекції та насінництва гібридного соняшнику у 2018-2021 рр.

У дисертаційній роботі проаналізовано сучасний стан і результати досліджень вітчизняних та закордонних учених щодо селекції вихідного матеріалу, самозапилених ліній та гібридів соняшнику стійких до ALS-інгібуючих гербіцидів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у вирішенні актуальної наукової проблеми щодо створення вихідного матеріалу, самозапилених ліній та гібридів соняшнику для умов недостатнього й нестійкого зволоження Південного Степу України на основі використання сучасних методичних підходів та відрізняється від раніше відомих досліджень удосконаленням методів прискорення селекції нових самозапилених ліній, формуванням

колекцій ліній стійких до ALS-інгібуючих гербіцидів як джерела вихідного матеріалу для селекції.

Уперше в Україні при селекції соняшнику впроваджено в селекційну практику використання ДНК-маркерів. Завдяки використанню цього методу забезпечується скорочення терміну гомозиготизації лінії до двох-трьох років та зменшення циклу створення комерційних гібридів до п'яти-семи років порівняно зі стандартним методом інбридингу.

Вперше в умовах Південного Степу України проведено скринінг близько 90 самоzapилених форм та ліній, виділено 11 джерел стійкості до гербіцидів групи сульфонілсечовин та 12 групи імідазолінонів для створення нового вихідного матеріалу.

В результаті проведеної роботи дослідили дві генетичні колекції самоzapилених ліній соняшнику стійких до гербіцидів груп сульфонілсечовин та імідазолінонів. До колекції самоzapилених ліній стійких до гербіцидів групи сульфонілсечовин входять одинадцять зразків: Sures 1, Sures 2, X 201 B, OC 1001 B, OC 1031 B, OC 1091 B, OC 1099 B, OC 1125 B, OC 2017 B, OC 1021 B та VLA 8 Su. Генетичну колекцію самоzapилених ліній стійких до гербіцидів групи імідазолінонів складають дванадцять зразків: Imisun 1, Imisun 2, Imisun 3, HA 425, RHA 426, RHA 427, RHA 443, OC 7 B, OC 8 B, OC 9 B, OC 1063 B та OC 2018 B. Дослідження колекцій генотипів соняшнику показали високий рівень стійкості до гербіцидів Гранстар Про 75% в.г. (д.р. трибенурон-метил) та Євро-Лайтнінг (д.р. імазапір імазамокс).

Встановили наявність різноманіття за фенотипом за більшістю морфо-біологічних ознак. Сформовані колекції ліній описали за 42-ма морфо-біологічними показниками. У 2019 році, за результатами морфо-метричних вимірювань, виділені лінії представляють собою невисокі рослини з середньою висотою 117 см, невеликим діаметром кошика – 11 см, середньою площею листової пластини – 253,6 см², середньою тривалістю періоду «сходи-цвітіння» – 65 днів, невеликою масою 1000 насінин – 27,9 г та низькою олійністю – 35,2 %. У 2020 році досліджувані ознаки були дещо нижче, на що

вплинули недостатня кількість опадів та високі температури. Висота рослин досліджуваних ліній зменшилась та в середньому становила 77 см, діаметр кошика – 9,4 см, площа листкової пластини – 207, 3 см², збільшилась тривалість періоду «сходи-цвітіння» – 71 день, маса 1000 насінин – 29,6 г та практично не змінилася олійність насіння – 34,9 %. Досліджені самозапилені лінії соняшнику дозволяють повністю перейти на селекцію власних батьківських компонентів гібридів соняшнику стійких до ALS-інгібуючих гербіцидів.

Встановлено закономірності успадковування ознаки стійкості до гербіцидів груп сульфонілсечовин та імідазолінонів. Визначення закономірностей успадковування стійкості ознаки «стійкість до гербіцидів групи сульфонілсечовин» показали, що гібридні комбінації F₁ (Sures 1 x Од 1002 Б, Sures 1 x ОС 1318 В, ОС 2017 В x ОС 1099 В) володіють повною стійкістю до гербіциду. За характером розщеплення популяцій F₂ встановили, що стійкість до трибенурон-метилу самозапилених ліній, які були використані у дослідженнях, контролювалась одним домінантним геном, про що свідчать розщеплення популяції F₂ (3 стійких 1 нестійкий).

Дослідження ознаки стійкості до гербіцидів групи імідазолінонів показали повну стійкість гібридних комбінацій першого покоління: ОС 1029 В x ОС 8 В, ОС 1002 Б x НА 425 та НА 443 x Од 1035 Б. У другому поколінні отримали 14 популяцій у яких спостерігали розщеплення 1:2:1, що вказує на напівдомінантний характер успадкування ознаки. Рослини проміжного характеру проявляли пожовтіння органів рослин.

Спільно з відділом загальної та молекулярної генетики СГІ-НЦНС створили вихідний матеріал стійкий до гербіцидів групи сульфонілсечовин. В результаті досліджень виділили 46-х генотипів комбінації Sures 2 x ОС 1029 В (ОСУ 1511 В, ОС 1512 В, ОС 1513 В, ОС 1514 В, ОС 1515 В, ОС 1516 В, ОС 1517 В, ОС 1518 В, ОС 1519 В, ОС 1520 В, ОС 1521 В, ОС 1522 В, ОС 1523 В, ОС 1524 В, ОС 1525 В, ОС 1526 В, ОС 1527 В, ОС 1529 В, ОС 1530 В, ОС 1531 В, ОС 1532 В, ОС 1533 В, ОС 1534 В, ОС 1535 В, ОС 1536 В, ОС 1537 В, ОС

1538 В, ОС 1539 В, ОС 1540 В, ОС 1541 В, ОС 1542 В, ОС 1543 В, ОС 1544 В, ОС 1545 В, ОС 1546 В, ОС 1547 В, ОС 1548 В, ОС 1549 В, ОС 1550 В, ОС 1551 В, ОС 1552 В, ОС 1553 В, ОС 1554 В, ОС 1555 В) та 2-х генотипів комбінації Sures 2 x ОС 1019 В (ОС 1557 В, ОС 1558 В). Починаючи з першого покоління усі виділені зразки проходили скринінг за ДНК-маркерами гена *AHAS1* для виявлення гомозиготних рослин, які оцінювали в умовах штучного клімату та в польових умовах.

Проведено оцінку стійкості створених генотипів до збудника несправжньої борошнистої роси (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. et. de Toni). Провели оцінку десяти генотипів першого покоління та двадцяти дев'яти генотипів другого покоління щодо стійкості до НБР. Встановили високий рівень стійкості до НБР у першому поколінні, який коливався від 83 % до 100 %. У другому поколінні шість зразків виявилися нестійкими, сім показали стійкість на рівні 6-38 %, вісім – 60-86 % та ще вісім на рівні 90-100 %. Дослідження показали, що генотипи отримані від комбінації схрещування Sures 2 x ОС 1029 В мають вищий рівень стійкості до НБР ніж генотипи комбінації Sures 2 x ОС 1019 В.

Результати досліджень показали можливість поєднання в одному генотипі два види стійкості (стійкість до гербіциду групи сульфонілсечовин та до НБР), що обумовлено генетично. Стійкість генотипів соняшнику щодо гербіцидів групи сульфонілсечовин необхідно контролювати як за допомогою ДНК-маркерами так і в умовах поля та штучного клімату. Стійкість до НБР краще контролювати в лабораторних умовах, оскільки для стабільно прояву хвороби в польових умовах, потрібні відповідні сприятливі погодні умови.

Створено новий вихідний матеріал – константні, стабільно продуктивні лінії (серед яких лінії-відновники фертильності пилку), які включені в селекційну програму для отримання гібридів лінолевого та олеїнового типів.

Досліджено мінливість рівня прояву морфо-біологічних ознак (тривалість періоду сходи-цвітіння, висота рослин, діаметр кошика, урожайність, вміст олії в насінні) у гібридів першого покоління вітчизняної та

зарубіжної селекції під впливом гербіциду Гранстар Про 75 % в.г. Після обробки гібридів соняшнику гербіцидом спостерігали певні зміни досліджуваних ознак. Встановлено суттєве скорочення періоду сходи-цвітіння на 3, 4 та 5 днів у гібридів Феномен, Bastion та Альфа відповідно. Спостерігали істотне зменшення від 13 до 21 см та істотне збільшення від 10 до 20 см висоти рослин у гібридах ST-12004, Альфа та П64LE25, Bastion відповідно. Діаметр кошика зменшився суттєво на 1,4 см у гібриду Субару та збільшився на 1,7 у гібриду Бар'єр. Істотно зменшилась урожайність гібридів Альфа, Трістан, Равелін, Байт на 0,58, 0,61, 0,64, 0,42 т/га, та збільшилось у гібридів Саксон, П64LE25, Альдазор на 0,85, 0,77, 0,56 т/га відповідно. Вміст олії в насінні у 2019 році істотно не зменшувався в той час як в умовах 2020 року суттєво знизився у більшості гібридів від 1,8 % у Бізона до 4,2 % у Альфа на що вплинули несприятливі погодні умови року.

Важливим результатом досліджень було створення трилінійних середньоранніх гібридів лінолевого типу стійких до гербіцидів групи сульфонілсечовин: Бар'єр (занесений до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні), Бастард та Байт (проходять Державне сортовипробування).

За результатами екологічного сортовипробування у 2019-2020 роках встановлено високий рівень урожайності гібридів, що в середньому становив у гібриду Бар'єра 3,5 т/га, гібриду Бастард 2,98 т/га та у гібриду Байт 2,84 т/га. Створені гібриди відносно стійкі до вилягання та осипання при перестойі, характеризуються рівномірним цвітінням та дозріванням насіння. Мають помірну стійкість до основних хвороб та нових раз вовчка.

За результатами випробувань гібриду соняшнику Бар'єр розрахували економічну ефективність його вирощування у Степу та Лісостепу. Встановлено, що вирощування гібриду має високий рівень рентабельності. У зоні Лісостепу чистий прибуток склав – 114,34 % у 2018 році та 141,42 % у 2019 році. У зоні Степу чистий прибуток склав – 114,29 % у 2018 році та 109,48

% у 2019 році. Впровадження у виробництво нового гібриду Бар'єр дозволить отримувати високі економічні показники за його вирощування.

Ключові слова: *соняшник, селекція, вихідний матеріал, стійкість, гербіциди, Гранстар Про 75% в.г., Євро-Лайтнінг, успадковування, стерильні аналоги, відновлювачі фертильності пилку, ДНК-маркери.*

ABSTRACT

Ilichenko A.S. Creating of Starting Material for Breeding of Sunflowers (*Helianthus annuus* L.) Resistant to ALS-inhibiting Herbicides. – Qualifying scientific paper, manuscript copyright.

Thesis for the Candidate Degree in Agricultural Sciences (Doctor of Philosophy), specialty 06.01.05 “Breeding and Seed Production” (Agricultural Sciences). – Plant Breeding & Genetics Institute – National Center of Seeds and Cultivar Investigation, Institute of Irrigated Agriculture of NAAS of Ukraine, Kherson, 2021.

It is necessary for breeding inbred lines and hybrids of sunflower resistant to ALS-inhibiting herbicides with appropriate quality indicators, to have a source material with a certain set of quality indicators and on the basis of establishing patterns of inheritance of herbicide resistance. The modern selection process combines traditional selection methods and selection by molecular markers (Marker Assisted Selection, MAS), which significantly increases efficiency and reduces the time to create new genotypes. Research was aimed at solving these problems.

Experimental studies were performed in the fields of scientific crop rotation of the Plant Breeding & Genetics Institute department of selection and seed production of hybrid sunflower in 2018-2021.

The dissertation was analyzed the current state and results of research by domestic and foreign scientists on the selection of source material, sunflower inbred lines and hybrids resistant to ALS-inhibiting herbicides.

The scientific originality of the obtained results lies in solving the current scientific problem of creating the source material, inbred lines and sunflower hybrids for insufficient and unstable moisture of the Southern Steppe of Ukraine based on modern methods and differs from previously known research by developing and improving methods of accelerating selection of new inbred, formation of collections of lines resistant to ALS-inhibiting herbicides as a source of source material for selection.

Marker assisted selection (MAS) using genetic marking based on DNA markers was used and recommended for sunflower breeding for the first time in Ukraine. This method reduces make the homozygous of the line to two to three years and reduces the cycle of commercial hybrids to five to seven years compared to the standard method of inbreeding.

About 90 inbred forms and lines were screened, 11 sources of resistance to herbicides of the sulfonylurea group and 12 groups of imidazolinones were identified to create a new source material for the first time in the Southern Steppe of Ukraine

As a result, two genetic collections of inbred sunflower lines of resistant to herbicides groups of sulfonylureas and imidazolinones were investigated. The collection of inbred lines resistant to the herbicide of the sulfonylurea group includes 11 samples: Sures 1, Sures 2, X 201 V, OS 1001 V, OS 1031 V, OS 1091 V, OS 1099 V, OS 1125 V, OS 2017 B, OS 1021 V and VLA 8 Su. The genetic collection of inbred lines resistant to herbicides of the imidazolinone group consists of 12 samples: Imisun 1, Imisun 2, Imisun 3, HA 425, RHA 426, RHA 427, RHA 443, OS 7 V, OS 8 V, OS 9 V, OS 1063 V and OS 2018 V. Studies of sunflower genotype collections have shown a high level of resistance to herbicide Granstar Pro 75% v.g. and Euro-Lightning.

The presence of diversity in phenotype for most morphological biological traits was established. The collections were described by 42 morpho-biological indicators. In 2019, according to the results of morpho-metric measurements, the selected lines were low plants with an average length of 117 cm, small head diameter

- 11 cm, average leaf area – 253,6 cm², average duration of the period "flowering shoots" - 65 days, low weight of 1000 seeds – 27,9 g and low oil content – 35,2%. In 2020, the measurement results were slightly lower, which was due to insufficient rainfall and high temperatures. The height of plants of the studied lines decreased and averaged 77 cm, head diameter – 9,4 cm, leaf blade area – 207,3 cm², increased duration of the period of "flowering shoots" - 71 days, weight of 1000 seeds – 29,6 g and the oil content of seeds did not change – 34,9%. The studied inbred sunflower lines allow to completely switch to the selection of own parent components of sunflower hybrids resistant to ALS-inhibiting herbicides.

Regularities of inheritance of a sign of resistance to herbicides of groups of sulfonylureas and imidazolinones are established. Determining the patterns of inheritance of resistance traits "resistance to sulfonylurea herbicides" showed that hybrid combinations F₁ (Sures 1 x Od 1002 V, Sures 1 x OS 1318 V, OS 2017 V x OS 1099 V) have complete resistance to the herbicide. By the nature of the cleavage of F₂ populations, it was found that the resistance to tribenuron-methyl of the self-pollinated lines used in the studies was controlled by a single dominant gene, as evidenced by the cleavage of the F₂ population (3 stable 1 unstable).

Studies of the resistance to herbicides of the imidazolinone group showed complete resistance of hybrid combinations of the first generation: OS 1029 V x OS 8 V, OS 1002 V x HA 425 and HA 443 x Od 1035 V. In the second generation received 14 populations in which splitting was observed 1: 2 : 1, indicating the semi-dominant nature of the inheritance of the trait. Intermediate plants showed yellowing of plant organs.

The newest methods of accelerated creation of source material and inbred lines with the use of DNA markers have been studied. Together with the Department of General and Molecular Genetics of Genetics and Breeding Institute of NAAS, we created a source material resistant to herbicides of the sulfonylurea group. As a result of research there were allocated, about 46 genotypes of the combination Sures 2 x OS 1029 V (OSU 1511 V, OS 1512 V, OS 1513 V, OS 1514 V, OS 1515 V, OS 1516 V, OS 1517 V, OS 1518 V, OS 1519 V, OS 1520 V, OS 1521 V, OS 1522

V, OS 1523 V, OS 1524 V, OS 1525 V, OS 1526 V, OS 1527 V, OS 1529 V, OS 1530 V, OS 1531 V, OS 1532 V, OS 1533 V, OC 1534 V, OS 1535 V, OS 1536 V, OS 1537 V, OS 1538 V, OS 1539 V, OS 1540 V, OS 1541 V, OS 1542 V, OS 1543 V, OS 1544 V, OS 1545 V, OS 1546 V, OS 1547 V, OS 1548 V, OS 1549 V, OS 1550 V, OS 1551 V, OS 1552 V, OS 1553 V, OS 1554 V, OS 1555 V) and 2 genotypes of the combination Sures 2 x OS 1019 V (OS 1557 V, OS 1558 V). From the first generation, all isolated samples were screened for AHAS1 gene markers to detect homozygous plants by the Department of General and Molecular Genetics of Genetics and Breeding Institute of NAAS, and then tested in an artificial climate chamber and in the field.

The resistance of the created genotypes to the pathogen of powdery mildew (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. Et. De Toni) was evaluated. As a result of research, 10 genotypes of the first generation and 29 genotypes of the second generation were analyzed for the level of resistance to mildew. A high level of resistance to powdery mildew was established in the first generation, which ranged from 83 % to 100 %. In the second generation, six samples were unstable, seven showed resistance at the level of 6-38 %, eight - 60-86 % and eight more at the level of 90-100%. Studies have shown that the genotypes of the combination Sures 2 x OS 1029 V have a higher level of resistance to powdery mildew than the genotypes of the combination Sures 2 x OS 1019 V.

A new source material has been created - constant, stably productive lines (including pollen fertility restoration lines), which are included in the selection program for obtaining hybrids of linoleic and oleic types.

It was investigated the variability of the level of morpho-biological traits (duration of flowering period, plant height, head diameter, yield, oil content in seeds) in hybrids of the first generation of domestic and foreign selection under the influence of herbicides Granstar Pro 75% v.g. After treatment of sunflower hybrids, certain changes in the studied traits were observed. There was a significant reduction in the flowering-flowering period by 3, 4 and 5 days in the hybrids Phenomen, Bastion and Alpha, respectively. There was a significant decrease from 13 to 21 cm

and a significant increase from 10 to 20 cm in plant height in hybrids ST-12004, Alpha and P64LE25, Bastion, respectively. The diameter of the head decreased significantly by 1.4 cm in the hybrid Subaru and increased by 1,7 – in the Barrier. Yields of hybrids Alpha, Tristan, Ravelin, Byte decreased significantly by 0,58, 0,61, 0,64, 0,42 t/ha, and increased in hybrids Saxon, P64LE25, Aldazor by 0,85, 0,77, 0,56 t/ha, respectively. The oil content did not change significantly in 2019, and in 2020 it decreased significantly in most hybrids from 1.8 % in Bison to 4,2 % in Alpha, which was affected by difficult conditions of the year.

According to the results of the research, the best herbicides resistant to herbicides are three-line medium-early hybrids of linoleum type: Barrier (entered in the State Register of Plant Varieties Suitable for Distribution in Ukraine), Bastard and Byte (undergoing State Variety Testing).

According to the results of competitive variety testing in 2019-2020, a high level of hybrid yield was established, which was 3,5 tons in Barrier, 2.98 tons in Bastard and 2,84 tons in Byte. Created hybrids are relatively resistant to lodging and shedding, are characterized by uniform flowering and maturation. They have moderate resistance to major diseases and new wolf diseases.

Based on the results of the qualification examination, the analysis of calculations of economic efficiency of the hybrid Barrier entered in the register in the Steppe and Forest-Steppe zones was carried out. Growing and selling hybrid seeds showed a high level of profitability. In the Forest-Steppe zone, the net profit was 114,34 % in 2018 and 141,42 % in 2019. In the Steppe zone, net profit was 114,29 % in 2018 and 109,48 % in 2019. The use of the new Barrier hybrid allows to obtain high economic indicators when it is introduced into production.

Key words: sunflower, selection, source material, resistance, herbicides, Granstar Pro 75 % v.g., Euro-Lightning, inheritance, sterile analogues, pollen fertility restorers, DNA markers