

**МЕЖДУРОДОВИ ХИБРИДИ  
МЕЖДУ КУЛТУРНИЯ СЛЪНЧОГЛЕД *HELIANTHUS ANNUUS L.*  
И *VERBESINA HELIANTHOIDES* (РОД *VERBESINA*) -  
МОРФОЛОГИЧНА И БИОХИМИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА**

**Юлия Енчева, Михаил Христов**

Добруджански земеделски институт - Генерал Тошево

**Резюме**

*Енчева, Ю., М. Христов, 2004. Междуродови хибриди между културния слънчоглед *Helianthus annuus L.* и *Verbesina helianthoides* (под *Verbesina*)-морфологична и биохимична характеристика.*

Чрез метода на директен органогенез, приложен за първи път от Лабораторията по биотехнология към ДЗИ-Генерал Тошево са получени нови слънчогледови форми при отдалечена хибридизация от кръстоската *Helianthus annuus* (х-д Албена) x *Verbesina helianthoides*- род *Verbesina* (Encheva et al. 1992). След самоопрашване и продължителен отбор са получени значителен брой нови линии-възстановители на фертилността. Изследвани са агрономически показатели като масленост, маса на 1000 семена, височина на растение, ширина и дължина на лист, брой листа, дължина на листна дръжка, дължина на междувъзлие, диаметър на стъбло, диаметър на пита, брой разклонения, дължина на разклонения, брой езичести цветове, дебелина на семе, ширина на семе и дължина на семе. След характеризирани на хибридни потомства може да се направи заключение, че линии 131 R, 138 R, 140 R, 143 R и 144 R показват 76.5 % междинен фенотип, 35.3% положително и 11.8 % отрицателно изменение спрямо двете родителски форми. Някои от тях са директно включени в хетерозисната селекция като R-линии. Линия 140 R има положителна селекционна стойност защото притежава масленост (%), по-висока от двете родителски форми съответно с 2.9 % и 24.6 %.

**Ключови думи:** Слънчоглед, Директен органогенез, *Helianthus annuus*, *Verbesina helianthoides* (род *Verbesina*), Морфологични и Биохимични характеристики

**Abstract**

*Encheva, J., M. Christov, 2004. Intergeneric hybrids between cultivated sunflower *Helianthus annuus L.* and *Verbesina helianthoides* species (genus *Verbesina*) - Morphological and Biochemical characteristics.*

The direct organogenesis method in immature F<sub>1</sub> hybrid embryos from sunflower used for the first time in a study, was successfully applied for production of new forms from the intergeneric cross *Helianthus annuus* (cv. Albena) x *Verbesina helianthoides*

(genus *Verbesina*). A considerable number of new sunflower lines were produced after self-pollination and individual selection. The agronomic traits such as oil content in seed, 1000 seed weight, plant height, leaf width, leaf length, number of leaves, length of petiole stems, internode length, head diameter, stem diameter, number of branches, length of branches, number of ray florets, seed width, seed length, and seed thickness were investigated. After characterization of the hybrid progenies according to the indices, the conclusion can be drawn that lines 131 R, 138 R, 140 R, 143 R and 144 R show 76.5 % intermediate phenotype in comparison to the two parental forms. Some of the new restorer lines were successfully used in heterosis breeding of sunflower. The positive change was 35.3 % and the negative change was 11.8 %. Line 140 R is of positive breeding importance because it exhibited an oil value exceeding the cultural and wild parents with 2.9 % and 24.6 %, respectively.

**Key words:** Sunflower, Direct organogenesis, *Helianthus annuus*, *Verbesina helianthoides* (genus *Verbesina*), Morphological and Biochemical characteristics.

## УВОД

Трудната кръстосваемост, ембрионалната и постембрионална междувидова и междуродова несъвместимост и стерилност на  $F_1$ -хибридно поколение се явяват като бариера за използване генетичния потенциал на дивите видове за подобряване на някои признаци на културния слънчоглед.

Техниката на “*embryo rescue*” е най-често използвана за преодоляване на несъвместимостта между *H. annuus* и различни чужди диви видове. Тя позволява да се получат голям брой междувидови хибриди (Chandler & Beard, 1983; Georgieva-Todorova, 1984a; Bohorova et al., 1985; Kgduter et al., 1991; Friedt, 1992; Dahlhoff, 1994; Korell et al., 1996 a). Гореспоменатите техники не винаги позволяват да се получат растения от всяка хибридна комбинация. Това ни даде основание да се изследват възможностите и на метода на директния органогенез като неприлаган досега подход за преодоляване на междувидовата и междуродова несъвместимост при хибридизация на слънчогледа (Encheva et al., 1992).

Целта на настоящото изследване е да се характеризират морфологично и биохимично хибридните потомства в  $F_8$ -  $F_{10}$ -генерация от кръстоската *H. annuus* (хибрид Албена) x *Verbesina helianthoides* (род *Verbesina*), получени по метода на директен органогенез.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Културният слънчоглед (хибрид Албена) и дивия вид *Verbesina helianthoides*-фиг. 1 (род *Verbesina*) са отгледани в условията на полето на ДЗИ-Генерал Тошево. Хибридните зародиши са получени чрез стерилизация на Polen на майчината форма с  $GA_3$  и ръчно опрашване с прашец от бащината родителска форма. Директно получените соматични пъпки и растения са индуцирани върху хранителни среди I, II и III (Encheva et al., 1992).

В резултат на продължителна и индивидуална селекция на хибридните материали от кръстоската *H. annuus* x *V. helianthoides* са получени линии-възстановители на фертилността в  $R_{10}$ -генерация на които са направени измервания на основни характеристики, използвани в селекцията на слънчогледа. В направената кръстоска майчината форма е със стерилна цитоплазма на основата



Фиг. 1. Вид *Verbesina helianthoides* (образец-V1)

на *H. petiolaris*. (Leclercq, 1969). Поради това са отбирани само фертилни форми, т.е. тези, притежаващи гени за възстановяване. Те могат да произхождат както от майчиния родител Албена, така и от бащината форма *Verbesina helianthoides*. Според Christov & Vassilevska (1999) дивия вид носи гени за възстановяване на тази цитоплазма.

Съдържанието на масло в семето е определено количествено чрез използване на ядрено-магнитен резонанс (Newport Instruments Ltd, 1972). Масата на 1000 семена (g) е определена на три проби по 50 семена от всяка пита. Биометричните измервания на самоопрашените потомства са правени върху 10 растения за всяка от трите години на изследване.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ



Фиг. 2. Множество F<sub>1</sub>-хибридни растения от междуродовата кръстоска

Чрез метода за директен органогенез са получени от 3 до 8 бр. хибридни растения от един зародиш (фиг. 2). Методът на директен органогенез е ценен, защото дава възможност за получаване на повече от едно растение от хибриден ембрион, което е изключено при масово използваната техника на “*embryo rescue*” (метод, при прилагането на който се получава само по едно растение от хибриден зародиш). Вероятно обяснение за успешното приложение на метода на директния органогенез е, че чрез него могат да се получат адвентивни пъпки и растения от всяка клетка на епидермалния слой на експлантите като хипокотил или котиледони на хибридната тъкан, т.е. не е необходим напълно и добре развит зиготен зародиш с апикална и коренова меристема.

Съществуват няколко публикации за успешна хибридизация чрез метода на “*embryo rescue*” и “*ovule culture*”, но приложението на метода на директния органогенез при междувидова и междуродова хибридизация е осъществено за първи път от Лабораторията по биотехнология на ДЗИ.

В резултат на продължителна и индивидуална селекция на хибридните материали от кръстоската *H. annuus* x *Verbesina helianthoides* са получени линии-възстановители на фертилността в R<sub>10</sub>-генерация.

### Морфологична характеристика на хибридни потомства

Данни относно някои морфологични показатели за петте линии 131 R (фиг. 3 ),

138 R, 140 R (фиг. 4), 143 R (фиг. 5) and 144 R (F10 генерация), създадени в резултат на междуродова хибридизация, са представени в таблици 1a-1c.



Фиг. 3. Линия 131 R



Фиг. 4. Линия 140 R



Фиг. 5. Линия 143 R



Фиг. 6. Форма на листата на майчиния родител Албена, линия 131 R и бащиния родител *Verbesina helianthoides*



Фиг. 7. Форма на семената на родителите Албена и *Verbesina helianthoides*, и на хибридните потомства 144 R, 140 R, 138 R and 131 R

**Междуродови хибриди между културния слънчоглед *Helianthus annuus* L.  
и *Verbesina helianthoides* (род *Verbesina*) - морфологична и биохимична характеристика**

**Таблица 1.** Морфологична характеристика на перспективни R-линии (F10)  
от междуродовата кръстоска *H. annuus* x *Verbesina helianthoides*  
и техните родителски форми (1997-1999)

**а)**

№ линия	Височина на растение (cm)	Брой листа (no)	Ширина на лист (cm)	Дължина на лист (cm)	Дължина на листни дръжки (cm)
	Културен слънчоглед (х-д Албена)				
	177.2	32.0	32.3	22.0	16.2
	Див вид - <i>Verbesina helianthoides</i>				
	105.8	36.0	3.0	7.5	0
	Хибридни потомства				
131 R	136.1***	25.0***	18.0***	17.5***	12.0***
138 R	141.9***	31.0**	20.1***	22.0***	13.8***
140 R	135.7***	29.0***	18.3***	19.4***	13.1***
143 R	154.5***	32.0	19.0***	20.7*	15.6*
144 R	121.5***	27.0***	17.0***	17.7***	12.0***

**б)**

№ линия	Дълж. на межд. (cm)	Диам. на стъбло (mm)	Диам. на пита (cm)	Бр. разкл. (no)	Дълж. на разкл. (cm)	Бр. ез. цв. (no)
	Културен слънчоглед (х-д Албена)					
	5.8	29.4	23.0	0	0	51.0
	Див вид - <i>Verbesina helianthoides</i>					
	3.5	5.6	14.4	8.0	6.4	10.0
	Хибридни потомства					
131 R	5.5	22.0***	12.2***	23.0***	29.2***	48.0*
138 R	6.7***	26.0***	10.0***	24.0***	50.2***	47.0** *
140 R	5.2*	21.0***	11.6***	19.0***	28.6***	54.0*
143 R	6.5**	28.0	10.6***	19.0***	26.8***	58.0** *
144 R	5.0***	21.0***	12.0***	19.0***	28.5***	48.0**

**в)**

№ линия	Диам. на пита на разкл. (cm)	Шир. на семе (mm)	Дълж. на семе (cm)	Деб. на семе (no)	Съдърж. на масло в семето (cm)	Маса на 1000 семена (no)
	Културен слънчоглед (х-д Албена)					
	0	5.9	11.2	3.9	47.7	78.3
	Див вид - <i>Verbesina helianthoides</i>					
	1.64	4.3	5.9	1.6	26.0	5.4
	Хибридни потомства					
131 R	8.65***	5.0	12.2***	3.5**	47.4	37.4***
138 R	7.67***	5.6***	10.0***	3.9	48.8	46.2***
140 R	8.13***	5.0***	12.3***	3.6*	50.6**	46.0***
143 R	7.50	5.4**	12.6***	4.0	48.2	51.2***
144 R	8.60***	5.1***	12.6***	3.8	47.4	47.3***

Данните за хибридните растения показват междинен фенотип по отношение на показателите височина на растение, брой листа (143 R), ширина на лист, дължина на лист (фиг. 6), дължина на листни дръжки, дължина на междувъзлие (131 R, 140 R, 144 R), диаметър на стъбло, брой езичести цветове (131 R, 138 R, 144 R), ширина на семе (фиг. 7), дължина на семе (138 R), дебелина на семе, маса на 1000 семена и съдържание на масло в семето - % (131 R, 144 R).

Форми с отрицателни изменения спрямо двете родителски форми (табл. 1а, 1б) са получени за признаците брой листа (131 R, 138 R, 140 R, 144 R) и диаметър на пита. Гореспоменатите хибридни линии показват средни аритметични, по-ниски от родителя, притежаващ по-ниската стойност за дадения показател. Противоположно на горе представените резултати, линии с положителни изменения (табл. 1б и 1в) са получени за показателите дължина на междувъзлие (138 R и 143 R), брой разклонения, дължина на разклонения, брой езичести цветове (140 R и 143 R), диаметър на пита на разклонения, дължина на семе (131 R, 140 R, 143 R и 144 R), съдържание на масло в семето (138 R, 140 R, 143 R). Гореспоменатите линии притежават средни аритметични, по-високи от родителя, притежаващ по-високата стойност за дадения показател.

Растенията на трите изследвани линии 138 R, 140 R и 143 R (табл. 1в) притежават средна стойност на признака "съдържание на масло в семето" 49.2 % при 47.7 % и 26.0 % за майчиния и бащин родител. Линия 140 R се откроява сред всички останали поради това, че е положително изменена и с висока степен на доказаност. Тази хибридна линия ще има положително селекционно значение поради факта, че показва превишение в стойността на маслото с 2.9 % спрямо културния родител и 24.6 % - спрямо дивия (т.е. наблюдаван е положителен хетерозисен ефект спрямо двата родителя). При линия 140 R е наблюдаван висок хетерозисен ефект и спрямо опрашителя по отношение на показателя "маса на 1000 семена", като новата линия го превишава над осем пъти (46.0 g при 5.4 g за вид *Verbescina helianthoides*).

След характеризиране на хибридните потомства по отношение на седемнадесет морфологични и биохимични признаци, може да се направи заключение, че някои от линиите показват 76.5 % междинен фенотип, 35.3 % - положително и 11.8 % - отрицателно изменение спрямо двете родителски форми.

## ИЗВОДИ

Голямо е значението и ролята на междувидовите и междуродови хибриди за разширяване на генетичното разнообразие на културния слънчоглед. Прилаганите досега биотехнологични методи на ембрио култура, овуларна култура, соматична хибридизация и калусна култура при междувидова и междуродова хибридизация не всякога способстват за получаване на хибридни растения. Това дава основание да се изследват възможностите и на метода на директния органогенез като неприлаган до сега подход за преодоляване на междувидовата и междуродова несъвместимост при хибридизация на слънчогледа. Успешното използване на метода на директния органогенез може да помогне за преодоляване на неблагоприятните явления, съпътстващи гореспоменатите методи.

Създадените с помощта на метода на директен органогенез линии 131 R, 138 R, 140 R, 143 R и 144 R от междуродовата кръстоска *H. annuus* (хибрид Албена) x *Verbescina helianthoides* показват в най-голяма степен междинен фенотип спрямо

двете родителски форми по отношение на изследваните седемнадесет признака. Положителни изменения са наблюдавани при 35.3 % от изследваните показатели, а отрицателни - при 11.8 %.

Като се има в предвид голямото икономическо значение на показателя съдържание на масло в семето при слънчогледа, получената линия 140 R ще има положителна селекционна стойност поради факта, че показва превишение в стойността на маслото с 2.9 % спрямо културния родител и 24.6 % - спрямо дивия.

Сред растенията на новосъздадените линии-възстановители е наблюдавано различие в размера, формата и цвета на семената. Продължителността на вегетационния период варира от 98 до 101 дни. Въз основа на направения тест за възстановителна способност е направено заключение, че всички линии възстановяват 100 %. Създадените линии са включени с успех в хетерозисната селекция при слънчогледа.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Encheva, J., M. Christov and P. Ivanov, 1992.** Use of direct organogenesis in vitro from immature embryos of interspecific and intergeneric hybrids of *Helianthus annuus* L. Proceedings of the 13<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Pisa (Italy), 7-11 September, vol. II, 1455-1460.
- Georgieva-Todorova, J., 1984a.** Interspecific hybridization in the genus *Helianthus* L. *Pflanzenz.*, 93, 265-279.
- Chandler, J. M. and B.H. Beard, 1983.** Embryo culture of *Helianthus* hybrids. *Crop Sci.* 23: 1004-1007.
- Bohorova, N., A. Atanasov and J. Georgieva-Todorova, 1985.** *In vitro* organogenesis, androgenesis and embryo culture in genus *Helianthus* - *Z. Pflanzenzuchtg.* 95: 35-44.
- Dahlhoff, M., H. Kohler and W. Friedt, 1992.** New interspecific hybrids of sunflower.- Proceedings of the 13<sup>th</sup> International Sunflower Conference, Pisa, Italy, 7-11 Sept., Vol. II, p.p. 1438-1443.
- Kruter, R., A. Steinmetz, and W. Friedt, 1991.** Efficient interspecific hybridization in the genus *Helianthus* via 'embryo-rescue' and characterization of the hybrids. *Theor. Appl. Genet.* 82: 521-525.
- Friedt, W., 1992.** Present state and future prospects of biotechnology in sunflower breeding. *Field Crops Research* 30, 425-442.
- Korell, M., L. Brahm, R. Horn, and W. Friedt, 1996a.** Interspecific and intergeneric hybridization in sunflower breeding, I: General breeding aspects. *Plant Breeding Abstracts* 66: 925-931