

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Міщенко Сергія Володимировича «*Теоретичні і практичні основи використання інбридингу та гібридизації в селекції конопель*» подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво

*Актуальність теми.* Коноплі як цінна волокниста культура, все більше використовуються у насінневому, олійному, целюлозному, біоенергетичному і медичному напрямках. Особливий попит виник на медичні коноплі, тобто сорти з підвищеним вмістом непсихотропних канабіноїдів – канабідіолу, канабігеролу, канабінолу, канабіхромену, тощо за одночасної відсутності чи мінімальних кількостях тетрагідроканабінолу, вміст якого згідно чинного законодавства України не повинен перевищувати 0,08%. У зв'язку з цим виникла проблема пошуку нової методології створення вихідного селекційного матеріалу однодомних конопель та розробки ефективної ідентифікації канабіноїдних сполук. Існуючі методики оцінки даних речовин у селекційних цілях не в повній мірі є ефективними при доборах на збільшення вмісту окремої сполуки, здебільшого вони дієві при елімінації усіх компонентів канабіноїдів. Актуальними є обґрунтування теоретичних основ і практичного використання інбридингу та гібридизації в селекції сучасних сортів конопель. Залучення самозапилених ліній у схрещуваннях сприяє формотворенню унікальних генотипів, дозволяє прискорювати селекційний процес.

*Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.* Дослідження проведені в Інституті луб'яних культур НААН впродовж 2008–2019 рр. згідно пріоритетних завдань: 1) ПНД НААН «Луб'яні культури» – 19.01/015 «Розробити та удосконалити методи створення генетично стабільних ліній конопель для селекції за ознакою відсутності наркотичних властивостей, високих показників однодомності, вмісту волокна і насінневої продуктивності» (2006–2010 рр., № д.р. 0106U008789), 19.00.01.04.Ф «Встановити особливості генетичного контролю ознак відсутності канабіноїдних сполук та стабільності однодомності з метою створення гетерозисних гібридів конопель» (2011–2015 рр., 0111U004052), 19.00.01.07.П «Розробити методи збільшення генетичного потенціалу ознаки насінневої продуктивності сортів однодомних конопель з відсутністю наркотично активного тетрагідроканабінолу» (2011–2013 рр., 0111U004055), 20.00.01.03.Ф «Розробити теоретичні основи створення безнаркотичних конопель медичного напрямку використання з підвищеним вмістом канабідіолу на основі встановлення генетичних і фізіологічних механізмів його формування (синтезу)» (2016–2020 рр., 0116U000372), 20.00.01.06.Ф «Встановити генотипову мінливість ознак жирнокислотного складу олії в насінні ненаркотичних конопель з метою його поліпшення» (2016–2020 рр., 0116U000374), 20.00.02.10.ПШ «Розробити спосіб розмноження *Cannabis sativa* L. і *Linum usitatissimum* L. з насіння з низькою схожістю та життєздатністю в умовах *in vitro*» (2019 р., 0119U100897); 2) ПНД НААН «Генетичні ресурси рослин» – 09.01.01.17.Ф «Розробити методологію формування та ведення генетичного банку льону та конопель, розширити їх

генетичне різноманіття для ефективного використання в наукових, селекційних та навчальних програмах» (2011–2015 рр., 0111U004054), 24.01.01.11.Ф «Встановити генотипові мінливості інтродукованих зразків льону та конопель за адаптивною здатністю, сформувати та поповнити ознакові та генетичні колекції» (2016–2020 рр., 0116U004145).

*Наукова новизна одержаних результатів* полягає в теоретичному узагальненні та новому вирішенні важливої наукової проблеми використання інбридингу та гібридизації в селекції конопель.

*Вперше в світі:* встановлено досить низький рівень інбредної депресії у окремих самозапиленних ліній конопель, що є наслідком високої гомозиготності сучасних вітчизняних сортів конопель та особливостей ведення селекції, встановлено покоління від самозапилення, у якому настає інбредний мінімум за основними селекційними ознаками і, починаючи з якого самозапилені лінії доцільно включати у схрещування, доведено ефективність близькоспорідненого розмноження для стабілізації ознак вмісту канабіноїдів і одностомності; розроблено теоретичні та методичні основи використання самозапиленних ліній одностомних конопель як компонентів різних типів схрещувань, що показало досить позитивний ефект, який полягає у підвищенні продуктивності конопель за окремими ознаками і їх комплексом, формотворенні унікальних генотипів, що проявляються у фенотипах з принципово новими ознаками.

*Вперше в Україні:* встановлено закономірності прояву ознак наявності та вмісту канабіноїдних сполук у сортів та зразків з підвищеним вмістом не-психотропних канабіноїдів і відсутністю чи мінімальним вмістом тетрагідроканабіолу; виявлено особливості накопичення канабіноїдних сполук в онтогенезі не за максимальним їх виразом у верхівках суцвіть, а у середньозваженому зразку вегетативних і генеративних органів, придатних для виділення канабіноїдів; встановлено позитивний вплив окремих фітогормонів та антиоксидантів екзогенного походження на накопичення канабіноїдних сполук, визначено кореляції між ними та доведено можливість виявлення рослин з перерваним процесом біосинтезу канабіноїдів; в кліматичних умовах північного сходу України здійснено системний підхід до створення самозапиленних ліній двох різних еколого-географічних типів конопель за багатьма селекційними ознаками.

*Удосконалено* методи ефективної ідентифікації канабіноїдних сполук у селекційних цілях.

*Набула подальшого розвитку* розробка схем селекційного процесу і прийомів гібридизації конопель.

*Практичне значення одержаних результатів.* Дослідженнями удосконалено методи ефективної ідентифікації канабіноїдних сполук, розроблено «Методику визначення вмісту канабіноїдних сполук у рослинах конопель методом тонкошарової хроматографії для селекційних цілей», Патенти на корисну модель: «Спосіб оцінки рослин конопель на наявність канабіноїдних сполук», «Спосіб створення гібридного селекційного матеріалу одностомних конопель без психотропних властивостей», «Спосіб створення синтетичних популяцій конопель», «Спосіб розмноження рослин конопель з насіння з ни-

зькою схожістю та життєздатністю», «Живильне середовище для культивування однодомних ненаркотичних конопель (*Cannabis sativa* L.) середньоросійського еколого-географічного типу в умовах *in vitro*». Також запропоновано та успішно використано на практиці схеми селекції конопель із залученням самозапилених ліній (прості сортолінійні, лінійносортіві і міжлінійні гібриди), схрещування у напрямках вертикальної і горизонтальної конвергенції для отримання вихідного матеріалу конопель з високими показниками біомаси рослин, волокнистості і насінневої продуктивності.

У селекційному процесі створення сортів конопель медичного напрямку використання виділено 47 цінних колекційних зразків для створення вихідного матеріалу і сортів універсального та спеціалізованих напрямів господарського використання. Отримано цінні самозапилені лінії сортів Глухівські 58, Гляна, Глесія, Миколайчик, Іоніно, Глухівські 51, Глухівські 46, Золотоніські 15, Ніка; гібриди і синтетичні популяції різних поколінь за окремими ознаками і їх комплексом; отримано зразки Глухівські 58 ЛК (№ національного каталогу UF0600693), СЛП 407 (UF0600694), СЛП 470 (UF0600695), Грація (UF0600706), Іріда (UF0600713), Аврора (UF0600717), ВІК СВН (UF0600718), Деметра (UF0600720), Енергетик (UF0600729), колекції генофонду рослин в Україні (за урожайністю волокна та насіння, за вмістом олії).

Створено і запропоновано виробництву конкурентоздатні сорти конопель: Глесія з високою насінневою продуктивністю, Глухівські 51 з високим вмістом волокна, Миколайчик з високим вмістом олії в насінні, нижчою висотою стебел за сорт-стандарт, що полегшує процес збирання насінневих посівів зернозбиральним комбайном, Глухівські 85 енергетичного напрямку використання з високим урожаєм біомаси, Артеміда універсального напрямку використання, але з високим вмістом олії, інтенсивним і потужним ростом рослин на початку вегетації, Гармонія універсального напрямку використання, але з високим виходом волокна і вмістом олії, Вік 2020 медичного напрямку використання з підвищеним вмістом канабідіолу.

*Структура та обсяг роботи.* Робота викладена на 525 сторінках машинописного тексту, у т. ч. 312 сторінок основного тексту. Містить анотацію, вступ, 7 розділів, висновки, рекомендації для селекційної практики і виробництва, 10 додатків, ілюстрована 110 таблицями та 112 рисунками. Список використаних джерел включає 519 найменувань, з них 145 латиницею.

*Аналіз основного змісту.* В першому розділі представлено аналіз наукових літературних джерел свідчить про те, що останнім часом культура конопель спеціалізується за напрямками господарського використання, тому виникає потреба у новому селекційному матеріалі та сортах для задоволення вимог виробництва. Дієвим методом створення й урізноманітнення вихідного селекційного матеріалу однодомних конопель є використання самозапилених ліній, які в процесі інбридингу диференціюються за рядом цінних ознак, з подальшою їх гібридизацією, у результаті чого відбувається формотворення унікальних генотипів. Доцільності набуває питання експериментального удосконалення методів ідентифікації канабіноїдних сполук у селекційних цілях, виявлення закономірностей прояву ознак наявності та вмісту канабіноїдів,

розробки теоретичних і практичних основ використання інбридингу та гібридизації при створенні сортів без психотропних властивостей, що не стало предметом окремого наукового дослідження. Уваги заслуговує започаткування нового напрямку в селекції конопель – медичного, обґрунтування методичних основ селекції конопель з підвищеним вмістом непсихотропних канабіноїдів і відсутністю (низьким вмістом) ТГК на основі генетичних та середовищних факторів детермінації зміни вмісту канабіноїдів, кореляцій між ними, успадкування, тощо. Вирішенню зазначених проблем і присвячена дисертаційна робота.

*В другому розділі* охарактеризовані погодні умови, матеріал та методика. Методи досліджень забезпечили виконання всіх розділів дисертаційної роботи і дали можливість всебічно охарактеризувати отримані результати. Використання статистичних показників і графічних моделей дозволило оцінити генетичне різноманіття та інтерпретацію експериментальних даних. Біометричний аналіз матеріалу підтвердив достовірність досліджень.

*У розділі три* представлено експериментальне удосконалення методів ідентифікації канабіноїдних сполук конопель у селекційних цілях, удосконалення якісної оцінки канабіноїдних сполук, удосконалення напівкількісної оцінки канабіноїдних сполук. Особливості пробопідготовки при кількісній оцінці канабіноїдних сполук, та ефективність удосконалених методів оцінки канабіноїдних сполук.

*У четвертому розділі* наведено закономірності прояву ознак наявності та вмісту канабіноїдних сполук і їх використання в селекції конопель, генотипові та середовищні фактори детермінації зміни вмісту канабіноїдів у конопель. Розщеплення самозапилених ліній конопель  $I_1$ – $I_{10}$  за ознаками вмісту канабіноїдів. Кореляції між ознаками вмісту основних канабіноїдних сполук у самозапилених ліній сучасних сортів конопель. Успадкування ознаки вмісту канабіноїдів реципрокними гібридами конопель.

*П'ятий розділ* присвячений особливостям змін біологічних і селекційних ознак рослин конопель під впливом інбридингу, прояву ознак при близькоспорідненому розмноженні та його використання в селекції конопель. Інбредній депресії репродуктивних органів конопель і зміні статевої структури в результаті самозапилення. Вищепленню рослин конопель з аномальними ознаками внаслідок самозапилення. Потенціал створення самозапилених ліній конопель за окремими цінними господарськими ознаками та їх комплексом. Інбредні лінії конопель як компоненти синтетичних популяцій.

*У розділі шість* охарактеризовано рівень прояву та успадкування селекційних ознак у гібридів конопель, створених на основі самозапилених ліній. Компаративний аналіз селекційної цінності сортолінійних, лінійносорткових і міжлінійних гібридів конопель  $F_1$ – $F_3$  різних еколого-географічних типів.

*У сьомому розділі* представлено ефективність селекції непсихотропних конопель з використанням інбридингу та гібридизації. Методичні основи використання інбридингу та гібридизації в селекції конопель. Практичні результати використання інбридингу та гібридизації.

*Висновки* дисертації сформульовані відповідно до мети та завдань і повною мірою відображають основні результати досліджень.

*Повнота викладення наукових положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях.* За матеріалами дисертації опубліковано 106 наукових праць, з яких 3 розділи у колективних монографіях, 37 статей у фахових наукових виданнях України, 8 статей у наукових періодичних виданнях інших держав, 37 матеріалів конференцій, 4 авторські свідоцтва на сорти конопель, 5 патентів на корисні моделі. Також отримано 7 свідоцтв про реєстрацію зразків та 2 свідоцтва про реєстрацію колекцій генофонду рослин у Національному центрі генетичних ресурсів рослин України.

*Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому, мови та стилю, а також ідентичності змісту автореферату й основних наукових положень.* У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення важливої наукової проблеми використання інбридингу та гібридизації в селекції конопель шляхом удосконалення методичних підходів до ефективної ідентифікації канабіноїдних сполук, що має вагоме значення для інтенсифікації селекційного процесу і розвитку галузі коноплярства загалом. Дисертацію викладено українською мовою, науковим стилем, аргументовано, логічно, доступно для сприйняття. Зміст автореферату ідентичний основним положенням, висновкам і практичним рекомендаціям дисертації.

*Дискусійні положення та зауваження щодо дисертації.* При загальній позитивній оцінці роботи потрібно вказати на наявність окремих положень і зауважень, які потребують додаткової аргументації:

1. Яку з теорій гетерозису доповнює представлена робота?
2. Як екотипи сортів різняться за вегетаційним періодом та фазами розвитку?
3. Текст: «Методики визначення вмісту канабіноїдних сполук у рослинах конопель методом тонкошарової хроматографії для селекційних цілей» бажано подати в додатках, а не наводити у розділі лише основні її положення.
4. Досліджені системи органічних розчинників, застосовані при проведенні тонкошарової хроматографії канабіноїдів, бажано класифікувати за певною ознакою (наприклад, роздільною здатністю).
5. Як представлені методи ідентифікації генотипів змінюють тривалість селекційного процесу або його етапи?
6. Відсутній аналіз залежності вмісту канабіноїдних сполук від погоднокліматичних умов (температури повітря, вологості, кількості опадів, гідротермічного коефіцієнта, тривалості світлового дня тощо), наведено лише порівняння за даною ознакою у рослин, вирощених у природних і штучних умовах (вегетаційному будинку).
7. Доцільно розширити дослідження конопель в культурі *in vitro* з метою створення перспективного вихідного матеріалу промислових конопель.
8. У деяких випадках кореляційно-регресійні залежності ілюстративніше було б подати не лише у вигляді формул (с. 199, а також с. 301, с. 357), а й графічних зображень.
9. «Можлива неоднакова реакція на фітогормони та їх концентрацію» – це лише припущення, а не висновок.



10. Якщо селекційну цінність мали самоzapильні лінії до шостого покоління то навіщо наступні до  $I_{11}$  ?

11. Для кращого сприймання матеріалу щодо анатомічної будови поперечного зрізу стебла бажано навести відповідні фото.

12. Бажано не лише дослідити біологію карликовості однодомних конопель, а й продовжити селекційну роботу зі створення низькорослих (карликових) сортозразків даної культури.

13. Не вказано хоча б на загальні особливості організації насінництва синтетичних популяцій конопель.

14. У дисертаційній роботі багато уваги приділено встановленню особливостей успадкування ознак вмісту олії в насінні гібридів конопель, створених із залученням самоzapильних ліній, однак відсутні дані про її жирнокислотний склад.

15. До досліджень з визначення ефектів загальної і варіанс специфічної комбінаційної здатності доцільно було б залучити більшу кількість селекційних зразків.

16. Родоводи створених чи поліпшених сортів конопель із застосуванням розроблених прийомів доцільно подати у вигляді схем.

17. Потребує пояснення, чи змінився статевий склад у потомстві гібридів, які були створені із використанням гаметоцидів.

Відмічені зауваження не порушують концептуальних положень, наукової новизни, практичного значення та методики виконання досліджень, тому не знижують оцінки дисертаційної роботи, а є предметом дискусії під час захисту.

*Загальні висновки і оцінка дисертації щодо її відповідності чинним вимогам.* Дисертація є завершеною, виконаною самостійною працею, написана і оформлена згідно вимог «Порядку присудження наукових ступенів МОН України» №567 від 24.07.2013 р., зміст її відповідає паспорту спеціальності 06.01.05, а Міщенко Сергій Володимирович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво.

*Офіційний опонент*

доктор сільськогосподарських наук, професор  
завідувач кафедри селекції і насінництва  
Дніпровського державного  
аграрно-економічного університету

Ващенко В.В.

Підпис *Ващенко В.В.*  
Завіряється. Начальник ВК ДНАУ  
«\_\_» \_\_ 20\_\_ р. *В.В.*

