

УДК 633.34:631.523.4

Шерепітко В.В., доктор с.-г. наук, професор
Заболотний Г.М., кандидат с.-г. наук, професор
Шерепітко Н.А., старший науковий співробітник
Вінницький національний аграрний університет

АДАПТИВНА СЕЛЕКЦІЯ РОСЛИН СОЇ, ЯК ФАКТОР ЕКОЛОГІЧНОБЕЗПЕЧНОГО ТА СТАЛОГО ФУНКЦІОНУВАННЯ АГРОЕКОСИСТЕМ УКРАЇНИ

Показано, що створення адаптованих до вирощування у конкретних ґрунтово-кліматичних умовах сортів виступає важливою умовою підвищення рівня та стабільності зернової продуктивності сої. На основі критеріїв польової та лабораторної оцінки приводяться дані аналізу прояву ознак продуктивності та стійкості рослин до несприятливих умов середовища колекційних зразків, селекційних номерів, виробничих сортів сої з ціллю добору вихідного матеріалу при створенні нових сортів, що адаптовані до біотичних (патогеностійкість) та абіотичних (холодостійкість) факторів.

Ключові слова: соя, сорт, холодостійкість, патогеностійкість, вірусостійкість, продуктивність, методи селекції.

Серед бобових культур – соя завдяки дуже різноманітному використанню займає виняткове місце. Основною її відмінністю є хімічний склад зерна: поряд з високим вмістом білка – від 30 до 45% (залежно від умов вирощування та сорту) соя містить від 16,5 до 24% жиру, що з позицій енергетичної цінності дозволяє назвати соєву рослину унікальним створінням природи.

В агросфері рослини сої здатні відігравати вирішальну роль як у підвищенні культури землеробства і рослинництва, так і балансі кормових та продовольчих ресурсів, при цьому значно здешевлюючи їх за собівартістю. Отже, використовуючи соєві рослини у агроценозах, а соєвий білок у кормовиробництві, можна вести мову про прибутковість сільськогосподарського виробництва і, водночас, низьку його екологіємність. Разом з тим, соя відзначається високою чутливістю рослин до факторів середовища, в тому числі температурного режиму, умов вологозабезпечення, ураження хворобами, тощо. Комплексна дія факторів середовища викликає різкі коливання урожайності сої за роками та залежно від місця вирощування і є однією з основних причин того, що протягом вже тривалого періоду часу рослини цієї культури не можуть зайняти належне місце у функціонуванні агроєкосистеми України. Одним із шляхів розв'язання проблеми є створення і запровадження у виробництво сортів, адаптованих до абіотичних та біотичних факторів конкретних агроєкосистем.

Враховуючи сказане вище, соя виступає з 2001 року актуальним об'єктом генетико-селекційних досліджень для науковців Вінницького національного аграрного університету, де поряд із фундаментальними дослідженнями створюються нові сорти цієї культури, що адаптовані до агроєкосистем України і, в першу чергу, до ґрунтово-кліматичних умов Вінниччини. Робота є продовженням генетико-селекційних досліджень по сої, що здійснювалися за різних екологічних умов України і Молдови, починаючи з 1981 року, згідно таких державних науково-технічних програм, як "Розробити методи та технології у селекції та насінництві на основі використання молекулярно-генетичних маркерів, хромосомної та генетичної інженерії" (№ 0193U036999), підпрограма "Вивчення господарсько-цінних ознак та адаптивних реакцій рослин сої при змінних умовах середовища; створення сортів цієї культури,

приспособаних до умов вирощування на Поділлі" (№ 0193U036863); "Розробка теоретичних основ і методології використання біотехнології в збереженні генофондів, адаптивній селекції, насінництві рослин та агроєкології" (№ 0196U012975), підпрограма "Генетична природа ознак продуктивності і стійкості сої та створення еколого-адаптованих сортів цієї культури" (№ 0196U012975-04); "Використання хромосомної інженерії в селекції сої" та "Створення приспособаних для формування сталих агроєкосистем сортів сої" (№ 0106U004048).

Метою наукових досліджень є створення сучасними методами адаптивної селекції високопродуктивних сортів, екотипів та експериментальних популяцій сої, як фактору забезпечення прибуткового та сталого функціонування агроєкосистем за різних ґрунтово-кліматичних умов на основі вивчення генетичної та екологічної компонент у формоутворюючому процесі рослин.

В результаті цієї кропіткої роботи поряд з теоретичними та методичними дослідженнями ефективно здійснено селекційний процес і до Реєстру сортів України занесено наступні еколого-адаптовані сорти сої: Подільська 1, Подолянка, Подільська 416, Стратегія, Горлиця, Вінничанка і Особлива, освоєння яких на виробництві потребує науково-обґрунтованих шляхів реалізації потенціалу їх зернової продуктивності та адекватного відтворення насінневого матеріалу за різних екологічних умов. Новизна результатів досліджень захищена 7 авторськими свідоцтвами та 5 патентами.

Зміст досліджень включає вивчення закономірностей прояву і генетичного контролю ознак зернової продуктивності і стійкості рослин сої до несприятливих абіотичних і біотичних факторів та механізмів їх пластичності і гомеостатичності на рівні спорофіту і гаметофіту, включно розширення у створюваних сортів адаптивної здатності шляхом залучення в селекційний процес генотипів напівкультурних та диких форм, які спроможні адекватно реагувати на зміну умов життя. Пошук нових підходів та удосконалення методів селекції виступає предметом досліджень.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Вихідним матеріалом для проведення польових (дослідне поле Вінницького національного аграрного університету) та лабораторних досліджень у період 2001-2009 рр. виступав унікальний експериментальний генофонд сої (десятки тисяч генетичних зразків від диких (*Glycine soja*) до культурних (*Glycine max*), що створювався в процесі цілеспрямованих багаторічних досліджень, починаючи з 1981 року (включно колекційні зразки, отримані з ВІРа ім. М.І.Вавилова, Інституту рослинництва ім. В.Я.Юр'єва, Міністерства сільського господарства США, гібридні популяції, сім'ї, лінії, екотипи, сорти). Фенологічні спостереження за вегетуючими рослинами та біометричний облік морфобіологічних ознак у них проводили згідно загальноприйнятих методичних рекомендацій [1]. З ціллю розкриття потенціалу зернової продуктивності та стійкості дослідних сортів до несприятливих абіотичних та біотичних факторів їх вивчали в порівнянні з виробничими сортами-стандартами (Київська 98, Вінничанка, Юг 30, Устя, Ятрань, Витязь 50, Аркадія одеська) та колекційними сортами-індикаторами стійкості (Добруджанка 18, Негруца, Букурія та інші). Дослідження в кінцевих ланках селекційного процесу проводили у відповідності до методичних вимог Державної служби з охорони прав на сорти рослин. Польові дослідження включали селекційні (колекційний, гібридний, селекційний 1-го та 2-го року, контрольний розсадники; попереднє, конкурсне, екологічне, виробниче сортовипробовування) та насінницькі (РВ1, РВ2, Р1, Р2, супереліта) ланки.

Холодостійкість вивчали методом прямого пророщування насіння при пониженій температурі в лабораторних умовах та висіванням його в непрогрітий ґрунт раною весною на польовій ділянці. Пророщування насіння проводили в холодній кімнаті при середньодобових температурах 4-6°C. Оптимальною при набуханні та проростанні насіння сої є температура 20-25°C. Критеріями холодостійкості виступали процент схожих насінин на конкретні дні обліку та середня довжина зародкового корінця. Ураження рослин сої на природному інфекційному фоні (за польових умов) визначали на основі існуючих методичних рекомендацій [2]. Генотипні відмінності за вірусостійкістю у сої досліджували також при штучному інфікуванні рослин вірусом жовтої мозаїки квасолі (2 ізоляти – ВЖМК-н, ВЖМК-м) родини Potyviridae. Дослідження проводили згідно відповідних методичних напрацювань [3].

Математичну обробку експериментальних даних виконували на основі стандартних статистичних прийомів (пакети програм XL, БІОСТАТ).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Важливим селекційним завданням є підвищення холодостійкості виробничих сортів сої у період проростання насіння на 1-2°C, що забезпечило б більше 10 додаткових днів фотосинтетичної активності рослин, сприяло б накопиченню ними запасних речовин та покращенню якості вирощеного врожаю. Для оцінки теплолюбних культур, за холодостійкістю на ранніх етапах росту і розвитку в польових умовах часто практикують ранні строки сівби. На дослідному полі Вінницького національного аграрного університету впродовж 2001-2009 рр. насіння генотипного різноманіття сої висівали в різні строки, серед яких посів 5-10 квітня рахувався раннім, а посів 5-10 травня – оптимальним. Після раннього строку сівби, у більшості випадків, впродовж більше ніж 20 днів спостерігалася прохолодна з опадами погода, а середньодобова температура повітря від сівби до перших сходів не перевищувала 8-10°C. За таких температурних умов перші сходи з'являлися через 19-25 днів. Кінцевий облік сходів провели на 35-40-й день.

Аналізуючи значення польової схожості насіння (кількість рослин на кінцевий день обліку по відношенню до числа висіяних насінин) з'ясували, що за умов раннього строку сівби у більшій частині зразків сої вони склали 60-80%. Кращу генотипну диференціацію сої за реакцією на несприятливі температурні умови раннього строку сівби відмітили при дослідженні інтенсивності появи сходів (число рослин, що з'явилися на окремий день обліку, по відношенню до всіх рослин). Так, частка сходів, що з'являлися у перші дні облікового періоду (19-й – 25-й дні вирощування) змінювалася від 0 до 75% залежно від генотипу. Порівняно високою інтенсивністю появи сходів у цей період характеризувалися такі колекційні сорти, як Амурська 41, Altona, Омська 4. У більшій частині інших генотипів, як і сортів-стандартів, на фоні раннього строку сівби частота сходів на початку облікового періоду була низькою і знаходилася в межах від 45 до 0%.

На фоні оптимального строку сівби масові сходи, у більшій частині генотипів сої з'являлися через 8-10 днів за умови підвищення середньодобової температури повітря від 8-10 до 18-25°C.

Однак передпосівне внесення ґрунтового гербіциду (харнес; 2,8 л/га) при ранній сівбі викликало достовірне зниження польової схожості насіння у всіх зразків, що вивчалися. У таких генотипів сої, як Негруца та Добруджанка 18, що були в ролі індикаторів холодостійкості, значення цього показника відповідно склали 48,72 і 55,04% проти 93,66 і 89,94% на контролі (ранній строк сівби без внесення гербіциду). У таких виробничих сортів,

як Подільська 416, Юг 30 та Київська 98, за умов раннього строку сівби на фоні внесення гербіциду польова схожість насіння не перевищувала 30%, а при ранній сівбі на безгербіцидному фоні її значення у цих сортів відповідно складала 80,24; 78,39 і 78,12%.

Реальний збір зерна сої та його якість часто знижуються з причин ураження посівів хворобами. Вірусні хвороби сої можуть спричиняти значні втрати врожаю, зниження вмісту білка та жиру в насінні, його плямистість [8,9,10]. На сьогодні відомо три окремі локуси *Rsv1*, *Rsv3* та *Rsv4*, що контролюють стійкість до вірусу мозаїки сої (ВМС) [4]. Показано, що локус *Rsv4* визначав стійкість до всіх штамових груп ВМС на ранніх стадіях росту і розвитку рослин [5]. Ймовірний механізм дії гену *Rsv4* пов'язують з обмеженням руху вірусу по рослині. Локус *Rsv4* картований в молекулярній групі щеплення D1b. Для даного локусу, як і для двох попередніх, виявлено близькозчеплені молекулярні маркери (SSR, ESTs), котрі можуть виступати цінним інструментом для молекулярної селекції направленої на конструювання стійких до ВМС генотипів [6,7,8].

Аналіз літературних джерел показує, що така грибова хвороба, як фузаріоз (роду *Fusarium*), проявляє тенденцію до подальшого розповсюдження та посилення шкодочинності. Фузаріозне ураження рослин сої має різноманітні форми проявлення. Зокрема, це кореневі та стеблові гнилі, загибель сходів до виходу на поверхню ґрунту, некрози сім'ядолей та відмирання точки росту сходів, плямистість листя та інше. Ураження рослин можливе протягом всієї вегетації, але одна із найбільш вразливих фаз росту і розвитку – сходи. В окремі роки загибель сходів від фузаріозного ураження може досягати 30-40%, а іноді навіть 70%.

Наші дослідження показали, що висівання насіння в недостатньо прогрітий ґрунт за умов раннього строку сівби сприяло проявленню ураження сходів сої фузаріозом. За таких умов спостерігали зниження проценту розвитку хвороби у формі ураження сім'ядолей при переході від раннього до оптимального строку сівби. Висока фітопатологічна активність збудників фузаріозу на фоні раннього строку сівби була пов'язана із ослабленням рослин дією знижених температур. За цих умов виявили достовірні ($t_{\text{факт.}} > t_{01}$) генотипні відмінності за фузаріозостійкістю. Як з'ясувалося, рослини відомих холодостійких колекційних зразків Негруци і Добруджанки 18 виявилися стійкими до ураження фузаріозом.

Генотипи Altona, Амурська 41, ISZ-7 і 420/93 при ранній сівбі також характеризувалися високою польовою схожістю насіння (77-96%) та порівняно низьким ступенем ураження рослин хворобою (4,2-11,4%). Чутливими до знижених температур та ураження фузаріозом були сорти Аврора, Hodgson, Olima, інші. Порівняно високий рівень фузаріозостійкості за умов раннього строку сівби показали сорти-стандарти Вінничанка, Юг 30, Київська 27.

Таблиця 1

Відмінності за вірусостійкістю рослин різних сортів сої

СОРТ	Біометрична оцінка рослин за польових умов			Ураженість ВЖМФ при штучному інфікуванні рослин, %
	Розвиток вірусних хвороб, %	Висота рослин, см	Довжина вегетаційного періоду, дні	
Swift	2,8±1,64	116,3±2,31	144	0
Горлиця	0	68,0±1,44	115	0
Бельцка 82	26,5±4,41	92,2±1,74	139	5±2,18
Гамма 85	26,8±4,43	66,6±1,30	122	21±4,07
Добруджанка18	46,8±4,99	102,2±4,55	149	31±4,62
Olima	55,2±4,97	89,7±2,72	132	70±4,58

Як з'ясувалося, розвиток вірусних хвороб на репродуктивних стадіях в середньому на рослину у колекційних сортів Swift та Аїма не перевищував 5%. При цьому виробничий сорт Горлиця характеризувався відсутністю симптомів вірусного ураження (табл. 1). Тоді як у сортів Аврора, Гамма 85 та MON 04 значення цього показника визначалися у межах 26,5-38,5%, а у сортів Добруджанка 18, Чернівецька 6 та Olima відповідно складала 46,8; 49,0 та 55,2%.

Наявність генотипозумовлених відмінностей у сої за вірусостійкістю засвідчили результати штучного інфікування та послідувочої ідентифікації за лабораторних умов ураженості дослідних рослин вірусом жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК). Рослини сортів Swift та Аїма демонстрували високий рівень вірусостійкості як на фоні природного, так і штучного зараження. Сорт Горлиця проявив відсутність ураження (табл. 1).

На фоні зміни строку сівби, ранній строк сприяв диференціації селекційних номерів за зерновою продуктивністю та іншими господарсько-цінними ознаками рослин. Слід відмітити, що рослини переважної більшості селекційних номерів проявляли високу чутливість до умов раннього строку сівби.

Так, при переході від оптимального (контрольного) до раннього строку сівби різке зниження урожайності відмітили (табл.2) у селекційних номерів П22/09 (від 25,9 до 13,6 ц/га), П136/09 (від 17,6 до 12,3 ц/га), П26/09 (від 21,1 до 17,8 ц/га) та інших. Однак, у окремих селекційних номерів (П106/09) зернова продуктивність рослин при зміні строку сівби залишалася порівняно високою і стабільною. Крім того, виявили селекційні номери (П229/09), рослини яких, навпаки, характеризувалися достовірно вищою урожайністю зерна за умов раннього строку сівби і не змінювали суттєво свою висоту при зміні строку сівби (табл. 2). Тоді як, ранній строк сівби пригнічував ріст рослин у висоту в переважній більшості селекційних номерів та сортів.

Таблиця 2

Результати комплексної оцінки селекційних номерів сої на фоні зміни строку сівби (2005-2009 рр.)

Селекційний номер, генотип	Польова схожість (ранній строк), %	Урожайність, ц/га		Висота рослини, см	
		ранній строк	контроль	ранній строк	контроль
П 229/09 F ₈ 4912/88X Подільська 1	93,5	26,8±0,4	20,0±0,3	81,3±2,7	81,4±2,6
П 106/09 F ₉ Скінтея X Перемога	90,2	19,6±0,8	19,8±0,8	56,0±2,2	80,2±2,5
П 26/09 F ₇ Юг 40 X Правда	76,5	17,8±0,5	21,1±0,6	56,3±2,7	67,4±2,4
П 22/09 F ₉ Дорінца X Хабарів. 53	75,2	13,6±0,5	25,9±0,7	33,1±2,6	49,9±2,0
П 136/09 F ₈ Білосніжка X Іскра	75,6	12,3±0,5	17,6±0,9	34,6±3,0	60,1±2,5

За умов дослідного та виробничого (господарства Вінниччини) посівів вивчали урожайність та прояв комплексу господарсько-цінних ознак рослин таких сортів сої, як: Подільська 1, Подолянка, Подільська 416, Стратегія, Вінничанка, Горлиця і Особлива, що створені методами адаптивної селекції та занесені до Державного Реєстру. Ці сорти сої вивчали в порівнянні із сортами-стандартами.

Середня багаторічна довжина вегетаційного періоду рослин у сортів, що досліджувалися (табл.3), змінювалася від 94 днів (сорт Особлива) до 139 днів (сорт-стандарт

Вітязь 50). Тобто сорт Особлива був самим скоростиглим, сорти Стратегія, Горлиця і Київська 98 – середньоранньостиглими (довжина вегетаційного періоду відповідно 108, 115 і 116 днів), сорти Подільська 416 і Вінничанка – середньостиглими (довжина вегетаційного періоду відповідно 122 і 120 днів), а сорти Подолянка, Подільська 1 і Вітязь 50 – середньопізнньостиглими (довжина вегетаційного періоду відповідно 131, 133 і 139 днів). При цьому сорти Подільська 1 і Подолянка достовірно перевищували за урожайністю зерна сорти-стандарту Вітязь 50 і Київську 98 (табл.3). Достовірно вищий рівень урожайності зерна демонстрували середньо-ранньостиглі сорти Вінничанка і Горлиця, потенціал урожайності у яких понад 30 ц / га. Порівняно скоростиглі сорти Особлива і Стратегія, при дозріванні рослин за 94-108 днів, не поступалися достовірно за урожайністю кращому сорту-стандарту Вітязь 50, що дозрівав за 139 днів.

Таблиця 3

Довжина вегетаційного періоду та урожайність виробничих сортів сої за умов дослідного посіву

Сорт	Урожайність, ц/га			Довжина вегетаційного періоду, днів
	2008р.	2009 р.	Середнє за два роки	
Подільська 1	29.32	27.98	28.65	133
Подолянка	30.86	28.25	29.55	131
Подільська 416	28.43	27.38	27.90	122
Стратегія	26.18	24.37	25.27	108
Горлиця	33.18	30.42	31.80	115
Вінничанка	33.48	31.60	32.54	120
Особлива	26.20	23.34	24.77	94
Київська 98 (стандарт)	25.94	24.18	25.06	116
Вітязь 50 (стандарт)	27.11	25.07	26.09	139
НІР ₀₅	1.65	1.54	-	-

На основі ліцензійних угод створені сорти сої впроваджуються у конкретні агроєкосистеми Вінницької та інших областей. Середньорічні площі посіву створених сортів сої в нашій державі складають 10-15 тис. га. Крім того, виконано державне замовлення по забезпеченню післяреєстраційного сортовипробування новостворених сортів оригінальним насінням на сортодільницях в різних ґрунтово-кліматичних умовах України. Сорт Вінничанка виявився кращим національним стандартом за рівнем середньої по всіх пунктах сортовипробування урожайності (Лісостеп, Степ, Полісся), згідно результатів Українського інституту експертизи сортів рослин за 2009 рік.

Створені еколого-адаптовані сорти сої орієнтовані на вирощування за стандартними агротехнологіями, що рекомендовані для цієї культури в нашій державі. Вагоме місце при використанні цих сортів посідає їх насінництво, так як в процесі відтворення насіннєвого матеріалу необхідно зберегти генетичні конструкції, що забезпечують оптимальне поєднання на рівні генотипу таких чинників, як зернова продуктивність, стійкість, пристосованість та якість.

ВИСНОВОК. В процесі досліджень з широким генотипним різноманіттям сої на основі прямих та молекулярних методів оцінки та добору за комплексом ознак (зернова продуктивність, холодостійкість, вірусостійкість, фузаріозостійкість), напрацьовано перспективний експериментальний матеріал для подальших етапів адаптивної селекції адекватно до ґрунтово-кліматичних умов конкретних агроєкосистем. Прояв ознак зернової продуктивності та стійкості рослин сої до несприятливих біотичних і абіотичних факторів

середовища має генотипнозумовлений характер. За польових умов ранній строк сівби є ефективним фоном для оцінки та добору експериментального матеріалу як за холодостійкістю, так і за фузаріозостійкістю (у сім'ядольній формі прояву хвороби та ураження кореневими гнилями). Підвищення вірусостійкості рослин сої шляхом селекції та насінництва сортів виступає важливою умовою реалізації потенціалу їх зернової продуктивності. Створені методами адаптивної селекції сорти сої Подільська1, Подолянка, Подільська 416, Стратегія, Горлиця, Вінничанка та Особлива ефективно впроваджуються у виробництво, серед яких сорт Вінничанка є кращим національним стандартом України, а сорт Горлиця – еталоном вірусостійкості.

Література

1. Международный классификатор СЭВ рода *Glycine* Willd.-Л.:ВИР,1990.-46 с.
2. Рожкован В.В., Терещенко В.О., Фартушняк А.Г. та ін. Методика оцінки сої на стійкість до хвороб і шкідників.- Одеса, 1994.-С.3-30.
3. Погоріла З.О., Бойко А.А., Капустіна Н.О. та ін. Використання ендегенних фітоглютинів рослин сої (*Glycine* L.) для тестування вірусостійкості//Вісник Київського нац. ун-ту ім. Т.Г.Шевченка: Біологія.- 2002.-Вип.36-37.-С.142-144.
4. Shi A., Chen P., Li D., Zheng C., Zhang B., Hou A. Pyramiding multiple genes for resistance to soybean mosaic virus in soybean using molecular markers // *Mol.Breed.* – 2008. – Vol.23. – P.113-124.
5. Hayes A.J., Ma G., Buss G.R., and Saghai Maroof M.A. Molecular marker mapping of *Rsv4*, a gene conferring resistance to all known strains of soybean mosaic virus // *Crop Sci.* – 2000. –Vol.40. – P. 1434-1437.
6. Hwang T.Y., Yu S., Yang K., Kim H.M., Jeong S.C. Application of comparative genomics in developing molecular markers tightly linked to the virus resistance gene *Rsv4* in soybean // *Genome.* – 2006. – Vol.49. – №4. – P. 380–388.
7. Шерепітко В.В., Шерепітко Д.В., Шевченко Т.П., Бойко А.А., Генетико-селекційні підходи підвищення вірусостійкості рослин культурної сої (*Glycine max* (L.) *Marril*) // Тези V Міжнародної конференції “Біоресурси та віруси”. – Київ 2007. – С. 209.
8. Shi A., Chen P., Zheng C., Hou A., and Zhang B. A PCR-based Marker for the *Rsv1* Locus Conferring Resistance to Soybean Mosaic Virus // *Crop Sci.* – 2008. – Vol.48(1). – P. 262 - 268.

Summary

The adaptive breeding of soybean is a factor of environmentally safe and stable functioning of agroecosystems of the Ukraine / V.V.Sherepitko, G.M.Zabolotniy, N.A.Sherepitko

The soybeans high sensitivity to the change of environment conditions was payed attention in the article. In this connection, the creation of adapting varieties to the growth in the concrete ecozons is advanced the important condition of increasing the level and stability of yielding capacity of the crop. Proceeding from these positions, experimental data of the analysis of phenotypical l expression traits of productivity and resistance to environment factors of the soybeans samples from collection, breeding numbers, industrial varieties to use as original form for creating the new varieties adapted to environmental biotic (pathogen-resistance) and abiotic (cold-resistance) factors.

Key words: soybean, varieties, cold-resistance, pathogen-resistance, virus-resistance, grain productivity, methods of breeding,