

УДК 633.522 : 631.52

МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ САМОЗАПИЛЕНИХ ЛІНІЙ ДЛЯ СТВОРЕННЯ СИНТЕТИЧНИХ ПОПУЛЯЦІЙ КОНОПЕЛЬ

*Мищенко С.В., кандидат сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник*

*Лайко І.М., доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник*

ІНСТИТУТ ЛУБ'ЯНИХ КУЛЬТУР НААН

Доведено можливість створення нового селекційного матеріалу або підвищення продуктивності існуючого сорту шляхом отримання на його основі стабільних самозапилених ліній з подальшим їх вільним перезапиленням і розмноженням за спеціально розробленою методикою (по типу створення синтетичного сорту). При цьому на початкових етапах селекції важливо проводити добір самозапилених ліній за комплексом бажаних ознак, на завершальних етапах близькоспорідненого розмноження залишати лише ті лінії, які в результаті самозапилення утворюють найменшу кількість насіння, а за даними розсадника оцінки за умови відсутності просторової ізоляції і вільного запилення пилок різного походження характеризуються високою насінневою продуктивністю. Такий прийом дозволяє добирати генотипи, які меншою мірою здатні до самозапилення, а більшою мірою здатні до перехресного запилення, що у майбутньому підвищить життєздатність і продуктивність потомства.

Інбридинг (близькоспоріднене розмноження) і його крайня форма – самозапилення – знайшли широке застосування у багатьох перехреснозапильних культур [1]. Інбридинг дозволяє не тільки посилити домінантні ознаки, очистити організми від шкідливих рецесивних генів, але і диференціювати популяцію на низку відмінних одна від одної ліній, щоб виділити нові форми з бажаними рецесивними ознаками, прихованими у вільно схрещуваних популяціях. Основне значення інбридингу полягає у створенні за короткий проміжок часу гомозиготного потомства. При гібридизації самозапилених ліній у потомстві можна отримати бажаний ефект гетерозису.

Актуальність досліджень інбридингу у конопель (*Cannabis sativa* L.) викликана появою можливості створення самозапилених ліній на основі

наявних нових унікальних сортів, надзвичайно вирівняних за основними селекційними ознаками, необхідністю комплексності вивчення близькоспорідненого розмноження і можливостей його використання для створення різноманітного селекційного матеріалу, що до цього часу так і не стало предметом окремого спеціального дослідження.

Самозапилені лінії, отримані на основі сучасних сортів однодомних конопель, можуть використовуватись у декількох напрямках. По-перше, у генетичних дослідженнях для встановлення особливостей генетичного контролю певної ознаки чи характеру її мінливості. По-друге, для створення нового вихідного матеріалу шляхом міжлінійної, сортолінійної та лінійносортової гібридизації з подальшим індивідуальним добором в гібридних популяціях. Доведено, що таким гібридам характерні ефект гетерозису за багатьма цінними господарськими ознаками [2], порівняно висока стабільність ознаки однодомності [3] і відсутності канабіноїдних сполук [4] як на ранніх етапах селекції, так і в процесі подальшого розмноження. Важливе значення при цьому відіграє оптимальний підбір компонентів схрещувань на основі встановлення комбінаційної здатності різних самозапилених ліній [5], що суттєво може підвищити продуктивність. По-третє, інбридинг конопель може бути використаний з метою очищення популяції від одного або декількох небажаних рецесивних алелів і стабілізації таким чином певних селекційних ознак чи їх комплексу в існуючого селекційного матеріалу (сорту) шляхом створення однорідних самозапилених ліній з наступним об'єднанням їх в єдину синтетичну популяцію.

Комбінація (суміш) самозапилених ліній рідко використовується як метод для покращення перехреснозапильних культур, навіть, якщо такі культури утворюють частину насіння у результаті самозаплення. Причини цього наступні: 1) потомство, яке утворюється у результаті самозаплення, зазвичай має низьку життєздатність насіння; 2) при комбінації самозапилених ліній спостерігається тенденція до збільшення частки рослин, схильних до самозаплення [6]. Не зважаючи на це, даний метод існує і може застосовуватися на практиці, зокрема не тільки для поліпшення селекційного матеріалу, а й для створення нового, оскільки в процесі близькоспорідненого розмноження популяція диференціюється за багатьма ознаками на низку самозапилених ліній, які мають досить суттєві відмінності порівняно з вихідною формою.

Мета досліджень – встановити можливості створення нового селекційного матеріалу і підвищення продуктивності існуючого шляхом створення на його основі стабільних самозапилених ліній з подальшим їх вільним перезапленням і розмноженням по типу створення синтетичного сорту (синтетичної селекції).

Матеріал і методика досліджень. У дослідженнях використано сучасні сорти однодомних конопель з відсутністю психотропних властивостей Глухівські 58, Глесія і Золотоніські 15. Вивчення синтетичних популяцій проводили у 2014–2018 рр. при площі живлення рослин

30 x 5 см. Оскільки роки досліджень мали різні погодно-кліматичні умови, вихідні форми характеризувались різним рівнем прояву ознак, кожне покоління синтетичних популяцій порівнювали з конкретною для нього вихідною формою. Наша методика створення синтетичних популяцій носить інноваційний характер, тому зупинимось на її описі більш детально.

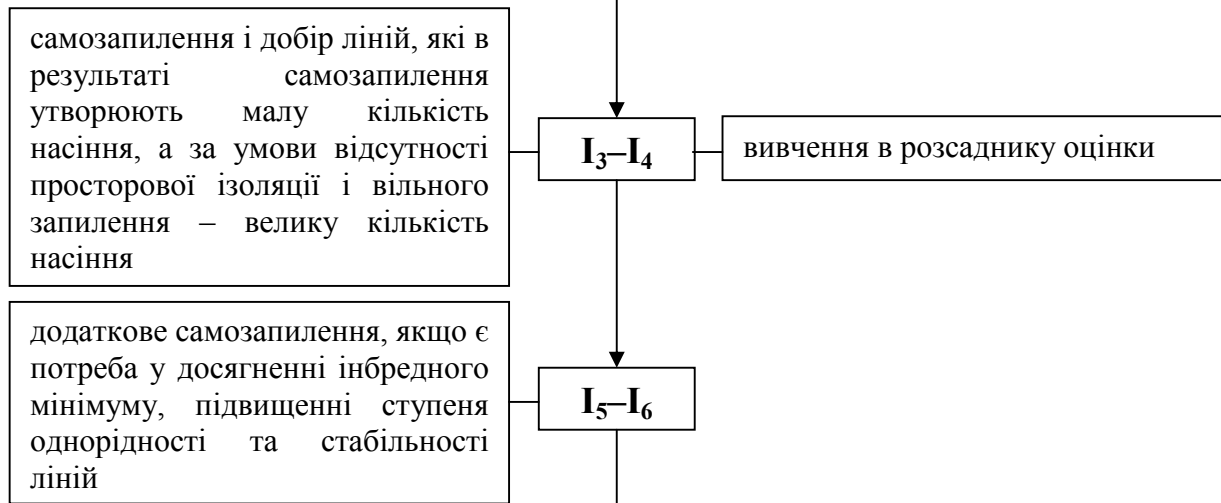
Для самозапилення добирають селекційні сім'ї сорту з бажаними ознаками чи їх комплексом. Насіння висівають в умовах вегетаційного будинку та ізолюють рослини відповідного габітусу до цвітіння індивідуальними ізоляторами з агроволокна. Самозапилення проводять протягом 4–6 поколінь, доки не наступить інбредний мінімум, будуть отримані однорідні та стабільні лінії. Паралельно із самозапиленням здійснюють оцінку самозапилених ліній у розсаднику оцінки за основними селекційними ознаками. Для розмноження добирають лінії з наступними характеристиками: найменший ступінь депресії, відсутність шкідливих мутацій і морфозів, бажаний рівень прояву селекційних ознак, відсутність у потомстві рослин з канабіноїдними сполуками, переважання у статевому складі однодомної фемінізованої матірки та відсутність плосконі однодомних конопель. Решту самозапилених ліній вибраковують. На завершальних етапах близькоспорідненого розмноження залишають лише ті лінії, які в результаті самозапилення утворюють найменшу кількість насіння, а за даними розсадника оцінки за умови відсутності просторової ізоляції і вільного запилення пилом різного походження характеризуються високою насінневою продуктивністю. Такий підхід дозволяє добирати генотипи, які меншою мірою здатні до самозапилення, а більшою мірою здатні до перехресного запилення, що у майбутньому підвищить життєздатність і продуктивність потомства. Для отримання синтетичної популяції проводять вільне схрещування кращих 5–7 самозапилених ліній, які повинні бути досить подібними одна до одної. Для цього самозапилені лінії висівають в умовах вегетаційного будинку у двократній повторності з випадковою їх послідовністю на ділянці розміром 2,5 x 2,5 м, яку перед цвітінням ізолюють груповим ізолятором. Отримують насіння *syn-1*. У розсаднику оцінки вивчають потомство кожної лінії за комбінаційною здатністю та для отримання наступного покоління синтетичної популяції з кожної лінії (як правило, використовують 3–5 ліній), яка добре себе зарекомендувала за досліджуваними ознаками і властивостями, добирають однакову кількість (масу) насіння, змішують і висівають для отримання *syn-2* і потім *syn-3* (рис. 1).

Результати досліджень. Створені за описаною методикою синтетичні популяції на основі самозапилених ліній сортів Глухівські 58 і Глесія характеризуються підвищеними показниками морфологічних ознак стебла, волокнистості (маси стебла і волокна, вмісту волокна), насінневої продуктивності, порівняно зі своїми вихідними формами.

1-й етап



2-й етап



3-й етап

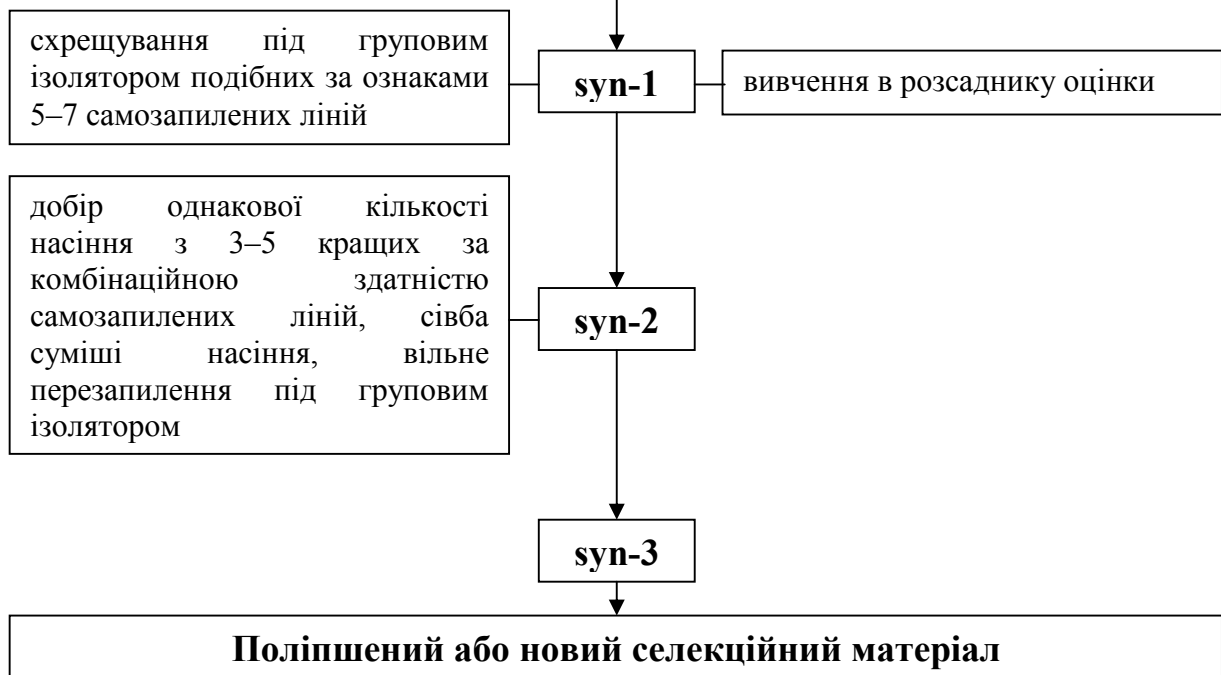


Рис. 1 – Селекційна схема поліпшення існуючого селекційного матеріалу і створення нового на основі самозапилених ліній по типу синтетичної селекції.

Перевищення синтетичними популяціями своїх вихідних форм за ознакою загальної довжини можуть досягати 24,0, технічної довжини – 31,4, діаметра стебла – 24,6, маси стебла – 54,9, маси волокна – 60,9, вмісту волокна – 6,2%, маси насіння з рослини – 3,6 разу.

На відміну від описаних сортів, синтетичні популяції, що були створені шляхом комбінації самозапилених ліній сорту південного еколого-географічного типу Золотоніські 15, не завжди характеризуються вищими показниками досліджуваних селекційних ознак, інколи різниця недостовірна, а в окремих випадках продуктивність синтетичних популяцій є нижчою. Розроблені методичні прийоми завжди сприяли підвищенню вмісту волокна а стебла.

Як засвідчили результати досліджень створення вихідного матеріалу методами синтетичної селекції сприяє стабілізації ознаки відсутності канабіноїдних сполук до повної відсутності та ознаки однодомності, зокрема зменшується вміст фемінізованої плосконі, однодомної фемінізованої плосконі (у поколіннях синтетичних популяцій сортів Глухівські 58 і Глесія навіть до нуля), а також справжніх однодомних фемінізованих рослин, водночас суттєво підвищується вміст основного статевого типу – однодомної фемінізованої матірки (навіть до 100%) (табл. 1–4, рис. 2).

Таблиця 1 – Мінливість морфологічних ознак *syn-1*–*syn-3*

Варіант	Загальна довжина, см		Технічна довжина, см		Діаметр стебла, мм	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V
Гляна, стандарт	223,6 ± 4,34	8,5	175,4 ± 3,09	10,2	8,82 ± 0,308	15,4
Глухівські 58						
Вихідна форма	223,9 ± 4,57	9,1	170,4 ± 4,42	11,6	8,82 ± 0,332	17,5
syn-1	264,4 ± 6,56	8,0	224,0 ± 4,59	6,5	10,38 ± 0,502	15,0
Вихідна форма	207,8 ± 3,96	8,6	178,1 ± 3,64	9,0	7,84 ± 0,280	15,7
syn-2	223,3 ± 3,72	7,4	192,7 ± 2,43	5,6	8,35 ± 0,280	14,8
Вихідна форма	212,9 ± 6,02	11,0	167,3 ± 6,58	15,2	7,37 ± 0,442	23,2
syn-3	264,0 ± 4,02	5,9	203,9 ± 5,38	10,2	9,18 ± 0,323	13,6
Глесія						
Вихідна форма	234,4 ± 4,28	8,2	188,3 ± 3,46	8,3	9,31 ± 0,278	13,6
syn-1	266,0 ± 5,06	6,0	209,3 ± 4,62	7,0	11,20 ± 0,328	9,3
Вихідна форма	205,0 ± 2,76	6,1	177,0 ± 2,71	6,9	8,14 ± 0,255	14,3
syn-2	219,8 ± 4,48	9,2	179,9 ± 3,56	8,8	8,42 ± 0,276	14,8
Вихідна форма	234,0 ± 3,84	7,3	167,0 ± 3,13	8,4	8,76 ± 0,288	14,7
syn-3	245,8 ± 4,29	7,8	167,2 ± 2,84	7,6	9,62 ± 0,386	17,9
Золотоніські 15						
Вихідна форма	256,8 ± 5,18	9,0	208,1 ± 4,20	9,2	9,02 ± 0,322	16,0
syn-1	242,8 ± 4,44	5,8	192,8 ± 6,09	10,0	9,43 ± 0,356	11,7
Вихідна форма	213,4 ± 3,58	7,2	182,2 ± 3,50	10,1	8,34 ± 0,366	19,2
syn-2	184,2 ± 2,76	6,6	151,3 ± 1,72	5,0	7,60 ± 0,271	15,8
Вихідна форма	232,8 ± 5,29	10,2	168,4 ± 4,56	12,1	8,00 ± 0,385	21,5
syn-3	243,5 ± 3,62	5,8	165,0 ± 5,57	13,1	8,33 ± 0,377	17,5

Таблиця 2 – Мінливість ознак волокнистості *syn-1*–*syn-3*

Варіант	Маса стебла, г		Маса волокна, г		Вміст волокна, %	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	V
Гляна, стандарт	16,00 ± 1,281	34,1	5,14 ± 0,337	29,9	32,80 ± 1,032	13,6
Глухівські 58						
Вихідна форма	17,84 ± 1,284	34,6	5,62 ± 0,412	40,7	32,70 ± 0,616	7,7
syn-1	20,02 ± 2,188	34,0	6,10 ± 0,602	30,8	31,02 ± 0,984	10,1
Вихідна форма	11,54 ± 0,953	35,2	4,03 ± 0,207	33,0	35,02 ± 0,593	7,4
syn-2	12,97 ± 0,827	28,8	4,58 ± 0,251	29,6	35,32 ± 0,554	7,2
Вихідна форма	16,74 ± 1,824	42,2	5,49 ± 0,608	42,9	32,72 ± 0,413	4,9
syn-3	18,23 ± 1,214	25,8	6,05 ± 0,371	23,7	33,53 ± 0,712	8,9
Глесія						
Вихідна форма	15,84 ± 0,934	27,9	5,30 ± 0,360	36,2	34,92 ± 0,593	7,1
syn-1	24,54 ± 1,782	24,4	8,53 ± 0,746	28,5	34,88 ± 1,047	9,5
Вихідна форма	11,65 ± 0,913	35,7	4,14 ± 0,361	42,5	35,67 ± 0,776	9,4
syn-2	15,16 ± 1,042	32,0	5,47 ± 0,396	26,2	36,12 ± 0,353	4,4
Вихідна форма	16,72 ± 0,946	25,3	5,28 ± 0,314	26,5	31,60 ± 0,466	6,6
syn-3	17,26 ± 1,333	34,6	5,54 ± 0,437	35,3	32,08 ± 0,429	6,0
Золотоніські 15						
Вихідна форма	19,87 ± 1,328	31,8	5,76 ± 0,443	36,9	29,72 ± 1,095	15,0
syn-1	19,08 ± 1,546	26,2	6,36 ± 0,484	24,6	33,72 ± 0,769	7,1
Вихідна форма	20,81 ± 1,554	32,4	6,46 ± 0,454	29,8	31,00 ± 0,691	10,0
syn-2	10,48 ± 0,750	27,1	3,84 ± 0,072	12,6	37,24 ± 0,366	4,2
Вихідна форма	19,76 ± 2,245	50,8	5,66 ± 0,698	55,1	28,26 ± 0,481	7,6
syn-3	16,86 ± 1,725	39,6	5,60 ± 0,611	42,3	32,96 ± 0,825	9,7

Таблиця 3 – Вміст канабіноїдів у *syn-1*–*syn-3*

Варіант	Вміст канабіноїдів, бал		
	КБД	ТГК	КБН
Гляна, стандарт	0	0	0
Глухівські 58			
Вихідна форма	0	0	0
syn-1	0	0	0
Вихідна форма	0,07	0	0,04
syn-2	0	0	0
Вихідна форма	0	0	0
syn-3	0	0	0
Глесія			
Вихідна форма	0	0	0
syn-1	0	0	0
Вихідна форма	0	0	0
syn-2	0	0	0
Вихідна форма	0	0	0
syn-3	0	0	0
Золотоніські 15			
Вихідна форма	0	0	1,50
syn-1	0	0	0
Вихідна форма	0,34	0,03	1,19
syn-2	0	0	0
Вихідна форма	0	0	0
syn-3	0	0	0

Таблиця 4 – Статеві типи сун-1–сун-3

Варіант	Статеві типи, %				
	ОФМ	СОФР	ОФП	ФП	ПОК
Гляна, стандарт					
Глухівські 58					
Вихідна форма	88,9	7,4	3,7	0	0
сун-1	98,2	1,8	0	0	0
Вихідна форма	67,2	27,9	4,9	0	0
сун-2	97,4	1,3	1,3	0	0
Вихідна форма	95,2	4,8	0	0	0
сун-3	95,8	4,2	0	0	0
Глесія					
Вихідна форма	88,4	8,3	3,3	0	0
сун-1	97,7	2,3	0	0	0
Вихідна форма	70,0	25,0	5,0	0	0
сун-2	100,0	0	0	0	0
Вихідна форма	95,2	4,8	0	0	0
сун-3	95,6	4,3	0	0	0
Золотоніські 15					
Вихідна форма	74,6	15,9	6,3	3,2	0
сун-1	85,9	9,9	2,8	1,4	0
Вихідна форма	55,4	32,3	10,8	1,5	0
сун-2	92,5	6,3	1,2	0	0
Вихідна форма	34,8	39,1	8,7	8,7	8,7
сун-3	85,7	7,1	7,1	0	0

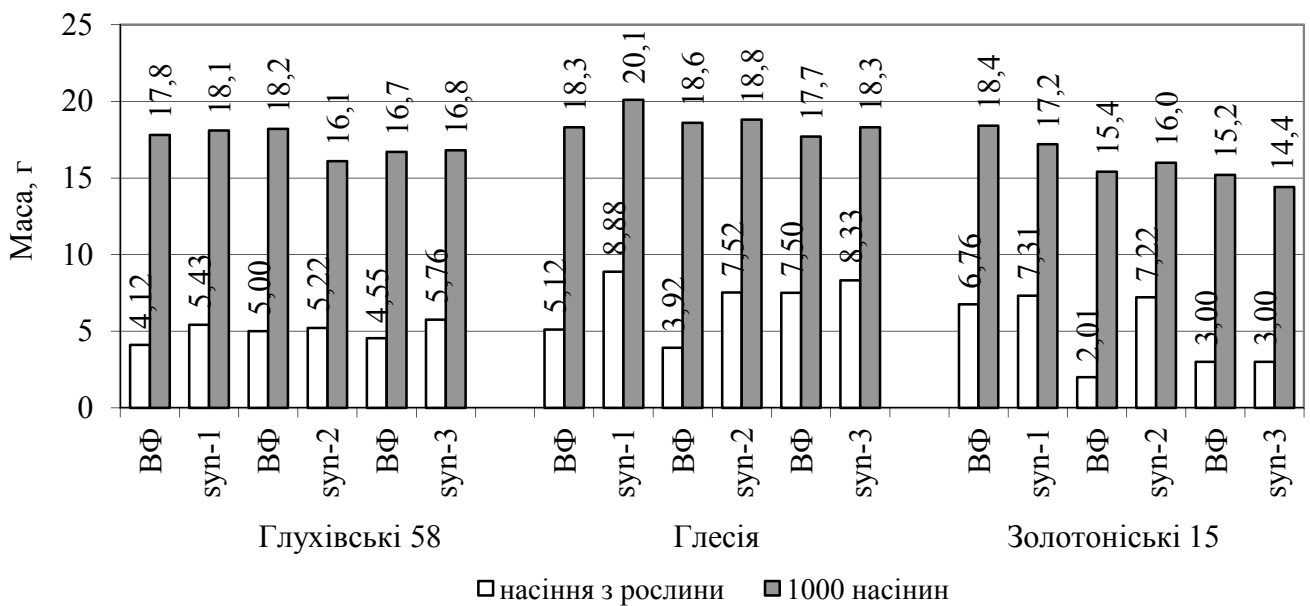


Рис. 2. – Насіннева продуктивність сун-1–сун-3, порівняно з вихідними формами (ВФ)

У процесі розмноження синтетичних популяцій від syn-1 до syn-3 рівень ознак продуктивності залишався стабільно високим. Маса 1000 насінин коливалась в бік збільшення чи зменшення і не залежала від покоління синтетичної популяції.

Висновки. У результаті проведених досліджень доведено можливості створення нового селекційного матеріалу або підвищення продуктивності існуючого шляхом отримання на його основі стабільних самозапилених ліній з подальшим їх вільним перезапиленням і розмноженням за спеціально розробленою методикою (по типу створення синтетичного сорту). При цьому на початкових етапах селекції важливо проводити добір самозапилених ліній за комплексом ознак, на завершальних етапах близькоспорідного розмноження залишати лише ті лінії, які в результаті самозапилення утворюють найменшу кількість насіння, а за даними розсадника оцінки за умови відсутності просторової ізоляції і вільного запилення пилком різного походження характеризуються високою насінневою продуктивністю. Такий прийом дозволяє добирати генотипи, які меншою мірою здатні до самозапилення, а більшою мірою здатні до перехресного запилення, що у майбутньому підвищить життєздатність і продуктивність потомства.

Список використаної літератури

1. **Шевцов И. А.** *Использование инбридинга у растений.* Киев, 1983. 272 с.
2. **Міщенко С. В.** Рівень прояву та успадкування селекційних ознак у сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів F_1 різних еколого-географічних типів. *Селекція і насінництво.* 2016. Вип. 109. С. 101–110. DOI: 10.30835/2413-7510.2016.742052
3. **Міщенко С. В.** Особливості успадкування ознак статі у сортолінійних, лінійносортових та міжлінійних гібридів одностатевих конопель. *Селекція і насінництво.* 2015. Вип. 108. С. 122–130. DOI: 10.30835/2413-7510.2015.57382
4. **Міщенко С. В.** Вміст канабіноїдів у сортолінійних, лінійносортових і міжлінійних гібридів конопель F_1 – F_3 та методичні аспекти їх створення. *Вісник Центру наукового забезпечення АПВ Харківської області.* 2016. Вип. 21. С. 186–194.
5. **Міщенко С. В.** Ефекти загальної та варіанси специфічної комбінаційної здатності самозапилених ліній і сортів конопель у системі топкросів. *Фактори експериментальної еволюції організмів.* 2017. Т. 21. С. 62–67.
6. **Бриггс Ф., Ноулз П.** *Научные основы селекции растений / пер. с англ. Л. И. Вайсфельд, Ю. И. Лашкевич; под. ред., Г. В. Гуляев.* Москва, 1972. – 339 с.

POSSIBILITIES OF USE SELF-POLLINATED LINES FOR CREATING OF SYNTHETIC HEMP POPULATIONS

Mishchenko S.V., Laiko I.M.

It has been proved that it is possible to create a new breeding material or increase the productivity of an existing one by obtaining stable self-pollinated lines on its basis, followed by their free pollination and propagation according to a specially developed technique (by the type of creation of a synthetic variety). Moreover, at the initial stages of breeding, it is important to select self-pollinated lines according to the set of desired characteristics, at the final stages of closely related breeding, leave only those lines that form the smallest number of seeds as a result of self-pollination, and according to the nursery, estimates in the absence of spatial isolation and free pollination with pollen of various origin characterized by high seed productivity. This technique allows you to select genotypes that are less capable of self-pollination, and more capable of cross-pollination, which in the future will increase the viability and productivity of generation.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ САМООПЫЛЕННЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ КОНОПЛИ

Мищенко С. В., Лайко И. М.

Доказано возможности создания нового селекционного материала или повышения продуктивности существующего путем получения на его основе стабильных самоопыленных линий с последующим их свободным переопылением и размножением по специально разработанной методике (по типу создания синтетического сорта). При этом на начальных этапах селекции важно проводить отбор самоопыленных линий по комплексу желаемых признаков, на завершающих этапах близкородственного размножения оставлять только те линии, которые в результате самоопыления образуют наименьшее количество семян, а по данным питомника оценки при отсутствии пространственной изоляции и свободного опыления пыльцой различного происхождения характеризуются высокой семенной продуктивностью. Такой прием позволяет подбирать генотипы, которые в меньшей степени способны к самоопылению, а в большей степени способны к перекрестному опылению, что в будущем повысит жизнеспособность и продуктивность потомства.