

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ  
ІНЖЕНЕРІЇ**

*Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису*

**БАБИЧ ВІКТОРІЯ ОЛЕГІВНА**

УДК 577.21:582.998.16:57.085.2:581.2:581.3:581.137.3

**ДИСЕРТАЦІЯ  
СТВОРЕННЯ СИСТЕМИ ПРИСКОРЕНОГО ДОБОРУ ВИХІДНОГО  
МАТЕРІАЛУ СОНЯШНИКА З ГОСПОДАРСЬКО-ЦІННИМИ  
ОЗНАКАМИ**

Спеціальність 091 «Біологія та біохімія»

Галузь знань 09 «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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



В. О. Бабич

Науковий керівник: Симоненко Юрій Вікторович кандидат біологічних наук, старший дослідник

Київ – 2024

## АНОТАЦІЯ

Бабич В. О. Створення системи прискореного добору вихідного матеріалу соняшника з господарсько-цінними ознаками – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» (09 «Біологія») – Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, 2024.

Соняшник (*Helianthus annuus* L.) є однією з основних олійних культур, як у світі, так і в Україні. З кожним роком у виробництві підвищується потреба у високоврожайних гібридів соняшника з комплексом господарсько-цінних ознак. Найбільш актуальним є виробництво високопродуктивних гібридів, що поєднують стійкість до посухи, стійкість до гербіцидів імідазолінової чи сульфонілсечовинної групи, а також стійкість до рослини-паразита вовчка соняшникового (*Orobanche crotanana* Wallr.).

Дослідження вітчизняних та закордонних учених показують, що для селекції соняшника найбільш важливим завданням є створення вихідних генотипів з господарсько-цінними ознаками за короткий проміжок часу. Враховуючи, що тривалість створення такого генотипу складає близько 6 – 8 років, а створення високопродуктивного гібриду соняшника займає близько 12 років, в селекційні програми все частіше залучають різні методи, які дозволяють пришвидшити створення вихідного селекційного матеріалу соняшника. До методів, що дозволяють проводити цілеспрямований добір ліній за певними ознаками відносять: методи молекулярної біології (молекулярні маркери, *marker-assisted breeding*), біотехнологічні методи (культура незрілих зародків, культура клітин та тканин *in vitro*), оцінка стійкості матеріалу до патогенів за використання штучного інфекційного фону.

Використання молекулярних маркерів в генетико-селекційних програмах дозволяє вивчити генетичну мінливість, провести відбір вихідних генотипів для схрещувань, а також проводити оцінку генетичної чистоти вихідного матеріалу. Завдяки застосуванню культури клітин та тканин в умовах *in vitro* стає можливим розмножувати цінний матеріал (мікроклональне розмноження), який неможливо розмножувати за допомогою насіння. Використання культури незрілих зародків дозволяє проводити швидкий добір гомозиготних ліній шляхом отримання декількох поколінь соняшника протягом року. Також, використання культуру незрілих зародків є гарним інструментом при створенні та аналізі міжвидових гібридів. За використання культури пиляків *in vitro* можливо отримувати гаплоїдні та дигаплоїдні рослини.

Дисертаційна робота присвячена розробці системи прискореного добору вихідного селекційного матеріалу соняшника з господарсько-цінними ознаками, яка поєднала молекулярно-біологічні та біотехнологічні методи досліджень разом з класичними методами селекції соняшника.

У дисертаційній роботі використано такі методи досліджень:

- теоретичний аналіз для узагальнення результатів досліджень вітчизняних та зарубіжних учених (під час аналізу наукової літератури);
- методи культивування клітин та тканин в умовах *in vitro* для вивчення регенераційної здатності ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, що в подальшому були використані при створенні гібридів, і зокрема, культуру незрілих зародків *in vitro* використано при гомозиготації та виділенні стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника;
- молекулярно-біологічний метод для ідентифікації гена відновлення фертильності пилку (*Rf1*);
- тестування на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах виділених материнських та батьківських ліній за стійкістю до вовчка;

- методи математичної статистики для аналізу гібридних комбінацій (гібридів першого покоління), що були створені на основі відібраних материнських та батьківських ліній, стійких до гербіцидів та вовчка осняшникового.

В дисертаційній роботі представлені результати добору материнських та батьківських ліній. Так, для швидкого та цілеспрямованого відбору ліній-закріплювачів стерильності з пулу материнських ліній було використано молекулярно-біологічний метод. Під час проведення аналізу материнських ліній соняшника за закріплюючою здатністю нами було використано SCAR маркер HRG01 до гена відновлення фертильності пилку (*Rf1*). У результаті аналізу материнських ліній соняшника, ВН320/НК Неома, ВН039/ЕС Артіміс, ВН3978/Драган, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, а також ліній Ls8A/Lc1093B, Zoria FN/Lc1093B, A12/Lc1093B, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, було встановлено лінії-закріплювачі стерильності пилку соняшника. Встановлено, що всі протестовані зразки ВН320/НК Неома є закріплювачами стерильності пилку (100%), серед протестованих зразків ВН039/ЕС Артіміс – 69% є закріплювачами стерильності, а серед ВН3978/Драган – 67%. Серед ліній, стійких до сульфонілсечовинної групи гербіцидів, Ls8A/Lc1093B, Zoria FN/Lc1093B, A12/Lc1093B, всі протестовані зразки являються закріплювачами стерильності пилку (100%).

Результати молекулярного аналізу було підтверджено за допомогою польової оцінки гібридів першого покоління, отриманих у результаті аналізуючого схрещування, де зразки, що необхідно протестувати, були схрещені зі стерильною лінією-тестером.

Робота з батьківськими формами проводилась у двох напрямках:

- вивчали регенераційну здатність ліній-відновників фертильності пилку соняшника;

- виділяли стійкі до трибенурон-метилу ліній-відновники фертильності пилку соняшника за використання культури незрілих зародків соняшника.

В результаті вивчення регенераційної здатності ліній-відновників фертильності пилку соняшника розроблено ефективну систему отримання фертильних рослин-регенерантів, які здатні формувати повноцінне насіння. Показано, що кращим середовищем для індукції адвентивних бруньок є модифіковане середовище Мурасіге-Скуга (МС), доповнене регуляторами росту: 2 mg/l N-ізопентеніламінопурином (2-іP), 0,5 mg/l індоліл-3-оцтовою кислотою (IAA) та 0,1 mg/l тідіазуроном (TDZ). Підтверджено, що регенерація соняшника є генотипзалежною, оскільки рослини-регенеранти були отримані лише у двох з чотирьох протестованих ліній. Нами також запропоновано ефективну систему укорінення адвентивних пагонів та адаптації рослин-регенерантів до умов ґрунту. Оптимізована нами методика регенерації, укорінення та адаптації рослин-регенерантів соняшника до умов ґрунту є базисом для удосконалення соняшника генетично-інженерними методами.

Під час виділення стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника було використано культуру незрілих зародків *in vitro*. Робота проведена протягом 2017–2019 років та передбачала поетапне використання культури *in vitro* та польової оцінки стійкості до трибенурон-метилу шляхом обробки рослин гербіцидом. В результаті схрещування ліній ВН0118, ВН0218 та ВН0318 з донором стійкості до трибенурон-метилу SURES-2 та поетапному відбору стійких рослин нами було виділено по 10 стійких до трибенурон-метилу ліній соняшника з отриманих комбінацій (ВН0118/SURES-2; ВН0218/SURES-2; ВН0318/SURES-2).

Одним з критерієм добору було виділення стійких до рослини-паразита вовчка соняшниково (*Orobanche cumana* Wallr.) ліній соняшника. Для цього нами було проведено тестування відібраних ліній-закріплювачів

стерильності пилку та ліній-відновників фертильності пилку соняшника на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах. В результаті нами було відібрано лінії соняшника, що відзначаються стійкістю до G раси вовчка, яка є однією з найагресивніших рас на території України.

На основі виділених материнських та батьківських ліній, стійких до гербіцидів та вовчка, нами було створено гібриди першого покоління (F<sub>1</sub>), які були протестовані у екологічному випробуванні на восьми точках України (Київській, Чернігівській, Черкаській (Уманський та Шполянський район), Хмельницька, Харківська, Херсонська та Одеська обл.). Гібриди нами були поділені на дві групи: «імідазолінову» (ІМІ) та «сульфонілсечовинну» (SU) в залежності від стійкості відібраного вихідного матеріалу до певного гербіциду. Нами було протестовано 105 SU та 104 ІМІ гібрида і встановлено, що серед SU-гібридів в порівнянні зі стандартами ('SY Sumiko' та 'P64LE25') гібрид соняшника UA 2/106 мав більшу на 3,9 % урожайність. А серед ІМІ-гібридів гібриди UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 мали таку ж врожайність (2,76 т/га), що й стандарт 'NK Neoma'. ІМІ-гібриди UA 1/92, UA 1/102 мали таку ж врожайність (2,91 т/га), що й стандарт 'ES Genesis'.

**Наукова новизна.** Вперше в Україні запропонована ефективна система прискореного добору вихідного матеріалу соняшника стійкого до гербіцидів та вовчка, яка поєднує біотехнологічні, молекулярно-біологічні методи і класичні методи селекції соняшника. А саме:

- за використання культури *in vitro* розроблено ефективну систему отримання фертильних рослин-регенерантів здатних формувати повноцінне насіння;
- за поетапного використання культури *in vitro* та польової оцінки рослин соняшника досягнуто прискорене виділення гомозиготних ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до трибенурон-метилу;
- за використання SCAR-маркера HRG01 проведено цілеспрямований відбір ліній-закріплювачів стерильності соняшника;

- лабораторний аналіз ліній соняшника на штучному інфекційному фоні дозволяє проводити первинний скринінг стійкості до рослини-паразита вовчка соняшникового, а також цілеспрямований добір ліній за даною ознакою.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати дослідження будуть використані в селекційних програмах по створенню гібридів першого покоління, за якої процес створення гібрида скорочується у 2 рази.

**Результати теоретичних та практичних досліджень.** Результати даної дисертаційної роботи використовуються у науково-практичній діяльності компанії ТОВ «Всеукраїнського наукового інституту селекції» (ВНІС) та сербській компанії «AGRONEIMAR» LLC.

**Ключові слова:** соняшник (*Helianthus annuus* L.), вовчок соняшниковий (*Orobanche cumana* Wallr.), стійкість, культура незрілих зародків, *in vitro*, регулятори росту, фітогормони, SCAR-маркер HRG01, *Rf1*, інфекційний фон, урожайність, адаптивність, стійкість до гербіцидів, закріплювачі стерильності соняшника, відновники-фертильності соняшника.

## SUMMARY

V. O. Babych. Development of an accelerated selection system of sunflower source material with economically valuable features. – The qualified scientific work on the rights of the manuscript. The thesis for a Doctor of Philosophy Degree in Specialization 091 «Biology and biochemistry» (09 «Biology») – the Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine, Kyiv, 2024.

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) is one of the main oilseed crops in the world, and in the Ukraine. Every year, the needs for the production of sunflower hybrids with a complex of economically valuable traits are increasing. The most important is the production of highly productive hybrids which combine resistance to drought, resistance to herbicides of the imidazoline or sulfonylurea group, as well as resistance to the parasitic sunflower broomrape (*Orobancha cumana* Wallr.).

Studies of domestic and foreign scientists show that the urgent task for the selection of sunflower is the study and rapid creation of lines with economically valuable features. Considering that the duration of the creation of such a genotype is about 6 – 8 years. The creation of a high-performance sunflower hybrid takes about 12 years. Different methods are increasingly involved in breeding programs, which make it possible to accelerate the creation of the initial sunflower breeding material. These methods include: methods of molecular biology (molecular marker – marker-assisted breeding), biotechnological methods (culture of immature embryos, culture of cells and tissues *in vitro*), assessment of resistance to pathogens (artificial infectious background).

The use of molecular markers in genetic breeding programs make it possible to study genetic variability, select initial genotypes for crosses, and also evaluate the genetic purity of the initial material. Thanks to the use of cell and tissue culture under *in vitro* conditions, it becomes possible to propagate valuable material (micropropagation) that cannot be propagated by seeds. The use of a



culture of immature embryos allows to make the rapid selection of homozygous lines as a result of obtaining several generations of sunflower during the year. Also, the use of culture of immature embryos is a good tool in the creation and analysis of interspecific hybrids. By using *in vitro* anther culture, haploid and dihaploid plants can be obtained.

The PhD work is devoted to the development of an accelerated selection system of sunflower source material with economically valuable features, which combine molecular biological and biotechnological research methods together with classical methods of sunflower selection.

The dissertation uses the following research methods:

- theoretical analysis to summarize the results of research of domestic and foreign scientists (during the analysis of scientific literature);
- methods of culturing cells and tissues *in vitro* to study the regenerative ability of sunflower pollen fertility restorers resistant to imidazoline herbicides, which were later used in the creation of hybrids, and in particular the culture of immature embryos sunflower *in vitro* was used in homozygosity and isolation of sunflower lines-reducers of pollen fertility resistant to tribenuron-methyl;
- molecular biological method for identification of pollen fertility restoration gene (*Rf<sub>1</sub>*);
- testing of selected maternal and paternal lines for resistance to broomrape on an artificial infectious background of the laboratory;
- methods of mathematical statistics for the analysis of hybrid combinations (first generation hybrids), which were created on the basis of selected maternal and paternal lines resistant to herbicides and broomrape.

The dissertation presents the results of work with female and male forms. Thus, the molecular biological method was used for fast and purposeful selection of maintainer lines from the pool of female lines. During the analysis of female lines of sunflower for maintainers ability, we used the SCAR marker HRG01 for the pollen fertility restoration gene (*Rf<sub>1</sub>*). As a result of the analysis of female lines

of sunflower, BH320/HK Heoma, BH039/EC Aprimic, BH3978/Драган, resistant to herbicides of the imidazoline group, as well as lines Ls8A/Lc1093B, Zoria FN/Lc1093B, A12/Lc1093B, resistant to herbicides of the sulfonyleurea group, it was sunflower pollen sterility fixing lines have been installed. It was established that all tested samples of BH320/HK Heoma are pollen sterility fixers (100%), among tested BH039/EC Aprimic samples – 69% are sterility fixers, and among BH3978/Драган – 67%. Among the lines resistant to the sulfonyleurea group of herbicides, Ls8A/Lc1093B, Zoria FN/Lc1093B, A12/Lc1093B, all tested samples are pollen sterility fixers (100%).

The results of the molecular analysis were confirmed by field evaluation of first-generation hybrids obtained by analytical crossing, where the samples which should be tested were crossed with a sterile tester line.

The work with male forms included two directions:

- study of the regenerative ability of sunflower pollen fertility restoration lines;
- the use of culture of immature embryos for accelerated isolation of sunflower pollen fertility restoration lines resistant to tribenuron-methyl.

As a result of studying the regenerative ability of sunflower lines, an effective system of obtaining fertile regenerating plants that are capable of forming the full-fledged seeds has been developed. It is shown that the best medium for induction of adventitious buds is a modified Murashige-Skug medium (MS) with the addition of different concentrations of growth regulators, namely 2 mg/l N-isopentenylaminopurine (2-iP), 0,5 mg/l indolyl-3-acetic acid (IAA) and 0,1 mg/l thidiazuron (TDZ). It was confirmed that sunflower regeneration is genotype dependent, since out of four tested lines, regenerating plants were obtained from only two. We have developed an effective rooting system for adventive shoots obtained as a result of the study of the regeneration ability, which in turn made it possible to adapt the regenerating plants to septic conditions. This result is the basis for further improvement of sunflower, using the methods of genetic engineering, for example.

During the process of isolating tribenuron-methyl resistant sunflower lines, immature embryos were used *in vitro* culture. The work was carried out during 2017 – 2019 and involved the phased use of *in vitro* culture and field assessment of resistance to tribenuron-methyl by treating plants with herbicides. As a result of crossing lines BH0118, BH0218 and BH0318 with the donor of resistance to tribenuron-methyl SURES-2 and stepwise selection of resistant plants, we identified 10 stable sunflower lines from the obtained combinations (BH0118/SURES-2; BH0218/SURES-2; BH0318/SURES-2).

One of the selection criteria was the selection of sunflower lines resistant to the plant parasite - broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). To do this, we tested selected female and male sunflower lines on an artificial infectious background in the laboratory. As a result, we selected sunflower lines that are resistant to the G race of broomrape, which is one of the most aggressive races on the territory of Ukraine.

On the basis of selected female and male lines which are resistant to herbicides and broomrape, we created hybrids (F<sub>1</sub>), which were tested in an ecological trial at eight location points in Ukraine (Kyiv, Chernihiv, Cherkasy (Uman and Shpolyansky districts), Khmelnytsky, Kharkiv, Kherson and Odessa regions). Hybrids were divided into two groups: "imidazoline" (IMI) and "sulfonylurea" (SU) depending on the resistance of the selected material to a particular herbicide. We tested 105 SU and 104 IMI hybrids and found that among SU-hybrids, compared to the standards ('SY Sumiko' and 'P64LE25'), the UA 2/106 sunflower hybrid had a 3,9% higher yield. Among IMI hybrids, UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 hybrids had the same yield (2,76 t/ha) as the NK Neoma standard. IMI hybrids UA 1/92, UA 1/102 had the same yield (2,91 t/ha) as the 'ES Genesis' standard.

**Scientific novelty.** For the first time in Ukraine, an effective system of accelerated selection of sunflower source material resistant to herbicides and broomrape, which combines biotechnological, molecular biological methods and classical methods of sunflower breeding was proposed. Namely:

- during the study of the regenerative ability of sunflower *in vitro* culture, an effective system for producing fertile regenerating plants capable of forming full-fledged seeds was developed;
- with the step-by-step use of *in vitro* culture and field evaluation of sunflower plants, was achieved accelerated selection of homozygous lines of sunflower pollen fertility restorers resistant to tribenuron-methyl;
- it is confirmed that during the differentiation of lines according to the maintainer line ability, the use of SCAR-marker HRG01 accelerates the targeted selection of sunflower lines;
- laboratory analysis of sunflower lines on an artificial infectious background allows for primary screening for resistance to the parasitic plant – broomrape, as well as targeted selection of lines on this basis.

**The practical significance of obtained results.** The results of the study will be used in breeding programs to create sunflower hybrids, in which the process of creating a hybrid is twice reduced.

**Results of theoretical and practical research.** The results of this dissertation work are used in the scientific and practical activities of the LLC Ukrainian Scientific Institute of Plant Breeding (VNIS) and the Serbian company AGRONEIMAR LLC.

**Key words:** sunflower (*Helianthus annuus* L.), sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.), resistance, culture of immature embryos, *in vitro*, growth regulators, phytohormones, SCAR marker HRG01, *Rfl*, yield, infectious background, yield, adaptability, herbicide resistance, sunflower maintainer lines, sunflower fertility restorer lines.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Бабич В. О., Варченко О. І., Кучук М. В., Парій М. Ф., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Використання культури незрілих зародків соняшника для швидкого створення відновників фертильності, стійких до гербіциду трибенурон метилу. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Том 27. Ст. 23 – 28.

*Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, провела роботу з незрілими зародками соняшника, проаналізувала рослини після обробки гербіцидом, оформила статтю.*

2. Бабич В. О., Варченко О. І., Гнатюк І. С., Кучук М. В., Парій М. Ф., Симоненко Ю. В. Отримання фертильних рослин-регенерантів соняшника (*Helianthus annuus* L.) шляхом органогенезу *in vitro*. *Агроекологічний журнал*. 2020. Том 4. Ст 116 – 123. <https://doi.org/10.33730/2077-4893.4.2020.219452>

*Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, поставила експерименти пов'язані з культивуванням експлантів соняшника на середовищах з різним співвідношенням регуляторів росту, оформила статтю.*

3. Babych V., Kuchuk M., Sharypina Ya., Parii Ya., Borovska I., Symonenko Yu. Efficiency of selection-biotechnology system of selection for creation of breeding source material of sunflower resistant to herbicides and broomrape. *Helia*. 2021. Vol. 44 (75). P. 131 – 145. DOI:10.1515/helia-2021-0012.

*Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, проаналізувала зразки соняшника на штучному інфекційному фоні на наявність вовчка соняшникового, оформила статтю.*

4. Бабич В. О., Боровська І. Ю., Шарипіна Я. Ю., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Адаптивність гібридів F<sub>1</sub> соняшника, створених за комплексною системою добору ліній з господарсько-цінними ознаками, в різних агрокліматичних зонах. *Plant Varieties Studying and Protection*. 2021. Том 17 №4. Ст. 290 – 314.

*Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, провела тестування гібридів в різних агрокліматичних умовах, провела статистичний аналіз, що допоміг виділити високопродуктивні гібрид соняшника, оформила статтю.*

5. V. O. Babych, M. V. Kuchuk, V. N. Popov, Ya. F. Parii, M. F. Parii, and Yu. V. Symonenko. The use of molecular markers for the acceleration of the selection process while developing sunflower (*Helianthus annuus* L.) maintainer lines. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2021. Vol. 81(4). P. 582 – 585. doi:<https://doi.org/10.31742/IJGPB.81.4.11>

*Особистий внесок: провела пошук літератури за темою публікації, провела молекулярний аналіз з використанням молекулярного SCAR маркера HRG01, оформила статтю.*

#### **які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

6. Бабич В. О., Наконечна М. С., Попов В. М., Кучук М. В., Парій М. Ф., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Використання молекулярних маркерів для прискорення селекційного процесу при створенні закріплювачів стерильності соняшника. *Селекційно–генетична наука і освіта: матер. Міжнар. Наук. Конфер. Умань*. 2019. Ст. 11 – 12.

*Особистий внесок: провела молекулярний аналіз з використанням молекулярного SCAR маркера HRG01, оформила тези.*

7. Бабич В. О., Шарипіна Я. Ю., Боровська І. Ю., Парій Я. Ф., Кучук М. В., Парій М. Ф., Симоненко Ю. В. Виділення перспективних для селекції гібридних комбінацій соняшника, стійких до вовчка (*Orobanche crotan*

Wallr.) та гербіциду трибенурон-метил / *Селекційно-генетична наука і освіта: матер. Міжнар. Наук. Конфер. Умань. 2021. Ст. 3 – 5.*

*Особистий внесок: спланувала експеримент, оформила тези*

8. Бабич В. О., Кучук М. В., Шарипіна Я. Ю., Парій Я. Ф., Боровська І. Ю., Симоненко Ю. В. Виділення стійких до вовчка соняшникового (*Orobanche cymana* Wallr.) закріплювачів стерильності соняшника / *Всеукр. Наук.-практ. Конференц. «Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі». Умань. 2021. Ст. 5 – 7.*

*Особистий внесок: спланувала експеримент, оформила тези*

9. Бабич В. О., Боровська І. Ю., Шарипіна Я. Ю., Наконечна М. С., Сірко А. С., Костенко Ю. С., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Результативність комплексної системи добору ліній соняшника, оцінена за проявом господарсько-цінних ознак у гібридів  $F_1$  / *Всеукр. Наук.-практ. Конференц. «Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі». Умань. 2021. Ст. 3 – 5.*

*Особистий внесок: провела посів та аналіз  $F_1$  соняшника, оформила тези*

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	20
РОЗДІЛ 1 .....	26
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	26
1.1. Напрямки селекції соняшника ( <i>Helianthus annuus</i> L.).....	26
1.2. Система цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції соняшника .....	28
1.3. Біотехнологічні методи, як інструмент вивчення та швидкого створення вихідного матеріалу соняшника.....	33
1.4. Стійкість соняшника до рослини-паразита – вовчка соняшникового ( <i>Orobancha cumanana</i> Wallr.) .....	37
1.5. Стійкість соняшника до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної груп.....	45
1.7. Висновки до розділу 1 .....	48
РОЗДІЛ 2 .....	50
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	50
2.1. Матеріал дослідження .....	50
2.2. Методи дослідження .....	53
РОЗДІЛ 3 .....	65
ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГЕНЕРАЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ ЛІНІЙ- ВІДНОВНИКІВ ФЕРТИЛЬНОСТІ ПИЛКУ ТА СИСТЕМА ДОБОРУ ЛІНІЙ- ВІДНОВНИКІВ ФЕРТИЛЬНОСТІ ПИЛКУ СОНЯШНИКА СТІЙКИХ ДО ТРИБЕНУРОН-МЕТИЛУ .....	65
3.1. Дослідження регенераційної здатності у ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до гербіцидів імідазолінової групи .....	69
3.2. Прискорене виділення стійких до трибенурон-метилу ліній- відновників фертильності пилку соняшника за використання культури незрілих зародків.....	79
3.3. Висновки до розділу 3 .....	84



РОЗДІЛ 4 .....	86
ВІДБІР ЗАКРІПЛЮВАЧІВ СТЕРИЛЬНОСТІ ПИЛКУ З ПУЛУ МАТЕРИНСЬКИХ ЛІНІЙ СОНЯШНИКА .....	86
4.1. Ідентифікація ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника за допомогою SCAR-маркера HRG01 .....	87
4.2. Порівняння результатів, отриманих за допомогою молекулярного аналізу, та польової оцінки аналізуючого схрещування.....	92
4.3. Висновки до розділу 4 .....	96
РОЗДІЛ 5 .....	98
ДОБІР ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ СОНЯШНИКА СТІЙКОГО ДО РОСЛИНИ-ПАРАЗИТА ВОВЧКА СОНЯШНИКОВОГО ( <i>OROBANCHE CUMANA WALLR.</i> ).....	98
5.1. Добір ліній-відновників фертильності пилку соняшника стійких до вовчка соняшникового.....	99
5.2. Добір ліній-закріплювачів фертильності соняшника стійких до вовчка соняшникового .....	104
5.3. Висновки до розділу 5. ....	106
РОЗДІЛ 6 .....	108
РЕЗУЛЬТАТИВНІСТЬ СИСТЕМИ ДОБОРУ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ СОНЯШНИКА, СТІЙКОГО ДО ГЕРБІЦИДІВ ТА ВОВЧКА ЗА РІВНЕМ ГОСПОДАРСЬКОЦІННИХ ОЗНАК У F <sub>1</sub> ГІБРИДІВ.....	108
6.1. Аналіз урожайності гібридів першого покоління (F <sub>1</sub> ) соняшника, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи .....	108
6.2. Аналіз урожайності та пластичності гібридів F <sub>1</sub> стійких до гербіцидів імідазолінової групи.....	115
6.3. Висновки до розділу 6 .....	119
ВИСНОВКИ.....	122
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	124
ДОДАТКИ.....	152

ТОВ «ВНІС» – товариство з обмеженою відповідальністю  
 Всеукраїнський науковий інститут селекції

*Rf* – ген відновлення фертильності пилку соняшника

*N* – нормальна плазма

*S* – стерильна плазма

*Orobanche cumana* Wallr. – рослина-паразит вовчок соняшниковий

MAS – *marker-assisted breeding* – маркерна селекція

RAPD – *random amplified polimorphic DNA* – випадково ампліфікована ділянка ДНК

RFLP – *Restriction fragment length polymorphism* – Поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів

ALFP – *Amplified Fragment Length Polymorphism* – ампліфікований поліморфізм довжини фрагмента

SSR – *Simple Sequence Repeats* – прості однонуклеотидні повтори

STS – *sequence-tagged site* – сайт з позначеною послідовністю

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

п.н. – пар нуклеотидів

*Or* – гени стійкості до вовчка соняшникового

*Pl* – гени стійкості до несправжньої борошнистої роси соняшника

*R* – гени стійкості до іржі соняшника

*Ahasl* – ацетогидрокислота

*Als* – ацетолактатсинтаза

ЦЧС – цитоплазматична чоловіча стерильність

ЦЧС РЕТ1 – джерело цитоплазматичної чоловічої стерильності

*orf* – відкрита рамка считування

*LG* – *linking group*, група зчеплення

МС – поживне середовище Мурасіге-Скуга

ІАА – індоліл-3-оцтова кислота

ВАР – 6-бензиламінопурин

GA<sub>3</sub> – гіберилінова кислота

IВА – індол-3-масляна кислота

NAA – α-нафтилоцтова кислота

2-іР – N-ізопентеніламінопурин

TDZ – тидіазурон

Кп – кінетин

2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота

ЕВА – екстракційний буфер А

ЕВВ – екстракційний буфер В

*A. tumefaciens* – *Agrobacterium tumefaciens*

*nptII* – селективний ген неоміцинофосфотрансферази

ІМІ – стійкість до гербіцидів імідазолінової групи

SU – стійкість до гербіцидів сульфонілсечовинної групи

КЦГО – комплекс цінних господарських ознак

ВП – високопластичні гібриди соняшника

СП – середньопластичні гібриди соняшника

НП – низькопластичні гібриди соняшника

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Соняшник є однією з найбільш розповсюджених олійних культур світу. В Україні з кожним роком спостерігається інтенсивне зростання посівних площ під даною культурою. Незалежно від типу соняшника (кондитерський, лінолевий, високоолеїновий) селекційні програми спрямовані на отримання високоврожайних, високопластичних, стійких до біотичних та абіотичних факторів гібридів [1].

Виробництво високопродуктивних гібридів соняшника базується на використанні цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС) [2, 3], для якої необхідно окремо створювати батьківські компоненти (стерильну лінію, лінію-закріплювач стерильності пилку, лінію-відновник фертильності пилку) з господарсько-цінними ознаками. До таких ознак відносять: стійкість до гербіцидів імідазолінової чи сульфонілсечовинної групи, стійкість до посухи і найбільш шкідливих збудників хвороб, стійкість до рослини-паразита вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.). Створення гібриду соняшника, що поєднує всі чи більшість перелічених ознак, триває 12 років.

У зв'язку зі швидким розповсюдженням рослини-паразита вовчка соняшникового з Південних областей до Північних та економічну доцільність використання гібридів, що мають стійкість до гербіцидів, яка дозволяє проводити агротехнічні заходи з мінімальними затратами при вирощуванні, основними напрямками селекційних програм є створення вихідного селекційного матеріалу соняшника, стійкого до вовчка та гербіцидів. Залучення до селекційного процесу різних біотехнологічних та молекулярно-біологічних методів, що дозволить проводити цілеспрямовані добори материнських та батьківських ліній з комплексом бажаних ознак на ранніх етапах селекційного процесу.

Так, за допомогою молекулярних маркерів можливо ефективно та швидко провести відбір ліній з вихідного селекційного матеріалу за бажаними ознаками, провести оцінку генетичної чистоти вихідного матеріалу, розробити генетичні карти, тощо.

Одними з основних генів, для яких розробляються молекулярні маркери є: гени стійкості до несправжньої борошнистої роси (*Pl*) та вовчка (*Or*), стійкості до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної групи (*Ahas*), відновлення фертильності пилку (*Rf*), що мають бути комплексно введені в сучасні генотипи (гібриди) [4].

Використання біотехнологічних методів дозволяє проводити генетичний скринінг в умовах *in vitro*, мікроклонально розмножувати рослини, удосконалювати генотипи за допомогою методів генетичної інженерії, тощо [5, 6]. Культура незрілих зародків дозволяє отримати декілька поколінь за рік і тому використовується для швидкого виділення гомозиготних ліній соняшника. Також даний метод використовується при створенні та аналізі міжвидових гібридів, при вивченні соматичного ембріогенезу, органогенезу, регенерації та генетичної трансформації соняшника [7-11].

**Актуальність досліджень** полягає у розробці системи пришвидшеного добору ліній соняшника, стійкого до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної груп і рослини-паразита вовчка соняшникового, обумовленою поетапним застосуванням комплексу біотехнологічних, молекулярно-біологічних та селекційних методів, що забезпечує прискорений та цілеспрямований відбір ліній з бажаним рівнем господарсько-цінних ознак.

**Мета і завдання дослідження.** Основною метою роботи було розробити ефективну комплексну систему прискореного добору вихідного матеріалу соняшника з використанням методів молекулярної біології та біотехнології, що дозволить за короткий проміжок часу провести швидкий та цілеспрямований добір ліній з бажаними ознаками.

Для досягнення поставленої мети вирішували такі **завдання**:

- 1) Охарактеризувати відновники фертильності пилку соняшника за регенераційною здатності та виділити кращі за даною ознакою;
- 2) Оптимізувати комплексну схему добору ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійкого до трибенурон-метилу з використанням культури незрілих зародків;
- 3) Оптимізувати виділення ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника серед пулу материнських ліній з рецесивним геном відновлення фертильності (*rf1*) за використання молекулярного SCAR-маркера HRG01;
- 4) Ідентифікувати стійкі до рослини-паразита вовчка соняшникового лінії-закріплювачі стерильності пилку та лінії-відновники фертильності пилку соняшника;
- 5) Оцінити ефективність системи добору вихідних ліній, стійких до гербіцидів, за результатами випробування гібридів F<sub>1</sub> соняшника.

*Об'єкт дослідження* – материнські та батьківські лінії соняшника (*Helianthus annuus* L.).

*Предмет дослідження* – біотехнологічні, молекулярно-біологічні та класичні методи селекції для добору батьківських ліній соняшника з бажаним рівнем господарсько-цінних ознак.

*Методи вивчення*. Дисертаційна робота включала в себе роботу з материнськими та батьківськими лініями соняшника.

Робота з материнськими формами передбачала проведення молекулярного аналізу з використанням SCAR-маркера HRG01 для проведення цілеспрямованого відбору ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника, що містять рецесивний ген відновлення фертильності пилку (*rf1*).

Робота з батьківськими формами (лініями-відновниками фертильності пилку) соняшника була проведена у двох напрямках: 1) нами досліджено регенераційну здатність ліній-відновників фертильності пилку

соняшника для отримання фертильних рослин-регенерантів шляхом органогенезу соняшника в культурі *in vitro*; 2) використано культуру незрілих зародків соняшника для прискороного виділення гомозиготних ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до трибенурон-метилу.

В даній дисертаційній роботі також представлені результати тестування виділених ліній-закріплювачів стерильності пилку та ліній-відновників фертильності пилку на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах з метою виділення стійких до рослини-паразита вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.).

**Наукова новизна роботи** полягає у тому, що вперше в Україні розроблена та запропонована система прискороного добору вихідного матеріалу соняшника стійкого до гербіцидів та вовчка, що поєднує в собі біотехнологічні та молекулярно-біологічні методи разом з класичними методами селекції соняшника. А саме:

- під час вивчення регенераційної здатності соняшника в культурі *in vitro* було розроблено ефективну систему отримання фертильних рослин-регенерантів здатних формувати повноцінне насіння.

- досягнуто прискорене виділення гомозиготних ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до трибенурон-метилу, з використанням культури незрілих зародків соняшника.

- підтверджено, що під час диференціації ліній за закріплюючою здатністю використання молекулярних маркерів пришвидшує цілеспрямоване виділення ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника.

- лабораторний аналіз на штучному інфекційному фоні за стійкістю до вовчка дозволяє ефективно проводити добір ліній на ранніх етапах селекційного процесу, що значно пришвидшує створення нового матеріалу.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результат проведеного дослідження може бути використаний у селекційних програмах по створенню нового вихідного матеріалу соняшника з господарсько-цінними ознаками, за короткий проміжок часу.

Наразі отриманий результат дослідження застосовуються в практичній діяльності української компанії «Всеукраїнського наукового інституту селекції» (ВНІС) та сербської компанії «AGRONEIMAR» в селекційних програмах соняшника.

**Особистий внесок здобувача.** Постановку наукових завдань досліджень, інтерпретацію отриманих результатів та розробку структури дисертаційної роботи було здійснено спільно із науковим керівником кандидатом біологічних наук, старшим науковим співробітником Інституту клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України Симоненком Юрієм Вікторовичем. Результати, представлені в дисертаційній роботі, були отримані здобувачем особисто. Молекулярно-генетичний аналіз отриманих ліній рослин було проведено разом із співавторами публікацій, а саме: з допомогою кандидата біологічних наук, Попова Віталія Миколайовича та кандидата біологічних наук, Парія Мирослава Федоровича. Лабораторний аналіз стійкості виділених батьківських форм соняшника до рослини-паразита вовчка соняшникового на штучному інфекційному фоні було проведено разом із співавторами публікацій, а саме: з допомогою доктора сільськогосподарських наук, Боровською Іриною Юріївною, кандидата біологічних наук, Шарипіною Ярославою Юріївною.

**Апробація результатів дисертації.** Окремі положення дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на семінарах ради Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. Окремі результати були представлені на наукових конференціях: Селекційно-генетична наука і освіта міжнародна наукова конференція (Умань 2019, 2021) та Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі (Умань 2021).



**Публікації.** Результати дисертаційних досліджень викладено в 9 наукових працях: п'ятьох статтях, у тому числі двох статей, що індексується у наукометричних базах даних «Scopus» та трьох статтях опублікованих у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України (усі включені до міжнародних наукометричних баз даних), чотирьох тезах матеріалів всеукраїнських науково-практичних конференцій. Отримано свідоцтво на сорти рослин (додаток В).

**Подяка.** Авторка вдячна науковому керівнику, кандидату біологічних наук, старшому науковому співробітнику Інституту клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України Симоненко Юрію Вікторовичу за підтримку, сприяння проведенню досліджень, консультацій та плідне обговорення результатів роботи на всіх етапах її планування та виконання.

Авторка вважає за приємний обов'язок висловити слова подяки за надані консультації та допомогу в отриманні необхідної для виконання дослідження інформації фахівцям Всеукраїнського наукового інституту селекції (ВНІС) за підтримку, активне сприяння проведенню досліджень, консультації та плідне обговорення результатів, а саме: Парію Ярославу Федоровичу, к. б. н. Парію Мирославу Федоровичу, к. б. н. Шарипіній Ярославі Юріївній, к. б. н. Попову Віталію Миколайовичу, доктору с-г. н. Боровській Ірині Юріївній.

**Структура дисертації.** Основний текст дисертації викладено на 181 сторінці комп'ютерного тексту та складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, чотирьох розділів з викладенням результатів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел, який включає 215 найменувань, серед них 202 іноземними мовами, та додатків. Основна частина дисертаційної роботи вміщує 11 таблиць, 15 рисунків.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Напрямки селекції соняшника (*Helianthus annuus* L.)

Соняшник (*Helianthus annuus* L.) – це однорічна перехреснозапилена культура, що походить з Північної Америки. Вирощується в багатьох країнах, оскільки вважається однією з найважливіших олійних культур [12]. Для України соняшник є основною олійною культурою, оскільки, при порівнянні з іншими культурами, дає найбільший вихід олії з одиниці площі. Окрім цього, соняшник використовують як медоносну та кормову культуру, побічні продукти переробки соняшника, також, використовують для годівлі худоби [13].

Селекція соняшника ведеться у багатьох напрямках, однак найважливішими є урожайність, стійкість до хвороб, стійкість до рослини-паразита вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.), стійкість до гербіцидів, високий вміст олії, якість олії, адаптивність та скоростиглість [1].

Основні параметри гібриду соняшника:

- холодостійкість у період проростання та на початку вегетації рослин.
- дружні сходи,
- інтенсивні темпи росту в період сходи-цвітіння,
- вегетаційний період (від 75 до 90-120 діб),
- висота рослин (для скоростиглих це 145-155 см, для ранньостиглих – 160-170 см, середньостиглих – 175-190 см),
- кількість насіння в кошику (в межах 1500-2000 штук),
- маса 1000 насінин – не менше 50 г, натура – 400-500 г/л,
- вміст жиру в сім'янці (48-55%), вміст олеїнової кислоти в олії (65-90%),

- стійкість до несправжньої борошнистої роси (*Plasmopara helianthi* Novot. f. *Helianthi*),
- стійкість до білої гнилі (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) та сірої гнилі (*Botrytis cinerea* Pers.),
- стійкість до іржі (*Puccinia helianthi* Schw.),
- стійкість до альтернаріозу (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.),
- стійкість до фомопсису (*Phomopsis helianthi* Munt.),
- стійкість до септоріозу (*Septoria helianthi* Ellis et Kellerm.),
- стійкість до вовчка соняшникового (*Orobancha cumana* Wallr.),
- стійкість до полягання та осипання насіння при перестої рослин,
- стійкість до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної групи [1, 12].

Для створення гібриду з бажаними ознаками необхідно мати генетичне різноманіття. Генетичним ресурсом, в селекції соняшника, є культурні (місцеві популяції, сорти, комерційні гібриди, сорти-синтетики) та дикі види роду *Helianthus* [1].

Серед основних методів створення вихідного матеріалу соняшника відносять: міжсортovu та міжвидову гібридизацію, інбридинг, мутагенез, індивідуально-груповий добір, рекурентний добір [1]. Користуючись даними методами, створення гібриду соняшника з бажаними ознаками триває близько 12 років з урахуванням проведення державного тестування для включення гібриду в Державний реєстр сортів рослин придатних для поширення в Україні (2 роки). Тому, в селекційні програми залучають методи, що дозволяють пришвидшити відбір вихідного селекційного матеріалу соняшника з рядом бажаних господарсько-цінних ознак. До таких методів відносять:

- методи молекулярної біології,
- біотехнологічні методи (культура незрілих зародків, культура клітин та тканин *in vitro*),
- оцінку стійкості до патогенів на штучному інфекційному фоні.

Використовуючи молекулярні маркера, для соняшника було проведено картування генів та розроблено генетичні карти. Перші генетичні карти соняшника були створені за використання RAPD, RFLP та AFLP маркерів [14-17]. Опираючись на генетичні карти було розроблено специфічні маркери для різних генів соняшника [18].

На сьогоднішній день в селекційних програмах використовують молекулярні маркера на гени інтересу, такі як:

- гени відновлення фертильності пилку (*Rf*) [19-32],
- гени стійкості до вовчка соняшникового (*Or*) [33-40],
- гени стійкості до несправжньої борошнистої роси (*Pl*) [41-49],
- гени стійкості до іржі (*R*) [28, 43, 49-53],
- стійкості до гербіцидів (*Ahas*) [54-57].

Методи культури клітин та тканин дозволяють розширити генофонд соняшника. Відомо, що активна робота по залученню біотехнологічних методів у селекційний процес була розпочата в 1970-х роках. Методи культури клітин та тканин, злиття протопластів, методи генної інженерії являються ефективним інструментом для вивчення та створення нового вихідного матеріалу, або для відбору генотипів соняшника з певними ознаками [1].

Поєднання молекулярно-біологічних та біотехнологічних методів на ранніх етапах селекції є ефективним інструментом для проведення цілеспрямованих схрещувань та виділення ліній з господарсько-цінними ознаками.

## **1.2. Система цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції соняшника**

З відкриттям цитоплазматичної чоловічої стерильності, стало можливим використовувати генетичні системи ЦЧС-*Rf* для практичного використання ефекту гетерозису у різних культурах [58].

Для використання системи ЦЧС – необхідно мати три основних компонента: стерильну лінію, закріплювач стерильності пилку та відновник фертильності пилку соняшника. Закріплювач стерильності пилку соняшника має нормальну цитоплазму ( $N$ ) та рецесивні гени відновлення фертильності пилку ( $rfrf$ ). Даний генотип закріплювача стерильності пилку соняшника ( $N rfrf$ ) буде фертильним та використовується для розмноження стерильної лінії, що має стерильну цитоплазму ( $S$ ) та рецесивні гени відновлення фертильності пилку ( $rfrf$ ). Лінія-відновник фертильності пилку соняшника має нормальну цитоплазму ( $N$ ) та домінантні гени відновлення фертильності пилку ( $RfRf$  або  $Rfrf$ ). В результаті схрещування стерильної лінії ( $S rfrf$ ) з відновником фертильності пилку соняшника отримують рослини першого покоління ( $F_1$ ), що за своєю продуктивністю перевищують батьківські компоненти [62]. Саме тому вирощування високопродуктивних гібридів соняшника базується на використанні системи ЦЧС [2].

ЦЧС описана для більш ніж 150 видів рослин [59-61]. Особливістю ЦЧС є неможливість продукувати життєздатний пилок через мутацію в мітохондріальному геномі [62]. У соняшника виділяють три типи стерильних квіток, що легко візуально ідентифікувати по характерним морфологічним ознакам пиляків. Перший тип характеризується звичайним розвитком пиляків. Відмінністю є сіре забарвлення пиляків та абортований пилок, що знаходиться всередині пиляка. У другого типу пиляки ниткоподібні, які не зростаються у трубочку, що містить невелику кількість стерильного пилку. Третій тип візуально не відрізняється від першого, проте при цитологічному аналізі стерильні пилкові зерна не мають шипів [61].

ЦЧС соняшника була відкрита Леклерком в кінці 60-х років ХХ-го століття в результаті схрещування дикорослого виду *H. petiolaris* з культурним – *H. annuus* (ЦЧС РЕТ1) [20]. Саме вона є основним джерелом ЦЧС у сучасних гібридів соняшника, оскільки вона проявляється стабільно за різних умов вирощування [63]. Нині відомо понад 60 джерел ЦЧС, з яких основними є дикорослі види роду *Helianthus*. До них відносяться,

наприклад, *H. argophylus* Torr&Gray (ARG1, ARG3), *H. debilis* Nutt. (DEB1), *H. praecos* Engelm&Gray (PRR1, PRH1), *H. giganteus* L. (GIG1), *H. annuus* (wild) (ANN5), *H. rigidus* (Cass.) Desf. (RIG1, RIG2, RIGL), *H. fallax* (PEF1) [64].

У соняшника рослини, що мають ЦЧС PEF1, чоловіча стерильність пов'язана з відкритою рамкою зчитування (*orfH522*) у 3'-фланкуючій частині гена *atpA*, що призводить до експресії білка масою 16 кДа [62]. Альтернативним джерелом цитоплазматичної чоловічої стерильності є ЦЧС типу PEF2. Даний тип ЦЧС був знайдений в результаті міжвидового схрещування *H. petiolaris* з *H. annuus* проте призводить до іншого механізму ЦЧС. В своєму дослідженні Reddemann A. та Horn R. (2018) в результаті саузєрн-блот аналізу виявили відмінність між ЦЧС PEF1 та ЦЧС PEF2. В результаті дослідження авторами було показано, що молекулярний механізм, який лежить в основі ЦЧС PEF2, залежить від подій рекомбінації з участю гена *atp9*, яка в свою чергу, призводить до формування двох нових рамок зчитування *orf288* та *orf231* [65]. Для ЦЧС PEF1, що була знайдена в результаті схрещування *H. petiolaris* підвид *fallax* та *H. annuus*, відмінністю є відсутність відкритої рамки зчитування *orf522*, що характерна для ЦЧС PEF1 [66].

З відкриттям системи ЦМС-*Rf* вітчизняними та зарубіжними вченими була розпочата активна робота по вивченню успадкування та контролю даної ознаки. На даний час встановлено, що у різних генотипів присутні від одного до чотирьох генів відновлення фертильності пилку (*Rf*) в залежності від типу цитоплазми. Встановлено, що ключову роль при успадкуванні генів відновлення фертильності пилку відіграє ген *Rf<sub>1</sub>*. Він був відкритий у 70-х роках у лінії T66006-2-1, що була отримана у результаті схрещування дикого соняшника з культурним [19].

При вивченні гена *Rf<sub>1</sub>* було залучено різноманітні типи ДНК маркерів, такі як: RAPD, ALFP, SSR, тощо. Використання молекулярних маркерів, що зчеплені з геном *Rf<sub>1</sub>* допомагає при проведенні диференціації ліній за

наявністю-відсутністю даного гена. Horn R. зі співавторами (2003), в своєму дослідженні на основі двох RAPD-маркерів ОРК13\_454 та ОРУ10\_740, що знаходяться на відстанні 0,8 та 2,0 сМ від гена відновлення фертильності пилку *Rf<sub>1</sub>*, розробили два SCAR маркера: HRG01 та HRG02. Про наявність в рослинному матеріалі маркерів свідчать фрагменти ампліфікації розміром 426 для SCAR маркера HRG01 та 738 п.н. для SCAR маркера HRG02 [66]. Попов В. М. зі співавторами (2014), використали два SCAR маркера HRG01 та HRG02 в своєму дослідженні. В результаті ними було підтверджено, що дані маркера тісно зчеплені з геном *Rf<sub>1</sub>* [23]. Markin N. зі співавторами (2017), аналізуючи однолітні та багаторічні види соняшника, з'ясували, що для однорічних краще використовувати SCAR-маркер HRG01, а для багаторічних – SCAR-маркер HRG02. Оскільки продукти ампліфікації HRG01 в результаті проведеного ПЦР спостерігали у однорічних видів, тоді як продукти ампліфікації HRG02 були детектовані у багаторічних видів [24].

Yue B. зі співавторами (2010), в своєму дослідженні встановили, що з геном *Rf<sub>1</sub>* тісно зчеплений SSR маркер ORS511 та TRAP маркера K11F05Sa12–160. SSR маркер ORS511 знаходиться на відстані 3,7 сМ від гена відновлення фертильності пилку, тоді як TRAP маркера K11F05Sa12–160 знаходиться на відстанні 0,4 сМ [21].

Окрім гена відновлення фертильності пилку *Rf<sub>1</sub>* також описані інші гени: *Rf<sub>2</sub>*, *Rf<sub>3</sub>*, *Rf<sub>4</sub>*, *Rf<sub>5</sub>*, *Rf<sub>6</sub>*, *Rf<sub>7</sub>*. Для них також розроблені молекулярні маркери, що дозволяють детектувати їх наявність у вихідному матеріалі соняшника [25-30].

Другим основним геном відновлення фертильності пилку є *Rf<sub>2</sub>*. Він був знайдений комбінації, що була створена при схрещуванні двох ліній Т66006–2–1–В та МZ01398. Встановлено, що даний ген відновлення фертильності пилку присутній у більшості культурних ліній соняшника [19]. Третій ген відновлення фертильності пилку (*Rf<sub>3</sub>*) був знайдений у лінії кондитерського соняшника RHA 280. Liu Z. зі співавторами (2011), в своєму дослідженні провели картування гена *Rf<sub>3</sub>* у 227 рослин соняшника, що були

отримані в результаті схрещування двох ліній – ЦЧС НА 89-3149 x RHA 280. Ними було використано праймери SSR та STS маркерів. В результаті, авторами було встановлено, що ген *Rf<sub>3</sub>* тісно зв'язаний з п'ятьма SSR маркерами у 7-й групі зчеплення (*LG7 – linking group 7*) – ORS328, ORS331, ORS928, ORS966, ORS1092 та трьома (EST) – SSR маркерами – HT-619-1, HT619-2 та HT1013 [25]. В лінії RHA 340 ген *Rf<sub>3</sub>* також був ідентифікований у 7-й групі зчеплення [68]. Ген відновлення фертильності пилку *Rf<sub>4</sub>* було ідентифіковано в ЦЧС GIG2. Даний тип ЦЧС було отримано в результаті схрещування лінії 1934 (*H. giganteus* L.) та лінії НА 89 (*H. annuus* L.). При картуванні, Feng J. та Jan C.-C. (2008), встановили, що ген *Rf<sub>4</sub>* знаходиться у 3 групі зчеплення [26].

Під час вивчення успадкування стійкості рослин соняшника до іржі було ідентифіковано ген відновлення фертильності пилку (*Rf<sub>5</sub>*). Qi L. L. зі співавторами (2012), досліджували успадкування гена стійкості *R<sub>11</sub>* до іржі та встановили, що даний ген тісно зчеплений з геном *Rf<sub>5</sub>*. Генетична дистанція між генами склала 1,6 сМ [28].

Liu, Z. зі співавторами (2013), в роботі з джерелом ЦЧС 514A, що походить від *H. angustifolius* через міжвидовий амфідиалоїд *H. angustifolius*/P 21 ( $2n = 68$ ), було виявлено ген відновлення фертильності пилку *Rf<sub>6</sub>*. Використавши *in situ* гібридизацію (GISH) та молекулярний аналіз, було локалізовано ген *Rf<sub>6</sub>* та визначено, що він знаходиться у 3 групі зчеплення (*LG3*) [29]. Talukder Z. I. (2019), при картуванні гена стійкості до несправжньої борошнистої роси (*Pl<sub>34</sub>*) у лінії RHA 428, виявили ген *Rf<sub>7</sub>*. Автори встановили, що ці гени тісно зчеплені один з одним, генетична відстань між ними становить 2,1 сМ та знаходяться у 13 групі зчеплення (*LG13*) [30].

В селекційних програмах використовують маркери, що тісно зчеплені з геном *Rf<sub>1</sub>*, оскільки основним геном відновлення фертильності пилку соняшника вважається ген *Rf<sub>1</sub>*, що в переважній більшості відновлює фертильність у ліній системи ЦЧС PET1 [19, 58].



При роботі з материнськими формами, використання молекулярних маркерів є ефективним інструментом для детектування генів відновлення фертильності пилку соняшника, особливо враховуючи довготривалий період створення материнських форм.

### **1.3. Біотехнологічні методи, як інструмент вивчення та швидкого створення вихідного матеріалу соняшника**

Біотехнологія дозволяє розширити генетичні можливості сільськогосподарських рослин, створювати новий генофонд, що адаптований до умов вирощування, в різних агрокліматичних зонах та адаптований до агротехнічних вимог вирощування. Інтенсивна робота по залученню біотехнології була розпочата в 1970-х роках [1].

Bidney and Scelonge (1997) зробили висновок, що головна ціль біотехнології полягає в здатності ідентифікувати, виділяти, посилювати та змінювати гени чи послідовність дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) з різних джерел, для того аби використовувати їх в тих самих чи інших видах рослин [69]. Біотехнологічні методи являються ефективним інструментом для створення та виділення генотипів, з бажаними господарсько-цінними ознаками, з генетичною стійкістю до різноманітних стресів, хвороб та шкідників. Біотехнологічні методи використовуються коли класичні методи селекції лишаються малоефективними [1].

При роботі з культурою тканин та клітин *in vitro* необхідно дослідити регенераційну здатність для того аби мати можливість відтворити фертильну рослину з її подальшим розмноження в септичних умовах (теплиця, відкритий ґрунт). Рослини соняшника можна регенерувати з соматичних та зиготичних зародків [7, 71-81], гіпокотилу [82-85], сім'ядолей [86-89], листків [90, 91]. Ефективність регенерації залежить від генотипу, типу та стадії розвитку експланта, живильного середовища та умов культивування [69, 70, 92].

Dagustu N. зі співавторами (2010), в своєму дослідженні, вдалось отримати фертильні рослини-регенеранти соняшника при використанні в якості експлантів незрілих зародків [74]. Aurogi A. зі співавторами (2019), запропонували метод культивування соняшника в умовах *in vitro* з використанням меристематичних тканин з насіння соняшника та отримали 100% результат формування рослин-регенерантів. Як зазначається в дослідженні, формування рослин-регенерантів відбувалось на середовищі Мурасіге-Скуга (МС) з додаванням регуляторів росту: індоліл-3-оцетової кислоти (IAA) у концентрації 0,5 мг/л, зеатин 1 мг/л, 6-бензиламінопурину (BAP) 0,5 мг/л, гіберилінової кислоти ( $GA_3$ ) 0,2 мг/л. Індукцію коренів проводили на середовищі МС з додаванням індол-3-масляної кислоти (IBA) у концентрації 0,1 mg/l [78].

Shin D.-H. зі співавторами (2000), описали протокол регенерації, однак регенерація була індукована не на зрілих тканинах експлантів (гіпокотиль, сім'ядолі, листя), а на ювенільних експлантах (меристема зародка та примордіальні тканини листка). За запропонованим протоколом, регенерація соняшника відбувалась шляхом прямого органогенезу, що дозволяє уникнути самоклональної варіабельності [80].

Ozyigit I. I. зі співавторами (2006) в своєму дослідженні використали зріле насіння соняшника в якості експлантів. Першим етапом дослідження була індукція калусогенезу, другий етап – індукція рослин-регенерантів, третій етап – укорінення рослин-регенерантів. В результаті було встановлено, кращим поживним середовищем для індукції калусогенезу є середовище Мурасіге-Скуга доповнене 1 mg/l 2,4-дихлорфеноксоцтова кислоти. Калусогенез спостерігали на всіх генотипах. Кращим середовищем для індукції рослин-регенерантів є МС з додаванням 1 mg/l 6-бензиламінопурину (BAP) та 0,5 mg/l  $\alpha$ -нафтилоцтової кислоти (NAA). Укорінення проводили на середовищі МС з 1 mg/l індол-3-масляної кислоти (IBA) [85]. Deglene L. зі співавторами (1997) в дослідженні підкреслили, що органогенез соняшника з сім'ядольних експлантів є генотипзалежним [89].

Inoka K., та Dahanayake N. (2015) досліджували регенераційну здатність соняшника на трьох різних типах експлантів (листок, стебло та коріння). В результаті проведеного дослідження було встановлено, що рослини-регенеранти формувались на стеблових експлантах при культивуванні на середовищі Мурасіге-Скуга з додаванням 0,5 mg/l 6-бензиламінопурин (BAP) та 0,1 mg/l  $\alpha$ -нафтилоцтова кислота (NAA). Формування коренів індукували на середовищі MS, що додатково містила 1 mg/l індол-3-масляної кислоти (IBA) [93].

Дослідження регенераційної здатності стало фундаментом для генетичного покращення генотипів соняшника шляхом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації [84, 86, 94-97]. Kim M.-J. зі співавторами (2016), запропонували систему регенерації та *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації. Об'єктом дослідження обрали топінамбур (*Helianthus tuberosus* L.). В результаті було встановлено, що при культивуванні експлантів (частини листка) у темряві на середовищі Мурасіге-Скуга з 1 mg/l зеатину, ефективність регенерації буде збільшуватись в порівнянні з культивуванням при освітленні [84].

Sujatha M. зі співавторами (2012), провели *Agrobacterium*-опосередкованої трансформацію соняшника, де використали сім'ядолі в якості експлантів. Трансформацію проводили штамом трансформації з використанням *Agrobacterium* LBA 4404 з плазмідною рCambia 2301, що містить репортерний ген *UidA* та селективний ген для трансформантів *nptII* (стійкість до канаміцину). Сім'ядолі після ко-культивування з агробактерією висаджували на середовище Мурасіге-Скуга з додаванням 2 mg/l N-ізопентеніламінопурину (2-iP), 0,5 mg/l індоліл-3-оцтової кислоти (IAA) та 0,1 mg/l тидіазурону (TDZ) для індукції регенерації. Регенеранти, що формувались на даному середовищі проходили культивування на середовищі з селективним агентом (канаміцином). Елонгація пагонів рослин-регенерантів проведена на середовищі MS доповнене 1 mg/l N-ізопентеніламінопурину (2-iP), 0,5 mg/l 6-бензиламінопурину (BAP), 250

mg/l цефотаксиму та 100 mg/l канаміцину. В результаті поетапного відбору з селективним агентом автори відібрали трансформовані рослини-регенеранти. Укорінення проводили на середовищі МС з 1mg/l  $\alpha$ -нафтилоцтової кислоти (NAA). Укорінені рослини в подальшому адаптували в умовах теплиці. Як зазначають автори, проведена *Agrobacterium*-опосередкована трансформація соняшника дозволила розробити ефективний протокол отримання трансформованих рослин регенерантів зі сім'ядолей [86].

Mushke R. зі співавторами (2019) розробили систему отримання трансформованих рослин соняшника стійких до засолення. Для трансформації було використано зародки соняшника, що інфікували *Agrobacterium tumefaciens* ЕНА105, що містила бінарний вектор pBin438-TaNHX2, який містить антипотер пшениці (TaNHX2) під контролем промотора CaMV 35S з геном *nptII* в якості селективного агента, що дозволяє виділити трансформовані рослини-регенеранти. В результаті, авторам вдалось створити рослини соняшника, що були стійкими до засолення [94].

Також одним із методів, що застосували для соняшника, з метою пришвидшення селекційного процесу, була технологія отримання гаплоїдів в культурі *in vitro*. Були описані методи отримання гаплоїдних рослин через культуру пиляків [98-105] та мікроспор[106], партеногенез [107]. Однак культура гаплоїдів в селекції соняшника не має настільки широке використання в порівнянні з селекцією кукурудзи.

При поєднанні біотехнологічних методів з класичними методами селекції можна пришвидшити та оптимізувати процес створення та виділення генотипів соняшника з господарсько-цінними ознаками. Підібравши генотип, умови культивування та відібравши експлант можливо розробити оптимально-ефективний протокол регенерації, що може бути використаний для подальшого покращення чи розмноження різних генотипів соняшника.

#### 1.4. Стійкість соняшника до рослини-паразита – вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.)

Вовчок соняшниковий (*Orobanche cumana* Wallr.) є голопаразитичною рослиною-паразитом (рослиною, яка не здатна до фотосинтезу та підтримує себе повністю за рахунок паразитування), що має широке поширення в зонах вирощування соняшника [108].

Відомо, що рослини-паразити поділяються на дві групи: кореневі та стеблові паразити. Серед корневих паразитичних рослин виділяють родину *Orobanchaceae* (вовчкові), що паразитує на овочах та олійних культурах [109].

Під час вивчення видів родини *Orobanchaceae* було встановлено, що дана рослина-паразит уражує різні родини рослин, так:

- *O. crenata* являється паразитичною рослиною для родин – *Fabaceae*, *Apiaceae* та *Asteraceae*,
- *O. cernua* – для родини *Solanaceae*,
- *O. foetida* – для родини *Leguminosae*
- *O. minor* – для конюшини (*Trifolium* spp.), люцерни (*Medicago sativa*), а також для інших родин включаючи *Solanaceae* та *Brassicaceae* [110].

На території України ідентифіковано понад 40 видів вовчка, серед яких паразитуючими на культурних рослинах є вовчок соняшниковий – *Orobanche cumana* Wallr., вовчок гіллястий (конопляний) – *O. ramosa* L., вовчок єгипетський (баштанний) – *O. aegyptiaca* Pers., вовчок Мутеля – *O. mutellii* F. W. Schultz та люцерновий вовчок – *O. lutea* Baumg [111].

Вовчок соняшниковий (*Orobanche cumana* Wallr.) є залежним від рослини-господаря, оскільки приєднується до кореневої системи і, таким чином, формується єдина для обох організмів (рослинного і паразитарного) судинної системи. Як результат, вовчок поглинає продукти метаболізму соняшника, що призводить до його пригнічення [112]. Поширений в

багатьох країнах Європи та Азії, особливо багато вовчка зустрічають на посівах соняшника в центральній та східній Європі, Іспанії, Туреччині, Ізраїлі, Ірані, Казахстані та Китаї [113].

Одна рослина вовчка має дуже дрібне насіння, що легко переноситься вітром, або з іншими агентами, наприклад, з насінням соняшника чи агротехнікою. Насіння вовчка зберігається в ґрунті, у стані спокою, протягом довгого часу (10-15 років) та лишається життєздатним [114]. Проростання насіння рослини-паразита відбувається поступово та залежить від розвитку кореневої системи рослини-господаря (соняшника). Період від проростання до дозрівання насіння вовчка може тривати від шести до восьми тижнів. Тому, при візуальному огляді посівів соняшника можна спостерігати рослини вовчка, які знаходяться на різних етапах розвитку (рис. 1.1.) [115].



Рис. 1.1. Вовчок соняшниковий в посівах соняшника; А – вовчок до цвітіння; Б – вовчок під час цвітіння

Вирощування не стійких до вовчка гібридів соняшника призводить до зниження врожаю від 40 до 100% [116, 117].

Вовчок соняшниковий класифікується на раси, в залежності від вірулентності, та позначають їх літерами. На даний час відомо про раси А – Н [118]. Перші згадки про вовчок у посівах соняшника датуються 1890-ми роками, де вовчок знайшли в Саратовській області Росії [119]. В Радянському Союзі було ідентифіковано А та В раси вовчка. Встановлено,

що в залежності від вірулентності, вовчок вражав різні сорти соняшника [118].

На сьогоднішній день вже відомо, що раси F, G та H присутні на території Росії [120], C та G – на території Казахстану [118]. На території України протягом 1980-1990-х років переважали C та D раси, але в останні роки расовий склад змінився, і на даний час найбільш вірулентними є раси E, F, G та H [121, 122]. В Молдові протягом тривалого часу на посівах соняшника спостерігали C расу вовчка, що згодом змінилась на E та F раси. Однак вже зараз є відомості про присутність на території Молдови G та H рас вовчка [123, 124]. В таких країнах, як Сербія, Румунія, Туреччина, Китай, Угорщина та багато інших [125-134] було проведено дослідження з метою встановлення расового складу вовчка у посівах соняшника.

Є методи боротьби з вовчком, до них належать:

1) соляризація ґрунту – це метод дезенсекції ґрунту, який використовує пасивне сонячне нагрівання, для контролю вовчка в умовах теплиці [135];

2) біологічний контроль – це використання грибів, як біологічних об'єктів, що пригнічують або зупиняють процеси проростання насіння вовчка на кореневій системі рослини-господаря [136-138];

3) використання гербіцидів імідазолінової групи у поєднанні з гібридами соняшника, що мають стійкість до даної групи гербіцидів [139].

Однак якщо гібриди соняшника матимуть генетичну стійкість до вовчка, – це буде найефективнішим методом боротьби з даною рослиною-паразитом. Генетична стійкість до вовчка відбувається за взаємодією генів господар-паразит („ген-на-ген”). При даній взаємодії на кожен ген стійкості рослини у паразита обов'язково є вірулентний ген, що долає цю стійкість [140].

Для інтродукції генів стійкості до вовчка у культурний соняшник необхідно мати джерела (донори) стійкості до вовчка. Джерелами стійкості



до вовчка можуть виступати: дикі види роду *Helianthus*, сорти культурного соняшника, лінії створені в дослідницьких інститутах [112].

Селекція соняшника розпочиналась з сортів, і перші сорти соняшника, стійкі до вовчка, були виведені радянськими селекціонерами (Саратовський 169, Зеленка, Фуксінка, Ждановський 6432, Ждановський 8281, Степняк, тощо) [141]. Серед диких видів роду *Helianthus*, які викоритовували в якості нових джерел стійкості до вовчка були: *H. tuberosus*, *H. grosseserratus*, *H. mollis*, *H. nuttalii*, *H. debilis*, *H. neglectus*, *H. niveus*, *H. argophyllus*, *H. petiolaris*, та *H. praecox* [142-144].

Інбредні лінії соняшника, що вже створені різними дослідниками різних установ (інститути, приватні компанії), також є важливим джерелом стійкості до вовчка. Так, наприклад, в Інституті сільського господарства Фундуля, Румунія (*Agricultural Research and Development Institute from Fundulea, Romania*) було створено лінії-диференціатори зі стійкістю до п'яти рас вовчка (А – Е), де кожна лінія несе один домінантний ген стійкості до вовчка ( $Or_1 - Or_5$ ) [33, 125, 127].

За інтенсивного вирощування соняшника відбувається інтенсивне утворення нових рас вовчка. При появі F раси, на посівах соняшника, та проведенні досліджень, різними установами, було виділено резистентні до вовчка генотипи соняшника (R-96, L-86, KI-534, BR-4, P-96, LC-1093), стійкість яких контролюється: одним домінантним геном  $Or_6$  та двома домінантними генами  $Or_6Or_7$  [33, 145, 146], двома рецесивними генами  $or_6or_7$  [35, 147-149].

Ураження гібридів соняшника, що мають стійкість до F раси вовчка, свідчить про те, що сформувалась нова, більш агресивна раса. Так, наступними більш вірулентними расами вовчка стали G та H. Результати досліджень показали, що джерела стійкості до G та H рас мають домінантне та рецесивне успадкування [144, 150]. Velasco L. зі співавторами (2012) провели дослідження успадкування стійкості до G раси вовчка. Для цього ними було проведено схрещування публічної лінії НА 89, що сприйнятлива

до вовчка, з диким видом *H. debilis*, що містить стійкість до G раси вовчка. Аналізуючи дане схрещування (НА 89/ *H. debilis*), було встановлено, що рослини першого покоління ( $F_1$ ) були стійкими до вовчка, це вказує на домінантне успадкування стійкості [144]. Guchetl S. зі співавторами (2019), навпаки установили, що резистентність до G раси вовчка контролюється моногенно, з неповним домінуванням ознаки. Оскільки рослини першого покоління ( $F_1$ ), що отримані в результаті схрещування сприятливих до вовчка ліній соняшника (VK 551, VK 678 B, VK 678 A, VK 1 IMI B, VK 1 IMI A, VK 301, VK 580, PRO2, VK 680 B) з донором стійкості до G раси (RG), були уражені вовчком. Проте, спостерігали сегрегацію при окремому аналізі кожної комбінації схрещування, де було встановлено, що частина рослин не уражена рослиною-паразитом. Отриманий результат свідчить про неповне домінування стійкості у лінії RG, що була використана як донор стійкості до G раси вовчка [150].

Для кращого розуміння, як вовчок уражує соняшник, було встановлено його життєвий цикл. Загалом, життєвий цикл вовчка складається з кількох етапів, де перший етап – це період від проростання до цвітіння, а другий – дозрівання насіння [151]. Перший етап має декілька стадій розвитку вовчка (рис. 1.2.) [39]. Проростання насіння вовчка (стадія 1), відбувається за рахунок виділення кореневою системою рослини-господаря молекул, що індукують проростання. Такими молекулами є стріголактони та сесквітерпенові лактони [152-154]. Після проростання відбувається прикріплення вовчка (стадія 2) до кореневої системи рослини-господаря, з подальшим використанням його поживних речовин для росту та формування бульбочки вовчка (стадія 3) [155, 156]. Остання стадія (стадія 4) – це вихід вовчка з ґрунту з подальшим цвітінням та формуванням насіння.

Є відомості про два механізми резистентності рослини-господаря до вовчка: 1) діє на стадії 2 до прикріплення рослини-господаря, що

обумовлено зменшеним виділенням молекул стриголактонів та сесквітерпенових лактонів;

2) діє на стадії 3, де за рахунок потовщення клітинної стінки, закупорка судини, дезорганізації клітин вовчка, що виникає під час інвазії рослини-господаря, що призводить до некрозу бульбочки [142, 157].

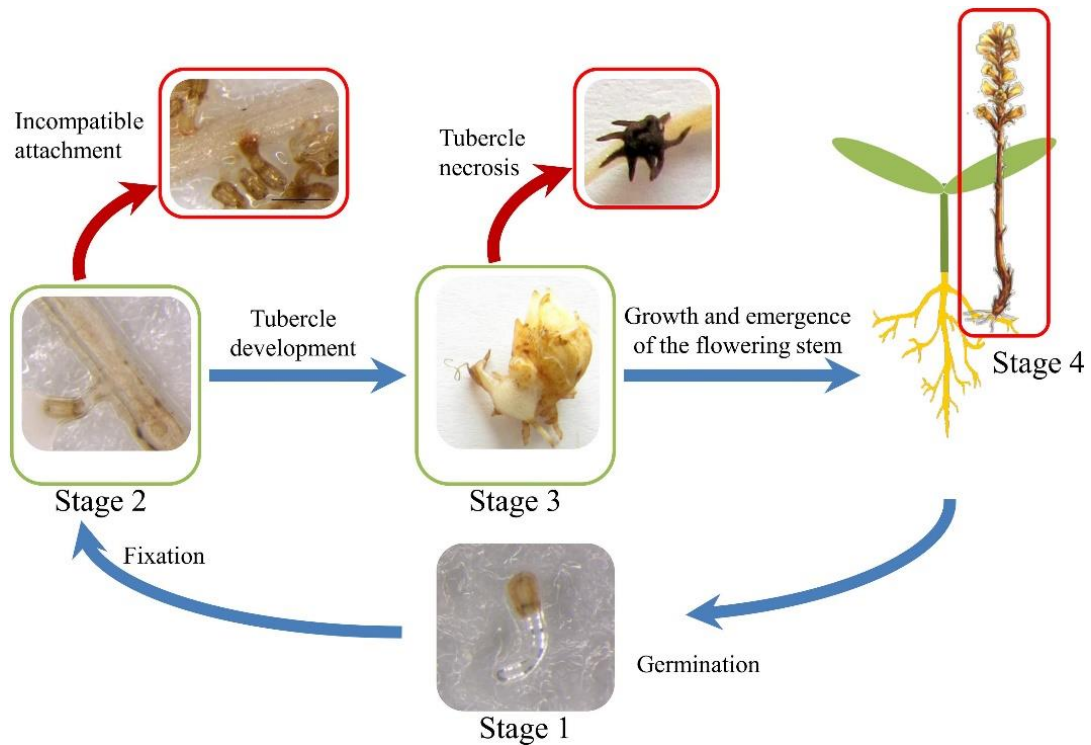


Рис. 1.2. Стадія 1 – проростання вовчка, що викликане молекулами кореневої системи рослини-господаря;

стадія 2 – прикріплення вовчка до кореневої системи рослини-господаря;

стадія 3 – формування бульбочки вовчка, за рахунок поживних елементів рослини-господаря;

стадія 4 – вихід на поверхню рослини вовчка з наступним її цвітінням.

Червоні стрілки указують на можливі механізми стійкості рослини-господаря до вовчка, де на стадії 2 – це несумісне прикріплення, та стадії 3 – некроз бульбочки вовчка

З розумінням механізму ураження соняшника вовчком, розробили молекулярні маркери для ефективного та швидкого добору стійких генотипів соняшника. Молекулярні маркери розроблені для ідентифікації генів стійкості до вовчка, а саме: *Or<sub>5</sub>* [158-162], *Or<sub>2</sub>*, *Or<sub>4</sub>*, *Or<sub>6</sub>* [37], *or<sub>ab-vl-8</sub>* [38], *Or<sub>Deb2</sub>* [163,164].

Компанія Pioneer Hi-Bred International у 2008 році запатентувала джерело стійкості до вовчка (System II). Генотип, створений даною компанією, містить в собі стійкість до Е раси вовчка (*Or<sub>5</sub>*) разом з System II (*Or<sub>SH</sub>*). Механізм стійкості, який лежить в основі даної системи, є пост-гаусторіальним, де у стійких генотипів спостерігали сформовані бульбочки (стадія 3 життєвого циклу вовчка). Однак вони не переходили на наступну стадію розвитку (стадія 4), не виходили з під ґрунту, не проходили період цвітіння і, відповідно, не відбувалось дозрівання насіння [165]. Martín-Sanz A. зі співавторами (2020) в своїй роботі провели картування гена *Or<sub>SH</sub>* та охарактеризували механізм стійкості до вовчка. Встановили, що ген *Or<sub>SH</sub>* знаходиться у верхній частині 4 групи зчеплення (LG4) генному соняшника близько (0,7 сМ) до маркера SNP M-4\_30.40 [34].

Найбільш достовірним методом виділення стійких до вовчка ліній соняшника є тестування генотипів на штучному інфекційному фоні. Одним з перших хто використав інфекційний фон з метою виділення стійких до вовчка генотипів соняшника був Панченко А. у 1997 році. Панченко А. (1997) розробив лабораторно-вегетаційний метод відбору стійких ліній соняшника в умовах теплиці. Даний метод базується на вирощуванні селекційного матеріалу соняшника в горщиках (контейнерах) у ґрунті, що попередньо інфікують насінням вовчка, в контрольованих умовах теплиці або фіто-камери [166]. Labrousse P. зі співавторами (2004) провели тестування соняшника на інфекційному фоні, але замість фіто-камер чи горщиків була використана гідропоніка [167]. Гучеть С. З. зі співавторами (2016), використали штучний інфекційний фон для виділення стійких до Е раси вовчка ліній соняшника [168].

На сьогоднішній день також можна зустріти інфекційні поля на яких ведеться оцінка та виділення стійких до вовчка генотипів соняшника. Наприклад, Інститут олійних культур Національної академії аграрних наук України (ІОК НААН), Україна, Інститут сільського господарства Фундуля, Румунія, тощо.

### **1.5. Стійкість соняшника до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної груп**

Сучасні гібриди соняшника мають високий потенціал урожайності, пластичні до умов середовища, високо толерантні до хвороб, стійкі до вилягання та осипання насіння. Однак, забур'яненість посівних площ соняшника призводить до зниження урожайності гібриду [1]. При забур'яненості посівів зниження урожайності може становити 15 – 20% [169]. Використання гербіцидів різноманітних хімічних груп дозволяє вирішити проблему з забур'яненістю.

У соняшника найбільш розповсюдженою є стійкість до гербіцидів імідазолінової (ІМІ-гібриди) та сульфонілсечовинної (SU-гібриди) груп. Стійкість до імідазолінонів (ІМІ) та сульфонілсечовин (SU) – це точкова мутація в гені, що контролює фермент синтезу амінокислотних ланцюгів – ацетолактатсинтазу (*Als*) або ацетогидрокислоту (*Ahas1*). Точкова мутація типу транзиція призводить до заміни азотистих основ у первинній структурі ферменту, що спричиняє конформацію білка та надає стійкості до гербіциду рослинам соняшника [170].

У соняшника було виділено три гена *Ahas*: *Ahas1*, *Ahas2* та *Ahas3*, але лише *Ahas1* надає стійкість до гербіцидів у соняшника. Kolkman J. M. зі співавторами (2004), ідентифікували та охарактеризували три гени *Ahas1*, *Ahas2*, *Ahas3*. Підтвердили, що точкові мутації в гені *Ahas1* забезпечують у соняшника стійкість до гербіцидів [55].

В *Ahas1-1* точкова мутація відбувається у кодоні 205, де цитозин (С) замінюється на тимін (Т), що призводить до конформації білку та надає рослинам соняшника помірну толерантність до імідазолінонів (ІМІ). А при заміні у кодоні 197 (*Ahas1-2*) цитозину на тимін виникає стійкість до сульфонілсечовин (SU). Алель *Ahas1-3* характеризується мутацією в кодоні 122, де гуанін (G) замінюється на аденін (A), що призводить до високої толерантності до імідазолінонів (ІМІ) [54]. Найширший діапазон толерантності до гербіцидів демонструє алель *Ahas1-4*, який має мутацію у кодоні 574, де гуанін (G) замінюється на тимін (Т) [171].

Експресія алелей гена *Ahas*, що відповідають за різні типи стійкості до гербіцидів різних груп гербіцидів (імідазолінони, сульфонілсечовини), відповідають комерційним технологіям вирощування соняшника: IMISUN/Clearfield, Clearfield Plus, Sures та ExpressSun [171].

Перша комерційна ознака, яка була названа IMISUN/Clearfield, була знайдена на 1996 році в Канзасі, США. В результаті схрещувань культурного соняшника з донором стійкості до імідазолінонів було створено ІМІ стійкі лінії соняшника [172, 173].

Даний тип стійкості контролюється двома генами, де один з них є частково домінантним алелем *Ahas1-1*, а інший – ген модифікатор. Для забезпечення гібриду соняшника більшої стійкості до гербіциду важливою умовою є введення двох генів стійкості в обидва батьківські компоненти [174, 175].

Технологія Clearfield Plus соняшника контролюється експресією частково домінантного алеля гена *Ahas1-3*. Дана технологія була розроблена шляхом мутагенезу. Після обробки рослин імізапіром були виділені стійкі рослини соняшника [176, 177]. Перевагою технології Clearfield Plus в порівнянні з технологією Clearfield є те, що для створення гібридів соняшника стійких до гербіцидів Clearfield Plus необхідно мати, в батьківських компонентах гібрида, лише один алель гена *Ahas1-3*. Це в

свою чергу полегшує створення батьківських ліній соняшника на основі яких створюється гібрид [177].

За стійкість гібридів соняшника до гербіцидів групи сульфоніссечовин (SU) відповідає алель гена *Ahas11-2*, що був інтегрований у культурний соняшник класичними методами селекції (схрещування) і даний тип стійкості отримав назву Sures (Sures технологія). В результаті схрещувань було створено два доступних джерела стійкості до трибенурон-метилу: SURES-1 та SURES-2.

SURES-1 – це лінія-закріплювач стерильності соняшника, що створена за схемою схрещування – HA 424/3/ HA 406//HA 89/SURES.

SURES-2 являється лінією-відновником фертильності пилку соняшника, може бути використана в програмах створення стійких до гербіциду батьківських ліній. Дана лінія була отримана за схемою схрещувань: RHA377/3/RHA329//RHA376/SURES [178].

Інша технологія – ExpressSun – використовується на гібридах соняшника, що мають стійкість до гербіцидів сульфоніссечовинної групи. Вона має схожий прояв, як і Sures технологія, однак була отримана шляхом мутагенезу (хімічний мутаген EMS). Мутагенез було використано на лінії соняшника HA89 та виділено стійкі рослини. Дана технологія є запатентованою [179, 180].

Плюсом вирощування гібридів соняшника стійких до гербіцидів є те, що гербіциди пригнічують не лише бур'яни, але й розвиток рослини-паразита вовчка соняшникового [113, 181].

Використання молекулярних маркерів дозволяє проводити цілеспрямований відбір стійких до гербіцидів рослин соняшника [55, 56, 182-185]. Так, Kolkman J. M. зі співавторами (2004) провели дослідження, де головною метою було ідентифікувати мутації в гені *Ahas1* та розробити молекулярні маркери, що стали інструментом для маркерної селекції (MAS селекція) [55]. За мікросателітним локусом, що локалізований в межах послідовності гена *Ahas*, Солоденко зі співавторами (2015, 2018) провели

ДНК-маркування селекційних ліній соняшника стійких до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної груп. За результатами дослідження було встановлено, що рослини соняшника в поколінні  $F_2$  мають розщеплення, за стійкістю до гербіциду, що відповідає другому закону Менделя. Виділені гомозиготні (стійкі до гербіциду) рослини соняшника можуть бути використані як донор стійкості до гербіциду [184, 185].

Загалом, використання молекулярних маркерів для ідентифікації гена *AHASL* дозволяє проводити цілеспрямований добір ліній за даною ознакою.

### **1.7. Висновки до розділу 1**

Аналітичний огляд літературних джерел за темою дисертаційної роботи дозволив встановити, що соняшник є перспективною та стратегічно важливою сільськогосподарською культурою.

Створення високоврожайного гібриду соняшника, що має ряд властивостей (стійкість до гербіцидів імідазолінової чи сульфонілсечовинної групи, стійкість до рослини-паразита вовчка соняшникового, стійкість до різних хвороб, тощо) які необхідні для отримання високих врожаїв, є довготривалим процесом. Одним з основних факторів, що обмежує селекційний процес є час. Тому, залучення до класичних методів селекції (схрещування) молекулярно-біологічних та біотехнологічних методів є актуальним.

Молекулярно-біологічні методи є ефективними на ранніх етапах селекційного процесу при диференціації ліній за певною ознакою (наприклад, наявності гена відновлення фертильності пилку соняшника (*Rf1*)), що дозволяє проводити цілеспрямований добір серед материнських ліній.

Використання біотехнологічних методів дозволяє поліпшити вхідний матеріал (генетична трансформація), прискорити добір ліній за



певною ознакою за короткий проміжок часу (культура незрілих зародків *in vitro*), тощо.

Через швидке розповсюдження рослини-паразита вовчка соняшникового у посівах соняшника в різних країнах, виділення вихідного селекційного матеріалу, що має стійкість до рослини-паразита є актуальним. Для встановлення стійкого до вовчка генотипів соняшника використовують молекулярно-біологічні методи та тестування на інфекційному фоні (польове та лабораторне тестування).

Отже, розробка системи добору вихідного матеріалу соняшника, що матиме стійкість до гербіцидів та вовчка, що базується на поетапному використанні методів молекулярної біології та біотехнології є актуальною.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Матеріал дослідження

В дослідженні використано селекційний матеріал української компанії Всеукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС) та румунського дослідного інституту («National Agricultural Research and Development Institute Fundulea»), а також селекційний матеріал наданий GRIN банком (the Germplasm Resource Information Network, США).

Молекулярний аналіз провели на материнських формах, що стійкі до гербіцидів імідазолінової групи ( $F_3/F_4$  ВН320/НК Неома,  $F_3/F_4$  ВН039/ЕС Артміс,  $F_3/F_4$  ВН3978/Драган), та сульфонілсечовинної групи ( $F_3/F_4$  Ls8A/Lc1093B,  $F_3/F_4$  Zoria FN/Lc1093B та  $F_3/F_4$  A12/Lc1093B), надані Всеукраїнським науковим інститутом селекції. Даний матеріал було обрано у зв'язку з наступними характеристиками ліній:

- лінія ВН320 – лінолевого типу, ранньостигла, з вегетаційним періодом 95–100 днів, низькоросла (150 см), зі стійкістю до гербіцидів імідазолінової групи (містить природню мутацію у гені *Ahas1*), зі стійкістю до несправжньої борошнистої роси та рослини-паразита вовчка соняшникового (G раса), з загальною комбінаційною здатністю – це показник вихідного матеріалу, що показує здатність даного генотипу формувати гетерозис у гібридів першого покоління соняшника ( $F_1$ ) при схрещуванні з іншими генотипами;

- лінія ВН039 – лінолевого типу, середньорання, вегетаційний період 110 днів, має стійкість до гербіцидів імідазолінової групи (містить природню мутацію у гені *Ahas1*), зі стійкістю до хвороб (несправжня борошниста роса, фомоз та фомопсис, склеротиніоз кошика та склеротиніоз стебла), зі стійкістю до вовчка (F раса);

- лінія ВН3978 – лінолевого типу, ранньостигла, вегетаційний період 95–100 днів, високоросла (170 см), має стійкість до гербіцидів імідазолінової групи (містить природню мутацію у гені *Ahasl*), зі стійкістю до несправжньої борошнистої роси, зі стійкістю до вовчка (G раса);

- лінія Ls8A – лінолевого типу, ранньостигла, вегетаційний період 95–100 днів, зі стійкістю до гербіцидів сульфонілсечовинної групи (містить природню мутацію у гені *Ahasl*), зі стійкістю до вовчка (G раса);

- лінія Zoria FN – лінолевого типу, ранньостигла, вегетаційний період 95–100 днів, зі стійкістю до несправжньої борошнистої роси, фомозу та фомопсису, а також зі стійкістю до рослини-паразита – вовчка соняшникового (F раса) та стійкістю до гербіцидів сульфонілсечовинної групи (містить природню мутацію у гені *Ahasl*);

- лінія LC1093B – лінолевого типу, середньорання, вегетаційний період 110 днів, має стійкість до гербіцидів сульфонілсечовинної групи (містить природню мутацію у гені *Ahasl*), зі стійкістю до несправжньої борошнистої роси, з загальною комбінаційною здатністю, стійкістю до вовчка (E раса).

Для оцінки регенераційної здатності ліній соняшника в культурі *in vitro* було використано інбредні лінії (I<sub>8</sub>) з робочої колекції ВНІС. Даний матеріал має наступні характеристики:

- лінія 2 – лінолевого типу, середньорання (вегетаційний період 105–110 днів), має стійкість до таких хвороб, як фомоз та фомопсису, склеротиніозу кошика та склеротиніозу стебла, стійкістю до вугільної гнилі, несправжньої борошнистої роси та альтенаріозу, зі стійкістю до гербіцидів імідазолінової групи, зі стійкістю до вовчка соняшникового (F раса);

- лінія 3 – лінолевого типу, середньорання (вегетаційний період 105–110 днів), має стійкість до гербіцидів імідазолінової групи, зі стійкістю до вовчка соняшникового (G раса);

- лінія 19 – лінолевого типу, рання (вегетаційний період 100 днів), стійка до гербіцидів імідазолінової групи, стійка до вовчка соняшникового (G раса);

- лінія 35 – лінолевого типу, пізньостигла (вегетаційний період 120 днів), стійка до гербіцидів імідазолінової групи, зі стійкістю до хвороб (несправжньої борошнистої роси та альтенаріозу), зі стійкістю до вовчка соняшникового (F раса).

Для прискореного створення гомозиготних ліній-відновників фертильності пилку соняшника використано наступні лінії:

- ВН0118 – лінолевого типу, ранньостигла (вегетаційний період 95–100 днів), низькоросла (156 см), зі стійкістю до несправжньої борошнистої роси та вовчка соняшникового (F раса), з загальною комбінаційною здатністю, придатна до класичної технології вирощування (без стійкості до гербіцидів), надана компанією ВНІС;

- ВН0218 – лінолевого типу, середньорання (вегетаційний період 110 днів), стійка до вовчка соняшникового (F раса), придатна до класичної технології вирощування (без стійкості до гербіцидів), надана компанією ВНІС;

- ВН0318 – лінолевого типу, дуже пізньостигла (вегетаційний період 120 днів), високоросла (187 см), стійка до несправжньої борошнистої роси та вовчка соняшникового (G раса), з загальною комбінаційною здатністю, придатна до класичної технології вирощування (без стійкості до гербіцидів), надана компанією ВНІС;

- SURES-2 – лінія-відновник фертильності пилку соняшника, отриманий з генетичного банку США – GRIN, що містить ген стійкості *AHAS1-2* до гербіцидів сульфонілсечовинної групи [178].

Для оцінки виділених нами ліній-закріплювачів стерильності та ліній-відновників фертильності пилку соняшника, за стійкістю до рослини-паразита вовчка соняшникового, нами проводився збір насіння рослини-паразита з рослин соняшника, що перебували у фізіологічній стиглості.

Збирання насіння рослини-паразита проводили у Запорізькій, Харківській, Кіровоградській, Одеській, Донецькій, Луганській та Херсонській областях на демонстраційних посівах гібридів соняшника різних компаній (Limagrain, Syngenta, Pioneer), що характеризуються стійкістю до різних рас вовчка (F, G, H).

Для порівняння ступеня ураження ліній, що вивчались, в якості стандартів було використано гібриди компанії Limagrain (Франція), що були нами підібрані експериментально впродовж трирічних досліджень:

- LG 50505 – стандарт стійкості (St R «resistance»), оскільки гібрид стійкий до G раси вовчка соняшникового;
- LG 5665 – стандарт сприйнятливості (St S «susceptible»), оскільки гібрид стійкий до E раси вовчка соняшникового.

Стандарти (LG 50505 та LG 5665) були придбані компанією ВНІС, від офіційних дилерів компанії Limagrain, та надані нам для проведення тестування.

При екологічних випробуваннях гібридів соняшника, що створені нами при використанні відібраних ліній, урожайність порівнювали зі стандартами – високоврожайними комерційними гібридами зарубіжної селекції.

Так, стандартами виступали:

- для гібридів стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи (SU-гібридів) – SY Sumiko (Syngenta) та P64LE25 (Pioneer);
- для гібридів стійких до гербіцидів імідазолінонової групи (IMI-гібридів) – NK Neoma (Syngenta) та ES Genesis (Euralis).

## **2.2. Методи дослідження**

### **2.2.1 Біотехнологічні методи**

### 2.2.1.1. Отримання фертильних рослин–регенерантів шляхом органогенезу соняшника в культурі *in vitro*

Отримання фертильних рослин-регенерантів шляхом органогенезу соняшника в культурі *in vitro* включало наступні етапи:

- стерилізація насіння;
- виділення експлантів (сім'ядоль);
- індукція та проліферація адвентивних бруньок;
- елонгація адвентивних пагонів;
- укорінення рослин-регенерантів;
- адаптація рослин-регенерантів до умов теплиці.

Для введення в культуру *in vitro* використовували незріле насіння соняшника, що відбирали на 21-й день після запилення. Незріле насіння замочували на один день у дистильованій воді, для пом'якшення лушпиння. Після чого проводили стерилізацію насіння соняшника в 70-% етиловому спирті (1-2 хв.), «Білизні» (1:2) протягом 20 хв. з наступним промиванням у стерильній дистильованій воді (тричі). Потім відокремлювали лушпиння від насіння.

Після стерилізації видаляли зародок насінини та залишали сім'ядолі (зародкові листки), що використовували як експлант. Виділені сім'ядолі (по 20 шт.) поміщали в чашки Петрі з модифікованим поживним середовищем МСН, що базувався на макро- та мікросолях середовища Мурасіге-Скуга (МС) [186], доповнене вітамінами за Гамборгом В<sub>5</sub> [187], 30 г/л сахарози, 5 mg/l AgNO<sub>3</sub>. В базове середовище МСН додавали різні регулятори росту: N-ізопентеніламінопурин (2-іР), індоліл-3-оцтова кислота (ІАА), тидіазурон (TDZ), α-нафтилоцетова кислота (NAA), picloram, 6-бензиламінопурин (BAP), кінетин (Кп), гіберилінова кислота (GA<sub>3</sub>) (табл. 2.1.).

Таблиця 2.1.

**Вміст регуляторів росту в живильних середовищах МСН**

Регулятори росту	Концентрації, мг/л									
	Індукція та проліферація адвентивних бруньок						Елонгація			Укорінення
	МСН 1	МСН 2	МСН 3	МСН 4	МСН 5	МСН 6	МСН 7	МСН 8	МСН 9	МСН 10
2-іР	2	2				2		1		
IAA	0,5			0,25						
TDZ	0,1	0,1								
picloram		0,5								
BAР			1	1		3	0,1	0,5		
GA <sub>3</sub>			0,1	0,1					0,2	
Kinetin					2					
Zeatin										
NAA			1		0,5					
IBA										1

Для індукції адвентивних бруньок було використано 5 середовищ МСН з різним співвідношенням регуляторів росту:

- 1) 2 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l TDZ (МСН1) [188];
- 2) 2 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l picloram, 0,1 mg/l TDZ (МСН2);
- 3) 1 mg/l BAР, 1 mg/l NAA, 0,1 mg/l GA<sub>3</sub> (МСН3) [189];
- 4) 1 mg/l BAР, 0,25 mg/l IAA, 0,1 mg/l GA<sub>3</sub> (МСН4);
- 5) 2 mg/l Кн, 0,5 mg/l NAA (МСН5).

Середовища автоклавували при 120°C протягом 20 хвилин, перед тим рН середовища доводили 1М розчином КОН або НСІ до  $5.7 \pm 0.1$ .

Для проліферації адвентивних бруньок використовували або середовище МСН1 (2 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l TDZ [188]), або середовище МСН6 (3 mg/l BAР, 2 mg/l 2-іР).

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

Для елонгації адвентивних пагонів було використано середовища МСН7 – МСН9 з додаванням різних регуляторів росту, у різних концентраціях [9, 188, 189]:

- 1) 0,1 mg/l ВАР (МСН7) [9];
- 2) 1 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l ВАР (МСН8) [188];
- 3) 0,2 mg/l GA<sub>3</sub> (МСН9) [189].

Індукцію коренів проводили на середовищі МС з половинним вмістом макро– і мікросолей [186], вітамінами В5 [187], 30 г/л сахарози та з додаванням 1 mg/l індол-3-масляної кислоти (ІВА) (МСН10) [197].

Рослини-регенеранти, що сформували добре розвинену кореневу систему проходили адаптацію в умовах теплиці з 16/8 фотоперіодом та температурним режимом 25 °С. З метою отримання максимальної кількості насіння проводився автотрипінг росли під час цвітіння.

#### **2.2.1.2. Відбір гомозиготних ліній-відновників фертильності пилку соняшника за використання культури незрілих зародків**

На 21-й день після запилення нестійких до трибенурон метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника (ВН0118, ВН0218, ВН0318) зі стійкою до трибенурон метилу лінією – SURES-2, з кожного кошику відбирали по 30 незрілих насінин та вводили в культуру *in vitro*.

Для введення в культуру *in vitro* стерилізація незрілого насіння проводилась за загальною схемою: стерилізація 1-2 хв. у 70-% етиловому спирті, «Білизні» (1:2) протягом 20 хв. з наступним промиванням у стерильній дистильованій воді (тричі). Після стерилізації незрілого насіння виділяли зародок з ендоспермом та переносили в чашки Петрі з базовим середовищем МСН доповненим 0,1 mg/l ВАР (МСН7).

Кожен незрілий зародок давав окрему рослину, яка сформувала коріння, була висаджена у ґрунт та вирощувалась в умовах теплиці. До



цвітіння всі рослини ізолювали для їх самоzapилення. Проводили автотрипінг для отримання більшої кількості насіння.

### **2.2.2. Молекулярно-біологічний метод**

#### **Виділення закріплювачів стерильності соняшника за використання молекулярного маркера HRG01**

Загальну ДНК виділяли з листя соняшника СТАБ методом [210]. Для виділення ДНК рослинний матеріал подрібнювали в ступках, переносили в пробірки 1,5 мл (Eppendorf, США) та додавали буфери ЕВА (100 мМ TrisHCl, 20 мМ ЕДТА, 1,4 М NaCl, 2% СТАБ, 4% полівенілпіродон (ПВП), 0,1% аскорбінова кислота, 10 мМ  $\beta$ -меркаптоетанол) та ЕВВ (100 мМ TrisHCl, 50 мМ ЕДТА, 10 мМ NaCl, 10 мМ  $\beta$ -меркаптоетаноол). Отриману суспензійну рідину поміщали в 2 мм пробірку до якої було додано 100  $\mu$ М SDS (20%-вий розчин додецилсульфату натрію в ТЕ буфері), перемішували за допомогою вортекса та інкубували при 65 °С протягом 10 хв. Після чого переносили пробірку на лід та додавали 410  $\mu$ М К-ацетату, перемішували перегортанням пробірки та залишали на льоду (3 хв). Отриману суміш розділяли на дві фази центрифугуванням протягом 15 хв. при 13 тис. об/хв. Верхню фазу відбирали та перемістили в нову пробірку, додавали 540  $\mu$ М охолодженого абсолютного ізопропанолу та інкубували протягом 20 хв. на льоду, центрифугували 20 хв. при 10 тис. об/хв., видаляли супернатант; промивали осад 500  $\mu$ М 70% етанолу та висушували при 65 °С протягом 5 хв.; сухий осад розчиняли в 600  $\mu$ М ТЕ буфера; додавали 60  $\mu$ л Na-ацетата та 360  $\mu$ М охолодженого абсолютного ізопропанолу інкубували на льоду протягом 20 хв.; центрифугували 20 хв. при 10 тис. об/хв.; видаляли супернатант; промивали осад 500  $\mu$ М 70% етанолу та висушували при 65 °С протягом 5 хв.; сухий осад розчиняли у 100  $\mu$ М в ТЕ буфера.

Кінцевий об'єм реакційної суміші становив 20 мкл, що містив у собі 20 нг загальної ДНК та по 0,2 мкМ кожного праймера, воду *miLiQ*. У пробірки з реакційною сумішшю додавали по 20 мкл мінеральної олії.

Молекулярний аналіз проводили за допомогою молекулярного SCAR маркера HRG01, який локалізований біля гена *Rf1*.

Нуклеотидна послідовність праймерів до локусу HRG01 була наступною:

F: 5`–TATGCATAATTAGTTATACCC–3`;

R: 5`–ACATAAGGATTATGTACGGG–3` [22].

В якості референтного маркера було використано пару праймерів до мікросателітного локусу ORS510:

F: 5`–CATCGCGTCCCTCTCTCTAA–3`;

R: 5`–ССААССАТСАСАГСААТСАГ–3` [190].

Ці праймери були об'єднані у мультиплексну реакцію. Полімеразна ланцюгова реакція проводилась з використанням наборів реагентів GenePak PCR Core виробництва фірми «Ізоген» (Росія).

ПЛР проводили у термоциклері за програмою:

1 цикл – початкова денатурація при 94°C протягом 10 хв;

35 циклів – 94°C протягом 45 с, 58°C протягом 45 с, 72°C протягом 60 с;

1 цикл – остаточна елонгація при 72°C протягом 6 хв.

По завершенню ПЛР продукти ампліфікації розділяли методом електрофорезу в 2 % агарозному гелі з високою роздільною здатністю та додаванням бромистого етидію до буфера з низькою іонною силою [22] та наступним фотографуванням в УФ світлі фотосистемою NikonD50.

Як маркер довжини фрагментів використовували DNA ladders 50 bp.

### **2.2.3. Фізіологічний метод**

#### **2.2.3.1. Відбір ліній-відновників фертильності пилку стійких до трибенурон-метилу в польових умовах**

Оцінка стійкості соняшника до трибенурон метилу проведена у польових умовах. Посів ліній-відновників фертильності пилку соняшника проводили вручну в першій декаді травня. З кожного кошика відбирали по 60 насінин, які висівали на двох трьохметрових рядках (1 рядок 30 насінин), через кожні 20 см, в кожен лунку розміщали по 2 насінини (для забезпечення рівномірних сходів).

Для оцінки стійкості до трибенурон-метилу здійснювали обприскування рослин у фазі двох справжніх листків гербіцидом Гранстар Голд 75 (DU PONT, США) з діючою речовиною трибенурон-метил в дозі 100 г/га. Використовували селекційний обприскувач, що дозволив рівномірно нанести гербіцид на листову пластину та точку росту рослин соняшника, наданий компанією ВНІС.

Після обприскування на 7 – 10 день проводили облік ураження рослин гербіцидом. Рослини, що не були уражені гербіцидом (відсутність ознак гербіцидного стресу – хлороз, деформація листків і стебла), примусово samozapiлювали. За необхідності проводили формування густоти.

#### **2.2.3.2. Проведення аналізуючого схрещування та відбір закріплювачів стерильності соняшника шляхом аналізуючого схрещування**

Для проведення аналізуючого схрещування проводився посів ліній-тесора та материнських ліній, що необхідно було проаналізувати, в першій

декаді травня, вручну. Лінії були висіяні на трьохметровому рядку, по 30 насінин на рядок за схемою:



У фазі двох справжніх листків проводили обробку гербіцидом Євролайтнінг (BASF) з діючою речовиною імазапір (15 г/л) та імазамокс (33 г/л) у дозі 1л/га.

Після обприскування на 7 – 10 день проводили оцінку ураження рослин гербіцидом. Рослини, що не були уражені гербіцидом ізолювали зі стерильною лінією-тестером, формуючи «пари» (рис. 2.1.).



Рис. 2.1. Проведення аналізуючого схрещування (формування «пар»)

Протягом цвітіння проводили перенесення пилку з фертильної рослини на стерильну між рослинами, що заізолювані одним ізолятором. Після настання фізіологічної стиглості проводили збір насіння зі стерильних

та фертильних рослин кожної пари, де в кожній парі рослин соняшника присвоювали індивідуальний номер під час збирання. Обмолот проведено за допомогою селекційних молотарок M-PKGS.

Насіння отримане на стерильній лінії-тестер було підготовлене для посіву в полі. Підготовка насіння, отриманого з лінії-тестера, передбачала відбір з кожного обмолоченого кошика по 30 насінин, формування посівної відомості, що містить детальну інформацію про лінію, та посів насіння на трьохметровому рядку (по 30 насінин) у селекційному розпліднику для аналізу закріплюючої здатності материнських ліній соняшника. Після посіву гібридів першого покоління, отриманого на лінії-тестер, проводили підрахунок кількості фертильних та стерильних рослин в рядку.

### **2.2.3.3. Методика екологічних випробувань гібридів F<sub>1</sub>**

Гібридизацію материнських та батьківських ліній, відібраних за прискореною системою добору вихідного матеріалу соняшника, стійкого до гербіцидів та вовчка, проводили у зимовому розсаднику, що знаходиться у Південній Америці (Чілі) впродовж 2019–2020 рр.

Рівень екологічної пластичності та стабільності гібридів F<sub>1</sub> за урожайністю вивчали у екологічному випробуванні, закладеного на восьми полях у різних агрокліматичних зонах України, а саме: у Київській, Чернігівській, Черкаській (Уманський та Шполянський райони), Хмельницькій, Харківській, Херсонській, Одеській областях.

Гібриди висівали за рандомізованою схемою у двократній повторності з введенням в кожен блок двох стандартів. Загальний розмір ділянки складав 24 м<sup>2</sup> (4 рядка по 8 метрів, з міжряддям 0,75 м), розмір облікової ділянки 9 м<sup>2</sup> (2 центральні рядки, де на початку та у кінці ряду видаляли по 1 метру, в результаті отримали шестиметрові рядки). Густота стояння рослин соняшника перед збиранням урожаю становила для: зони достатнього зволоження (Хмельницька, Київська та Чернігівська обл.) – 60–

65 тис. рослин на гектар, у зоні помірного зволоження – 60–55 тис. (Черкаська та Харківська обл.), у зоні з дефіцитом вологи (Херсонська та Одеська обл) – 50–55 тис.

Закладку дослідів та проведення обліків проводили у відповідності до загальноприйнятих для культури методик [191-193].

#### **2.2.4. Імунологічний методи**

##### **Відбір материнських та батьківських ліній за стійкістю до вовчка соняшникового (*Orobanchе сumana* Wallr.)**

Інфекційний матеріал (насіння вовчка) для проведення імунологічних досліджень, щорічно збирали у серпні-вересні в Запорізькій, Харківській, Кіровоградській, Одеській, Херсонській, Луганській та Донецькій областях на полях гібридів соняшника, стійких до раси Е та F (відомості щодо стійкості гібридів була знайдена у каталогах виробників насіння), а також з демонстраційних полів компаній-виробників насіння соняшника, розташованих поряд з центральними трасами у кожній області. Насіння вовчка збирали у фазі фізіологічної стиглості соняшника. Зібране насіння вовчка просіювали з метою відокремлення сухих рослинних решток. Насіння зразків соняшника висівали по 10 насінин кожного зразка у пластикові горшки об'ємом 2,0 літри, заповнені інфікованою торфосумішшю (5 л торфу = 1 кг 300 г, 1,5 кг піску, 2 г насіння вовчка). Рослини вирощували у зимовий період 2019-2020 років в лабораторії відділу імунітету рослин до хвороб та шкідників, організованої за підтримки ВНІС у місті Харкові. Умови вирощування: температура повітря +22...+24 °С, фотоперіод 16/8, зрошення – у міру підсихання торфосуміші.

Облік проводили починаючи з 35 доби від посіву. Рослини соняшника обережно вилучали з торфосуміші та ретельно оглядали коріння кожної з них. Зразку надавали характеристику «стійкий» тільки за

відсутності бульбочок на корінні кожної рослини зразка, стійкість якого вивчали.

Для контрольних досліджень використовували стандарти: LG 50505 – стандарт стійкості та LG 5665 – сприйнятливий до вовчка стандарт.

### 2.2.5. Методика статистичної обробки даних

Статистичний аналіз проводили за допомогою методів варіаційної статистики, регресійного та дисперсійного аналізу за використання пакету прикладних програм Microsoft Office Excel 2016.

Екологічна пластичність та стабільність визначалась за методикою Еберхарта С. А. та Рассела В. А. [194, 195], з якої коефіцієнт лінійної регресії ( $b_i$ ) характеризує рівень екологічної пластичності гібрида, а середньоквадратичне відхилення від лінії регресії ( $S_i^2$ ) – стабільність гібрида при вирощуванні його в різних агрокліматичних умовах середовища.

$$b_i = \frac{\sum (\bar{X}_{ij} \times I_i)}{\sum I_i^2}$$

де  $\bar{X}_{ij}$  – середнє значення по гібриду ( $X_i$ ) та умовам середовища ( $X_j$ ),

$I_i$  – індекс середовища ( $I_i = \bar{X}_j - X$ )

$$S_i^2 = \frac{\sum (X_{ij} - I_i)^2}{\sum (c - 2)}$$

де  $X_{ij}$  – значення ознаки для гібриду,

$c$  – число умов випробування.

Розподіл гібридів за типом екологічної пластичності ( $b_i$ ) проводили в залежності від середнього значення у досліді з використанням довірчого інтервалу середнього квадратичного відхилення  $\sigma$ :

- високопластичні  $b_i > (1 + \sigma)$  – чутливість рівня ознаки генотипів на зміну умов вирощування виходить за межі чутливості всієї сукупності

гібридів, а значення ознаки у сприятливих умовах (тобто в умовах з максимальним проявом ознаки) підвищується;

- середньопластичні  $b_i = (1 \pm \sigma)$  – ступінь чутливості на мінливість умов навколишнього середовища знаходиться на рівні середньої чутливості у вибірці гібридів, що досліджуються;

- низькопластичні  $b_i = (1 - \sigma)$  – значення ознаки відносно решти генотипів у сприятливих умовах знижується [196].

Гібридам надавали характеристику високоврожайного, якщо показник ознаки перевищував значення середньої по досліді плюс визначену найменшу істотну різницю на 0,05 % рівні значущості ( $\bar{X} \pm \text{НІР}_{05}$ ).



## РОЗДІЛ 3

### ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГЕНЕРАЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ ЛІНІЙ-ВІДНОВНИКІВ ФЕРТИЛЬНОСТІ ПИЛКУ ТА СИСТЕМА ДОБОРУ ЛІНІЙ-ВІДНОВНИКІВ ФЕРТИЛЬНОСТІ ПИЛКУ СОНЯШНИКА СТІЙКИХ ДО ТРИБЕНУРОН-МЕТИЛУ

Дослідження за темою дисертаційної роботи виконано шляхом проведення лабораторних та польових досліджень, а також статистичних обрахунків одержаних впродовж 2016–2020 рр. результатів. Експериментальні дослідження та аналіз отриманих даних проводили за загальною схемою, представленою на рисунку 3.1.

Розробка системи добору вихідного матеріалу соняшника, стійкого до гербіцидів та вовчка, передбачала окрему роботу з материнськими (рис. 4.1.) та батьківськими (рис. 3.2.) формами.

В даному розділі представлені результати роботи з батьківськими формами (лініями-відновниками фертильності пилку) соняшника, що проведена у двох напрямках:

1) вивчали регенераційну здатність в культурі *in vitro* у ліній-відновників фертильності пилку соняшника (2, 3, 19, 35), стійких до гербіцидів імідазолінової групи, для виявлення ліній з високою регенераційною здатністю [206];

2) прискорене виділення ліній-відновників фертильності пилку соняшника за допомогою культури незрілих зародків, стійких до трибенурон-метилу [207].

Оскільки регенераційна здатність є генотипзалежною доцільно було дослідити її на лініях-відновниках фертильності пилку соняшника з метою подальшого їх удосконалення [9-11, 70, 88, 98, 197, 206].

Створення гомозиготних ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до гербіциду може тривати 4 – 6 років, а при

використані культури незрілих зародків соняшника, час на створення стійкого матеріалу скорочується у двічі [72-77].

В ході поетапної роботи з материнськими та батьківськими формами наступним етапом було тестування ліній на штучному інфекційному фоні з метою виділення стійких до рослини-паразита вовчка соняшникового (*Orobanche cumana* Wallr.) ліній. Тестування проведено на штучному інфекційному фоні в умовах лабораторії для визначення стійких ліній до G раси вовчка.

Відібрані лінії, що відзначались стійкістю до гербіцидів та вовчка були використані для отримання гібридів першого покоління ( $F_1$ ) соняшника. В залежності від стійкості материнських та батьківських ліній до гербіцидів, гібриди  $F_1$  було поділено на дві групи: імідазолінову (IMI) та сульфонілсечовинну (SU).

Гібриди  $F_1$  соняшника були оцінені за урожайністю, адаптивністю та стійкістю до гербіциду.

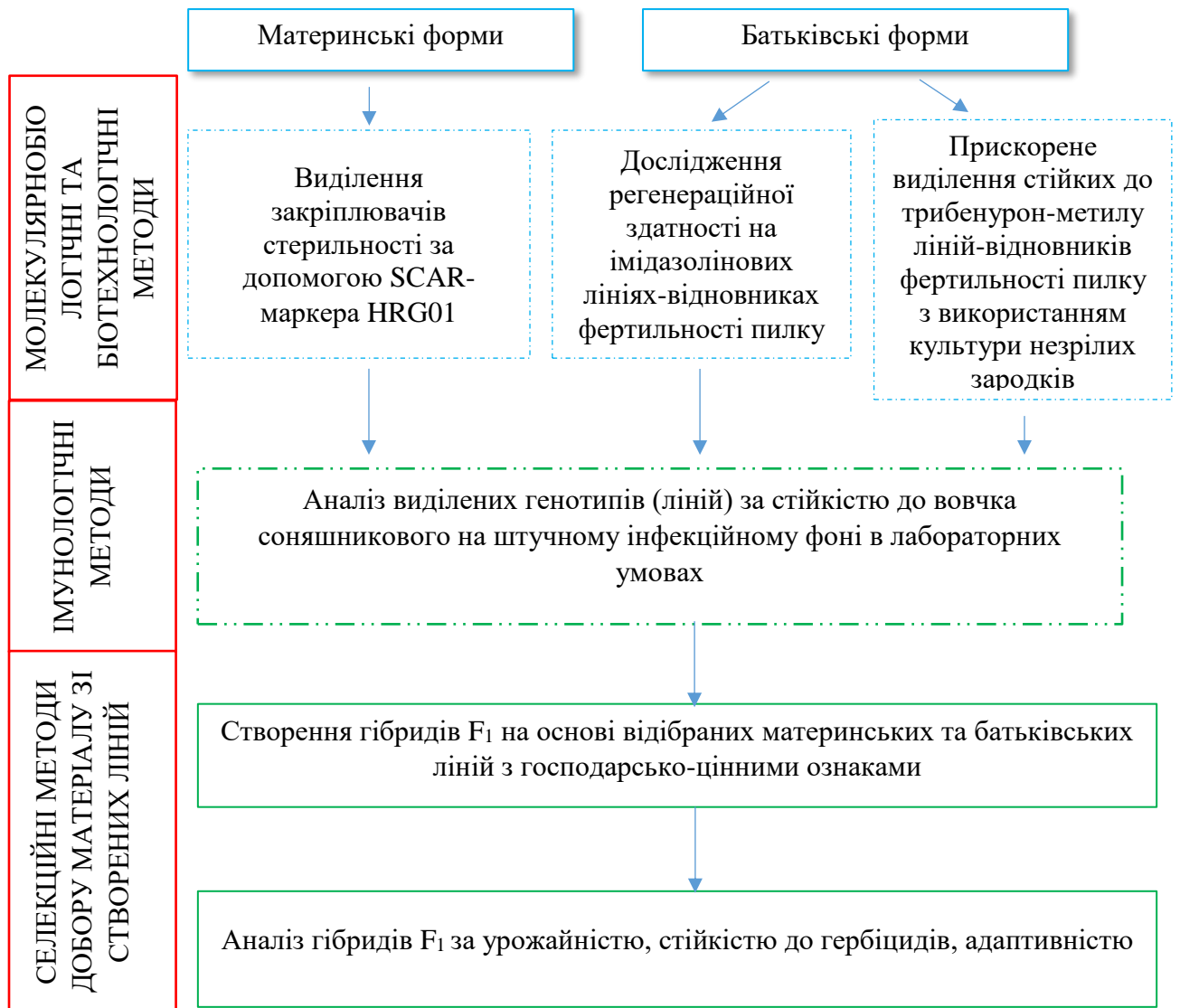


Рис. 3.1. Загальна схема досліджень за темою дисертаційної роботи

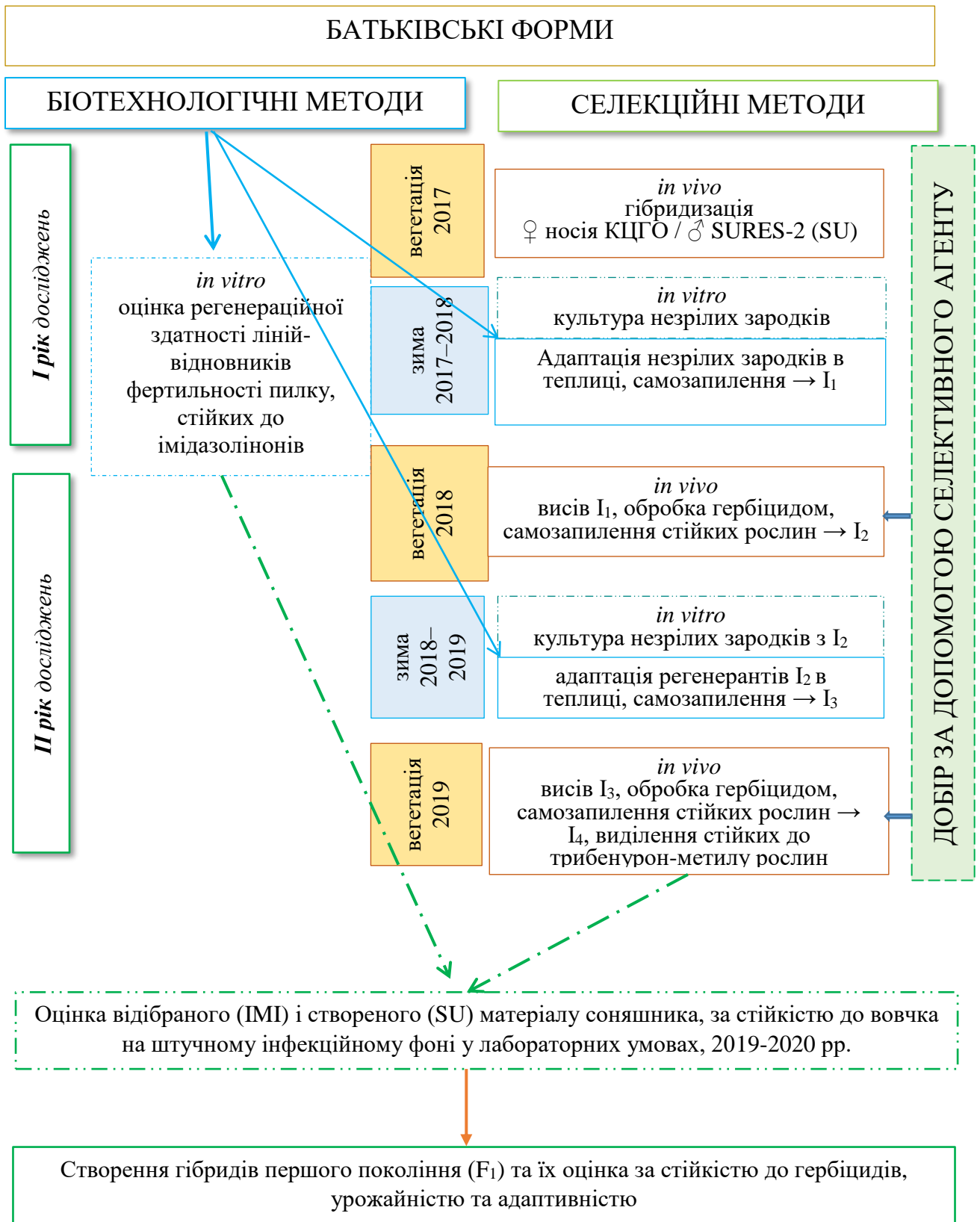


Рис. 3.2. Схема роботи з батьківськими формами соняшника

### 3.1. Дослідження регенераційної здатності у ліній-відновників фертильності пилку соняшника, стійких до гербіцидів імідазолінової групи

Відомо, що робота з соняшником в культурі *in vitro* обмежена регенераційною здатністю даної культури [70, 78, 81, 87, 88] та залежить від ряду факторів: генотипу, умов культивування та співвідношення регуляторів росту у культурному середовищі [70].

Підбір співвідношення регуляторів росту в середовищі для культивування являється одним з факторів, що впливає на отримання рослин-регенерантів.

Sujatha M. зі співавторами (2012) описали систему, що дозволяє отримати рослини-регенеранти шляхом прямого органогенезу пагонів зі зрілого насіння соняшника. Авторами було використано 12 різних концентрацій (0,49 – 46,47  $\mu\text{M}$ ) та комбінацій з регуляторами росту (BAP, IAA, NAA, IBA, TDZ, Kn, 2,4-D, 2-iP). В результаті встановлено, що висока частота формування адвентивних пагонів спостерігали на середовищі MS, яке доповнене регуляторами росту у концентраціях: 9,84  $\mu\text{M}$  2- 2-iP, 2,85  $\mu\text{M}$  IAA та 0,45  $\mu\text{M}$  TDZ [188]. Fiore M. C. зі співавторами (1997) досліджували регенерацію соняшника з сім'ядолей через соматичний ембріогенез. Для соматичного ембріогенезу культивування експлантів проводили при відсутності/присутності світла та регуляторами росту в концентраціях 1 та 2 mg/l BAP і NAA, та 0,1 mg/l GA<sub>3</sub>. В залежності від генотипу частота регенерації варіювала від 33 до 72% [189]. В нашому дослідженні середовище MCH3, що містить 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA, 0,1 mg/l GA<sub>3</sub>, було відібрано з метою отримання позитивного результату.

Zhang Z. та Finer L. (2016) проводили *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію соняшника. Запорукою успіху після проведення агробактеріальної трансформації є отримання рослин-регенерантів з трансформованих клітин. В своєму дослідженні автори указали

середовищем для культивування, що використовували після кокультивування з *A. tumefaciens* (штам ЕНА105), середовище МС доповнене вітамінами за Гамбергом В<sub>5</sub> та регуляторами росту (1,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA) [96]. Однак метою дослідження було встановити чи впливає час інокуляції на ефективність трансформації.

Tarek H. зі співавторами (2003) запропонували новий підхід для регенерації соняшника шляхом органогенезу для лінії RHA266. Експлантами було 21-денне насіння соняшника (насіння, що відбиралось на 21-й день після цвітіння), що розрізали поперечно через зачатки двох листків верхівки зародкового пагону. Культивування проводили на середовищі МС, що доповнене 1 mg/l BAP. Отримані рослини-регенеранти укорінювали на середовищі МС з 1 mg/l IBA. В результаті частота отриманих рослин-регенерантів, що пройшли етап укорінення та адаптації становила 90% [197].

Однак регенерація є генотип залежною, тому система отримання рослин-регенерантів соняшника необхідно визначати для кожного з генотипів окремо.

Kim Mee-Jin. зі співавторами (2016) дослідили вплив регуляторів росту на регенераційну здатність *H. tuberosus*, а також провели *Agrobacterium*-опосередковану трансформацію. В дослідженні регенераційної здатності було використано різні комбінації регуляторів росту за різних концентрацій (0,5 – 2,5 mg/l BAP + 0,05 – 1 mg/l NAA; 0,5 – 2,5 mg/l Kn + 0,05 – 1 mg/l NAA; 0,5 – 2,5 mg/l BAP + 0,05 – 1 mg/l IAA; 0,5 – 2,5 mg/l Kn + 0,05 – 1 mg/l IAA; 0,5 – 3 mg/l зеатин). В результаті встановлено, що комбінації цитокинін (BAP/Kn ) та ауксин (NAA/IAA) спричиняє появу калусної тканини та не індукує формування адвентивних бруньок чи пагонів. Однак при культивуванні експлантів на середовищі МС з додаванням зеатину в концентрації 1 mg/l спостерігали формування рослин-регенерантів [84].

Аналізуючи різні дослідження по вивченню регенераційної здатності можна виділити основні шляхи отримання рослин-регенерантів: шляхом прямого органогенезу [70, 87-89, 98, 197-202, 206] або соматичного ембріогенезу [90, 98, 100, 203-205].

В наших дослідженнях регенерація у обраних лініях відбувалась шляхом прямого органогенезу та включала наступні стадії:

1. Індукцію та проліферацію адвентивних бруньок;
2. Елонгацію адвентивних пагонів;
3. Укорінення та адаптацію рослин-регенерантів до умов теплиці.

В дослідженні використано чотири лінії-відновники фертильності пилку соняшника: 2, 3, 19 та 35.

Для індукції адвентивних бруньок було протестовані 5 середовищ з різним співвідношенням регуляторів росту:

МСН1 – 2 mg/l 2-іP, 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l TDZ [188];

МСН2 – 2 mg/l 2-іP, 0,5 mg/l picloram, 0,1 mg/l TDZ;

МСН3 – 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA, 0,1 mg/l GA<sub>3</sub> [189];

МСН4 – 1 mg/l BAP, 0,25 mg/l IAA, 0,1 mg/l GA<sub>3</sub>;

МСН5 – 2 mg/l Kn, 0,5 mg/l NAA.

Було встановлено, що утворення адвентивних бруньок та їх проліферація відбувалась на середовищі МСН1 (рис. 3.3.) і залежали від умов культивування (світло чи темрява) та генотипу лінії соняшника. Встановлено, що рослини-регенеранти ліній 3 та 35 утворюються на середовищі МСН1 (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

**Культивування двох ліній- відновників фертильності пилку  
соняшника на середовищах МСН**

Лінія	Умови культивування	Індукція адвентивних бруньок, %	Проліферація адвентивних бруньок, середовища	Проліферація адвентивних бруньок , %
35	Світло	85	МСН1	18
			МСН6	26
	Темрява 14 днів + 7 днів світло	100	МСН1	67
			МСН6	82
3	Світло	75	МСН1	52
			МСН6	58
	Темрява 14 днів + 7 днів світло	70	МСН1	54
			МСН6	62

Формування адвентивних бруньок у лінії 35 спостерігали по всій поверхні експланту (рис. 3.3.а, рис. 3.3.б). Проліферації адвентивних бруньок відбувалась за відсутності світла на середовищі МСН1 протягом 14 діб, а потім при культивуванні протягом 7 днів при фотоперіоді 16/8 годин (рис. 3.3.б). При використанні освітлення не спостерігали проліферацію адвентивних пагонів.

Лінія 3 навпаки характеризувалась формуванням адвентивних бруньок не по всій поверхні експланту, а лише у проксимальній його частині



(частина, що розміщена ближче до стебла рослини соняшника) (рис. 3.3.в). Відзначено, що різниці між культивуванням при освітлені чи без нього не було.

При культивуванні на середовищі МСН2 спостерігали формування рихлого калюсу. Даний ефект спостерігали у всіх ліній (рис. 3.1.д). Проте, при культивуванні на середовищі МСН2 протягом 14 діб за відсутності світла, а потім при 16-ти годинному фотоперіоді у експлантів спостерігали ризогенез (рис. 3.3.е).

Встановлено, що для індукції адвентивних бруньок та пагонів середовища МСН3, МСН4 та МСН5 не являються ефективними, оскільки на сім'ядолях (експлантах) формувались морфологічно ненормальні та вітрифіковані пагони, які не були здатні до подальшого розвитку, укоріненню в культурі *in vitro*, що унеможливило отримання насіння.

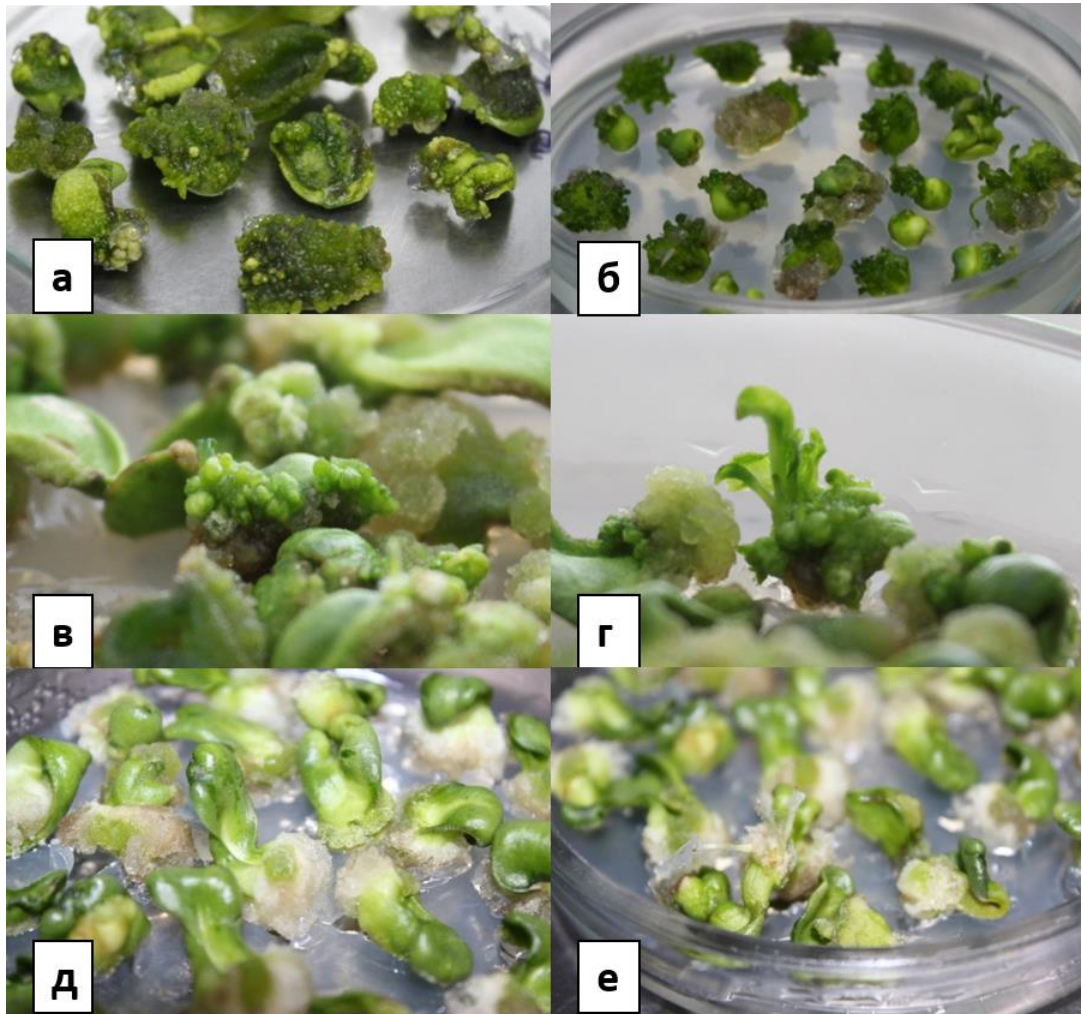


Рис. 3.3. Індукція морфогенезу в культурі *in vitro* соняшника: а) лінія 35, середовище МСН1, 16/8 фотоперіод 21 день; б) лінія 35, середовище МСН1, 14 днів без освітлення, 7 днів 16/8 фотоперіод; в) лінія 3; середовище МСН1, 16/8 фотоперіод 21 день; г) лінія 3, середовище МСН1, 14 днів без освітлення, 7 днів 16/8 фотоперіод; д) лінія 35, середовище МСН2, 16/8 фотоперіод 21 день; е) лінія 35, середовище МСН2, 14 днів без освітлення, 7 днів 16/8 фотоперіод.

Для проліферації адвентивних бруньок протестовані два середовища – середовище МСН1 (2 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l TDZ [188]) та середовище МСН6 (3 mg/l ВАР, 2 mg/l 2-іР). Встановлено, що на середовищі МСН6 рослини-регенеранти не піддаються в подальшому елонгації. На рис. 3.4. показана проліферація адвентивних бруньок ліній 3 та 35 при культивуванні на середовищі МСН6.

Отже нами встановлено, що індукція і проліферація адвентивних бруньок відбувається на середовищі МСН1, яке містило три регулятора росту: 2 mg/l 2-іР; 0,5 mg/l IAA; 0,1 mg/l TDZ.

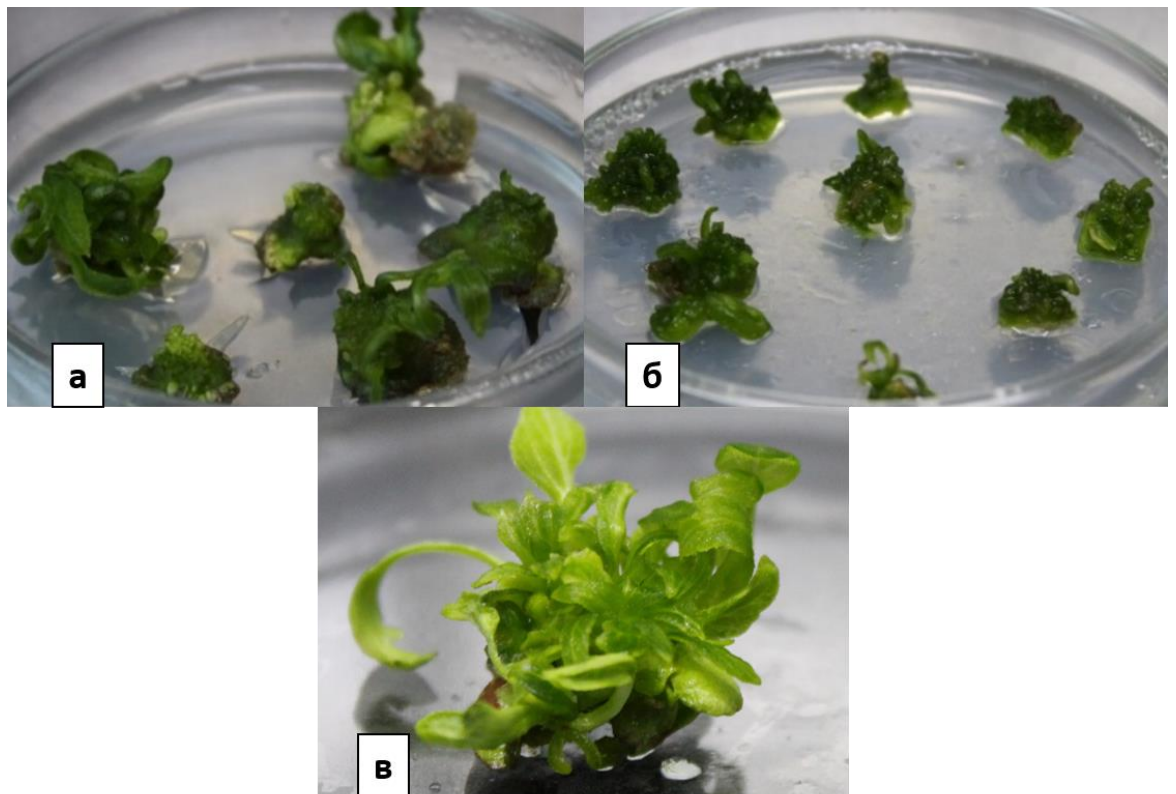


Рис. 3.4. Проліферація адвентивних бруньок лінії 35 на середовищі МСН6 (а та б) та елонгація адвентивних пагонів лінії 3 на середовищі МСН8

Елонгацію пагонів проводили на трьох середовищах:

МСН7 – 0,1 mg/l ВАР [9];

МСН8 – 1 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l ВАР [188];

МСН9 – 0,2 mg/l GA<sub>3</sub> [189].

При культивуванні адвентивних бруньок соняшника на середовищі МСН7, що містить у собі низьку концентрацію цитокініну (1 mg/l BAP), не спостерігали формування адвентивних пагонів. За використання середовища МСН8, що містить високі концентрації цитокінінів, а саме 1 mg/l 2-іP та 0,5 mg/l BAP, спостерігали, що у лінії 3 формуються нормально елонговані адвентивні пагони, а у лінії 35 спостерігали формування вітрифікованих пагонів, що робило неможливим їх укорінення. Також, при культивуванні на середовищі МСН9, що містило гіберилінову кислоту 0,2 мг/л, спостерігали формування вітрифікованих, аномальних пагонів у ліній 3 та 35.

Отже, для елонгації адвентивних пагонів ефективним було середовище МСН8, що доповнене регуляторами росту :1 mg/l 2-іP та 0,5 mg/l BAP (табл. 3.2.).

Таблиця 3.2.

**Культивування двох ліній- відновників фертильності пилку  
соняшника на середовищах МСН7 та МСН8**

Лінія	Умови культивування	Елонгація пагонів, середовище	Елонгація пагонів, %	Укорінення, %	Адаптація, %
35	Світло	МСН7	—	—	—
		МСН8	—	—	—
	Темрява 14 днів + 7 днів світло	МСН7	16	—	—
		МСН8	—	—	—
3	Світло	МСН7	36	75	80
		МСН8	—	—	—
	Темрява 14 днів + 7 днів світло	МСН7	35	75	80
		МСН8	—	—	—

Після елонгації наступним етапом була індукція коренів у рослин-регенерантів. Для укорінення пагонів використовували середовище МСН10, що доповнене 1 mg/l ІВА. Частота укорінення складала 75%.

Для підтвердження ефективності укорінення на даному середовищі в якості контролю було проведено культивування адвентивних пагонів на безгормональному середовищі, як результат, формування коренів не спостерігали.

Після укорінення всі рослини-регенеранти соняшника проходили етап адаптації у ґрунті в умовах теплиці (рис.3.5.в, рис.3.5.г).

На рис 3.5. представлені адаптовані до септичних умов пагони лінії 3.

Умови адаптації: 16/8 фотоперіод при температурі у 25°C.

Адаптовані рослини-регенеранти в умовах теплиці цвіли неодноразово, всі рослини були ізольовані для самозапилення (рис.3.5.д), Для покращення самозапилення проводили автотрипінг (механічне нанесення пилку з однієї і тієї ж рослини) (рис. 3.5.е).

Збирання зрілого насіння проводили через 45 діб після цвітіння.

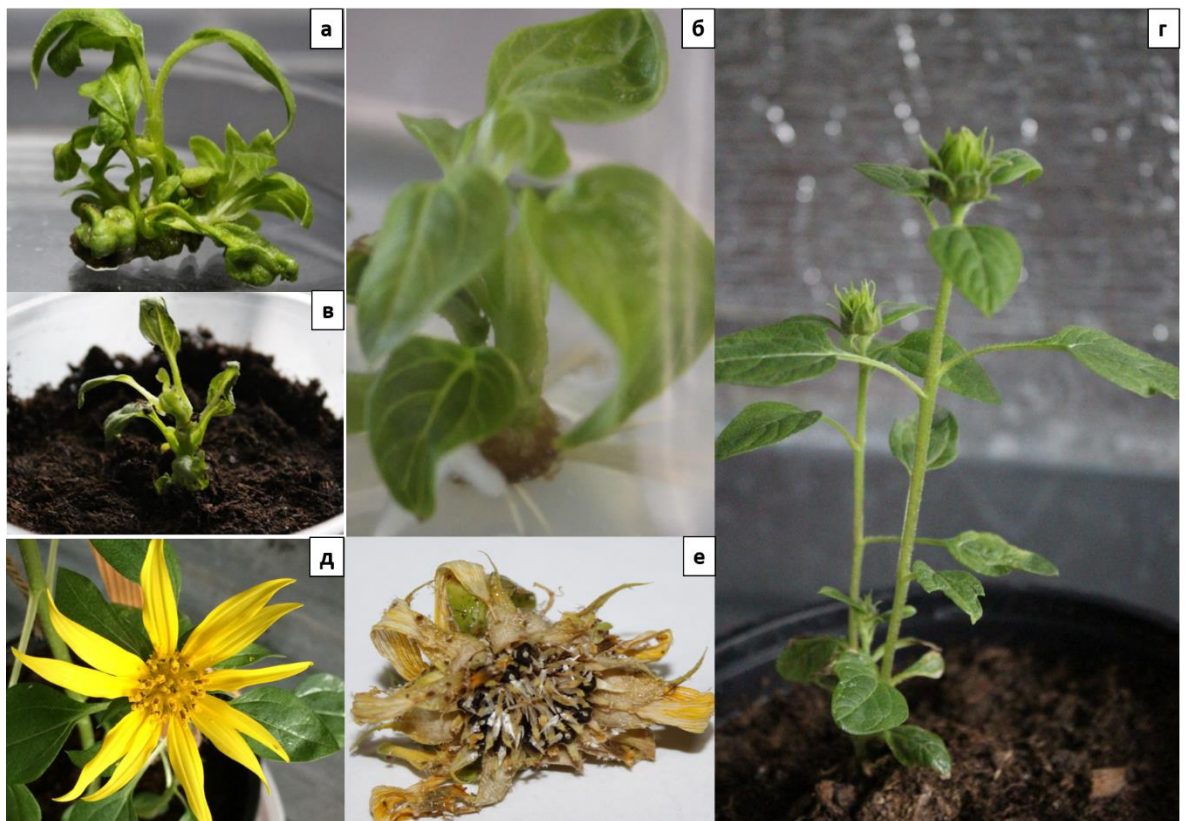


Рис. 3.5. Отримання насіння соняшника у лінії 3: від адвентивних пагонів до насіння: а) елонгація пагонів; б) укорінені адвентивні пагони; в – г) адаптовані *in vivo* рослини-регенеранти; д) цвітіння рослин; е) дозріле насіння соняшника.



В результаті дослідження регенераційної здатності соняшника нами визначено, що серед протестованих ліній-відновників фертильності пилку (2, 3, 19, 35) на двох лініях (3 та 35) було отримано рослини-регенеранти.

Для отримання рослин-регенерантів соняшника необхідно провести поетапну роботу, а саме: для індукції та проліферації адвентивних бруньок експланти культивувати протягом 14 днів у темряві з наступним перенесенням експлантів на світло (16/8 фотоперіод, 25°C) на 7 днів, а для культивування використовувати середовище МСН1. Елонгацію пагонів необхідно проводити на середовищі МСН7. Укорінення рослин-регенерантів проводити на середовищі МСН10.

Запропонована система регенерації дозволяє отримати фертильні рослини-регенеранти соняшника.

### **3.2. Прискорене виділення стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника за використання культури незрілих зародків**

Метод культури незрілих зародків соняшника має широке використання при розмноженні низькожиттєздатного насіння, вивченні соматичного ембріогенезу, органогенезу, регенерації, генетичної трансформації, а також при прискореному виділенні гомозиготних ліній за певними ознаками [9-11, 73-75].

Нами використано культуру незрілих зародків для швидкого отримання стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника. Детальна схема дослідження представлена на рисунку 3.6.

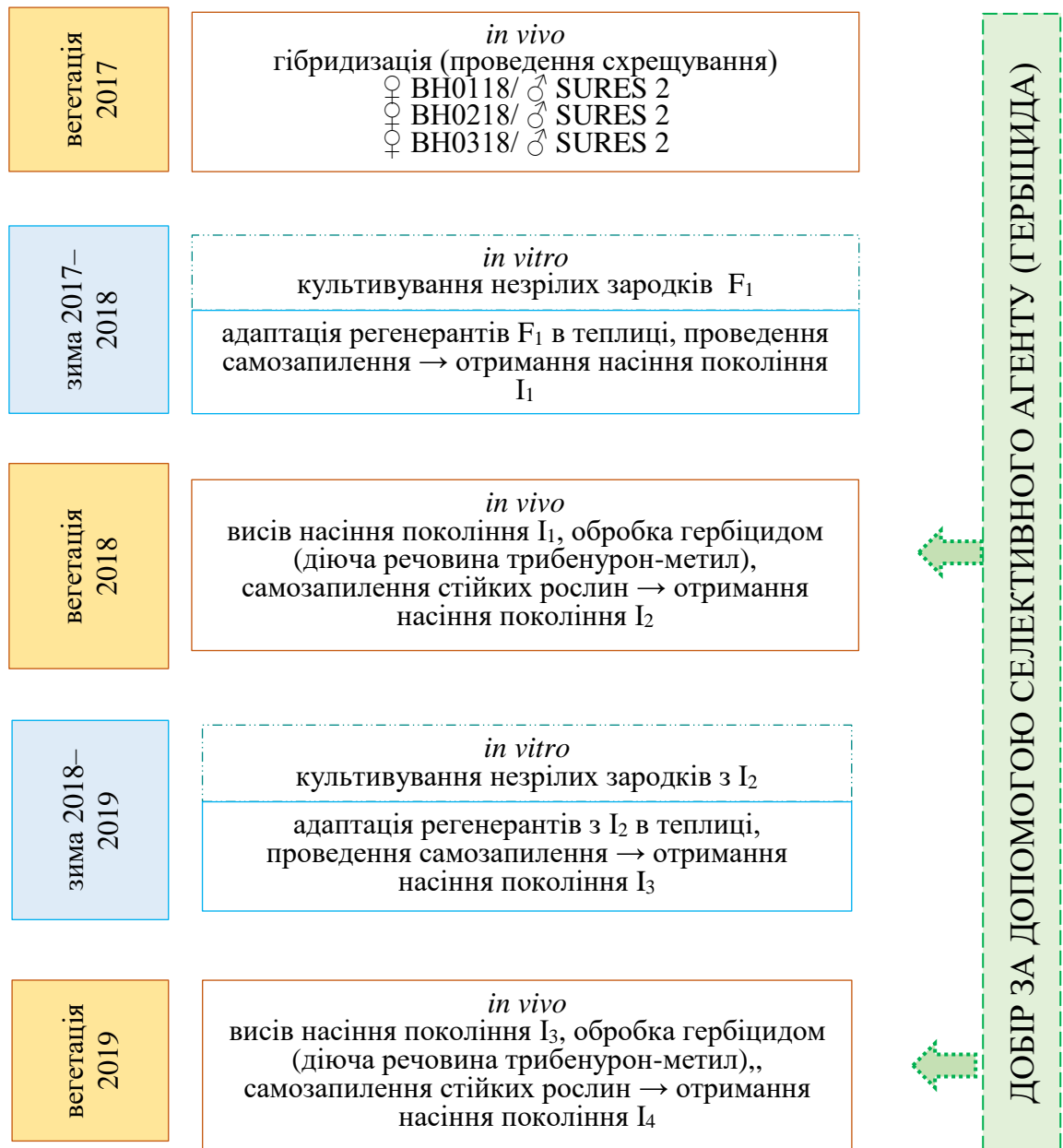


Рис. 3.6. Схема прискореного виділення ліній-відновників фертильності пилку соняшника стійких до трибенурон-метилу покоління I<sub>4</sub> (2017 – 2019 р.р.)

Дослідження було розпочато влітку 2017 року зі схрещування ліній-відновників фертильності BH0118, BH0218 та BH0318 з донором стійкості до трибенурон-метилу SURES-2 (містить природню мутацію в гені *Ahas11-2*, що призводить до стійкості до трибенурон-метилу) [178].



На 21-й день після запилення рослин ВН0118, ВН0218 та ВН0318 пилюком з лінії SURES-2 з кожного кошику відбирали незріле насіння ( $F_1$ ) – по 30 насінин, та вводили в культуру *in vitro* [162].

Для введення в культуру *in vitro* 21-денне незріле насіння проходило етап стерилізації. Так, насіння стерилізували в 70-% етиловому спирті протягом 1-2 хв., протягом 20 хв. у «Білизні» (1:2) та з наступним промиванням насіння у стерильній дистильованій воді (тричі).

Після стерилізації незрілого насіння очищали від лушпиння та виділяли зародок з ендоспермом та переміщали в чашки Петрі з базовим середовищем МС [186] з додаванням 0,1 mg/l ВАР (МСН7). Через 7 – 10 днів після введення в культуру *in vitro* спостерігали формування проростків. Проростки, що сформували коріння, були висаджені в ґрунт для їх адаптації в умовах теплиці.

Цвітіння спостерігали через 60 – 68 днів, однак цвітіння було не одночасне. Всі рослини ізолювали для їх самозапилення. Для кращого запилення проводили автотрипінг. Через 35 – 40 днів наступала фізіологічна стиглість насіння. Загалом близько 100 днів проходило від моменту відбору 21-денних незрілих зародків до технічної стиглості соняшника. Таким чином, в період «зима 2017 – 2018» було отримано насіння покоління  $I_1$ .

Насіння  $I_1$  висівали у відкритий ґрунт (період «вегетація 2018»). Для відбору стійких до трибенурон-метилу рослин соняшника проводилась обробка гербіцидом Гранстар Голд 75 (з діючою речовиною трибенурон-метил) у дозі 100 г/га. У рослин, отриманих у результаті схрещування ліній ВН0118, ВН0218 та ВН0318 з SURES-2, спостерігали розщеплення за стійкістю у відповідності до другого закону Менделя – за фенотипом складає 3:1 (рис. 3.7.).

Рослини, у яких не спостерігали хлороз, деформації листків і стебла (тобто стійкі до трибенурон-метилу), були ізольовані, проводили автотрипінг та було отримано насіння покоління  $I_2$ .

21-денне незріле насіння покоління  $I_2$  відбирали для повторного введення в культуру *in vitro*. В результаті повторного культивування та вирощування отриманих рослин в умовах теплиці, нами отримано насіння покоління  $I_3$ . Насіння  $I_3$  висівали в полі та проводили обприскування гербіцидом Гранстар Голд 75 у дозі 100 г/га. Рослини, що не були уражені гербіцидом, примусово самоzapилували та отримали насіння покоління  $I_4$ .

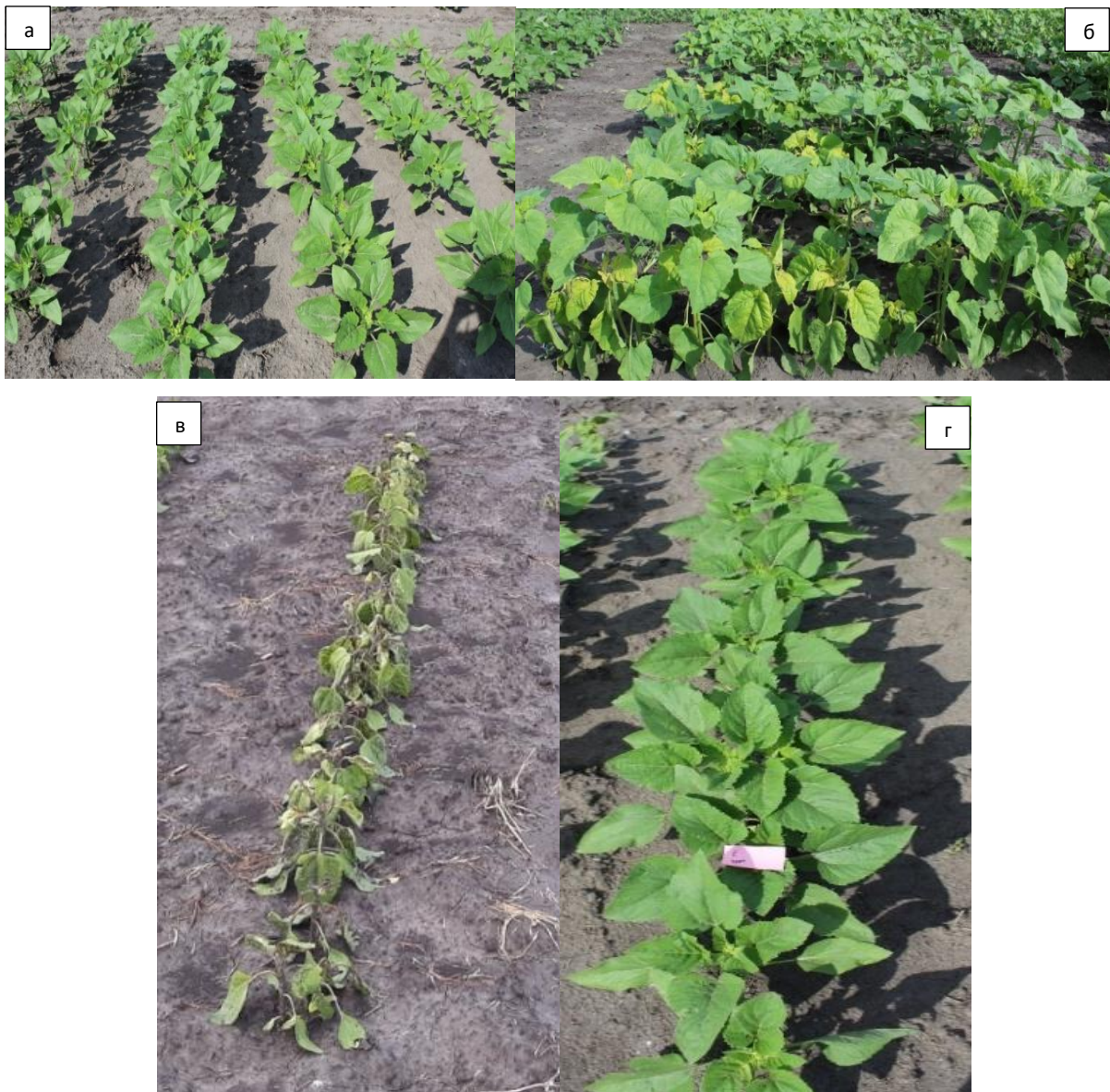


Рис. 3.7. Реакція рослин на обробку гербіцидом: а) рослини до обробки гербіцидом, б) гетерозигота за геном стійкості до трибенурон-метилу (*AHASL1-2*), в) нестійка гомозигота до трибенурон-метилу, г) стійка гомозигота до трибенурон-метилу

Встановлено, що в поколінні I<sub>4</sub> частка стійких до трибенурон-метилу рослин в середньому становила 33,2% (33,1±0,1%) (табл. 3.3.).

Табл. 3.3.

**Частка стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників  
фертильності пилку соняшника**

Комбінація	III етап (вегетація 2018)	V етап (вегетація 2019)
	Частка рослин I <sub>2</sub> , стійких до трибенурон-метилу, %	Частка рослин I <sub>4</sub> , стійких до трибенурон-метилу, %
BH0118/SURES-2	32,9	33,3
BH0218/SURES-2	33,3	33,1
BH0318/SURES-2	33,1	33,3

В результаті поетапного використання культури *in vitro* та польової оцінки стійкості до трибенурон-метилу виділено стійкі до трибенурон-метилу лінії-відновники фертильності пилку соняшника. У стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника, проводили оцінку за морфологією, толерантністю до хвороб (склеротинія, іржа, фомоз та фомопсис) та виляганням.

Отже, протягом короткого проміжку часу (2 роки) в результаті схрещування нестійких ліній BH0118, BH0218 та BH0318 з донором стійкості до трибенурон-метилу SURES-2 було виділено по 10 ліній, що характеризуються стійкість до трибенурон-метилу, а також толерантністю до склеротинії, іржі, фомозу та фомопсису.

Культура незрілих зародків соняшника використовується для вивчення соматичного ембріогенезу, органогенезу, регенерації, генетичної трансформації соняшника [7, 9, 11, 74, 95, 197, 205]. Однією з перших робіт,

де в якості експлантів були використані незрілі зародки соняшника, була робота Finer J. (1987). Автори вивчали соматичний ембріогенез соняшника [7].

Newezi T. зі співавторами (2002) використали 21-денні незрілі зародки соняшника, як експлант, для підбору оптимального методу генетичної трансформації. Перед бомбардуванням, вакуумної інфільтрації та дегідратації з *A. tumefaciens* незрілі зародки соняшника розрізали вздовж ембріональної осі [95].

В нашому дослідженні 21-денні незрілі зародки були використані для прискореного відбору стійких до трибенурон-метилу рослин соняшника. Час отримання стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника скорочено удвічі.

### 3.3. Висновки до розділу 3

Робота з батьківськими формами соняшника проведена у двох напрямках, де:

1. Під час дослідження регенераційної здатності шляхом прямого органогенезу встановлено генотипову залежність, оскільки з 4-х протестованих ліній (2, 3, 19 та 35) тільки у ліній 3 та 35 було отримано рослини-регенеранти.

Встановлено, що для індукція адвентивних бруньок та пагонів кращим середовищем є МСН1 (2 mg/l 2-іР, 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l TDZ), а для елонгації пагонів – середовище МСН7 доповнене 1 mg/l 2-іР та 0,5 mg/l ВАР.

Підтверджено, що укорінення рослин-регенерантів відбувається на середовищі МСН10 (1 mg/l ІВА). Умовами адаптації рослин-регенерантів в умовах теплиці є 16/8 фотоперіод та температурний режим 25°C.

2. Нами проведено прискорений добір (2017–2019 рр.) стійких до трибенурон-метилу ліній-відновників фертильності пилку соняшника. В результаті схрещування ліній ВН0118, ВН0218 та ВН0318 з лінією-донором стійкості до трибенурон-метилу SURES-2 нами відібрано по 10 стійких ліній (ВН0118/SURES-2; ВН0218/SURES-2; ВН0318/SURES-2).

Підтверджено, що при використанні методу культури незрілих зародків можливо проводити прискорений добір рослин соняшника стійких до трибенурон-метилу.

Матеріали даного розділу представлено у публікаціях: [206], [207].

## РОЗДІЛ 4

### ВІДБІР ЗАКРІПЛЮВАЧІВ СТЕРИЛЬНОСТІ ПИЛКУ З ПУЛУ МАТЕРИНСЬКИХ ЛІНІЙ СОНЯШНИКА

Гібриди першого покоління ( $F_1$ ) соняшника створюють на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС) [1,2]. Для створення такого гібрида соняшника необхідно створити: материнський компонент, що складається із закріплювача стерильності ( $Nrf_1rf_1$ ) та його стерильного аналога ( $Srf_1rf_1$ ), та батьківський компонент ( $S/NRf_1Rf_1$ ). Встановлено, використання молекулярних маркерів, що зчеплені з геном  $Rf_1$  дозволяють проводити диференціацію за наявністю/відсутністю даного гена, серед великого пулу материнських форм. Залучення молекулярно-біологічних методів дозволяє проводити цілеспрямовані добори за різними ознаками, що значно пришвидшує створення батьківських компонентів гібридів соняшника.

Під час дослідження гена відновлення фертильності пилку ( $Rf_1$ ) соняшника дослідниками було використано різні молекулярні маркери (RAPD, AFLP, SSR, тощо) [15-17, 19, 21-27]. Ознайомившись з результатами цих досліджень, нами відмічено, що використання SCAR-маркера HRG01 буде ефективним при аналізі пулу материнських ліній соняшника.

У даному розділі представлені результати молекулярного аналізу ліній та польової оцінки гібридів першого покоління соняшника, отриманих у результаті аналізуючого схрещування.

Аналізуюче схрещування проводили за використання лінії-тестера, генотип якої  $Srf_1rf_1$ . Серед материнських ліній, які могли мати генотипи  $NRf_1Rf_1$ ,  $NRf_1rf_1$ ,  $Nrf_1rf_1$  потрібно було відібрати лінії з генотипом  $Nrf_1rf_1$ .

Загальна схема роботи з материнськими формами представлена на рисунку 4.1.

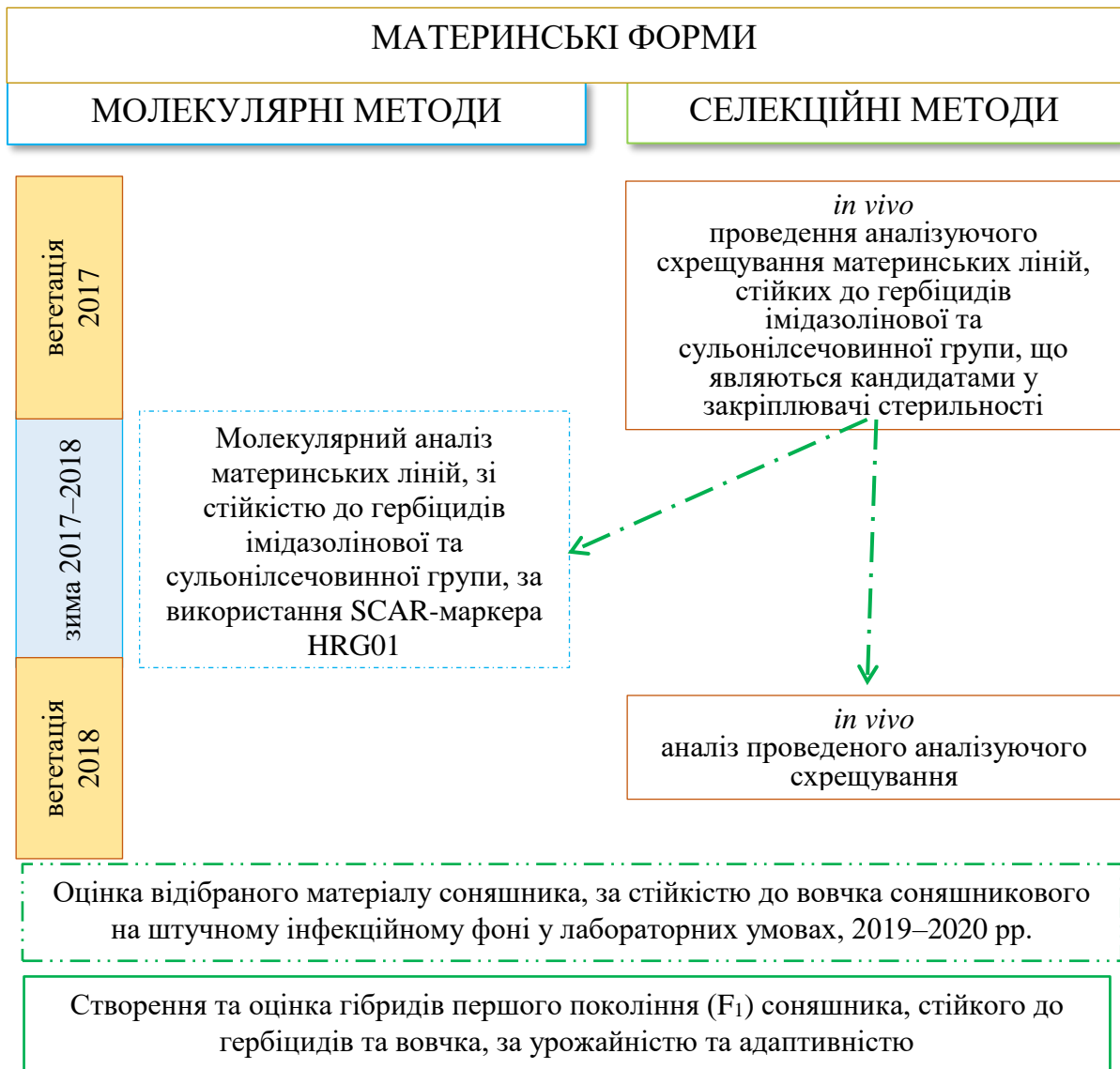


Рис. 4.1. Схема дослідження при роботі з материнськими формами.

#### 4.1. Ідентифікація ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника за допомогою SCAR-маркера HRG01

Виділення ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника з пулів материнських ліній проведено у два етапи:

- 1) проводили аналіз за допомогою SCAR-маркера HRG01;
- 2) результати молекулярного аналізу підтверджували за допомогою аналізуючого схрещування та його аналізу.

Дане дослідження проведено на материнських лініях, що були поділені за стійкістю до гербіцидів на дві групи: імідазолінову та сульфонілсечевинну.

Серед першої групи материнських форм, що стійкі до гербіцидів імідазолінової групи, нами було використано матеріал з робочої колекції компанії ВНІС. Даний матеріал було створено протягом 2014–2017 років за класичною селекційною схемою: протягом першого року проводили схрещування (кастрація лінії ВН320 та запилення гібридом НК Неома, кастрація лінії ВН039 та запилення гібридом ЕС Артіміс, кастрація лінії ВН3978 та запилення гібридом Драган), протягом другого та третього років проведено самозапилення окремих рослин. Відбір рослин проводили за стійкістю до гербіцидів імідазолінової групи, за морфологією, стійкістю до полягання, стійкістю до несправжньої борошнистої роси, склеротинії кошика та стебла.

Таким чином, в дослідженні були використані материнські лінії  $F_3/F_4$  ВН320/НК Неома,  $F_3/F_4$  ВН039/ЕС Артіміс та  $F_3/F_4$  ВН3978/Драган.

Серед другої групи материнських форм, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, також було використано матеріал з робочої колекції компанії ВНІС, що було створено за аналогічною схемою, що і попередня група.

Таким чином, в нашій роботі було використано пули материнських ліній  $F_3/F_4$  Ls8A/Lc1093B,  $F_3/F_4$  Zoria FN/Lc1093B та  $F_3/F_4$  A12/Lc1093B.

При проведенні аналізу з використанням SCAR-маркера HRG01 з першої групи було протестовано 477 зразків, з них 130 зразків лінії ВН320/НК Неома, 156 зразків лінії ВН039/ЕС Артіміс та 191 – гібридів ВН3978/Драган. Маркер HRG01 зчеплений з геном *Rf<sub>1</sub>* [22, 23].

Продукт ампліфікації розміром 426 п.н. указує на наявність гена відновлення фертильності пилку соняшника (*Rf<sub>1</sub>*) в результаті проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), а відсутність даного продукту



ампліфікації свідчить про наявність рецесивного гена відновлення фертильності пилку соняшника (*rf<sub>1</sub>*).

В результаті проведеного ПЛР аналізу було встановлено, що з 477 проаналізованих зразків 112 мали продукт ампліфікації розміром 426 п.н., що свідчило про наявність домінантного гена відновлення фертильності пилку (*Rf<sub>1</sub>*), а 365 зразків не містили даного продукту ампліфікації.

Встановлено, що серед 130 зразків ліній ВН320/НК Неома всі зразки не містили продукт ампліфікації та відповідно являються закріплювачами стерильності (*Nrf<sub>1</sub>rf<sub>1</sub>*). Серед 156 зразків ВН039/ЕС Артіміс виявлено 107 зразків – закріплювачів стерильності, а серед 191 зразка ВН3978/Драган – 128 закріплювачів стерильності соняшника (рис. 4.2.).

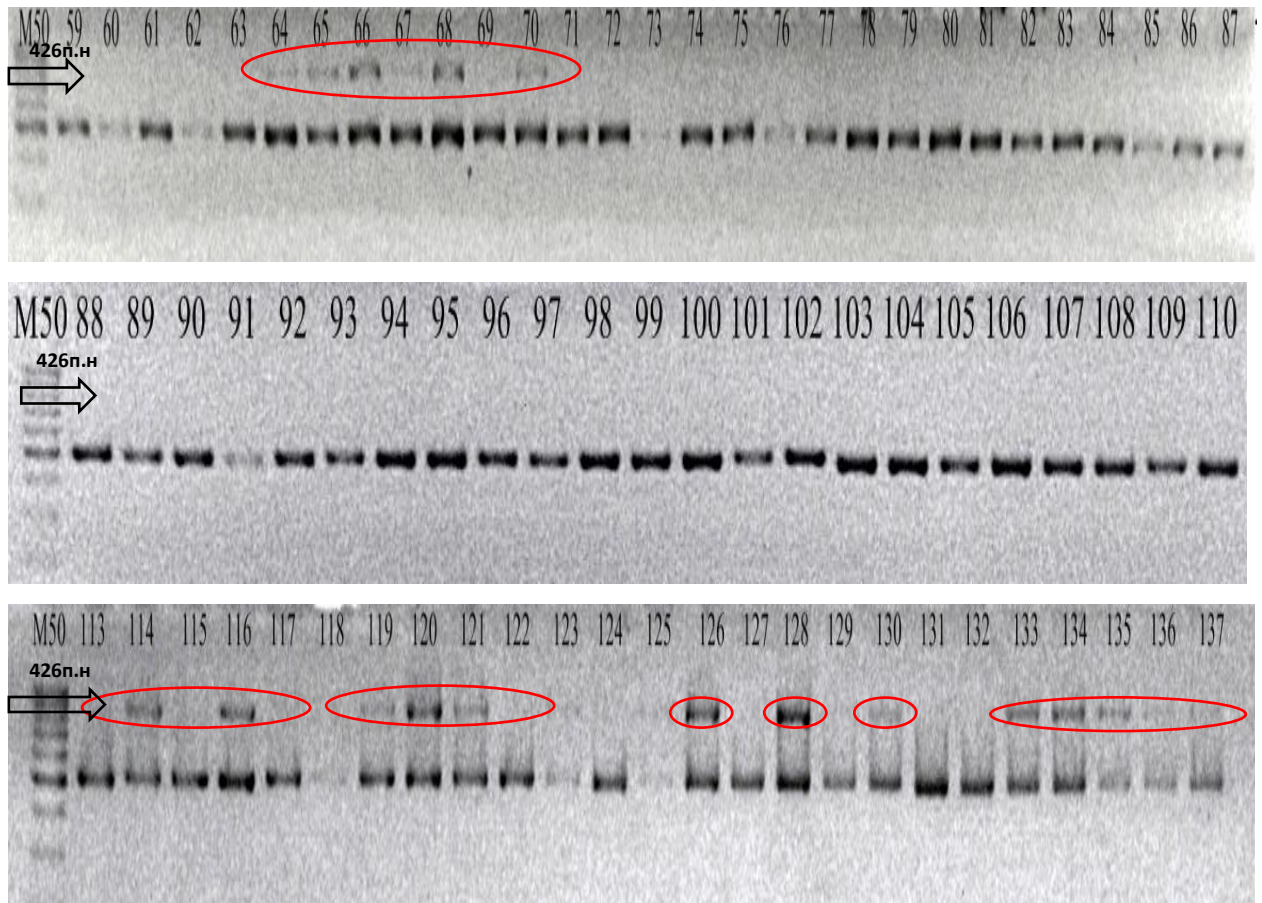


Рис. 4.2. Електрофореграма продуктів ампліфікації при використанні SCAR-маркера HRG01 зразків материнської лінії ВН039/ЕС Артіміс. М50 – маркер DNA ladders 50 бр. Доріжки: 59 – 63, 69, 71 – 110, 113, 115, 117, 122, 124, 127, 129, 131, 132 – індивідуальні рослини досліджуваних ліній, в яких відсутній амплікон 426 п.н.. Дріжки: 64–68, 70, 114, 116, 119 – 121, 126, 128, 130, 133 – 137 – індивідуальні рослини, в яких спостерігається амплікон розміром 426 п.н.

У другій групі материнських форм було протестовано 344 зразка та встановлено, що всі зразки ліній Ls8A/Lc1093B, Zoria FN/Lc1093B та A12/Lc1093B не мають продукту ампліфікації розміром 426 п.н. (рис. 4.3.). Отже, всі рослини другої групи є закріплювачами стерильності пилку соняшника.

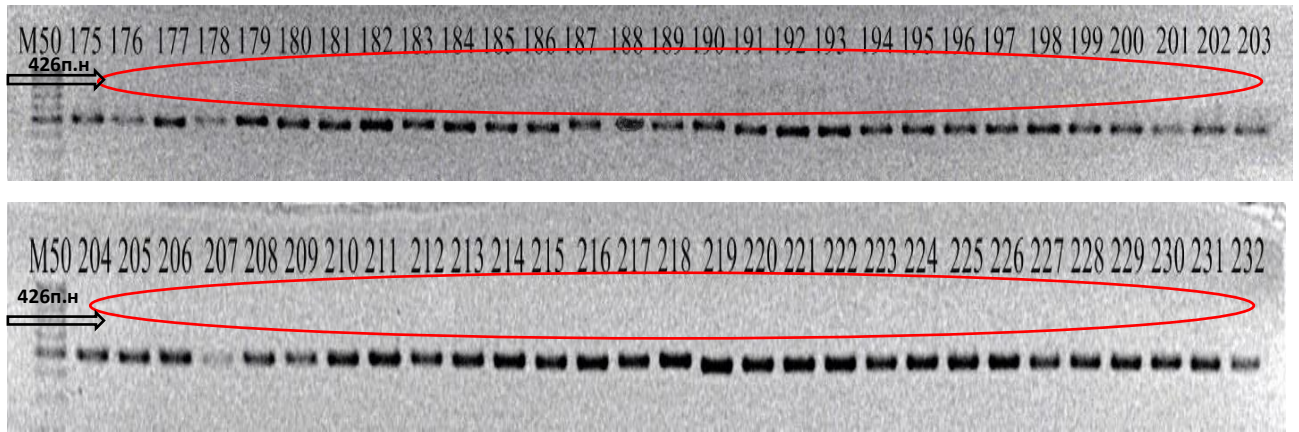


Рис. 4.3. Електрофореграма продуктів ампліфікації за використання SCAR–маркера HRG01 зразків материнської лінії Ls8A/Lc1093В. М50 – маркер DNA ladders 50 bp. Доріжки: 175 – 232 – індивідуальні рослини, в яких відсутній амплікон розміром 426 п.н.

Результати молекулярного аналізу двох груп материнських ліній представлені у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1.

**Молекулярний аналіз материнських форм соняшника за використання SCAR-маркера HRG01**

Материнська форма	Кількість протестованих рослин, шт	Кількість зразків, що не містять амплікон 426 п.н., шт.
Перша група ліній, стійких до гербіцидів імідазолінової групи		
ВН320/НК Неома	130	130
ВН039/ЕС Артіміс	156	107
ВН3978/Драган	191	128
Всього зразків	477	365
Друга група ліній, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи		
Лs8A/LC1093В	105	105
Zoria FN/LC1093В	120	120
A12/LC1093В	119	119
Всього зразків	344	344

Таким чином, за використання SCAR-маркера HRG01 проведено цілеспрямований відбір закріплювачів стерильності соняшника з двох груп материнських форм.

**4.2. Порівняння результатів, отриманих за допомогою молекулярного аналізу, та польової оцінки аналізуючого схрещування**

Аналізуюче схрещування передбачало проведення схрещування стерильної лінії-тестера (*Srfrf*) з досліджуваними зразками соняшника, генотип яких може бути наступним: *NRfRf*, *NRfrf*, *Nrfrf*.

У результаті аналізуючого схрещування можливо отримати наступні варіанти:

1 –  $S Rf_1rf_1$  дані гібриди будуть фертильними, що свідчить: протестована лінія не являється закріплювачем стерильності;

2 –  $S rf_1rf_1$  всі рослини даних гібридів будуть стерильними, що свідчить: протестовані лінії являються закріплювачами стерильності.

У результаті проведеної польової оцінки встановлено, що з 477 зразків першої групи 106 зразків мали домінуючий ген відновлення фертильності пилку  $Rf_1$  (рослини були фертильними), отже, не були закріплювачами стерильності. Підтверджено, що всі гібриди ВН320/НК Неома є закріплювачами стерильності, оскільки всі рослини були стерильними ( $Srf_1rf_1$ ). Серед 156 зразків материнських форм ВН039/ЕС Артїміс закріплювачами стерильності був 101 зразок, а серед 191 зразків гібридів ВН3978/Драган закріплювачами стерильності є 140 зразків.

Таким чином, в результаті польової оцінки встановлено, що серед 477 зразків 371 є закріплювачами стерильності соняшника.

За результатами аналізуючого схрещування материнських форм другої групи встановлено, що всі зразки являються закріплювачами стерильності.

В таблиці 4.2. представлено результат аналізуючого схрещування.

Таблиця 4.2.

**Результат аналізуючого схрещування гібридних материнських форм  
соняшника**

Материнська форма	Кількість протестованих рослин, шт	Кількість стерильних рослин
Перша група ліній, стійких до гербіцидів імідазолінової групи		
ВН320/НК Неома	130	130
ВН039/ЕС Артіміс	156	101
ВН3978/Драган	191	140
Всього зразків	477	371
Друга група ліній, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи		
Ls8A/LC1093B	105	105
Zoria FN/LC1093B	120	120
A12/LC1093B	119	119
Всього зразків	344	344

При порівнянні результатів, отриманих після проведення аналізу за допомогою SCAR-маркера HRG01 та польової оцінки (аналізуюче схрещування) материнських ліній встановлено невідповідність у зразках гібридів ВН039/ЕС Артіміс та ВН3978/Драган. Так, в результаті аналізу материнської форми ВН039/ЕС Артіміс було встановлено, що зразки 69, 71–73, 123 є закріплювачами стерильності, оскільки не містили продукт ампліфікації 426 п.н. Проте, при проведенні польової оцінки встановлено, що дані зразки мали домінуючий ген відновлення фертильності пилку *Rf<sub>1</sub>*, оскільки рослини були фертильними. Зразки 21–27, 51–54, 57 материнської форми ВН3978/Драган згідно результатів молекулярного аналізу були закріплювачами стерильності, однак, при аналізі гібридів, отриманих в

результаті аналізуючого схрещування, виявились фертильними, тобто містили ген  $Rf_1$ .

Отримання позитивно-негативного результату обумовлено специфічною взаємодією праймера з геном, що знаходився біля гена відновлення фертильності ( $Rf_1$ ), механічним засміченням зразка або технологічною помилкою. Але ця невідповідність результатів не є неістотною для пришвидшеного добору материнських форм (табл. 4.3.).

Таблиця 4.3.

**Порівняння двох методів добору закріплювачів стерильності за допомогою молекулярного аналізу (SCAR маркера HRG01) та польової оцінки (аналізуюче схрещування)**

Материнська форма	Кількість протестованих рослин, шт	К-ть закріплювачів стерильності, встановлених, за допомогою молекулярного аналізу, шт.	К-ть закріплювачів стерильності, встановлених за допомогою польової оцінки, шт.
Перша група ліній, стійких до гербіцидів імідазолінової групи			
ВН320/НК Неома	130	130	130
ВН039/ЕС Артіміс	156	107	101
ВН3978/Драган	191	128	140
Всього зразків	477	365	371
Друга група ліній, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи			
Ls8A/LC1093B	105	105	105
Zoria FN/LC1093B	120	120	120
A12/LC1093B	119	119	119
Всього зразків	344	344	344

В своїй роботі Horn R. зі співавторами (2003) ідентифікували RADP та AFLP маркери, що тісно зчеплені з геном відновлення фертильності пилку соняшника (*Rf<sub>1</sub>*), та два RADP маркера перетворили в SCAR маркери.

Так, RADP маркер OPK13\_454 з продуктом ампліфікації 426 п.н. було перетворено на SCAR маркер HRG01, а RADP маркер OPY10\_740 – у SCAR маркер HRG02 з продуктом ампліфікації 738 п.н. [22].

Попов В. М. зі співавторами (2015) провели аналіз селекційних ліній, ліній мутантного походження та проаналізували зразки міжвидових гібридів соняшника на наявність гена відновлення фертильності пилку соняшника *Rf<sub>1</sub>*, за допомогою SCAR маркер HRG01. В результаті аналізу було підтверджено, що даний SCAR маркер є ефективним для ідентифікації гена *Rf<sub>1</sub>* на зразках соняшника [23].

Markin N. зі співавт. (2017) після проведення аналізу 5 однолітніх та 26 багаторічних видів соняшника прийшли до висновку, що для багаторічних видів краще використовувати SCAR маркер HRG02, а для однорічних – HRG01 [24].

В нашій роботі нами підтверджено, що використання даного маркеру є ефективним та дозволяє проводити цілеспрямований відбір серед материнських ліній соняшника.

#### **4.3. Висновки до розділу 4**

Відібрано велику кількість материнських ліній–закріплювачів стерильності (709 ліній). Генотип цих ліній (*Nrf<sub>1</sub>r<sub>f</sub><sub>1</sub>*) підтверджено молекулярним аналізом та аналізуючим схрещуванням.

Під час ідентифікації серед материнських форм соняшника закріплювачів стерильності встановлено, що всі протестовані зразки ВН320/НК Неома, Ls8A/LC1093B, Zoria FN/LC1093B та A12/LC1093B являються закріплювачами старильності, що підтверджено молекулярним аналізом та польовою оцінкою.



За результатами польової оцінки серед 156 зразків гібридів ВН039/ЕС Артїміс закріплювачами стерильності є 101 зразок, а серед 191 зразка гібридів ВН3978/Драган – 140. Проте, за молекулярного аналізу даних материнських форм встановлено, що закріплювачами стерильності у ВН039/ЕС Артїміс є 107 зразків, а серед ВН3978/Драган – 128 зразків.

Таким чином, використання молекулярного аналізу дозволяє прискорити відбір ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника, що в свою чергу, пришвидшує селекційний процес.

Матеріал даного розділу представлено у публікації: [208], [209] , [210].

## РОЗДІЛ 5

### ДОБІР ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ СОНЯШНИКА СТІЙКОГО ДО РОСЛИНИ-ПАРАЗИТА ВОВЧКА СОНЯШНИКОВОГО (*OROBANCHE CUMANA WALLR.*)

Рослина-паразит вовчок соняшниковий (*Orobanche cumana* Wallr.) призводить до значних втрат врожаю соняшника (50 – 100%) [112]. Запобігти таким втратам можливо при вирощуванні стійких гібридів соняшника. Для цього необхідна попередня ідентифікація стійких материнських та батьківських ліній соняшника. Найефективнішим методом добору стійких до вовчка ліній є тестування на штучному інфекційному фоні в лабораторних або польових умовах [166-168].

В даному розділі представлені результати тестування ліній-закріплювачів стерильності та ліній-відновників фертильності пилку соняшника на штучному інфекційному фоні в умовах теплиці. В результаті тестування нами виділені лінії, що відзначаються стійкістю до найбільшагресивної раси (G раси) вовчка.

З батьківських форм – відновників фертильності пилку соняшника, стійких до трибенурон-метилу, виділено по чотири лінії (101/1, 101/4, 101/6, 101/7) з ВН0118/SURES–2 та (101/21, 101/24, 101/28, 101/30) ВН0318/SURES–2; п'ять ліній (101/11, 101/12, 101/16, 101/17, 101/18) з ВН0218/SURES–2 [207], а серед чотирьох ліній-відновників фертильності пилку соняшника (2, 3, 19, 35), стійких до гербіцидів імідазолінової групи, високостійкою є лінія 35.

З материнських форм, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, виділено як високостійкі до G раси вовчка лінії: з ВН320/НК Неома три лінії (11/15, 11/103, 11/104); ВН039/ЕС Артіміс – одна лінія (11/162); ВН3978/Драган – дві лінії (12/155, 12/156). Серед ліній, стійких до трибенурон-метилу стійкими до G раси вовчка є: з Ls8A/LC1093В три ліній

(9/10, 9/12, 9/117); з Zoria FN/LC1093B – дві лінії (9/138, 9/166) та дві ліній з A12/LC1093B (10/124, 10/216) [211].

Відібрані нами стійкі до вовчка материнські та батьківські лінії використані для створення гібридів першого покоління ( $F_1$ ) соняшника.

### **5.1. Добір ліній-відновників фертильності пилку соняшника стійких до вовчка соняшникового**

Стійкість ліній-відновників фертильності пилку соняшника до вовчка соняшникового визначали за допомогою лабораторного аналізу на штучному інфекційному фоні шляхом візуальної оцінки наявності вовчка (рис. 5.1., рис. 5.2). Для прискороного аналізу, оцінка стікості до вовчка проведена у зимовий період 2019–2020 рр.



Рис. 5.1. Лабораторний аналіз соняшника на штучному інфекційному фоні.



Рис. 5.2. Оцінка ліній-відновників фертильності пилку соняшника. 1 – стійкий контроль (не виявлено вовчка), 2 – сприйнятливий контроль (виявлено бульбочки рослини-паразита), 3 – зразок 101/5 лінії ВН0118/SURES-2 (виявлено бульбочки рослини-паразита), 4 – бульбочки вовчка соняшникового на корінні

Для визначення стійкості ліній соняшника до вовчка проводили збір насіння рослини-паразита в період серпень-вересень у Запорізькій, Харківській, Кіровоградській, Одеській, Херсонській, Луганській та Донецькій областях на полях гібридів соняшника, що мали різну стійкість до вовчка соняшникового. Таким чином, нами було зібрано насіння вовчка з рослин соняшника, що мали стійкість до E, F та G рас (відомості щодо стійкості гібридів використано з каталогів). В результаті у торфосуміші було насіння вовчка рас E, F та G рас.

Візуальна оцінка зразків проведена починаючи з 35 доби від посіву насіння соняшника. Для цього рослини соняшника вилучали з торфосуміші, що попередньо була заражена насінням вовчка, після чого оглядали коріння кожної рослини. За наявності бульбочок рослини-паразита (рис. 5.2. – 2,3,4) зразок позначали як «нестійкий», а при відсутності бульбочок – «стійкий» зразок.

У тестуванні було використано лінії-відновники фертильності пилку, стійкі до трибенурон-метилу, що були створені за прискореною системою добору вихідного матеріалу з використанням культури незрілих зародків соняшника [207] та лінії-відновники фертильності пилку, стійкі до гербіцидів імідазолінової групи, що були використані при дослідженні регенераційної здатності соняшника [206].

Результати тестування ліній-відновників фертильності пилку соняшника представлені в таблиці 5.1.



Таблиця 5.1.

**Стійкість до вовчка ліній-відновників фертильності пилку соняшника**

Лінії	Номер зразка	Загальна кількість рослин, шт.	К-ть стійких рослин	
			шт.	%
BH0118/SURES-2	101/1	20	20	100
	101/2	15	0	0
	101/3	13	0	0
	101/4	20	20	100
	101/5	16	14	87,5
	101/6	20	20	100
	101/7	18	18	100
	101/8	19	0	0
	101/9	14	0	0
	101/10	20	17	85
	Загальна кількість	175	109	62,3
BH0218/SURES-2	101/11	12	12	100
	101/12	12	12	100
	101/13	19	0	0
	101/14	19	0	0
	101/15	15	0	0
	101/16	8	8	100
	101/17	20	20	100
	101/18	20	20	100
	101/19	21	2	9,5
	101/20	15	0	0
	Загальна кількість	161	74	46

## Продовження таблиці 5.1.

BH0318/SURES-2	101/21	20	20	100
	101/22	13	11	84,6
	101/23	18	13	72,2
	101/24	15	15	100
	101/25	14	1	7,1
	101/26	13	3	23,1
	101/27	19	17	89,5
	101/28	13	13	100
	101/29	19	14	73,7
	101/30	18	18	100
	Загальна кількість	162	125	77,2
Лінії, стійкі до гербіцидів імідазолінової групи				
2	л1/1	20	17	85
3	л1/2	17	4	23,5
35	л1/3	20	20	100
19	л1/4	19	14	73,7
Стандарти стійкості та сприйнятливості до вовчка				
LG 50505 (St R)	ст1	20	20	100
LG 50505 (St S)	ст2	20	0	0

При тестування 10 ліній з кожної комбінації, стійкої до трибенурон-метилу, встановлено, що серед ліній BH0118/SURES-2 стійкими до найбільш агресивних рас (G раси) вовчка є 101/1, 101/4, 101/6, 101/7 лінії; серед ліній BH0218/SURES-2 – 101/11, 101/12, 101/16, 101/17, 101/18, та серед ліній BH0318/SURES-2 – 101/21, 101/24, 101/28, 101/30. Таким чином,

з протестованих 30 ліній-відновників фертильності пилку соняшника 13 ліній були стійкими до вовчка.

Серед ліній соняшника, стійких до імідазолінової групи гербіцидів (2, 3, 19, 35), виділено лінію 35, як високостійку до найбільш агресивної раси (G раси) вовчка (ознак ураження паразитом не виявлено у 100,0 % рослин).

## **5.2. Добір ліній-закріплювачів фертильності соняшника стійких до вовчка соняшникового**

Проведено вивчення стійкості материнських ліній (ліній-закріплювачів стерильності пилку) соняшника, стійких до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної групи, до вовчка соняшникового. Загалом нами протестовано 715 зразків материнських форм.

Серед стійких до гербіцидів імідазолінової групи протестовано 371 ліній-закріплювачів стерильності пилку соняшника, з них: 130 зразків лінії ВН320/НК Неома, 101 зразок з ВН039/ЕС Артіміс та 140 – ВН3978/Драган. Серед ліній, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи – 344 ліній, з них протестовано 105 зразків лінії Ls8A/LC1093B, 120 – Zoria FN/LC1093B та 119 – A12/LC1093B.

Тестування проводили на штучному інфекційному фоні у лабораторних умовах по аналогії з тестуванням ліній-відновників фертильності пилку соняшника.

В результаті візуальної оцінки встановлено, що стійкими до найбільш агресивної раси (G раси) вовчка є лінії: з ВН320/НК Неома – 11/15, 11/103, 11/104;

- з ВН039/ЕС Артіміс – 11/162;
- з ВН3978/Драган – 12/155, 12/156;
- з Ls8A/LC1093B – 9/10, 9/12, 9/117;
- з Zoria FN/LC1093B – 9/138, 9/166;



- з А12/LC1093В – 10/124, 10/216 (табл.5.2.).

Таблиця 5.2.

**Стійкість до вовчка ліній-закріплювачів стерильності соняшника**

Лінії	Номер зразка	Загальна кількість рослин, шт.	Кількість стійких рослин	
			шт.	%
<b>Лінії, стійкі до гербіцидів імідазолінонової групи</b>				
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
<b>Лінії, стійкі до гербіцидів сульфонілсечовинної групи</b>				
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
<b>Стандарти стійкості та сприйнятливості до вовчка</b>				
LG 50505 (St R)	ст1	20	20	100
LG 5665 (St S)	ст2	20	20	0

В результаті тестування материнських ліній нами відібрано 13 стійких до найбільш агресивної раси вовчка лінії-закріплювачі стерильності. Серед них стійкими до гербіцидів імідазолінової групи є 6 ліній, а до гербіцидів сульфонілсечовинної групи – 7 ліній.

Отже, використання штучного інфекційного фону дозволило провести прискорений та цілеспрямований добір стійких до вовчка материнських ліній (ліній-закріплювачів стерильності пилку) соняшника.

### **5.3. Висновки до розділу 5.**

В ході розробки системи добору вихідного матеріалу соняшника встановлено, що в лабораторних умовах можливо провести прискорений добір стійких до вовчка ліній.

В результаті проведеного тестування стійкості до вовчка, на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах, материнських та батьківських ліній, проведено цілеспрямований добір стійких ліній соняшника. Використання даного методу оцінки ліній соняшника дозволяє пришвидшити селекційний процес створення стійких до вовчка гібридів соняшника.

У ліній-відновників фертильності пилку, стійких до трибенурон-метилу було, виділено по чотири високостійкі до найбільш агресивнішої раси (G раси) вовчка лінії з 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 ВН0218/SURES-2. А серед ліній (2, 3, 19 та 35), стійких до гербіцидів імідазолінової групи, встановлено, що лише лінія 35 є стійкою до вовчка.

Серед материнських ліній, що стійкі до гербіцидів імідазолінової групи, стійкими до агресивної раси (G раси) вовчка є: три лінії з ВН320/НК Неома (11/15, 11/103, 11/104), з ВН039/ЕС Артіміс – одна лінія (11/162) та дві лінії з ВН3978/Драган (12/155, 12/156). Серед протестованих ліній,

стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, було встановлено, що три лінії 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) є стійкими до вовчка соняшникового.

Матеріали даного розділу представлено у публікаціях: [211], [212], [213]

## РОЗДІЛ 6

### РЕЗУЛЬТАТИВНІСТЬ СИСТЕМИ ДОБОРУ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ СОНЯШНИКА, СТІЙКОГО ДО ГЕРБІЦИДІВ ТА ВОВЧКА ЗА РІВНЕМ ГОСПОДАРСЬКОЦІННИХ ОЗНАК У F<sub>1</sub> ГІБРИДІВ

Виробництво соняшника базується на високоврожайних гібридах з комплексом господарсько-цінних ознак (стійкість до гербіцидів, стійкість до вовчка тощо). В даному розділі висвітлено практичний результат проведеного дослідження системи прискореного добору ліній соняшника, стійкого до гербіцидів та вовчка.

Опираючись на результати добору материнських та батьківських форм, що описані в попередніх розділах [206-213], нами було створено гібриди першого покоління (F<sub>1</sub>) соняшника. Дані гібриди, в залежності від типу стійкості до гербіцидів (імідазолінової (ІМІ) та сульфонілсечовинної (SU) групи), були оцінені за урожайністю та пластичністю.

В результаті широкомасштабного екологічного тестування (тестування проведено у 8 точках на території України, в різних агрокліматичних зонах) нами виділено гібриди, що відзначаються високою урожайністю при їх порівнянні зі стандартами. Так, серед SU-гібридів високоврожайним був гібрид UA 2/106 з урожайністю 2,91 т/га, а серед ІМІ-гібридів – UA 1/92, UA 1/102, UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 з урожайністю 2,76–2,91 т/га.

#### **6.1. Аналіз урожайності гібридів першого покоління (F<sub>1</sub>) соняшника, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи**

Широкомасштабне екологічне випробування гібридів проведено у 2020 році, у 8 областях України (Київська, Чернігівська, Черкаська

(Уманський та Шполянський район), Хмельницька, Харківська, Херсонська та Одеська обл.).

Гібриди соняшника було створено у зимовому розсаднику в Північній Америці (Чілі) у період 2019–2020 роках.

Гібриди першого покоління створено на основі виділених за системою добору вихідного матеріалу соняшника стійкого до гербіцидів та вовчка материнських (розділ 3.5) та батьківських ліній (розділ 4.5). Через багаторічний добір ліній за стійкістю до гербіциду певної хімічної групи гібриди в екологічному випробуванні було згруповано у блоки за стійкістю:

1 – гібриди стійкі до гербіцидів імідазалинової групи (IMI-гібриди),

2 – гібриди стійкі до гербіцидів сульфонілсечовиної групи (SU-гібриди).

Так, нами було протестовано 105 SU- та 104 IMI-гібриди. В якості стандартів використано гібриди зарубіжної селекції компаній: Syngenta (SY Sumiko, NK Neoma), Euralis (Genesis ES) та Pioneer (P64LE25).

В ході випробування 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 ( $S_i^2$ ).

Встановлено, що найбільш комфортними умовами при яких спостерігали високий врожай у гібридів, стійких до гербіцидів сульфонілсечовиної групи є умови Чернігівської та Черкаської (Шполянський район) областях, де індекс середовища становив  $I_i = 1,29$  та  $I_i = 1,00$  відповідно. Найменш комфортними, за розрахованим індексом середовища, були умови Харківської ( $I_i = -0,74$ ), Одеської ( $I_i = -0,97$ ) та Херсонської ( $I_i = -1,69$ ) областей.

Достовірно високий рівень врожайності виявлено у 50,5% SU-гібридів соняшника. Серед них виділено гібрид UA 2/110, як найменш чутливий (низькопластичний) до різноманіття екологічних умов ( $b_i = 0,72$ ) з

урожайністю 2,62 т/га. Також даний гібрид відзначався стабільністю до різних умовах середовища ( $S_i^2 = 5,01$ ).

При проведенні екологічного випробування, в кожен блок, до створених нами гібридів першого покоління, було добавлено по два стандарти (P64LE25 та SY Sumiko). Це дозволило провести їх порівняння за урожайністю в конкретних умовах. Тому, при визначенні пластичності усіх протестованих гібридів, стандарти потрапили до різних груп (високопластичних та середньопластичних).

З 53 високоврожайних SU-гібридів до високопластичних ( $b_i = 1,17-1,38$ ) віднесено 15 гібридів (UA 2/114, UA 2/117, UA 2/129, UA 2/136, UA 2/162, UA 2/186, UA 2/189, UA 2/204, UA 2/205, UA 2/206, UA 2/207, UA 2/235), серед яких є стандарти P64LE25 та SY Sumiko з урожайністю 2,57–2,94 т/га. До середньопластичних ( $b_i = 0,84-1,15$ ) віднесено 37 гібридів (UA 2/101, UA 2/104, UA 2/105, UA 2/106, UA 2/107, UA 2/109, UA 2/115, UA 2/118, UA 2/123, UA 2/124, UA 2/130, UA 2/131, UA 2/132, UA 2/143, UA 2/166, UA 2/169, UA 2/170, UA 2/172, UA 2/177, UA 2/184, UA 2/187, UA 2/192, UA 2/202, UA 2/208, UA 2/209, UA 2/210, UA 2/211), P64LE25 та SY Sumiko з урожайністю 2,55–2,91 т/га.

Детальну характеристику екологічної пластичності та стабільності урожайності SU-гібридів соняшника надано у додатку А.

Таблиця 6.1.

## Характеристика високоврожайних SU-гібридів соняшника за адаптивністю

Кодовий номер	Урожайність гібридів, т/га									Параметри адаптивності		Тип пластичності
	Одеська обл.	Херсонська обл.	Черкаська обл. (Шполянський р-н)	Київська обл.	Черкаська (Уманський район)	Хмельницька обл.	Харківська обл.	Чернігівська обл.	Середня урожайність	Стабільність, $S_i^2$	Коефіцієнт екологічної пластичності, $b_i$	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
UA 2/204	1,02	0,6	3,74	3,73	3,41	3,07	2,14	4,8	2,81	16,12	1,38	ВП
UA 2/117	1,16	0,44	3,8	3,37	2,55	3,07	2,24	4,58	2,65	14,32	1,3	ВП
UA 2/206	1,06	0,85	4,09	2,95	3,14	3,61	1,24	4,24	2,65	14,43	1,3	ВП
SY Sumiko	1,19	1,05	4,41	3,23	2,84	3,67	1,9	4,52	2,85	13,95	1,28	ВП
P64LE25	1,25	0,52	3,48	3,23	2,56	3,02	2,36	4,99	2,68	13,89	1,27	ВП
UA 2/207	1,29	0,48	3,66	3,18	3,35	3,18	1,8	4,33	2,66	13,66	1,27	ВП
UA 2/205	1,49	0,56	3,67	3,34	3,18	2,58	1,72	4,53	2,63	13,43	1,26	ВП
UA 2/162	1,22	0,86	4,29	3,13	2,39	3,27	2,1	4,52	2,72	13,27	1,25	ВП
UA 2/136	1,5	0,63	4,11	3,85	2,75	2,81	1,82	4,08	2,69	13,11	1,24	ВП
UA 2/129	1,51	0,74	4,38	3,56	2,81	2,51	1,28	3,72	2,57	12,65	1,22	ВП
UA 2/189	1,06	0,8	3,49	2,99	2,96	3,98	1,94	4,49	2,71	12,62	1,21	ВП
P64LE25	2,13	0,36	3,53	3,56	3,37	3,98	2,17	4,44	2,94	12,45	1,2	ВП
UA 2/186	1,38	0,99	4,05	3,19	2,7	2,87	1,61	4,41	2,65	12,15	1,2	ВП

*Продавження таблиці б.1.*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
UA 2/235	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,5	1,32	4,79	2,66	12,21	1,18	ВП
UA 2/114	1,95	0,75	3,7	3,39	2,94	3,13	1,93	4,64	2,8	11,62	1,17	ВП
UA 2/235	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,5	1,32	4,79	2,66	12,21	1,18	ВП
SY Sumiko	1,7	1	4,75	3,16	2,93	2,79	2,25	4,14	2,84	11,22	1,15	СП
P64LE25	1,68	0,41	2,92	3,04	3,06	3,58	1,99	4,51	2,65	11,11	1,13	СП
UA 2/115	1,98	0,53	4,2	3,44	2,74	3,25	1,71	3,61	2,68	10,79	1,12	СП
P64LE25	1,34	0,4	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,6	10,72	1,12	СП
UA 2/209	1,82	0,6	3,35	2,9	2,96	3,52	1,75	4,4	2,66	10,76	1,12	СП
UA 2/211	1,45	0,64	3,39	2,84	3,03	3,29	1,84	4,22	2,59	10,62	1,12	СП
SY Sumiko	1,34	0,4	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,6	10,72	1,12	СП
SY Sumiko	1,67	1,1	3,8	3,08	3,56	2,96	1,41	4,14	2,71	10,27	1,1	СП
SY Sumiko	2	0,84	3,46	2,95	3,18	3,46	1,71	4,47	2,76	10,09	1,09	СП
UA 2/187	2,13	0,75	3,28	2,92	2,85	3,21	1,42	4,51	2,64	10,05	1,08	СП
UA 2/130	1,5	0,84	3,45	3,54	2,94	1,98	2,25	4,29	2,6	9,71	1,06	СП
P64LE25	1,53	0,75	2,91	3,86	3,25	2,99	2,54	4,38	2,78	9,58	1,05	СП
UA 2/101	2	0,69	3,31	4,19	2,51	2,41	1,57	3,83	2,56	9,41	1,04	СП
SY Sumiko	1,46	1,27	3,61	3,45	2,59	3,44	1,8	4,23	2,73	9,3	1,04	СП
UA 2/210	1,5	0,63	3,52	2,65	3,23	3,96	1,76	3,63	2,61	9,47	1,04	СП
UA 2/118	1,93	0,82	3,32	3,04	2,84	3,1	1,64	4,12	2,6	8,7	1,01	СП
UA 2/170	1,71	0,94	3,7	3,28	3,18	2,89	1,76	3,76	2,65	8,67	1,01	СП
UA 2/177	1,71	0,95	3,99	2,64	3,23	2,66	1,98	3,98	2,64	8,78	1,01	СП
UA 2/202	1,28	0,75	3,57	2,8	2,75	3,02	2,57	4	2,59	8,7	1,01	СП
UA 2/143	1,84	0,96	3,64	3,44	2,67	2,74	1,81	3,95	2,63	8,45	1	СП

*Продавження таблиці б.1.*



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
UA 2/166	1,2	1,23	3,64	2,98	2,95	2,44	2,3	4,21	2,62	8,35	0,99	СП
UA 2/132	1,71	0,75	3,18	3,63	2,85	2,55	1,91	3,79	2,55	8,17	0,98	СП
UA 2/131	1,97	0,67	3,15	3,75	2,99	2,15	2,16	3,94	2,6	8,08	0,97	СП
SY Sumiko	1,18	0,96	4,05	3,11	2,91	2,75	3,24	3,85	2,76	8,23	0,97	СП
P64LE25	1,18	0,96	4,05	3,11	2,91	2,75	3,24	3,85	2,76	8,23	0,97	СП
UA 2/106	2,13	1,3	4,01	3,96	3,31	2,37	2,21	3,96	2,91	7,83	0,95	СП
UA 2/109	1,86	0,86	3,48	3,94	2,81	2,59	2,16	3,62	2,67	7,67	0,94	СП
UA 2/184	1,07	1,03	3,68	2,93	3	3,56	2,22	3,38	2,61	7,74	0,94	СП
UA 2/104	1,7	1,08	4,02	3,47	2,66	2,57	1,8	3,31	2,58	7,42	0,93	СП
UA 2/105	2,07	0,65	3,66	3,12	3,29	2,16	2,03	3,47	2,56	7,32	0,92	СП
UA 2/107	1,85	0,79	3,42	3,37	2,93	2,51	2,15	3,62	2,58	7,11	0,91	СП
UA 2/192	2,05	1,23	3,59	2,88	2,77	2,86	1,73	4,1	2,65	6,97	0,91	СП
UA 2/123	2,72	1,06	3,55	3,42	3,03	2,16	1,59	4,03	2,69	6,91	0,89	СП
UA 2/124	1,54	1,75	3,37	3,53	2,71	2,09	1,44	4,14	2,57	6,89	0,89	СП
UA 2/172	1,46	1,16	2,93	2,65	3	3,19	1,95	4,13	2,56	6,8	0,89	СП
UA 2/169	2,16	0,67	2,96	3,45	2,91	2,34	2,38	3,75	2,58	6,11	0,84	СП
UA 2/208	2,33	1	3,08	2,3	2,74	2,68	1,96	4,46	2,57	6,26	0,84	СП
UA 2/110	3,3	0,94	3,13	3,25	1,9	3,41	1,38	3,68	2,62	5,01	0,72	НП
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 <sub>i</sub> )	-0,97	-1,69	1,00	0,52	0,24	0,15	-0,74	1,29	–	–	–	–
НІР <sub>05</sub>	0,08	0,05	0,08	0,08	0,07	0,11	0,08	0,11	0,04	–	–	–
σ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,17	2,77	–

Загалом серед 105 гібридів соняшника, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, вивчених за екологічною пластичністю урожайності у 8 точках України, достовірно високий рівень урожайності відмічений у 53 гібридів, який коливався у межах 2,55–2,94 т/га. Частка таких гібридів становила 50,5 %.

За результатами досліджень екологічної пластичності урожайності гібридів соняшника, створених основі ліній стійких до гербіцидів та вовчка виявлено:

- до високопластичних ( $b_i = 1,17-1,38$ ) віднесено 18 гібридів. З них високоврожайними є 15 гібридів, рівень ознаки яких становив 2,57–2,94 т/га;

- до середньопластичних віднесено 72 гібрида ( $b_i = 0,83-1,16$ ), з яких 37 гібридів є високоврожайними (2,55–2,91 т/га). Високу стабільність відтворення рівня урожайності за різних умов середовища локацій екологічних випробувань встановлено у гібридів UA 2/140 та UA 2/154 ( $S_i^2 = 5,92$  та  $S_i^2 = 6,01$ , відповідно);

- до низькопластичних віднесено 15 гібридів ( $b_i = 0,60-0,82$ ). З них гібрид UA 2/110 за рівнем урожайності 2,62 т/га визнано високоврожайним. Дана група гібридів мала високу стабільність відтворення ознаки за різних умов середовища ( $S_i^2 = 3,11-5,81$ ).

Аналізуючи отримані дані по блоку SU-гібридів, нами виділено гібрид UA 2/106, як один з найурожайніших, за перевищенням показників урожайності стандартів SY Sumiko та P64LE25 на 3,9%.

Таким чином, нами встановлено ефективність добору вихідних ліній соняшника з певними ознаками за результатами їх практичного використання в гібридах першого покоління.

## 6.2. Аналіз урожайності та пластичності гібридів F<sub>1</sub> стійких до гербіцидів імідазолінової групи

Серед гібридів соняшника, залучених до екологічних випробувань, блок гібридів, стійких до гербіцидів імідазолінової групи (ІМІ-гібриди) представлено 104 зразками. Шість з них (UA 1/23, UA 1/24, UA 1/25, UA 1/26, UA 1/27, UA 1/28) були створені за участю ліній виділених за прискореної системи добору материнських та батьківських ліній, стійких до гербіцидів та вовчка, а решта – 98 гібридів були використані для отримання достовірних результатів при статистичній обробці даних. З них 74 гібрида являються експериментальними гібридами компанії ВНІС та 24 стандарти з якими проводили порівняння за урожайністю.

В результаті випробування, встановлено, що частка високоврожайних гібридів становила 46,1 % з середньою урожайністю 2,55–2,91 т/га. Серед шести гібридів, що були створені із залученням виділених нами ліній, високоврожайними є два гібриди: UA 1/23 та UA 1/28 з урожайністю 2,55 та 2,75 т/га, відповідно.

За рівнем коефіцієнту екологічної пластичності ( $b_i$ ), високоврожайні гібриди розподілені на три групи. До високопластичних віднесено 16 гібридів ( $b_i = 1,18–1,36$ ) з урожайністю в межах 2,55–2,91 т/га, середньопластичними є 25 гібридів з коефіцієнтом екологічної пластичності 0,83–1,13 та урожайністю 2,56–2,76 т/га, а до низькопластичних ( $b_i = 0,60–0,79$ ) віднесено 7 гібридів з урожайністю 2,55–2,58 т/га. Однак серед високопластичних гібридів 56,0 % були стандарти – НК Neoma та Genesis ES, що свідчить про їх високу адаптивність до різних умов вирощування.

В таблиці 6.2. представлені результати високоврожайних ІМІ гібридів соняшника, а загальні результати тестування представлені у додатку Б.

Таблиця 6.2.

## Характеристика високоврожайних ІМІ гібридів соняшника за адаптивністю

Кодовий номер	Урожайність, т/га									Параметри адаптивності		Тип пластичності
	Одеська обл.	Херсонська обл.	Черкаська обл., Шполянський р-н	Київська обл.	Черкаська обл., Уманський р-н	Хмельницька обл.	Харківська обл.	Чернігівська обл.	Середня урожайність	Стабільність, $S_i^2$	Коефіцієнт екологічної пластичності, $b_i$	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
NK Neoma	0,60	0,52	4,74	2,81	2,67	3,05	2,13	4,04	2,57	9,45	1,36	ВП
UA 1/62	0,98	0,66	4,16	3,06	2,83	3,28	1,57	4,31	2,61	8,39	1,29	ВП
UA 1/76	0,98	0,66	4,16	3,06	2,83	3,28	1,57	4,31	2,61	8,39	1,29	ВП
NK Neoma	1,12	0,70	4,27	3,35	2,67	3,48	2,12	3,76	2,68	7,64	1,21	ВП
NK Neoma	1,12	0,70	4,27	3,35	2,67	3,48	2,12	3,76	2,68	7,64	1,21	ВП
NK Neoma	1,12	0,70	4,27	3,35	2,67	3,48	2,12	3,76	2,68	7,64	1,21	ВП
UA 1/92	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	7,45	1,21	ВП
Genesis ES	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	7,45	1,21	ВП
UA 1/102	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	7,45	1,21	ВП
Genesis ES	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	7,45	1,21	ВП
Genesis ES	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	7,45	1,21	ВП
UA 1/48	1,22	0,52	3,36	4,02	2,79	3,06	1,67	3,80	2,55	7,55	1,19	ВП
NK Neoma	1,68	0,40	4,16	3,31	2,51	3,42	2,39	3,90	2,72	7,57	1,18	ВП

Продовження табл. 6.2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
NK Neoma	1,68	0,40	4,16	3,31	2,51	3,42	2,39	3,90	2,72	7,57	1,18	ВП
UA 1/94	1,68	0,40	4,16	3,31	2,51	3,42	2,39	3,90	2,72	7,57	1,18	ВП
UA 1/65	1,30	0,39	3,69	4,19	2,51	2,83	2,28	3,40	2,57	7,56	1,18	ВП
UA 1/83	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	7,15	1,13	СП
UA 1/100	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	7,15	1,13	СП
UA 1/49	1,27	0,44	3,52	3,91	2,96	3,05	2,07	3,28	2,56	7,08	1,13	СП
UA 1/50	1,27	0,44	3,52	3,91	2,96	3,05	2,07	3,28	2,56	7,08	1,13	СП
UA 1/73	1,27	0,44	3,52	3,91	2,96	3,05	2,07	3,28	2,56	7,08	1,13	СП
NK Neoma	1,57	0,73	3,98	3,37	2,10	2,95	2,08	4,12	2,61	6,27	1,12	СП
NK Neoma	1,76	0,38	3,84	3,08	2,60	3,52	2,62	4,02	2,73	7,07	1,12	СП
UA 1/23	1,84	0,63	4,04	3,88	2,71	2,89	2,27	3,74	2,75	6,53	1,11	СП
UA 1/60	1,41	0,59	3,43	3,87	2,85	3,43	2,49	3,72	2,72	6,90	1,11	СП
UA 1/56	1,48	0,61	3,91	4,06	2,26	3,36	1,88	2,97	2,56	6,56	1,10	СП
UA 1/55	1,74	0,76	3,74	3,89	3,22	3,03	1,59	3,73	2,71	6,43	1,10	СП
UA 1/89	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,50	1,32	4,79	2,66	5,58	1,07	СП
UA 1/101	2,03	1,15	4,56	2,69	2,22	2,50	1,32	4,79	2,66	5,58	1,07	СП
UA 1/88	1,45	0,64	3,39	2,84	3,03	3,29	1,84	4,22	2,59	6,31	1,07	СП
UA 1/61	1,46	0,81	3,73	3,50	3,44	3,06	2,06	3,74	2,72	6,17	1,06	СП
NK Neoma	1,74	0,80	3,97	2,71	2,57	4,06	2,18	4,03	2,76	6,13	1,04	СП
NK Neoma	1,74	0,80	3,97	2,71	2,57	4,06	2,18	4,03	2,76	6,13	1,04	СП
UA 1/87	1,50	0,63	3,52	2,65	3,23	3,96	1,76	3,63	2,61	6,21	1,02	СП
UA 1/84	1,18	0,96	4,05	3,11	2,91	2,75	3,24	3,85	2,76	5,66	1,01	СП
NK Neoma	1,57	0,62	3,82	3,61	2,48	2,72	2,81	3,33	2,62	5,55	1,00	СП

Продовження табл. 6.2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
UA 1/83	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	7,15	1,13	СП
UA 1/66	2,76	0,39	3,69	4,19	2,51	2,83	2,28	3,40	2,76	5,63	0,97	СП
UA 1/67	2,53	0,60	3,31	3,89	2,53	2,89	2,21	4,13	2,76	5,35	0,97	СП
UA 1/86	1,71	0,95	3,99	2,64	3,23	2,66	1,98	3,98	2,64	4,89	0,96	СП
UA 1/59	1,71	1,09	3,38	3,97	2,69	2,66	2,64	3,65	2,72	4,32	0,89	СП
UA 1/85	1,46	1,16	2,93	2,65	3,00	3,19	1,95	4,13	2,56	3,93	0,83	СП
UA 1/39	1,80	0,91	3,21	3,36	2,72	3,19	2,22	2,97	2,55	3,62	0,79	НП
UA 1/81	1,80	0,91	3,21	3,36	2,72	3,19	2,22	2,97	2,55	3,62	0,79	НП
UA 1/98	1,80	0,91	3,21	3,36	2,72	3,19	2,22	2,97	2,55	3,62	0,79	НП
UA 1/28	1,87	1,05	3,66	2,91	3,47	1,50	2,37	3,59	2,55	3,57	0,78	НП
NK Neoma	1,68	1,04	2,28	3,74	2,91	2,97	2,91	3,15	2,58	3,11	0,66	НП
UA 1/58	1,20	2,00	4,05	2,16	2,50	3,13	2,39	3,06	2,56	2,04	0,60	НП
Середнє	1,45	0,70	3,61	3,31	2,63	2,83	2,13	3,50	2,52	–	1,00	–
НІР <sub>05</sub>	0,07	0,05	0,09	0,09	0,06	0,09	0,07	0,12	0,03	–	–	–
Індекс середовища (I <sub>i</sub> )	-1,07	-1,82	1,09	0,79	0,11	0,31	-0,39	0,98	–	–	–	–
σ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,57	0,17	–

Таким чином, у результаті екологічних випробувань гібридів соняшника встановлено, що 18,3% гібридів відносяться до високопластичних гібридів ( $b_i = 1,17-1,36$ ), 66,3% – середньопластичні ( $b_i = 0,83-1,13$ ) та 15,4% – низькопластичні ( $b_i = 0,66-0,82$ ) гібриди.

Стабільний урожай за різних умов середовища виявлено у 21-го гібриду соняшника: NK Neoma, UA 1/24, UA 1/27, UA 1/28, UA 1/30, UA 1/32, UA 1/33, UA 1/39, UA 1/41, UA 1/45, UA 1/58, UA 1/68, UA 1/69, UA 1/71, UA 1/75, UA 1/78, UA 1/81, UA 1/85, UA 1/95, UA 1/96, UA 1/98 ( $S_i^2 = 2,04-4,0$ ). Переважна більшість даних гібридів віднесено до групи низькопластичних.

Серед гібридів, що були створені на основі виділених ліній впродовж років дослідження (UA 1/23, UA 1/24, UA 1/25, UA 1/26, UA 1/27, UA 1/28), серед високоурожайних виділено гібрид UA 1/23 (2,75 т/га), як середньопластичний та UA 1/28 (2,55 т/га), як низькопластичний. Гібриди UA 1/24, UA 1/27, UA 1/28 виділені, як ті, що мають високу стабільність урожайності, незалежно від різних умов середовища ( $S_i^2 = 3,20-3,57$ ).

Серед ІМІ-гібридів виділено гібриди UA 1/92 та UA 1/102, як одні з найврожайніших (2,91 т/га), через показники одного рівня зі стандартом Genesis ES. Урожайність високоурожайних гібридів UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 знаходяться на одному рівні з NK Neoma – 2,76 т/га.

Таким чином, гібриди UA 1/92, UA 1/102, UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84, виділено як гібриди соняшника, з достовірно високим рівнем урожайності.

### **6.3. Висновки до розділу 6**

В результаті широкомасштабних випробувань, що були проведенні в рамках дисертаційної роботи, було протестовано гібриди зі стійкістю до гербіцидів імідазолінової та сульфонілсечовинної групи. Дані гібриди створені на основі ліній отриманих за системи прискореного добору вихідного матеріалу соняшника, стійкого до гербіцидів та вовчка за використання

методів молекулярної біології та біотехнології. Як результат, нами встановлено:

1. Під час аналізу показників урожайності гібридів, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, встановлено, що 50,5 % гібридів соняшника мають достовірно високий рівень урожайності – 2,55–2,94 т/га. Виділено гібрид UA 2/106, урожайність якого перевищує стандарти SY Sumiko та P64LE25 на 3,9%.

Виділено високоврожайні SU-гібриди з різним типом екологічної пластичності:

- гібрид UA 2/110 з урожайністю 2,62 т/га, як низькопластичний ( $b_i = 0,72$ );
- 15 гібридів UA 2/114, UA 2/117, UA 2/129, UA 2/136, UA 2/162, UA 2/186, UA 2/189, UA 2/204, UA 2/205, UA 2/206, UA 2/207, UA 2/235 з урожайністю в межах 2,57–2,94 т/га, окрім P64LE25 та SY Sumiko, як високопластичні ( $b_i = 1,17–1,38$ );
- 37 гібридів UA 2/101, UA 2/104, UA 2/105, UA 2/106, UA 2/107, UA 2/109, UA 2/115, UA 2/118, UA 2/123, UA 2/124, UA 2/130, UA 2/131, UA 2/132, UA 2/143, UA 2/166, UA 2/169, UA 2/170, UA 2/172, UA 2/177, UA 2/184, UA 2/187, UA 2/192, UA 2/202, UA 2/208, UA 2/209, UA 2/210, UA 2/211 з урожайністю в межах 2,55–2,91 т/га, P64LE25 та SY Sumiko (2,55–2,91 т/га), як середньопластичні ( $b_i = 0,84–1,15$ ).

2. Серед гібридів, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, протестованих у екологічному випробуванні, встановлено, що частка високоурожайних гібридів (2,55–2,91 т/га) становила 46,1 %.

Виділено гібриди UA 1/92 та UA 1/102, які за підсумками усереднених даних по урожайності (2,91 т/га) у 8 точках України були на рівні стандарту Genesis ES. Також встановлено, що урожайність гібридів UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84 (2,76 т/га) відповідає рівню ознаки стандарту NK Neoma.

Встановлено, що серед високоврожайних ІМІ-гібридів до високопластичних ( $b_i = 1,17–1,36$ ), за рівнем коефіцієнту екологічної



пластичності ( $b_i$ ) віднесено 16 гібридів: UA 1/102, UA 1/48, UA 1/62, UA 1/65, UA 1/76, UA 1/92, UA 1/94, Genesis ES, NK Neoma з урожайністю 2,55–2,91 т/га. До середньопластичних ( $b_i = 0,83–1,13$ ) – 25 гібридів UA 1/100, UA 1/101, UA 1/23, UA 1/49, UA 1/50, UA 1/55, UA 1/56, UA 1/59, UA 1/60, UA 1/61, UA 1/66, UA 1/67, UA 1/73, UA 1/83, UA 1/84, UA 1/85, UA 1/86, UA 1/87, UA 1/88, UA 1/89, NK Neoma, з урожайністю 2,56–2,76 т/га. До низькопластичних ( $b_i = 0,66–0,82$ ) – 7 гібридів UA 1/28, UA 1/39, UA 1/58, UA 1/75, UA 1/81, UA 1/98, NK Neoma з урожайністю 2,55–2,58 т/га.

Серед шести гібридів, створених за участю виділених нами материнських та батьківських ліній, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, два з них (UA 1/28 (2,55 т/га) та UA 1/23 (2,75 т/га)) за рівнем прояву ознаки 2,55 т/га і 2,75 т/га, відповідно, віднесено до високоурожайних.

3. Таким чином, за визначеними коефіцієнтами екологічної пластичності та стабільності урожайності, отриманій у широкомасштабному екологічному випробуванні, гібриди охарактеризовані за адаптивністю до агроекологічних умов регіону вирощування у виробництві.

Результати даного розділу опубліковану у роботах: [214, 215].

## ВИСНОВКИ

У дисертації сформульовано, обґрунтовано та розв'язано актуальне науково-практичне завдання: розробка системи прискореного добору батьківських ліній соняшника, стійких до гербіцидів та вовчка соняшникового.

1. Підтверджено, що регенерація в культурі *in vitro* соняшника є генотипзалежною. Серед протестованих ліній 2, 3, 19 та 35 отримати фертильні рослини-регенеранти вдалось у лінії 3 та 35.

2. Виявлено, що індукція адвентивних пагонів відбувається на модифікованому середовищі MCH1, що доповнено 2 mg/l 2-iP, 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l TDZ. Середовищем для елонгації пагонів є модифіковане середовище MCH7, яке доповнено 1 mg/l 2-iP та 0,5 mg/l BAP.

3. Встановлено, що за використання культури незрілих зародків соняшника можливо провести прискорений добір ліній-відновників фертильності пилку, стійких до трибенурон-метилу. В результаті схрещування ліній BH0118, BH0218 та BH0318 з лінією-донором стійкості до трибенурон-метилу SURES-2 нами відібрано по 10 стійких ліній соняшника.

4. Відібрано лінії-закріплювачі стерильності соняшника (709 ліній) при використанні SCAR-маркера HRG01. Використання даного маркера дозволило провести ідентифікацію гена відновлення фертильності пилку (*Rf1*) та відібрати генотипи, що містять рецесивний ген *rf1*. Генотип цих ліній (*Nrf1rf1*) було підтверджено, як молекулярним аналізом, так і аналізуючим схрещуванням.

5. В ході розробки системи прискореного добору вихідного матеріалу соняшника встановлено, що тестування ліній за стійкістю до рослини-паразита вовчка соняшникового на штучному інфекційному фоні в лабораторних умовах дозволяє проводити цілеспрямований добір стійких ліній.

В результаті встановлено, що серед ліній-відновників фертильності пилку, стійких до трибенурон-метилу, стійкими до вовчка є лінії:

- ВН0118/SURES-2 (101/1, 101/4, 101/6, 101/7),
- ВН0218/SURES-2 (101/11, 101/12, 101/16, 101/17, 101/18),
- ВН0318/SURES-2 (101/21, 101/24, 101/28, 101/30),

Серед ліній соняшника, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, стійкою до вовчка є лінія 35.

Встановлено, що стійкими до вовчка серед материнських ліній, стійких до гербіцидів імідазолінової групи, є ВН320/НК Неома (11/15, 11/103, 11/104), ВН039/ЕС Артіміс (11/162), ВН3978/Драган (12/155, 12/156). Серед ліній, стійких до трибенурон-метилу, стійкими до вовчка є Ls8A/LC1093B (9/10, 9/12, 9/117), Zoria FN/LC1093B (9/138, 9/166) та A12/LC1093B (10/124, 10/216).

6. Проаналізовано гібриди соняшника за урожайністю та адаптивністю, що були створені на основі відібраних лініях, за прискореної системи добору ліній соняшника, що базувалась на поетапному застосуванні молекулярно-біологічних, біотехнологічних та класичних методів селекції. В результаті екологічного тестування нами встановлено, серед гібридів, стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи, найурожайнішими серед протестованих є гібрид UA 2/106, а серед гібридів, стійких до гербіцидів імідазолінової групи є – UA 1/67, UA 1/66, UA 1/84, UA 1/92 та UA 1/102.

7. Таким чином, запропонована система прискореного добору ліній, стійких до вовчка та гербіцидів, є ефективною, що підтверджено тестуванням гібридів першого покоління соняшника.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Шкорич Д., Сейлер Дж., Лью Ж., Жан Ч.-Ч., Миллер Дж. Ф., Шарле Л. Д. Генетика и селекция подсолнечника / Драган Шкорич, Джеральд Дж. Сейлер, Жао Лью и др.: междунар. монографія / Сербская академия наук и искусств, Ассоциация «Селекция и семеноводство подсолнечника» г. Харьков. – Х.: НТМТ, 2015- 540с.
2. Seiler, G.J., Qi, L.L., & Marek, L.F. (2017). Utilization of sunflower crop wild relatives for cultivated sunflower improvement. *Crop Science*, 57, 1083-1101. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0856>
3. Vear F. (2016). Changes in sunflower breeding over the last fifty years. *Oilseeds & Crops and Lipids*, 23(2), 1-8. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016006>
4. Dimitrijevic, A., & Horn, R. (2018). Sunflower Hybrid Breeding: From Markers to Genomic Selection. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-20. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02238>
5. Friedt, W. (1992). Present state and future prospects of biotechnology in sunflower breeding. *Field Crops Research*, 30(3-4), 425-442. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(92\)90009-X](https://doi.org/10.1016/0378-4290(92)90009-X)
6. Friedt, W., Nurhidayah, T., Röcher, T., Köhler, H., Bergmann, R., & Horn, R. (1997). Haploid production and application of molecular methods in sunflower (*Helianthus annuus* L.). In: Jain, S.M. (ed): *In vitro* haploid production in higher plants. Kluwer Ac. Publ., Amsterdam. 1997. P. 17-35. doi:10.1007/978-94-017-1856-1\_2
7. Finer J. (1987). Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.) on a high sucrose-containing medium. *Plant Cell Reports*, 6(5), 372-374. <https://sci-hub.se/10.1007/BF00269564>
8. Malone-Schoneberg, J., Scelonge, C.J., Burrus, M., & Bidney, D. L. (1994). Stable transformation of sunflower using *Agrobacterium* and split

embryonic axis explants. *Plant Science*, 103(2), 199-207.  
[https://doi.org/10.1016/0168-9452\(94\)90208-9](https://doi.org/10.1016/0168-9452(94)90208-9)

9. 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

10. Montathong, K., Machikowa, T., & Muangsan, N. (2019). Cytological and food reserve changes in sunflower cotyledons *in vitro*. *Suranaree Journal of Science & Technology*, 26(2), 141-150.

11. Soroka, A., & Lyakh, V. (2009). Genetic variability in sunflower after mutagen treatment of immature embryos of different ages. *Helia*, 32(51), 33-45.  
<https://doi.org/10.2298/HEL0951033S>

12. Кириченко, В. В. Селекция и семеноводство подсолнечника (*Heliantus annuus* L.). – Харьков, 2005. – 385.

13. Зінченко, О. І., Салатенко, В. Н., Білоножко, М. А. Рослинництво: Підручник — К.: Аграрна освіта, 2001. — 591 с.

14. Rieseberg, L. H., Choi, H., Chan, R., & Spore, C. (1993). Genomic map of a diploid hybrid species. *Heredity*, 70, 285-285. doi:10.1038/hdy.1993.41

15. Berry, S. T., León, A. J., Hanfrey, C. C., Challis, P., Burkholz, A., & Barnes S. R. (1995). Molecular marker analysis of *Helianthus annuus* L. 2. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 91(2), 195-199. <https://doi.org/10.1007/bf00220877>

16. Gentzbittel, L., Vear, F., Zhang, Y. X., & Berville A. (1995) Development of a consensus linkage RFLP map of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 90, 1079-1086. doi:10.1007/bf00222925

17. Jan, C. C., Vick, B. A., Miller, J. K., Kahler, A. L., & Butler E. T. I. (1998). Construction of a RFLP linkage map for cultivated sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 15-22.

18. Kane, N. C., Burke, J. M., Marek, L., Seiler, G., Vear, F., Baute, G., & Rieseberg L. H. (2012). Sunflower genetic, genomic and ecological resources. *Molecular Ecology Resources*, 13(1), 10-20. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12023>
19. Serieys, H. "Identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources in the FAO subnetwork," in *Proceedings of the Sunflower Subnetwork Progress Report* (Rome: FAO), 2005, 47-53.
20. Leclercq, P. (1969). Une sterilité mâle cytoplasmique chez le tournesol. *Ann. Amelior Plantes*, 19, 99-106.
21. Yue, B., Vick, B. A., Cai, X., & Hu J. (2010). Genetic mapping for the *Rf<sub>1</sub>* (fertility restoration) gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by SSR and TRAP markers. *Plant Breeding*, 129(1), 24-28. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01661.x>
22. Horn, R., Kusterer, B., Lazarescu, E., Prufe, M., & Fried, W. (2003). Molecular mapping of the *Rf<sub>1</sub>* gene restoring pollen fertility in PET1-based F<sub>1</sub> hybrids in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 599-606. doi: 10.1007/s00122-002-1078-y
23. 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. Серія біологія*, 2014. Вип. 3 (33). с. 66-70.
24. Markin, N., Usatov, A., Makarenko, M., Azarin, K., Gorbachenko, O., Kolokolova, N., Usatenko, T., Markina, O., & Gavrilova, V. (2017). Study of informative DNA markers of the *Rf<sub>1</sub>* gene in sunflower for breeding practice. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 53, 69-75. doi:10.17221/108/2016-CJGPB
25. Liu, Z., Mulpuri, S., Feng, J., Vick, B. A., & Jan, C.-C. (2011). Molecular mapping of the *Rf<sub>3</sub>* fertility restoration gene to facilitate its utilization in breeding confection sunflower. *Molecular Breeding*, 29(2), 275-284. doi:10.1007/s11032-011-9563-0

26. Feng, J., & Jan, C.-C. (2008). Introgression and molecular tagging of *Rf<sub>4</sub>*, a new male fertility restoration gene from wild sunflower *Helianthus maximiliani* L. *Theoretical and Applied Genetics*, *117*(2), 241-249. doi: 10.1007/s00122-008-0769-4.
27. Kusterer, B., Horn, R., & Friedt, W. (2005). Molecular mapping of the fertility restoration locus *Rf<sub>1</sub>* in sunflower and development of diagnostic markers for the restorer gene. *Euphytica*, *143*, 35-42. doi:10.1007/s10681-005-1795-9
28. Qi, L. L., Seiler, G. J., Vick, B. A., & Gulya, T. J. (2012). Genetics and mapping of the *R<sub>11</sub>* gene conferring resistance to recently emerged rust races, tightly linked to male fertility restoration, in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *125*, 921-932. doi: 10.1007/s00122-012-1883-x.
29. Liu, Z., Wang, D., Feng, J., Seiler, G. J., Cai, X., & Jan, C.-C. (2013). Diversifying sunflower germplasm by integration and mapping of a novel male fertility restoration gene. *Genetics*, *193*(3), 727-737. doi: 10.1534/genetics.112.146092.
30. Talukder, Z. I., Ma, G., Hulke, B. S., Jan C.-C., & Qi, L. (2019). Linkage Mapping and Genome-Wide Association Studies of the *Rf* Gene Cluster in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) and Their Distribution in World Sunflower Collections. *Frontiers in Genetics*, *10*, 1-10. doi: 10.3389/fgene.2019.00216.
31. Horn, R., Radanovi, A., Fuhrmann, L., Sprycha, Y., Hamrit, S., Jockovic, M., Miladinovic, D., & Jansen, C. (2019). Development and validation of markers of the fertility restorer gene *Rf<sub>1</sub>* in sunflower. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*, 1260. doi: 10.3390/ijms20061260.
32. Kumar, K., Mandal, S. N., Deshpande, S. P., & Mehtre, S. P. (2017). Assessment of molecular diversity of CMS, maintainer and restorer lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.) using RAPD, ISSR and SSR markers. *Journal of Crop and Weed*, *13*(2), 95-101.
33. Pacureanu-Joita M., Vranceanu A.V., Scare G., Marinescu A., Sandu I. 1998. The evaluation of the parasite-host interaction in the system *Helianthus*

*annuus* L. *Orobanche cumana* Wallr. in Romania. *Proc. of the 2nd Balkan Symposium on Field Crops*. 1998. Vol. 1. P. 153 – 157.

34. Martín-Sanz, A., Pérez-Vich, B., Rueda, S., Fernández-Martínez, J. M., & Velasco, L. (2020). Characterization of post-haustorial resistance to sunflower broomrape. *Crop Science*, 60(3), 1188-1198. <https://scihub.se/https://doi.org/10.1002/csc2.20002>

35. Akhtouch, B., del Moral, L., Leon, A., Velasco, L., Fernández-Martínez, José M., & Pérez-Vich, B. (2016). Genetic study of recessive broomrape resistance in sunflower. *Euphytica*, 209(2), 419-428. <https://scihub.se/https://doi.org/10.1007/s10681-016-1652-z>

36. Iuoras, M., Stanciu, D., Ciuca, M., Nastase, D., & Geronzi F. (2004). Preliminary studies related to the use of marker assisted selection for resistance of *Orobanche cumana* Wallr. in sunflower. *Romanian Agricultural Research*, 21, 33-37.

37. Imerovski, I., Dimitrijevic, A., Miladinovic, D., Dedic, B., Jovic, S., Kovacevic, B., & Obreht, D. (2012). Identification of PCR markers linked to different *Or* genes in sunflower. *Plant Breeding*, 132(1), 115-120. [doi:10.1111/pbr.12022](https://doi.org/10.1111/pbr.12022)

38. 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. <https://scihub.se/https://doi.org/10.1007/s10681-015-1597-7>

39. 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), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00590>

40. Letousey, P., Zélicourt, De A., Vieira Dos Santos, C., Thoiron, S., Monteau, F., Simier, P., Thalouarn, P., & Delavault, P. (2007). Molecular analysis of resistance mechanisms to *Orobanche cumana* in sunflower. *Plant Pathology*, 56, 536-546. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01575.x>



41. Mouzeyar, S., Roeckel-Drevet, P., Gentzbittel, L., Philippon, J., Tourvieille De Labrouhe, D., Vear, F., & Nicolas, P. (1995). RFLP and RAPD mapping of the sunflower *Pl1* locus for resistance to *Plasmopara halstedii* race 1. *Theoretical and Applied Genetics*, *91*(5), 733-735. doi.org/10.1007/BF00220951
42. Wieckhorst, S., Bachlava, E., Duble, C. M., Tang, S., Gao, W., & Saski C. (2010). Fine mapping of the sunflower resistance locus *Plarg* introduced from the wild species *Helianthus argophyllus*. *Theoretical and Applied Genetics*, *121*, 1633-1644. doi: 10.1007/s00122-010-1416-4.
43. Bachlava, E., Radwan, O. E., Abratti, G., Tang, S., Gao, W., & Heesacker A. F. (2011). Downy mildew (*Pl<sub>8</sub>* and *Pl<sub>14</sub>*) and rust (*RAdv*) resistance genes reside in close proximity to tandemly duplicated clusters of non-TIR-like NBS-LRR encoding genes on sunflower chromosomes 1 and 13. *Theoretical and Applied Genetics*, *122*, 1211-1221. doi: 10.1007/s00122-010-1525-0
44. Vincourt, P., As-sadi Falah, Bordat, A., Langlade, N. B., Gouzy, J., Pouilly, N., ...& Vear, F. (2012). Consensus mapping of major resistance genes and independent QTL for quantitative resistance to sunflower downy mildew. *Theoretical and Applied Genetics*, *125*(5), 909-920. doi:10.1007/s00122-012-1882-y
45. Qi, L. L., Foley, M. E., Cai, X. W., & Gulya, T. J. (2016). Genetics and mapping of a novel downy mildew resistance gene, *Pl<sub>18</sub>*, introgressed from wild *Helianthus argophyllus* into cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *129*, 741-752. doi: 10.1007/s00122-015-2662-2.
46. Ma G. J., Markell S. G., Song Q. J., & Qi L. L. (2017). Genotyping-by sequencing targeting of a novel downy mildew resistance gene *Pl<sub>20</sub>* from wild *Helianthus argophyllus* for sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *130*, 1519-1529. doi:10.1007/s00122-015-2662-2
47. Dimitrijevic, A., Imerovski, I., Miladinovic, D., Tancic, S., Dušanic, N., & Jovic, S. (2010). Use of SSR markers in identification of sunflower isogenic lines in late generations of backcrossing. *Helia*, *33*, 191-198. <https://doi.org/10.2298/hel1053191d>

48. Jovic, S., Cvejic, S., Hladni, N., Miladinovic, D., & Miklic, V. (2010). Development of sunflower genotypes resistant to downy mildew. *Helia*, *33*, 173-180. doi:10.2298/HEL1053173J
49. Liu, Z., Zhang, L., Ma, G. J., Seiler, G. J., Jan, C. C., & Qi, L. L. (2019). Molecular mapping of the downy mildew and rust resistance genes in a sunflower germplasm line TX16R. *Molecular Breeding*, *39*(2). doi:10.1007/s11032-018-0921-z
50. Bulos, M., Vergani, P. N., & Altieri, E. (2014). Genetic mapping, marker assisted selection and allelic relationships for the *Pu6* gene conferring rust resistance in sunflower. *Breeding Science*, *64*(3), 206–212. doi: 10.1270/jsbbs.64.206
51. Ma, G. J., Song, Q. J., Markell, S. G., & Qi, L. L. (2018). High-throughput genotyping-by-sequencing facilitates molecular tagging of a novel rust resistance gene,  $R_{15}$ , in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *131*(7), 1423-1432. doi:10.1007/s00122-018-3087-5
52. Lawson, W. R., Goulter, K. C., Henry, R. J., Kong, G. A., & Kochman, J. K. (1998). Marker-assisted selection for two rust resistance genes in sunflower. *Molecular Breeding*, *4*, 227-234.
53. Zhang, M., Liu, Z., & Jan, C.-C. (2016). Molecular mapping of a rust resistance gene  $R_{14}$  in cultivated sunflower line PH 3. *Molecular Breeding*, *36*(3). doi:10.1007/s11032-016-0456-0
54. Sala, C. A., Bulos, M., Echarte, M., Whitt, S. R., & Ascenzi, R. (2008). Molecular and biochemical characterization of an induced mutation conferring imidazolinone resistance in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *118*(1), 105-112. doi: 10.1007/s00122-008-0880-6.
55. Kolkman, J. M., Slabaugh, M. B., Bruniard, J. M., Berry, S., Bushman, B. S., Olungu, C., ...& Knapp, S. J. (2004). Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *109*(6), 1147-1159. doi: 10.1007/s00122-004-1716-7.

56. Bulos, M., Sala, C. A., Altieri, E., & Ramos, M. L. (2013). Marker assisted selection for herbicide resistance in sunflower. *Helia*, 36(59), 1-16. doi:10.2298/HEL1359001B
57. Jacob, J., Sujatha, M., & Varaprasad, S. K. (2016). Screening of cultivated and wild *Helianthus* species reveals herbicide tolerance in wild sunflowers and allelic variation at *Ahas11* (acetohydroxyacid synthase 1 large subunit) locus. *Plant Genetic Resources*, 15(05), 421-429. doi:10.1017/S1479262116000095
58. Goryunov, D., Anisimova, I., Gavrilova, V., Chernova, A., Sotnikova, E., Martynova, E., ...& Goryunova, S. (2019). Association Mapping of Fertility Restorer Gene for CMS PET1 in Sunflower. *Agronomy*, 9(2), 49. <https://doi.org/10.3390/agronomy9020049>
59. Laser, K. D., & Lersten, N. R. (1972). Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *The Botanical Review*, 38(3), 425-454.
60. Schnable, P. (1998). The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends in Plant Science*, 3(5), 175-180. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01235-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01235-7)
61. Попов В. Н. Мужская стерильность подсолнечника / В. П. Попов, В. В. Кириченко / ХНАУ им. В. В. Докучаева, Ин-т растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН. — Х., 2010. Ст. 156.
62. Chen, L., & Liu, Y.-G. (2014). Male Sterility and Fertility Restoration in Crops. *Annual Review of Plant Biology*, 65(1), 579-606. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-040119
63. Бочковой А. Д., Клюка В. И., Гусева Т. Е., Кузьминов С. В. Стабильность проявления стерильности у некоторых источников ЦМС подсолнечника. Селекция и семеноводство. 1991. Вып. 4. Ст. 18-19.
64. Ann, L. Chepurnaya, Sergey ,V. Sherstyuk, & Vladimir, T. Tikhomirov (2014). CMS-Rf system for sunflower breeding, *Helia*, 26(38), 59-66. <https://doi.org/10.2298/hel0338059c>

65. Reddemann, A., & Horn R. (2018). Recombination events involving the *atp9* gene are associated with allel sterility of CMS PET2 in sunflower. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 806. doi: 10.3390/ijms19030806
66. Schnabel, U., Engelmann, U., & Horn, R. (2008). Development of markers for the use of the PEF1 cytoplasm in sunflower hybrid breeding. *Plant Breeding*, 127(6), 587-591. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2008.01516.x>
67. Horn, R., Kusterer, B., Lazarescu, E., Prüfe, M., & Friedt, W. (2003). Molecular mapping of the *Rf1* gene restoring pollen fertility in PET1-based F1 hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 106(4), 599-606. doi: 10.1007/s00122-002-1078-y.
68. Abratti, G., Bazzalo, M. E., & León, A. (2008). "Mapping a novel fertility restoration gene in sunflower," in Proceedings of the 17th International Sunflower Conference, Córdoba, 617–621.
69. Bidney, D. L., & Scelonge, C. J. (1997). Sunflower Biotechnology. Sunflower technology and production. Editor Scneiter, A. A., Agronomy (ASA, CSSA, SSSA). Medison, Winsconsin, USA, 559-594.
70. Moghaddasi, M. S. (2011). Sunflower tissue culture. *Advances in Environmental Biology*, 5(4), 746-755.
71. Dagustu, N. (2018). In Vitro Tissue Culture Studies in Sunflower (*Helianthus* spp.). *Journal of Crop Breeding and Genetics*, 4(1), 13-21.
72. Bhojwani S. S, Razdan M. K. Chapter 11: Zygotic Embryo Culture. In: Plant Tissue Culture: Theory and Practice, Vol. 5, First Edition. Bhojwani S.S., Razdan M.K. (eds.) Elsevier, Science B. V. The Netherlands. 1996. P. 297 – 335.
73. Chandler, J. M., & Beard, B. H. (1983). Embryo Culture of *Helianthus* Hybrids1. *Crop Science*, 23(5), 1004.
74. Dagustu, N., Sincik, M., Bayram, G., & Bayraktaroglu, M. (2010). Regeneration of fertile plants from sunflower (*Helianthus annuus* L.): Immature embryo. *Helia*, 33(52), 95–101. doi:10.2298/HEL1052095D
75. 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.

76. Gurel, A., Nichterlein, K., & Friedt, W. (1991). Shoot Regeneration from Anther Culture of Sunflower (*Helianthus annuus*) and Some Interspecific Hybrids as Affected by Genotype and Culture Procedure. *Plant Breeding*, 106(1), 68–76.

Gurel, A., Nichterlein, K., & Friedt, W. (1991). Shoot Regeneration from Anther Culture of Sunflower (*Helianthus annuus*) and Some Interspecific Hybrids as Affected by Genotype and Culture Procedure. *Plant Breeding*, 106(1), 68–76. doi:10.1111/j.1439-0523.1991.tb00481.x

77. Dagustu, N., Bayram, G., Sincik, M., & Bayraktaroglu, M. (2012). The short breeding cycle protocol effective on diverse genotypes of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 17(2), 124-128. doi:10.17557/TJFC.83273

78. Aurori, A., & Rakosy-Tican, E. (2019). A simple method for sunflower *in vitro* regeneration starting from meristematic tissues. *Scientific Papers*, 62(2), 55-58.

79. Thomas, C., Meyer, D., Himber, C., & Steinmetz, A. (2004). Spatial expression of a sunflower SERK gene during induction of somatic embryogenesis and shoot organogenesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(1), 35-42. doi: 10.1016/j.plaphy.2003.10.008.

80. Shin, D.-H., Kim, J. S., Kim, I. J., Yang, J., Oh, S. K., Chung, G. C., & Han, K.-H. (2000). A shoot regeneration protocol effective on diverse genotypes of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 36(4), 273-278. doi:10.1007/s11627-000-0050-2

81. Konieczny, R., Libik, M., Tuleja, M., Niewiadomska, E., & Miszalski, Z. (2007). Oxidative events during *in vitro* regeneration of sunflower. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(1), 71-79. doi:10.1007/s11738-007-0092-8

82. Qi, Y-K., Chen, T., Zhu, M., Chen, J.-P., Shen, Y.-Ch., Chen, Y.-H., & Ge, Z.-J. (2018). Research on axillary bud tissue culture and plant regeneration system of ornamental sunflower. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 30(11), 19-22.

83. Müller, A., Iser, M., & Hess, D. (2001). Stable transformation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) using a non-meristematic regeneration protocol and green fluorescent protein as a vital marker. *Transgenic Research*, 10(1987), 435-444. doi: 10.1023/a:1012029032572.

84. Kim, Mee-Jin, An, Dong-Ju, Moon, Ki-Beom, Cho, Hye-Sun, Min, Sung-Ran, Sohn, Jung-Hoon, Jeon, Jae-Heung, & Kim, Hyun-Soon. (2016). Highly efficient plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation of *Helianthus tuberosus* L. *Industrial Crops and Products*, 83, 670-679. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.054>

85. Ozyigit, I. I., Gozukirmizi, N., & Semiz, B. D. (2006). Callus induction and plant regeneration from mature embryos of sunflower. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53(4), 556-559. doi:10.1134/S1021443706040194

86. Sujatha, M., Vijay, S., Vasavi, S., Veera Reddy, P., & Chander Rao, S. (2012). *Agrobacterium*-mediated transformation of cotyledons of mature seeds of multiple genotypes of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 110(2), 275-287. doi:10.1007/s11240-012-0149-2

87. Ceriani, M. F., Hopp, H. E., Hahne, G., Alejandro, S. Escandón, A. S. (1992). Cotyledons: An Explant for Routine Regeneration of Sunflower Plants. *Plant and Cell Physiology*, 33(2), 157-164. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078234>

88. Chraibi, K. M. B., Castelle, J.-C., Latche, A., Roustan, J.-P., & Fallot, J. (1992). A genotype-independent system of regeneration from cotyledons of sunflower (*Helianthus annuus* L.) The role of ethylene. *Plant Science*, 86(2), 215-221. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(92\)90167-K](https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90167-K)

89. Deglene, L., Lesignes, P., Alibert, G., & Sarrafi, A. (1997). Genetic control of organogenesis in cotyledons of sunflower (*Helianthus annuus*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 48, 127-130. doi:10.1023/a:1005803415142

90. Huang, X., Nabipour, A., Gentzbittel, L., & Sarrafi, A. (2007). Somatic embryogenesis from thin epidermal layers in sunflower and chromosomal regions

controlling the response. *Plant Science*, 173(2), 247-252.  
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.05.005>

91. Yordanov, Y., Yordanova, E., & Atanasov, A. (2002). Plant regeneration from interspecific hybrid and backcross progeny of *Helianthus eggertii* × *Helianthus annuus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71(1), 7-14. doi:10.1023/A:1016510109911

92. Dağstü, N. (2002). Some factors affecting the plant regeneration in sunflower (*Helianthus Annum L.*). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 16(1), 18-23. <https://doi.org/10.1080/13102818.2002.10819150>

93. Inoka, K., & Dahanayake, N. (2015). Effect of plant growth regulators on micro-propagation of sunflower (*Helianthus annuus L.*). *International Journal of Scientific and Research Publications*, 5(1), 1-5.

94. Mushke, R., Yarra, R., & Kirti, P. B. (2019). Improved salinity tolerance and growth performance in transgenic sunflower plants via ectopic expression of a wheat antiporter gene (*TaNHX2*). *Molecular Biology Reports*, 46, 5941-5953. doi:10.1007/s11033-019-05028-7

95. Hewezi, T., Perrault, A., Alibert, G., & Kallerhoff, J. (2002). Dehydrating immature embryo split apices and rehydrating with *Agrobacterium tumefaciens*: A new method for genetically transforming recalcitrant sunflower. *Plant Molecular Biology Reporter*, 20(4), 335-345. doi:10.1007/BF02772121

96. Zhang, Z., & Finer, J. J. (2016). Low *Agrobacterium tumefaciens* inoculum levels and a long co-culture period lead to reduced plant defense responses and increase transgenic shoot production of sunflower (*Helianthus annuus L.*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 52(4), 354-366. doi: 10.1007/s11627-016-9774-5.

97. Singareddy, V., Sheri, V. R., Muddanuru, T., Tatineni, R., Jain, R. K., Sankaraneni, C. R., ... Mulpuri, S. (2018). Genetic engineering of sunflower (*Helianthus annuus L.*) for resistance to necrosis disease through deployment of the

TSV coat protein gene. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 135, 263-277.  
<https://doi.org/10.1007/s11240-018-1461-2>

98. Pugliesi, C., Megale P., Cecconi, F., & Baroncelli, S. (1993). Organogenesis and embryogenesis in *Helianthus tuberosus* and in the interspecific hybrid *Helianthus annuus* x *Helianthus tuberosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33, 187-193. doi:10.1007/BF01983233

99. Gürel, A, Nichterlein, K., & Friedt, W. (1991). Shoot regeneration from another culture of sunflower (*Helianthus annuus* L.) and some interspecific hybrids as affected by genotype and culture procedure. *Plant Breeding*, 106, 68-76. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1991.tb00481.x>

100. Saji, K. V., & Sujatha, M. (1998). Embryogenesis and plant regeneration in anther culture of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*, 13(1), 1-7. doi: 10.1007/BF00239897.

101. Thengane, S. R., Joshi, M. S., Khaspe, S. S., & Mascarenhas, A. F. (1994). Anther culture in *Helianthus annuus* L.: Influence of genotype and culture conditions on embryo induction and plant regeneration. *Plant Cell Reports*, 13, 222-226. doi: 10.1007/BF00239897.

102. Zhong, D., Michaux-Ferrire, N., & Coumans, M. (1995). Assay for doubled haploid sunflower (*Helianthus annuus*) plant production by androgenesis: fact or artifact? Part 1. In vitro anther culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 41(2), 91-97.

103. Çakmak, E., Uncuoğlu, A. A., & Aydın, Y. (2019). Evaluation of *in vitro* genotoxic effects induced by *in vitro* anther culture conditions in sunflower. *Plant Signaling & Behavior*, 1-10. doi: 10.1080/15592324.2019.1633885

104. Sujatha, M., & Prabakaran, A. J. (2006). Ploidy Manipulation and Introgression of Resistance to *Alternaria Helianthi* from Wild Hexaploid *Helianthus* Species to Cultivated Sunflower (*H. annuus* L.) Aided by Anther Culture. *Euphytica*, 152(2), 201-215. doi:10.1007/s10681-006-9202-8



105. Vijaya Priya K., Sassikumar, D., Sudhagar, R., & Gopalan, A. (2003). Androgenetic response of sunflower in different culture environments. *Helia*, 26(38), 39-50. doi:10.2298/HEL0338039P
106. Coumans, M., & Zhong, D. (1995). Doubled haploid sunflower (*Helianthus annuus*) plant production by androgenesis: fact or artifact. Part 2. *In vitro* isolated microspore culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 41, 203-209. doi:10.1007/bf00045083
107. Todorova, M., Ivanov, P., Shindrova, P., & Christov Mand Ivanova I. (1997). Doubled haploid production of sunflower (*Helianthus annuus* L.) through irradiated pollen-induced parthenogenesis. *Euphytica*, 97, 249-254. doi:10.1023/A:1002966824988
108. Martín-Sanz, Pérez-Vich, B., Rueda, S., Fernández-Martínez, J. M., & Velasco, L. (2020). Characterization of post-haustorial resistance to sunflower broomrape. *Crop Science*, 60(3), 1188-1198. doi: 10.1002/csc2.20002
109. Parker C. (2009). Observations on the current status of *Orobanche* and *Striga* problems worldwide. *Pest Management Science*, 65(5), 453-459. <https://doi.org/10.1002/ps.1713>
110. Parker C. (2012). Parasitic Weeds: A World Challenge. *Weed Science*, 60(02), 269-276.
111. Бейлин И. Г. Цветковые полупаразиты и паразиты. М.: Наука, 1968. С. 118.
112. Cvejić, S., Radanović, A., Dedić, B., Jocković, M., Jocić, S., & Miladinović, D. (2020). Genetic and Genomic Tools in Sunflower Breeding for Broomrape Resistance. *Genes*, 11(2), 152. <https://doi.org/10.3390/genes11020152>
113. Škorić D., Pacureanu Joita M. Sunflower breeding for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). In Proceedings of the International Symposium Sunflower Breeding on Resistance to Diseases, Krasnodar, Russia, 23–24 June. 2010. P. 19-30.

114. Škorić, D. Sunflower breeding. In Sunflower Genetics and Breeding; Škorić, D., Ed.; Serbian Academy of Sciences and Arts: Novi Sad, Serbia, 2012; pp. 165-354.

115. Антонова Т. С., Стрельников Е. А., Арасланова Н. М, Рамазанова С. А. Адаптивные особенности в онтогенезе заразики *Orobanche cumana* Wallr. на подсолнечнике. асличные культуры. Науч.-техн. бюллетень ВНИИМК. Россия, Краснодар. 2012. Вып.1, Ст. 110-116.

116. Alcántara, E., Morales-García, M., & Díaz-Sánchez, J. (2006). Effects of Broomrape Parasitism on Sunflower Plants: *Growth, Development, and Mineral Nutrition*. *Journal of Plant Nutrition*, 29(7), 1199-1206. <https://doi.org/10.1080/01904160600767351>

117. Duca, M. (2015). Historical Aspects of Sunflower Researches in the Republic of Moldova. *Helia*, 38(62), 79-92. <https://doi.org/10.1515/helia-2014-0028>

118. Antonova, T. S. (2014). The History of Interconnected Evolution of *Orobanche cumana* Wallr. and Sunflower in the Russian Federation and Kazakhstan. *Helia*, 37(61), 215-225. <https://doi.org/10.1515/helia-2014-0017>

119. Morozov, V. K. (1947). Sunflower breeding in the USSR, Piscepromizdat [Food Industry Publishers] Moscow. 1-272.

120. Antonova, T. S., Araslanova, N. M., Strelnikov, E. A., Ramazanova, S. A., Tchelustnikova, T. A., & Gucheti S. Z. (2011). Screening of with *Helianthus* species for resistance to high virulent *Orobanche cumana* Wallr., affecting sunflower in the Rostov region of the Russian Federation. *Helia*, 34, 115-123. <https://doi.org/10.2298/hel1155115a>

121. Хаблак С. Г. (2013). Расовый склад вовчка (*Orobanche cumana* Wallr.) В посівах соняшнику в умовах Північного Степу України, *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, 3 (73), 116-121.

122. Maklik E., Kyrychenko V. V., & Pacureanu M. J. Race composition and phenology of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Ukraine. In

Proceedings of the 4th International Symposium on Broomrape in Sunflower, Bucharest, Romania, 2–4 July. 2018. P. 67-78.

123. Duca M., Clapco S., Nedelcov M., & Dencicov L. (2018). Influence of environmental conditions on the virulence and distribution of *Orobanche cumana* Wallr. in the Republic of Moldova. *OCL*, 1-10. <https://doi.org/10.1051/ocl/2018049>

124. Duca, M., Port, A., & Boicu, A. (2017). Molecular Characterisation of Broomrape Populations from Republic of Moldova using SSR Markers. *Helia*, 40, 47-60. <https://doi.org/10.1515/helia-2017-0003>

125. Pacureanu Joița, M., Fernández-Martínez, J., Sava, E., & Raranciuc, S. (2009). Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.), the most important parasite in sunflower. *Analele Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare Agricolă Fundulea*, 77, 49-56.

126. Rîșnoveanu, L., Joița-Păcureanu, M., & Anton, F. G. (2016). The Virulence of Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in Sunflower Crop in Braila Area, in Romania. *Helia*, 39(65). DOI:10.1515/helia-2016-0015

127. Pacureanu, J., Raranciuc, S., Sava, E., Stanciu, D., & Nastase, D. (2009). Virulence and aggressiveness of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations in Romania. *Helia*, 32(51), 119-126. <https://doi.org/10.2298/hel0951111p>

128. Shindrova, P. (2006). Broomrape (*orobanche cumana wallr*) in Bulgaria -distribution and race composition. *Helia*, 29(44), 111-120.

129. Miladinović, D., Dedić, B., Quiroz, F., Alvarez, D., Poverene, M. & Cantamutto, M. (2012) *Orobanche cumana* Wallr. Resistance of commercial sunflower cultivars grown in Argentina. *BAG – Journal of Basic and Applied Genetics*, 23(1), 37-41.

130. Molinero-Ruiz, L., García-Carneros, A. B., Collado-Romero, M., Raranciuc, S., Domínguez, J., & Melero-Vara, J. M. (2013). Pathogenic and molecular diversity in highly virulent populations of the parasitic weed *Orobanche Cumana* (sunflower broomrape) from Europe. *Weed Research*, 54(1), 87-96. <https://doi.org/10.1111/wre.12056>

131. Malek, J., del Moral, L., Fernandez-Escobar, J., Perez-Vish, B., & Velasco, L. (2017). Racial characterisation and genetic diversity of sunflower broomrape populations from Northern Spain. *Phytopathologia Mediterranea*, 56, 70-76. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-19163](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-19163)
132. Jebri, M., Ben Khalifa, M., Fakhfakh, H., Perez-Vich, B., & Velasco, L. (2017). Genetic diversity and race composition of sunflower broomrape from Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea*, 56, 421-430. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-20839](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-20839)
133. Nabloussi, A., Velasco, L., & Assissel, N. (2018). First Report of Sunflower Broomrape, *Orobanche cumana* Wallr., in Morocco. *Plant Disease*, 102(2), 457-457. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-17-0858-PDN>
134. Shi, B. X., Chen, G. H., Zhang, Z. J., Hao, J. J., Jing, L., Zhou, H. Y., & Zhao, J. (2015). First Report of Race Composition and Distribution of Sunflower Broomrape, *Orobanche cumana*, in China. *Plant Disease*, 99(2), 291-291. doi: 10.1094/PDIS-07-14-0721-PDN
135. Mauromicale, G., Monaco, A. L., Longo, A. M. G., & Restuccia, A. (2005). Soil solarization, a nonchemical method to control branched broomrape (*Orobanche ramosa*) and improve the yield of greenhouse tomato. *Weed Science*, 53(6), 877-883. <https://doi.org/10.1614/WS-05-023R1.1>
136. Thomas, H., Sauerborn, J., Müller-Stöver, D., Ziegler, A., Bedi, J. S., & Kroschel, J. (1998). The Potential of *Fusarium oxysporum* f.sp. *orthocerasas* as a Biological Control Agent for *Orobanche cumanain* Sunflower. *Biological Control*, 13(1), 41-48. <https://doi.org/10.1006/bcon.1998.0642>
137. Louarn, J., Carbonne, F., Delavault, P., Bécard, G., & Rochange, S. (2012). Reduced Germination of *Orobanche cumana* Seeds in the Presence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi or Their Exudates. *PLoS ONE*, 7(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049273>
138. Klein, O., & Kroschel, J. (2002). Biological control of *Orobanche* spp. with *Phytomyza orobanchia*, a review. *BioControl*, 47(3), 245-277. doi:10.1023/A:1014862302818

139. Tan, S., Evans, R. R., Dahmer, M. L., Singh, B. K., & Shaner, D. L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, *61*(3), 246-257. <https://doi.org/10.1002/ps.993>
140. Rodríguez-Ojeda, M. I., Pineda-Martos, R., Alonso, L. C., Fernández-Escobar, J., Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2013). A dominant avirulence gene in *Orobanche cumana* triggers *Or5* resistance in sunflower. *Weed Research*, *53*(5), 322-327. <https://doi.org/10.1111/wre.12034>
141. Gorbachenko, F.I., Usatenko, T.V., & Gorbachenko, O.F. (2011). Results of sunflower breeding in resistance to broomrape on Don. *Helia*, *54*, 9-18. <https://doi.org/10.2298/hel1154009g>
142. Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2015). Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). *Sunflower*, 129-155. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-94-3.50011-8>
143. Terzić, S., Dedić, B., Atlagić, J., Jocić, S., & Tančić, S. (2010). Screening wild sunflower species and F<sub>1</sub> interspecific hybrids for resistance to broomrape. *Helia*, *33*, 25-30. doi:10.2298/HEL1053025T
144. Velasco, L., Pérez-Vich, B., Yassein, A. A. M., Jan, C.-C., & Fernández-Martínez, J. M. (2012). Inheritance of resistance to sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in an interspecific cross between *Helianthus annuus* and *Helianthus debilis* subsp. *tardiflorus*. *Plant Breeding*, *131*(1), 220-221. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01915.x>
145. Jan, C.C., Fernández-Martínez, J.M., Ruso, J., & Muñoz-Ruz, J. (2002). Registration of four sunflower germplasms with resistance to *Orobanche cumana* Race, F. (*Registrations of Germplasm*). *Crop Science*, *42*, 2217-2219. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.2217>
146. Velasco, L., Pérez-Vich, B., Jan, C. C., & Fernández-Martínez, J. M. (2007). Inheritance of resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) race F in a sunflower line derived from wild sunflower species. *Plant Breeding*, *126*(1), 67-71. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01278.x>

147. Fernández-Martínez, J., Pérez-Vich, B., Akhtouch, B., Velasco, L., Muñoz-Ruz, J., Melero-Vara, J.M., & Domínguez, J. (2004). Registration of Four Sunflower Germplasms Resistant to Race F of Broomrape. *Crop Science*, *44*, 1033-1034. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1033>
148. Akhtouch, B., Muñoz-Ruz, J., Melero-Vara, J.M., Fernández-Martínez, J.M., & Domínguez, J. (2002). Inheritance of resistance to race F of broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower lines of different origin. *Plant Breeding* *121*, 266-268. doi:10.1111/j.1439-0523.2006.01278.x
149. Pérez-Vich, B., Akhtouch, B., Mateos, A., Velasco, L., Jan, C., Fernández, J., Domínguez, J., & Fernández-Martínez, J.M. (2004). Dominance relationships for genes conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. *Helia*, *27*, 183-192. doi:10.2298/HEL0440183P
150. Guchetl, S., Antonova, T., Araslanova, N., & Tchelyustnikova, T. (2019). Sunflower Resistance to Race G of Broomrape (*Orobanche Cumana* Wallr.) In the Russian Federation: The Development of the Lines and the Study of Inheritance. *Helia*, *42*(71), 161-171. <https://doi.org/10.1515/helia-2019-0003>
151. Yang, Z., Wafula, E. K., Honaas, L. A., Zhang, H., Das, M., Fernandez-Aparicio, M., ... & dePamphilis, C. W. (2014). Comparative Transcriptome Analyses Reveal Core Parasitism Genes and Suggest Gene Duplication and Repurposing as Sources of Structural Novelty. *Molecular Biology and Evolution*, *32*(3), 767-790. doi: 10.1093/molbev/msu343
152. Fernández-Aparicio, M., Flores, F., & Rubiales, D. (2009). Recognition of root exudates by seeds of broomrape (*Orobanche and Phelipanche*) species. *Annals of Botany*, *103*(3), 423-431. doi: 10.1093/aob/mcn236
153. Joel, D. M., Chaudhuri, S. K., Plakhine, D., Ziadna, H., & Steffens, J. C. (2011). Dehydrocostus lactone is exuded from sunflower roots and stimulates germination of the root parasite *Orobanche cumana*. *Phytochemistry*, *72*(7), 624-634. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.037>
154. Raupp, F. M., & Spring, O. (2013). New Sesquiterpene Lactones from Sunflower Root Exudate as Germination Stimulants for *Orobanche cumana*.

*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(44), 10481-10487.  
<https://doi.org/10.1021/jf402392e>

155. Hassan, E. A., El-Akkad, S. S., Moustafa, S. M., and El-Awadi, M. E. (2004). Histochemical aspects of penetration and vascular connection of broomrape haustoria in the host root, and the possible implication of phenylpropanoids. *International journal of agriculture and biology*, 6, 430-434.

156. Aly, R., Cholakh, H., Joel, D. M., Leibman, D., Steinitz, B., Zelcer, A., ... Gal-On, A. (2009). Gene silencing of mannose 6-phosphate reductase in the parasitic weed *Orobanche aegyptiacathrough* the production of homologous *dsRNA* sequences in the host plant. *Plant Biotechnology Journal*, 7(6), 487-498. doi: 10.1111/j.1467-7652.2009.00418.x.

157. Fernández-Aparicio, M., Kisugi, T., Xie, X., Rubiales, D., & Yoneyama, K. (2014). Low Strigolactone Root Exudation: A Novel Mechanism of Broomrape (*Orobanche and Phelipanche spp.*) Resistance Available for Faba Bean Breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(29), 7063-7071. <https://doi.org/10.1021/jf5027235>

158. Lu, Y. H., Melero-Vara, J. M., García-Tejada, J. A., & Blanchard, P. (2000). Development of *SCAR* markers linked to the gene *Or5* conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(3-4), 625-632. doi:10.1007/s001220050083

159. Tang, S., Heesacker, A., Kishore, V. K., Fernandez, A., Sadik, E. S., Cole, G., & Knapp, S. J. (2003). Genetic Mapping of the Gene for Resistance to Race E in Sunflower. *Crop Science*, 43(3), 1021-1028. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1021>

160. Lu, Y. H., Gagne, G., Grezes-Besset, B., & Blanchard, P. (1999). Integration of a molecular linkage group containing the broomrape resistance gene *Or5* into an RFLP map in sunflower. *Genome*, 42(3), 453-456. <https://doi.org/10.1139/g98-135>

161. Perez-Vich, B., Akhtouch, B., Knapp, S. J., Leon, A. J., Velasco, L., Fernandez-Martinez, J. M., & Berry, S. T. (2004). Quantitative trait loci for

broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) resistance in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(1), 92-102. doi: 10.1007/s00122-004-1599-7.

162. Lu, Y., Melero-Vara, J., Garcia-Tejada, J., & Blanchard, P. (2000). Development of SCAR markers linked to the gene *Or5* conferring resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 625-632. doi:10.1007/s001220050083

163. Imerovski, I., Dedić, B., Cvejić, S.; Miladinović, D., Jocić, S., Owens, G.L., Kočiš Tubić, N., & Rieseberg, L.H. (2019). BSA-seq mapping reveals major QTL for broomrape resistance in four sunflower lines. *Molecular Breeding*, 39, 41. doi:10.1007/s11032-019-0948-9

164. Gao, W.; Ripley, V.L.; Aradhya, C.C.; Meyer, D.H.; Velasco, L.; Benson, R.M.; Vich, B.P.; Erickson, A.L.; Martinez, J.M.F.; Ren, R.; et al. Molecular Markers Associated with *Orobanche* Resistance in Sunflower; U.S. Patent Application 15/946; United States Patent: Alexandria, VA, USA, 2019; p. 105.

165. Hassan, E. S. A. R. S., Hoeft, E., Li, Z., & Tulsieram, L. (2008). Genetic markers for *Orobanche* resistance in sunflower. US Patent US/2008/0178325 A1. Retrieved from [https://www.lens.org/images/patent/WO/2008083198/A2/WO\\_2008\\_083198\\_A2.pdf](https://www.lens.org/images/patent/WO/2008083198/A2/WO_2008_083198_A2.pdf)

166. Панченко А. Я. (1975). Ранняя диагностика заразиоустойчивости при селекции и улучшающем семеноводстве подсолнечника. *Вестник сельскохозяйственных наук*, 2, 107-115.

167. Labrousse, P., Arnaud, M., Griveau, Y., Fer, A., & Thalouarn, P. (2004). Analysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *Orobanche cumana* Wallr. *Crop Protection*, 23(5), 407-413. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.09.013>

168. Гучетль, С. З., Антонова, Т. С., Челюстникова, Т. А., Арасланова, Н. М., Стрельников, Е. А. (2016). Изучение наследования устойчивости



культурного подсолнечника к расе G заразики (*Orobanche cumanana* Wallr.), *Масленичные культуры*, 4(168), 3-9.

169. Циков В. С., Матюха Л. П. (2006). Бур'яни: шкодочинність і система захисту. *Дніпропетровськ: Видавництво «ЕНЕМ»*, 87.

170. Sala, C. A., Bulos, M., Alteri, E., & Ramos, M. L. (2012). Genetics and breeding of herbicide tolerance in sunflower. *Helia*, 35(57), 57–69. <https://doi.org/10.2298/hel1257057s>

171. Sala, C. A., & Bulos, M. (2012). Inheritance and molecular characterization of broad range tolerance to herbicides targeting acetohydroxyacid synthase in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(2), 355-364. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61659-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61659-9)

172. Al-Khatib, K., Baumgartner, J.R., Peterson, D.E., & Currie, R.S. (1998). Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). *Weed Science*, 46, 403-407. <https://doi.org/10.1017/S0043174500090809>

173. Tan, S., Evans, R. R., Dahmer, M. L., Singh, B. K., & Shaner, D. L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, 61(3), 246–257. <https://doi.org/10.1002/ps.993>

174. Miller, J. F., & Al-Khatib, K. (2002). Registration of Imidazolinone Herbicide-Resistant Sunflower Maintainer (HA 425) and Fertility Restorer (RHA 426 and RHA 427) Germplasms. *Crop Science*, 42(3), 988-989. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.988a>

175. Bruniard J.M., & Miller J.F. (2001). Inheritance of imidazolinone herbicide resistance in sunflower. *Helia*, 24, 11-16. <https://doi.org/10.1515/helia.2001.24.35.11>

176. Sala C.A., Bulos M., Echarte A.M., Whitt S., Budziszewski G., Howie W., Singh B., Weston B. Development of CLHA-Plus: a novel herbicide tolerance trait in sunflower conferring superior imidazolinone tolerance and ease of breeding. In: Proc.XVII Int. Sunflower Conf., Cordoba, Spain. 2008. P. 489–494

177. Sala, C. A., Bulos, M., & Echarte, A. M. (2008). Genetic Analysis of an Induced Mutation Conferring Imidazolinone Resistance in Sunflower. *Crop Science*, 48(5), 1817. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.11.0625>
178. Miller, J. F., & Al-Khatib, K. (2004). Registration of Two Oilseed Sunflower Genetic Stocks, SURES-1 and SURES-2 Resistant to Tribenuron Herbicide. *Crop Science*, 44(3), 1037-1038. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1037>
179. Gabard, J.M., & Huby, J.P. Sulfonylurea-tolerant sunflower plants. United States Patent Application. 20050044587 2004. 2001.
180. Streit L. DuPont™ ExpressSun™ Herbicide Technology in Sunflower. In: *Proc. 18th Sunflower Conf., Mar del Plata-Balcarce, Argentina*. 2012. P. 143-149.
181. Aly, R., Goldwasser, Y., Eizenberg, H., Hershenhorn, J., Golan, S., & Kleifeld, Y. (2001). Broomrape (*Orobanche cumana*) Control in Sunflower (*Helianthus annuus*) with Imazapic1. *Weed Technology*, 15(2), 306-309. doi:10.1614/0890-037X(2001)015[0306:BOCCIS]2.0.CO;2
182. Breccia, G., Vega, T., Nestares, G., Mayor, M. L., Zorzoli, R., & Picardi, L. (2011). Rapid test for detection of imidazolinone resistance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Breeding*, 130(1), 109-113. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01756.x>
183. Vega, T., Breccia, G., Gil, M., & Nestares, G. (2012). Acetohydroxyacid synthase (AHAS) *in vivo* assay for screening imidazolinone-resistance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 61, 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.09.013>
184. Солоденко А. Є., Файт В. І. (2015). Маркери гена AHAS1 для використання в селекції соняшника на стійкість до гербіцидів. *Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва*, 3(36), 71-75.
185. Солоденко А. Є., Файт В. І. (2018). Скрининг и идентификация с помощью ДНК-маркеров генотипов подсолнечника гибридного

происхождения по гена АНАS1. *Масленичные культуры: научно-технический бюллетень ВНИИМК*, 1(173), 3-9.

186. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

187. 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. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)

188. Sujatha, M., Vijay, S., Vasavi, S., Sivaraj, N., & Rao, S.C. (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 (PCTOC)*, 111(3), 359-372. doi:10.1007/s11240-012-0202-1

189. 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

190. Tang, S., Yu, J.-K., Slabaugh, M.B., Shintani, D.K, & Knapp, S.J. (2002). Simple sequence repeat map of the sunflower genome. *Theoretical and Applied Genetics*, 105(8), 1124-1136. doi: 10.1007/s00122-002-0989-y

191. Методика проведення кваліфікаційної експертизи сортів рослин на придатність до поширення в Україні. Методи визначення показників якості продукції рослинництва. 158 с. [Електронний ресурс]: Режим доступу <https://sops.gov.ua/uploads/page/5a5f41997447d.pdf>

192. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск: Высшая школа. 1973. Ст. 320.

193. Доспехов Б. А. Планирование полевого опыта и статистическая обработка его данных / Б. А. Доспехов. Москва: Колос. 1972. Ст. 207.

194. Eberhart, S. A., & Russel, W. A. (1996). Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science*, 6(1), 36-40. <https://doi.org/10.2135/cropsci1966.0011183X000600010011x>

195. Пакудин В. З., Лопатина Л. М. Оценка экологической пластичности и стабильности сортов сельскохозяйственных культур / В. З. Пакудин, Л. М. Лопатина // Сельскохозяйственная биология. 1984. № 4. Ст. 109 – 113.

196. Кильчевский А. В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды: сообщение 1. обоснование метода / А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылёва // Генетика. 1985. Том XXI, № 9. Ст. 1481 – 1490.

197. 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 (PCTOC)*, 73, 81-86. doi: 10.1023/A:1022689229547

198. Mohamed, S., Boehm, R., & Schnabl, H. (2006). Stable genetic transformation of high oleic *Helianthus annuus* L. genotypes with high efficiency. *Plant Science*, 171(5), 546-554. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.05.012>

199. Pugliesi, C., Megale, P., Cecconi, F., & Baroncelli, S. (1993). Organogenesis and embryogenesis in *Helianthus tuberosus* and in the interspecific hybrid *Helianthus annuus* x *Helianthus tuberosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33, 187-193. doi:10.1007/BF01983233

200. Chraïbi, K. M. B., Castelle, J. C., Latche, A., Roustan, J., & Pand Fallot, J. (1992). A genotype independent system of regeneration from cotyledons of sunflower (*Helianthus annuus* L.). The role of ethylene. *Plant Science*, 86, 215-221. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(92\)90167-K](https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90167-K)

201. Berrios, E. F., Gentzbittel, L., Serieys, H., Alibert, G., Grievau, Y., Berville, A., Sarrafi, A. (1999). Genetic control of in vitro organogenesis in recombinant inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Breeding*, 118, 359-361. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00370.x>

202. 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

203. Fu, X., Qi, L., Hulke, B., Seiler, G., & Jan C.-C. (2017). Somatic Embryogenesis from Corolla Tubes of Interspecific Amphiploids between Cultivated Sunflower (*Helianthus annuus* L.) and Its Wild Species. *Helia*, 40(66), 1-19. <https://doi.org/10.1515/helia-2017-0006>

204. El. Mostafa, N., Fakiri, N., Benchekroun, M., Amzil, J., El Arbaoui, A., & Hilali, S. (2008). Effect of plant growth regulators on somatic embryogenesis from leaf *in vitro* cultures of *Helianthus tuberosus* L. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6, 213-216. doi: 10.1007/BF00234290.

205. Thomas, C., Bronner, R., Molinier, J., Prinsen, E., van Onckelen, H., & Nahne, G. (2002). Immuno-cytochemical localization of indole-3-acetic acid during induction of somatic embryogenesis in cultured sunflower embryos. *Planta*, 215(4), 577-583. doi: 10.1007/s00425-002-0791-8.

206. Бабич В. О., Варченко О. І., Гнатюк І. С., Кучук М. В., Парій М. Ф., Симоненко Ю. В. Отпримання фертильних рослин-регенерантів соняшника (*Helianthus annuus* L.) шляхом органогенезу *in vitro*. *Агроекологічний журнал*. 2020. Том 4. Ст. 116-123. <https://doi.org/10.33730/2077-4893.4.2020.219452>

207. Бабич В. О., Варченко О. І., Кучук М. В., Парій М. Ф., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. (2020). Використання культури незрілих зародків соняшника для швидкого створення відновників фертильності, стійких до гербіциду трибенурон метилу. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 27, 23-28. <https://doi.org/10.7124/FEEEO.v27.1297>

208. Babych, V. O., Kuchuk, M. V., Popov, V. N., Parii, Ya. F., Parii, M. F., & Symonenko, Yu. V. (2021). The use of molecular markers for the acceleration of the selection process while developing sunflower (*Helianthus annuus* L.) maintainer line. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 81(4), 582-585. doi: 10.31742/ISGPB.81.4.11

209. Бабич В. О., Наконечна М. С., Попов В. М., Кучук М. В., Парій М. Ф., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Використання молекулярних маркерів для прискорення селекційного процесу при створенні закріплювачів стерильності соняшника. *Селекційно–генетична наука і освіта: матер. Міжнар. Наук. Конфер.* 2019. Ст. 11-12.

210. Бабич В. О., Наконечна М. С., Попов В. М., Кучук М. В., Парій М. Ф., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Використання молекулярних маркерів для прискорення селекційного процесу при створенні закріплювачів стерильності соняшника. *Селекційно–генетична наука і освіта: матер. Міжнар. Наук. Конфер.* 2019. Ст. 11-12.

211. Babych, V., Kuchuk, M., Sharypina, Ya., Parii, Ya., Borovska, I., & Symonenko Yu. (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. <http://doi.org/10.1515/helia-2021-0012>

212. Бабич В. О., Кучук М. В., Шарипіна Я. Ю., Парій Я. Ф., Боровська І. Ю., Симоненко Ю. В. Виділення стійких до вовчка соняшникового (*Orobanche crotalaria* Wallr.) закріплювачів стерильності соняшника / *Всеукр. Наук.-практ. Конференц. «Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі»*. 2021. Ст. 5-7.

213. Бабич В. О., Шарипіна Я. Ю., Боровська І. Ю., Парій Я. Ф., Кучук М. В., Парій М. Ф., Симоненко Ю. В. Виділення перспективних для селекції гібридних комбінацій соняшника, стійких до вовчка (*Orobanche crotalaria* Wallr.) та гербіциду трибенурон-метил / *Селекційно–генетична наука і освіта: матер. Міжнар. Наук. Конфер.* 2021. Ст. 3-5.

214. Бабич В. О., Боровська І. Ю., Шарипіна Я. Ю., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В.. (2021). Адаптивність гібридів F<sub>1</sub> соняшника, створених за комплексною системою добору ліній з господарсько-цінними ознаками, в різних агрокліматичних зонах. *Plant Varieties Studying and Protection*. 17(4), 290-314. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.17.4.2021.249004>

215. Бабич В. О., Боровська І. Ю., Шарипіна Я. Ю., Наконечна М. С., Сірко А. С., Костенко Ю. С., Парій Я. Ф., Симоненко Ю. В. Результативність комплексної системи добору ліній соняшника, оцінена за проявом господарсько-цінних ознак у гібридів  $F_1$  / *Всеукр. Наук.-практ. Конференц. «Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі»*. 2021. Ст. 3-5.

## **ДОДАТКИ**



## Додаток А

## Додаткові матеріали до розділу 6

## Результати широкомасштабних тестувань гібридів соняшника стійких до гербіцидів сульфонілсечовинної групи

№	Кодовий номер	Урожайність гібридів, т/га									Параметри адаптивності		Тип пластичності
		Одеська обл.	Херсонська обл.	Черкаська обл. (Шполянський р-н)	Київська обл.	Черкаська (Уманський район)	Хельницька обл.	Харківська обл.	Чернігівська обл.	Середня урожайність	Стабільність, $S_i^2$	Коефіцієнт екологічної пластичності, $b_i$	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	UA 2/101	2,00	0,69	3,31	4,19	2,51	2,41	1,57	3,83	2,56	1,04	9,41	СП
2	UA 2/103	1,64	1,03	3,82	2,88	2,52	2,94	1,63	3,49	2,50	0,93	7,36	СП
3	UA 2/104	1,70	1,08	4,02	3,47	2,66	2,57	1,80	3,31	2,58	0,93	7,42	СП
4	UA 2/105	2,07	0,65	3,66	3,12	3,29	2,16	2,03	3,47	2,56	0,92	7,32	СП
5	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	СП
6	UA 2/107	1,85	0,79	3,42	3,37	2,93	2,51	2,15	3,62	2,58	0,91	7,11	СП
7	UA 2/108	1,90	1,15	4,04	3,16	2,53	2,00	1,84	3,52	2,52	0,88	6,72	СП
8	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	СП
9	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	НП
10	UA 2/111	1,53	0,80	3,62	3,19	2,06	2,36	2,23	4,28	2,51	1,04	9,35	СП

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
11	UA 2/112	1,52	0,84	3,35	2,93	2,90	2,97	2,11	3,10	2,46	0,82	5,81	НП
12	UA 2/113	1,20	0,74	3,40	3,23	2,70	2,23	2,22	3,08	2,35	0,88	6,62	СП
13	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	ВП
14	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	СП
15	UA 2/116	1,96	0,73	3,61	2,50	2,82	2,73	2,03	3,17	2,44	0,81	5,63	НП
16	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	ВП
17	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	СП
18	UA 2/119	1,71	0,68	3,63	3,22	2,43	2,37	1,37	3,87	2,41	1,08	9,83	СП
19	UA 2/120	1,21	1,04	3,70	3,24	2,88	2,10	1,68	3,47	2,41	0,98	8,14	СП
20	P64LE25	2,13	0,36	3,53	3,56	3,37	3,98	2,17	4,44	2,94	1,20	12,45	ВП
21	SY Sumiko	1,46	1,27	3,61	3,45	2,59	3,44	1,80	4,23	2,73	1,04	9,30	СП
22	UA 2/121	2,40	1,08	3,06	3,09	2,57	2,26	2,22	3,67	2,54	0,69	4,14	НП
23	UA 2/122	1,61	1,18	3,26	3,06	2,79	1,98	1,67	4,09	2,45	0,92	7,31	СП
24	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	СП
25	UA 2/124	1,54	1,75	3,37	3,53	2,71	2,09	1,44	4,14	2,57	0,89	6,89	СП
26	UA 2/125	1,75	0,82	3,48	3,61	3,05	2,16	1,63	3,69	2,52	1,01	8,66	СП
27	UA 2/126	1,52	1,25	3,48	3,35	2,64	1,73	1,59	4,27	2,48	1,00	8,69	СП
28	UA 2/127	1,47	0,95	3,39	3,41	2,21	2,00	2,13	3,67	2,41	0,90	6,95	СП
29	UA 2/128	1,37	1,05	4,25	3,01	1,79	2,54	1,36	3,68	2,38	1,05	9,64	СП
30	UA 2/129	1,51	0,74	4,38	3,56	2,81	2,51	1,28	3,72	2,57	1,22	12,65	ВП
31	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	СП
32	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	СП
33	UA 2/132	1,71	0,75	3,18	3,63	2,85	2,55	1,91	3,79	2,55	0,98	8,17	СП

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
34	UA 2/134	1,95	0,80	3,80	3,13	2,61	2,51	1,71	3,01	2,44	0,86	6,32	СП
35	UA 2/135	1,50	0,71	3,86	3,56	2,76	2,45	1,82	3,19	2,48	1,00	8,59	СП
36	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	ВП
37	UA 2/137	1,25	0,64	3,81	3,61	2,27	2,24	1,94	3,57	2,42	1,08	9,98	СП
38	UA 2/138	0,85	0,71	3,47	3,06	2,80	1,91	1,72	2,92	2,18	0,94	7,65	СП
39	UA 2/139	1,68	1,13	3,29	2,88	2,13	2,45	2,38	2,74	2,34	0,60	3,11	НП
40	UA 2/140	0,81	1,10	2,99	2,92	2,68	2,10	1,56	3,09	2,16	0,83	5,92	СП
41	P64LE25	1,25	0,52	3,48	3,23	2,56	3,02	2,36	4,99	2,68	1,27	13,89	ВП
42	SY Sumiko	1,70	1,00	4,75	3,16	2,93	2,79	2,25	4,14	2,84	1,15	11,22	СП
43	UA 2/141	1,75	0,73	3,32	2,75	2,69	3,16	1,74	3,23	2,42	0,86	6,28	СП
44	UA 2/142	1,42	0,88	3,95	3,10	2,82	2,60	1,00	3,96	2,47	1,18	11,76	ВП
45	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	СП
46	UA 2/144	1,79	1,02	3,49	3,25	1,61	2,98	1,49	4,23	2,48	1,01	8,88	СП
47	UA 2/145	1,23	0,73	4,43	3,16	3,02	2,27	1,36	3,95	2,52	1,27	13,70	ВП
48	UA 2/146	1,46	1,01	3,03	2,50	3,53	3,09	1,73	3,82	2,52	0,91	7,14	СП
49	UA 2/147	1,27	0,97	2,83	2,88	2,33	2,97	1,30	2,78	2,17	0,75	4,90	НП
50	UA 2/148	1,55	0,90	2,83	2,73	2,80	2,35	1,56	3,38	2,26	0,80	5,49	НП
51	UA 2/149	1,18	0,55	3,27	2,74	3,14	2,33	0,93	3,60	2,22	1,11	10,46	СП
52	UA 2/150	1,23	0,87	2,76	2,62	2,61	1,92	1,84	2,74	2,07	0,67	3,89	НП
53	UA 2/151	1,79	0,42	3,02	2,64	2,20	2,02	1,44	3,43	2,12	0,89	6,76	СП
54	UA 2/152	1,15	0,70	3,07	3,67	2,83	2,72	1,57	3,99	2,46	1,12	10,75	СП
55	UA 2/153	1,25	0,36	2,97	3,33	2,51	2,34	1,07	3,92	2,22	1,16	11,52	СП
56	UA 2/154	1,19	0,90	2,99	2,49	2,65	2,25	1,66	3,41	2,19	0,84	6,01	СП

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
57	UA 2/155	1,54	1,16	3,18	2,42	2,30	1,72	1,52	3,03	2,11	0,68	4,00	НП
58	UA 2/158	2,74	0,83	3,18	2,08	2,29	1,89	1,34	3,98	2,29	0,77	5,42	НП
59	UA 2/160	1,05	0,81	3,23	2,51	2,75	3,00	1,26	3,73	2,29	1,03	9,09	СП
60	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	ВП
61	UA 2/163	1,05	0,81	3,23	2,51	2,75	3,00	1,26	3,73	2,29	1,03	9,09	СП
62	P64LE25	1,53	0,75	2,91	3,86	3,25	2,99	2,54	4,38	2,78	1,05	9,58	СП
63	SY Sumiko	1,19	1,05	4,41	3,23	2,84	3,67	1,90	4,52	2,85	1,28	13,95	ВП
64	UA 2/164	1,11	0,63	3,56	2,80	2,58	2,48	1,13	4,10	2,30	1,20	12,11	ВП
65	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	СП
66	UA 2/169	2,16	0,67	2,96	3,45	2,91	2,34	2,38	3,75	2,58	0,84	6,11	СП
67	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	СП
68	UA 2/171	2,01	1,08	2,99	2,62	3,42	2,39	1,74	3,16	2,43	0,69	4,12	НП
69	UA 2/172	1,46	1,16	2,93	2,65	3,00	3,19	1,95	4,13	2,56	0,89	6,80	СП
70	UA 2/174	1,31	1,18	4,52	2,97	2,89	1,91	1,02	2,79	2,32	0,97	8,42	СП
71	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	СП
72	UA 2/179	1,43	0,99	3,83	1,96	3,17	1,77	1,05	2,05	2,03	0,69	4,61	НП
73	UA 2/181	1,19	0,69	3,33	2,17	2,30	1,64	1,66	2,42	1,93	0,71	4,40	НП
74	UA 2/182	1,52	0,74	3,12	2,56	2,80	2,38	0,89	4,00	2,25	1,05	9,42	СП
75	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	СП
76	UA 2/185	1,49	0,67	3,76	3,10	2,88	1,73	1,99	4,46	2,51	1,16	11,55	СП
77	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	ВП
78	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	СП
79	UA 2/188	1,09	0,88	3,08	3,33	2,80	2,91	1,28	4,22	2,45	1,14	11,06	СП

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
80	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	ВП
81	UA 2/190	1,41	0,94	3,72	2,59	2,72	2,67	1,78	3,62	2,43	0,95	7,71	СП
82	UA 2/191	1,09	0,75	3,18	2,69	2,53	3,69	1,62	4,17	2,47	1,10	10,53	СП
83	P64LE25	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	1,12	10,72	СП
84	SY Sumiko	1,18	0,96	4,05	3,11	2,91	2,75	3,24	3,85	2,76	0,97	8,23	СП
85	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	СП
86	UA 2/193	1,38	0,82	3,15	2,69	2,55	3,48	1,97	3,84	2,49	0,95	7,72	СП
87	UA 2/200	2,23	0,85	3,35	2,30	2,50	2,72	0,99	3,00	2,24	0,75	5,05	НП
88	UA 2/202	1,28	0,75	3,57	2,80	2,75	3,02	2,57	4,00	2,59	1,01	8,70	СП
89	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	ВП
90	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	ВП
91	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	ВП
92	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	ВП
93	UA 2/208	2,33	1,00	3,08	2,30	2,74	2,68	1,96	4,46	2,57	0,84	6,26	СП
94	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	СП
95	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	СП
96	UA 2/211	1,45	0,64	3,39	2,84	3,03	3,29	1,84	4,22	2,59	1,12	10,62	СП
97	UA 2/225	1,37	1,26	3,60	2,44	2,69	3,11	2,46	3,37	2,54	0,76	4,98	НП
98	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	ВП
99	UA 2/237	1,41	1,16	4,43	2,30	3,29	2,70	1,72	3,00	2,50	0,90	7,15	СП
100	P64LE25	1,59	0,85	3,14	2,89	3,10	2,62	1,72	4,42	2,54	1,05	9,47	СП
101	SY Sumiko	1,67	1,10	3,80	3,08	3,56	2,96	1,41	4,14	2,71	1,10	10,27	СП
102	P64LE25	1,68	0,41	2,92	3,04	3,06	3,58	1,99	4,51	2,65	1,13	11,11	СП

*Продовження таблиці*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
103	SY Sumiko	2,00	0,84	3,46	2,95	3,18	3,46	1,71	4,47	2,76	1,09	10,09	СП
104	P64LE25	1,18	0,96	4,05	3,11	2,91	2,75	3,24	3,85	2,76	0,97	8,23	СП
105	SY Sumiko	1,34	0,40	3,33	3,35	2,62	3,18	2,49	4,13	2,60	1,12	10,72	СП
	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 <sub>i</sub> )	-0,97	-1,69	1,00	0,52	0,24	0,15	-0,74	1,29	–	–	–	–
	НІР <sub>05</sub>	0,08	0,05	0,08	0,08	0,07	0,11	0,08	0,11	0,04	–	–	–
	σ	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,17	2,77	–

## Додаток Б

## Додаткові матеріали до розділу 6

## Результати широкомасштабних тестувань гібридів соняшника стійких до гербіцидів імідазолінової групи

№	Кодовий номер	Урожайність гібридів, т/га									Параметри адаптивності		Тип пластичності
		Одеська обл.	Херсонська обл.	Черкаська обл. (Шполянський р-н)	Київська обл.	Черкаська (Уманський район)	Хмельницька обл.	Харківська обл.	Чернігівська обл.	Середня урожайність	Стабільність, $S_i^2$	Коефіцієнт екологічної пластичності, $b_i$	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	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	СП
2	UA 1/24	1,82	0,85	3,47	3,23	2,12	2,74	2,39	3,00	2,45	0,79	3,44	НП
3	UA 1/25	1,12	0,69	3,68	2,80	2,83	2,95	2,01	2,19	2,29	0,85	4,29	СП
4	UA 1/26	1,28	0,45	3,23	2,20	2,05	2,67	1,83	3,79	2,19	0,95	4,85	СП
5	UA 1/27	1,56	0,52	3,01	2,36	2,42	2,30	2,10	2,97	2,16	0,75	3,20	НП
6	UA 1/28	1,87	1,05	3,66	2,91	3,47	1,50	2,37	3,59	2,55	0,78	3,57	НП
7	UA 1/29	0,96	0,56	4,03	2,62	2,28	2,76	2,18	2,84	2,28	1,00	5,35	СП
8	UA 1/30	1,93	0,79	3,03	2,95	2,16	2,35	1,61	2,72	2,19	0,69	2,54	НП
9	UA 1/31	1,75	0,41	3,77	3,45	2,53	2,47	1,72	3,27	2,42	1,04	5,71	СП
10	UA 1/32	1,88	0,65	3,47	2,77	2,60	2,27	2,11	1,87	2,20	0,64	2,65	НП
11	UA 1/33	1,71	0,74	3,22	3,30	2,69	2,06	1,62	3,19	2,32	0,85	3,82	СП

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
12	UA 1/34	1,36	0,61	3,70	3,56	2,71	2,36	2,18	3,55	2,50	1,06	5,87	СП
13	UA 1/35	1,66	0,60	3,43	3,34	2,48	2,61	2,17	3,04	2,42	0,90	4,40	СП
14	UA 1/36	1,20	0,77	3,19	3,40	2,77	2,88	2,24	3,12	2,44	0,92	4,68	СП
15	UA 1/37	1,81	0,48	3,70	2,85	2,58	2,83	2,62	2,90	2,47	0,86	4,43	СП
16	UA 1/38	1,00	0,49	3,86	2,93	3,19	2,20	2,58	3,98	2,53	1,13	7,06	СП
17	UA 1/39	1,80	0,91	3,21	3,36	2,72	3,19	2,22	2,97	2,55	0,79	3,62	НП
18	UA 1/40	1,13	0,66	3,56	2,69	2,65	3,09	2,42	2,56	2,34	0,86	4,38	СП
19	UA 1/41	1,30	1,08	2,99	3,52	2,89	2,75	2,31	2,52	2,42	0,72	3,17	НП
20	Genesis ES	1,36	0,37	3,42	3,82	2,60	3,18	1,75	3,60	2,51	1,17	7,34	ВП
21	NK Neoma	1,68	0,40	4,16	3,31	2,51	3,42	2,39	3,90	2,72	1,18	7,57	ВП
22	UA 1/42	1,28	0,60	3,67	3,49	2,49	2,82	1,91	3,11	2,42	1,03	5,63	СП
23	UA 1/43	0,99	0,90	3,33	3,45	2,39	2,55	2,42	3,77	2,47	1,00	5,17	СП
24	UA 1/44	1,09	0,42	4,11	2,73	2,34	1,99	1,39	3,20	2,16	1,09	5,92	СП
25	UA 1/45	1,47	0,68	3,62	3,32	2,78	1,68	2,22	2,46	2,28	0,82	3,86	НП
26	UA 1/46	1,66	0,57	3,76	3,28	2,37	2,31	1,21	3,57	2,34	1,05	5,51	СП
27	UA 1/47	1,88	0,64	2,57	3,07	2,60	1,98	2,45	4,28	2,43	0,83	4,16	СП
28	UA 1/48	1,22	0,52	3,36	4,02	2,79	3,06	1,67	3,80	2,55	1,19	7,55	ВП
29	UA 1/49	1,27	0,44	3,52	3,91	2,96	3,05	2,07	3,28	2,56	1,13	7,08	СП
30	UA 1/50	1,27	0,44	3,52	3,91	2,96	3,05	2,07	3,28	2,56	1,13	7,08	СП
31	UA 1/51	2,01	0,45	3,42	3,70	2,46	2,77	1,81	3,34	2,49	0,99	5,32	СП
32	UA 1/52	2,01	0,45	3,42	3,70	2,46	2,77	1,81	3,34	2,49	0,99	5,32	СП
33	UA 1/53	1,25	0,46	3,65	3,70	2,40	3,19	1,93	3,68	2,53	1,18	7,31	ВП
34	UA 1/54	1,25	0,46	3,65	3,70	2,40	3,19	1,93	3,68	2,53	1,18	7,31	ВП



Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
35	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	СП
36	UA 1/56	1,48	0,61	3,91	4,06	2,26	3,36	1,88	2,97	2,56	1,10	6,56	СП
37	UA 1/57	1,67	0,47	4,22	3,72	2,50	2,37	1,92	3,32	2,52	1,12	6,52	СП
38	UA 1/58	1,20	2,00	4,05	2,16	2,50	3,13	2,39	3,06	2,56	0,60	2,04	НП
39	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	СП
40	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	СП
41	Genesis ES	1,39	0,72	3,34	3,79	2,46	2,50	2,24	3,22	2,46	0,96	4,94	СП
42	NK Neoma	1,68	0,40	4,16	3,31	2,51	3,42	2,39	3,90	2,72	1,18	7,57	ВП
43	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	СП
44	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	ВП
45	UA 1/63	1,03	0,55	3,47	3,08	1,94	3,30	1,87	3,58	2,35	1,09	6,19	СП
46	UA 1/64	1,30	0,90	3,73	3,46	1,90	3,12	1,91	2,80	2,39	0,93	4,52	СП
47	UA 1/65	1,30	0,39	3,69	4,19	2,51	2,83	2,28	3,40	2,57	1,18	7,56	ВП
48	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	СП
49	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	СП
50	UA 1/68	1,30	0,84	1,93	3,53	2,09	2,70	1,87	3,86	2,26	0,81	4,00	НП
51	UA 1/69	1,20	0,84	2,13	3,60	2,13	2,13	2,13	2,80	2,12	0,69	2,91	НП
52	UA 1/70	1,10	0,56	3,53	2,83	2,60	2,39	2,42	2,75	2,27	0,89	4,49	СП
53	UA 1/71	1,00	0,97	3,14	3,04	2,57	2,94	2,00	3,03	2,34	0,85	3,90	СП
54	UA 1/72	1,00	0,63	3,14	2,84	3,01	2,69	2,06	3,01	2,30	0,90	4,66	СП
55	UA 1/73	1,27	0,44	3,52	3,91	2,96	3,05	2,07	3,28	2,56	1,13	7,08	СП
56	UA 1/74	1,67	0,47	4,22	3,72	2,50	2,37	1,92	3,32	2,52	1,12	6,52	СП
57	UA 1/75	1,20	2,00	4,05	2,16	2,50	3,13	2,39	3,06	2,56	0,60	2,04	НП

*Продовження таблиці*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
58	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	ВП
59	UA 1/77	1,03	0,55	3,47	3,08	1,94	3,30	1,87	3,58	2,35	1,09	6,19	СП
60	UA 1/78	1,00	0,97	3,14	3,04	2,57	2,94	2,00	3,03	2,34	0,85	3,90	СП
61	UA 1/79	1,00	0,63	3,14	2,84	3,01	2,69	2,06	3,01	2,30	0,90	4,66	СП
62	Genesis ES	1,28	0,58	3,50	3,58	2,19	2,65	2,66	2,99	2,43	0,96	5,15	СП
63	NK Neoma	1,68	1,04	2,28	3,74	2,91	2,97	2,91	3,15	2,58	0,66	3,11	НП
64	UA 1/80	1,00	0,49	3,86	2,93	3,19	2,20	2,58	3,98	2,53	1,13	7,06	СП
65	UA 1/81	1,80	0,91	3,21	3,36	2,72	3,19	2,22	2,97	2,55	0,79	3,62	НП
66	UA 1/82	0,99	0,90	3,33	3,45	2,39	2,55	2,42	3,77	2,47	1,00	5,17	СП
67	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	СП
68	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	СП
69	UA 1/85	1,46	1,16	2,93	2,65	3,00	3,19	1,95	4,13	2,56	0,83	3,93	СП
70	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	СП
71	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	СП
72	UA 1/88	1,45	0,64	3,39	2,84	3,03	3,29	1,84	4,22	2,59	1,07	6,31	СП
73	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	СП
74	UA 1/90	1,41	1,16	4,43	2,30	3,29	2,70	1,72	3,00	2,50	0,87	4,16	СП
75	UA 1/91	1,12	0,58	3,34	3,73	2,83	2,83	2,24	2,71	2,42	0,98	5,50	СП
76	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	ВП
77	UA 1/93	1,32	0,59	3,38	3,63	2,67	2,20	2,57	3,80	2,52	1,04	5,85	СП
78	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	ВП
79	UA 1/95	1,88	0,65	3,47	2,77	2,60	2,27	2,11	1,87	2,20	0,64	2,65	НП
80	UA 1/96	1,71	0,74	3,22	3,30	2,69	2,06	1,62	3,19	2,32	0,85	3,82	СП

Продовження таблиці

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
81	UA 1/97	1,36	0,61	3,70	3,56	2,71	2,36	2,18	3,55	2,50	1,06	5,87	СП
82	UA 1/98	1,80	0,91	3,21	3,36	2,72	3,19	2,22	2,97	2,55	0,79	3,62	НП
83	Genesis ES	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	1,21	7,45	ВП
84	NK Neoma	1,12	0,70	4,27	3,35	2,67	3,48	2,12	3,76	2,68	1,21	7,64	ВП
85	UA 1/99	0,99	0,90	3,33	3,45	2,39	2,55	2,42	3,77	2,47	1,00	5,17	СП
86	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	СП
87	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	СП
88	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	ВП
89	Genesis ES	1,32	0,59	3,38	3,63	2,67	2,20	2,57	3,80	2,52	1,04	5,85	СП
90	NK Neoma	1,12	0,70	4,27	3,35	2,67	3,48	2,12	3,76	2,68	1,21	7,64	ВП
91	Genesis ES	1,28	0,58	3,34	3,73	2,10	2,20	2,24	3,18	2,33	0,98	5,08	СП
92	NK Neoma	1,74	0,80	3,97	2,71	2,57	4,06	2,18	4,03	2,76	1,04	6,13	СП
93	Genesis ES	1,12	0,58	3,34	3,73	2,83	2,83	2,24	2,71	2,42	0,98	5,50	СП
94	NK Neoma	1,57	0,62	3,82	3,61	2,48	2,72	2,81	3,33	2,62	1,00	5,55	СП
95	Genesis ES	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	1,21	7,45	ВП
96	NK Neoma	1,76	0,38	3,84	3,08	2,60	3,52	2,62	4,02	2,73	1,12	7,07	СП
97	Genesis ES	1,32	0,59	3,38	3,63	2,67	2,20	2,57	3,80	2,52	1,04	5,85	СП
98	NK Neoma	1,12	0,70	4,27	3,35	2,67	3,48	2,12	3,76	2,68	1,21	7,64	ВП
99	Genesis ES	1,84	0,81	4,23	3,73	2,75	3,21	2,11	4,58	2,91	1,21	7,45	ВП
100	NK Neoma	1,57	0,73	3,98	3,37	2,10	2,95	2,08	4,12	2,61	1,12	6,27	СП
101	Genesis ES	1,32	0,59	3,38	3,63	2,67	2,20	2,57	3,80	2,52	1,04	5,85	СП
102	NK Neoma	1,74	0,80	3,97	2,71	2,57	4,06	2,18	4,03	2,76	1,04	6,13	СП
103	Genesis ES	1,12	0,58	3,34	3,73	2,83	2,83	2,24	3,18	2,48	1,04	6,00	СП

*Продовження таблиці*

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
104	НК Neoma	0,60	0,52	4,74	2,81	2,67	3,05	2,13	4,04	2,57	1,36	9,45	ВП
105	Середнє	1,45	0,70	3,61	3,31	2,63	2,83	2,13	3,50	2,52	1,00	-	-
106	Індекс середовища (I <sub>i</sub> )	-1,07	-1,82	1,09	0,79	0,11	0,31	- 0,39	0,98	-	-	-	-
107	НІР <sub>05</sub>	0,07	0,05	0,09	0,09	0,06	0,09	0,07	0,12	0,03	-	-	-
108	$\sigma$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17	1,57	-

Додаток В

Свідотство на сорти рослин



**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ**

# СВІДОЦТВО

№ 190446

## ПРО АВТОРСТВО НА СОРТ РОСЛИН

**Лейквуд**  
назва сорту

**Соняшник однорічний**  
*Helianthus annuus L.*  
ботанічний таксон

Заявка № 17039040

Автор(и):

Парій Ярослав Федорович	Парій Мирослав Федорович
Парій Федір Микитович	Бабич Вікторія Олегівна
Кириченко Марина Сергіївна	

Заступник директора Департаменту  
аграрної політики та сільського господарства -  
начальник управління рослинництва, насінництва,  
садівництва та виноградарства **Л. Сухомлин**







МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

# СВІДОЦТВО

№ 190449

## ПРО АВТОРСТВО НА СОРТ РОСЛИН

**Альмера**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Заявка № 17039047

Автор(и):

Парій Ярослав Федорович

Парій Федір Микитович

Кириченко Марина

Сергіївна

Парій Мирослав Федорович

Бабич Вікторія Олегівна

Заступник директора Департаменту  
аграрної політики та сільського господарства -  
начальник управління рослинництва, насінництва,  
садівництва та виноградарства

Л. Сухомлин







МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

# СВІДОЦТВО

№ 190445

## ПРО АВТОРСТВО НА СОРТ РОСЛИН

Раміо

назва сорту

Соняшник однорічний

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Заявка № 17039039

Автор(и):

Парій Ярослав Федорович

Парій Федір Микитович

Кириченко Марина

Сергіївна

Парій Мирослав Федорович

Бабич Вікторія Олегівна

Заступник директора Департаменту  
аграрної політики та сільського господарства -  
начальник управління рослинництва, насінництва,  
садівництва та виноградарства **Л. Сухомлин**







МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

# СВІДОЦТВО

№ 190816

## ПРО АВТОРСТВО НА СОРТ РОСЛИН

**Еверест**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

**Заявка № 16039031**

**Автор(и):**

Парій Ярослав Федорович

Парій Юлія Олександрівна

Соломенко Андрій Іванович

Кириченко Марина

Сергіївна

Шаріпіна Ярослава Юріївна

Парій Мирослав Федорович

Бреус Оксана Сергіївна

Бабич Вікторія Олегівна

Гаврилишин Богдан

Дмитрович

Заступник директора Департаменту  
аграрної політики та сільського  
господарства



**О. Альшанова**





МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

# СВІДОЦТВО

№ 190442

## ПРО АВТОРСТВО НА СОРТ РОСЛИН

Амато

назва сорту

Соняшник однорічний

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Заявка № 17039034

Автор(и):

Парій Ярослав Федорович

Парій Мирослав Федорович

Парій Федір Микитович

Бабич Вікторія Олегівна

Кириченко Марина

Сергіївна

Заступник директора Департаменту  
аграрної політики та сільського господарства -  
начальник управління рослинництва, насінництва,  
садівництва та виноградарства Л. Сухомлин







МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

# СВІДОЦТВО

№ 190441

## ПРО АВТОРСТВО НА СОРТ РОСЛИН

Лайм

назва сорту

Соняшник однорічний

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Заявка № 17039032

Автор(и):

Парій Ярослав Федорович

Парій Федір Микитович

Кириченко Марина

Сергіївна

Парій Мирослав Федорович

Бабич Вікторія Олегівна

Заступник директора Департаменту  
аграрної політики та сільського господарства -  
начальник управління рослинництва, насінництва,  
садівництва та виноградарства Л. Сухомлин





Міністерство аграрної політики та продовольства України

**СВІДОЦТВО**

№ 220206

**про державну реєстрацію сорту рослини**

**Вегає**  
назва сорту

**Соняшник однорічний**  
*Helianthus annuus L.*  
ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки    **19039106**    **16.12.2019**

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності  
на поширення сорту рослин

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський  
науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації:    **13.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку

  
**Ігор ВІШТАК**





Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220201

про державну реєстрацію сорту рослини

**Елія**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки **19039099** **16.12.2019**

Власник (власники) майнових прав інтелектуальної власності на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації: **13.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку

**Ігор ВІШТАК**





Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220205

про державну реєстрацію сорту рослини

**Магnum**

назва сорту

**Сояшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки **19039105** **16.12.2019**

Власник (власники) майнових прав інтелектуальної власності  
на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський  
науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації **13.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку

**Ігор ВІШТАК**







Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220207

про державну реєстрацію сорту рослини

**Маєтак**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки **19039107** **16.12.2019**

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності  
на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський  
науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації: **13.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку

**Ігор ВІШТАК**





Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220203

про державну реєстрацію сорту рослини

**Панчо**

назва сорту

**Соняшник одиорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки 19039103 16.12.2019

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації 13.01.2022

Директор Департаменту  
аграрного розвитку

Ігор ВІШТАК







Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220202

про державну реєстрацію сорту рослини

**Тіакі**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подачі заявки 19039100 16.12.2019

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації 13.01.2022

Директор Департаменту  
аграрного розвитку

Ігор ВІШТАК







Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220104

про державну реєстрацію сорту рослини

Ремі

назва сорту

**Соняшник одиорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки **20039003** **02.01.2020**

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності  
на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю "Воскор-Агро"

Дата державної реєстрації: **10.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку **Ігор ВІШТАК**





Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220200

про державну реєстрацію сорту рослини

**Тенет**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки      19039098      16.12.2019

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності  
на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський  
науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації:      13.01.2022

Директор Департаменту  
аграрного розвитку



Ігор ВІШТАК





Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220105

про державну реєстрацію сорту рослини

**Тархан**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки **20039004** **02.01.2020**

Власник (власники) майнового права інтелектуальної власності  
на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю "Воскор-Агро"

Дата державної реєстрації: **10.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку **Ігор ВІШТАК**





Міністерство аграрної політики та продовольства України

# СВІДОЦТВО

№ 220204

про державну реєстрацію сорту рослини

**Кентавр**

назва сорту

**Соняшник однорічний**

*Helianthus annuus L.*

ботанічний таксон

Номер і дата подання заявки **19039104** **16.12.2019**

Власник (власники) майшового права інтелектуальної власності на поширення сорту рослини

Товариство з обмеженою відповідальністю «Всеукраїнський науковий інститут селекції (ВНІС)»

Дата державної реєстрації: **13.01.2022**

Директор Департаменту  
аграрного розвитку



**Ігор ВШТАК**



## Додаток Г

"APPROVED"

Director  
Institute of Cell Biology and Genetics  
Engineering of NAS of Ukraine

 Kuchuk M.

"APPROVED"

Director  
LLC "AGRONEIMAR"

 Dejan Jovanovic

## ACT OF IMPLEMENTATION

results of the dissertation of Babych Victoria on the topic "Development of an accelerated selection system of sunflower source material with economically valuable features"

We, the undersigned, are representatives of the Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, Head of the Department of Genetic Engineering, Corresponding Member of NAS of Ukraine, Director of ICBGE of NAS of Ukraine, Prof., Ph.D. Kuchuk M, Ph.D. Symonenko Yu., applicant Babych V. on the one hand

(supervisor, responsible executor, full name)

and a representative of the Limited Liability Company "AGRONEIMAR", Svetozara Corovica 6, 21000, Novi Sad, Serbia

(full name of the enterprise, organization, address)

represented by director Dejan Jovanovic

(position, surname and initials)

made this act that the results of the dissertation Babych V. on "Development of an accelerated selection system of sunflower source material with economically valuable features" in the form of "Comprehensive system of selection of source material of sunflower resistant to herbicides and broomrape" were introduced into the scientific and practical work of the sunflower breeding department of the company LLC "AGRONEIMAR".

The name of the implemented result	The actual result is achieved	
	Social, technical, organizational, etc.	Economic (UAH per year)
"Integrated system for selection of source material of sunflower resistant to herbicides and broomrape"	Accelerate the release of herbicide-resistant sunflower and broomrape lines	-

From Institute of Cell Biology and Genetics  
Engineering of NAS of Ukraine

 Kuchuk M.

 Symonenko Yu.

 Babych V.

From LLC "AGRONEIMAR"

 Dejan Jovanovic

