

## СЕЛЕКЦИЯ НА БОБОВИ КУЛТУРИ



### ПРОУЧВАНЕ НА МЕСТНИЯ ГЕНОФОНД ГРАДИНСКИ ФАСУЛ (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) ВЪВ ВРЪЗКА СЪС СЕЛЕКЦИЯТА

Лилия Кръстева<sup>1</sup>, Веселина Николова<sup>2</sup>, Валентина Петкова<sup>2</sup>, Иван Порязов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт по растителни генетични ресурси - Садово

<sup>2</sup>Институт по зеленчукови култури "Марица" – Пловдив

#### Резюме

*Кръстева, Л., В.Николова, В.Петкова, И.Порязов, 2004. Проучване на местния генофонд градински фасул (*Phaseolus vulgaris* L.) във връзка със селекцията.*

В Института по растителни генетични ресурси - Садово и в Института по зеленчукови култури "Марица" – Пловдив, са проведени дългогодишни изследвания за характеризиране на генофонда от градински фасул (*Phaseolus vulgaris* L.), и откриване на носители на ценни за селекцията признаци. Отбрани са образци с ценни морфологични признаци и са създадени три сорта – Тракийски, Илинден и Пловдивски жълт. На базата на образци, устойчиви на фасулев зърнояд (*Acanthoscelides obtectus* Say.), които са включени в селекцията, са създадени рекомбинантни инбредни линии с високо качество и висок потенциал за добив. Отбрани са образци с повишена устойчивост на ниски и високи температури. Установено е влиянието на високите температури върху жизнеността на прашеца, върху формирането на репродуктивните органи и върху фотосинтезата.

**Ключови думи:** Генофонд, Градински фасул (*Phaseolus vulgaris* L.), Фасулев зърнояд (*Acanthoscelides obtectus* Say.), Температурен стрес.

#### Abstract

*Krusteva, L., V.Nikolova, V.Petkova, I.Poryazov, 2004. Study of local gene pool of garden bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in relation to breeding.*

In the Institute of Plant Genetic Resources – Sadovo and the Maritsa Vegetable Crops Research Institute in Plovdiv long-term investigations of were carried out for characterization of garden bean (*Phaseolus vulgaris* L.) gene pool and finding of carriers of characters valuable for breeding. Accessions with valuable morphological characters were selected and three varieties – Trakiiski, Ilinden and Plovdivski zhult were bred. On the basis of the resistance to bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* Say.) of the accessions included in the breeding process, recombinant inbred lines with high quality and high potential for yield were developed. Accessions with increased resistance to low and high temperatures were selected. The effect of high temperatures on

pollen viability, reproductive organs formation and photosynthesis was established.

**Key words:** Gene pool, Garden bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* Say.), Temperature stress.

Националната колекция от градински фасул (*Phaseolus vulgaris* L.) на Института по растителни генетични ресурси (ИРГР) в Садово е съставена от местни образци от всички еколого-географски райони на България. В продължение на няколко столетия под влиянието на естествения и изкуствения отбор са създадени най-разнообразни форми, които по същество представляват популации с неизвестни характеристики. Основна дейност на ИРГР в Садово е паспортизирането на генофонда и неговото съхранение (Кръстева, 1989). Използването на генофонда включва отбор на чисти линии за директно сертифициране на сортове и скрининг по признаци, представляващи интерес за селекцията. Тези изследвания се провеждат съвместно с Института по зеленчукови култури “Марица” в Пловдив в продължение на 25 години (Порязов, 1990; Кръстева, 2000). Тук ще обобщим някои от изследванията и получените резултати.

Изследванията на морфологичните признаци на растенията показват, че около две трети от образците са с индетерминантен хабитус, със средно високи или високи стъбла. При образците с детерминантен хабитус преобладават тези с ниски стъбла. Най-голямата част от образците имат зелени бобове, малка част – жълти и най-малко образци – виолетови.

Бобовете на повечето образци са без пергаментов слой. По форма бобовете са плоски, тесни до много широки, къси до дълги. Окраската на семената варира от бяла до черна, с голямо разнообразие на пъстри форми с няколко цвята. Значително е варирането по отделните елементи на продуктивността на растенията.

Дължината на вегетационния период варира значително. Всички образци, които представляват интерес по някой признак, са картотекирани в признакови колекции и могат да се използват в селекцията на нови сортове.

Чрез отбор в местни популации са създадени три сорта градински фасул: Тракийски, Илинден и Пловдивски жълт.

Сортът Тракийски има индетерминантни, увивни растения. Бобовете са зелени, прави, плоски, широки, без лико и пергаментов слой. Те са крехки, сочни, плътни, с типичен фасулев аромат и вкус. Тракийски е средноран, жизнен сорт и може да се отглежда през целия вегетационен период на открито и в полиетиленови оранжерии. Предпочита по-влажни и по-хладни райони за отглеждане.

Сортът Илинден има индетерминантни, увивни растения. Бобовете са жълти, прави, плоски, широки, без лико и пергаментов слой. Те са крехки, сочни, плътни, с типичен фасулев аромат и вкус. Илинден е средноран, жизнен сорт и може да се отглежда през целия вегетационен период на открито и в полиетиленови оранжерии.

Сортът Пловдивски жълт има детерминантни растения със здрави, изправени стъбла. Бобовете са жълти, прави, плоски, средно широки, без лико и пергаментов слой. Те са крехки, сочни, плътни, с типичен фасулев вкус и аромат. Пловдивски жълт е ранен, жизнен сорт и може да се отглежда през целия вегетационен период, но предпочита по-влажни и по-хладни райони за отглеждане.

Един от селекционните признаци, за които генофондът беше подложен на скрининг, е устойчивостта на семената на механични травми. Този признак е от много голямо значение за посевните качества на семената и определящ при избора на методи и машини за добиване на семена. За целта бе използван лабораторният

метод за симулиране на травмирането, предложен от Dickson et al. (1977). Изследвани са 333 образци и са отбрани 45 образци, устойчиви на травмиране. Най-висока устойчивост притежават образците с бели, овални семена и по-дебела семенна обвивка. Най-добрите образци са отбрани за включване в селекционната програма.

Фасулевият зърнояд (*Acanthoscelides obtectus* Say.) е неприятелят с най-голямо икономическо значение за семепроизводството на градинския фасул. За намиране на устойчиви генотипове бяха изследвани 1376 образци от генбанката на ИРГР при естествен фон на нападение. Отбраните образци с най-слабо нападение се третираха при лабораторни условия (Schoenchoven et al., 1987). В резултат на скрининга бяха отбрани 396 образци. Най-много образци са с произход от Централна Северна България (Плевен, Свищов, Лом, Търговище) и полупланинските и планинските райони (Смолян, Благоевград, Сливен, Монтана). По-малко образци са с произход от Южна България. Най-стабилна устойчивост след пет-седем годишно тестване са показали образци от Смолян (90E659), Търговище (78E6162, 78E6122), Шумен (90E309, 90E305, 78E6083) и Ямбол (90E222). След изследване на морфологичните признаци и стопанските качества някои от образците с най-висока устойчивост бяха включени в селекционната програма на ИЗК “Марица”. Чрез хибридизация с висококачествени сортове са създадени рекомбинантни инбредни линии, комбиниращи устойчивостта към фасулев зърнояд с устойчивостта към обикновена фасулева мозайка и ореолов пригор, с подходящи морфологични признаци и стопански качества и висок потенциал за добив. Предстои тяхното изпитване за сертифициране.

Обект на изследване за устойчивост на ниски положителни температури по време на поникването и първите фази от развитието на фасулевите растения беше колекция от 1160 образци градински фасул. Изследванията се провеждаха при лабораторни, оранжерийни и полски условия в ИРГР – Садово. В резултат на проведената скрининг през различните етапи на изпитване са излъчени източници на хладоустойчивост. При лабораторни изпитвания са отделени 413 образци с висока кълняемост. При тестване с ниски отрицателни температури на растенията в хладилна камера са отделени 210 устойчиви образци. При полско изпитване са отделени 22 образци от *var. nanus* и 37 от *var. vollubilis* с висока кълняемост и добри стопански качества. По-ранната дата на сеитба на хладоустойчивите образци градински фасул, подбрани с настоящото изследване, би осигурило по-ранна продукция за пазара и удължаване периода на снабдяване със суровина за преработвателните предприятия.

В ИЗК “Марица”, Пловдив, беше проучена реакцията към високи температури през репродуктивния период на растенията на четири образци градински фасул, отбрани след предварително тестване в ИРГР – Садово. Изследвано е влиянието на 35/29°C дневна/нощна температура при три продължителности на въздействие: от фаза “начало на бутонизация” до фаза “начало на цъфтеж”, от фаза “начало на цъфтеж” до края на цъфтежа и от фаза “начало на бутонизация” до края на цъфтежния период. Беше установено, че влиянието на високата температура е най-силно, когато обхваща целия репродуктивен период на растенията. Изпитваните образци реагираха с пълна липса на бобове и семена, с изключение на единични растения от образци 87201231 и 83201007. Получените резултати показват, че високата температура предизвиква увеличение на броя на репродуктивните органи, но увеличава значително и тяхното абортиране. Прави

впечатление фактът, че влиянието на предцъфтежния стрес е по-силно подчертано при образуването на бобове и върху броя на семената, но не и върху масата на семената. Комбинацията от пред- и следцъфтежен високотемпературен стрес блокира напълно образуването на семена, което според нас е свързано с отрицателното въздействие на високата температура върху образуването на гаметите, от една страна, и/или с пълния леталитет на формирания прашец, от друга. Образец 87201231 се открий с най-високи стойности на показателите, свързани с продуктивността на растенията.

Температурният стрес предизвиква обратими и необратими изменения в растителните структури и системи, които оказват силно влияние върху фотосинтетичната ефективност. Фотосистема 2 (ФС2) е особено чувствителна към високи температури. През последните години у нас и в света се работи интензивно върху изследване на потенциала на фотосинтетичната активност на растенията при нормални и стресови условия чрез методите на хлорофилната флуоресценция (Pastenesm and Horton, 1999; Yamane et al., 2000). Изучаването на светлинно индуцираната *in vivo* хлорофилна флуоресценция на тъканите на зелените растения е съвременен неструктурен метод за ранно определяне на понижения капацитет на фотосинтеза. Промените в параметрите на флуоресцентната емисия на ФС2 се считат от редица автори за надеждни критерии за определяне влиянието на стреса върху зелените растения (Goltsev et al., 1994; Briantais et al., 1996; Yordanov et al., 1997; Петкова и Начева, 2001).

В условия на съдов опит, при изследване реакцията на сорт Ореол и образец 87201231 спрямо температурни стойности 35 и 40°C при продължителност на въздействие 90 min, беше установено, че съществени промени в параметрите на флуоресцентната емисия настъпват при температура 40°C, която беше препоръчана и използвана като подходяща за физиологичен скрининг на селекционни материали.

В полски условия е проучена реакцията към високи температури (над 40°C) на 12 образци градински фасул от генофонда на ИЗК "Марица" и ИРГР - Садово, чрез определяне на термоиндуцираните промени в параметрите на хлорофилната флуоресценция  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $F_v$  и техните съотношения. В зависимост от реакцията към високите температури изследваните селекционни материали са разпределени в 3 групи: Първа група - термотолерантни, с най-слабо променени параметри на хлорофилната флуоресценция при високи температури. Втора група – силно чувствителни, при които стойностите на началната флуоресценция  $F_0$  се повишават, а на максималната флуоресценция  $F_m$  и на отношението  $F_v/F_m$  се понижават значително при въздействие с температура над 40°C. Трета група – с междинна реакция.

С оглед стабилизиране на източници на устойчивост към високи температури и прехвърляне на устойчивостта във висококачествени сортове, в ИЗК "Марица" се проведе цитологични изследвания за проучване влиянието на високите температури (30, 35 и 40°C) при продължителност на въздействие 30, 90, 120, 240 и 360 min върху жизнеността на прашеца в цветове и бутони на третираните цветни клонки и растения от селектираните в Института сорт *Заря*. Установи се висока степен на детерминираност на прорастването на прашниковите зърна от температурния режим, като процентът на прорастналия прашец се понижава с повишаване на температурата и продължителността на въздействие. Зависимостта между компонентите на температурния стрес и дължината на прашниковите тръбички не беше така добре изразена при различните варианти на третиране.

Това определи като по-надежден показател процента на прорастналите прашникови зърна. За критична температура и продължителност на въздействие бяха определени 35°C за 90 min, при които прорастнаха 51.6% от прашниковите зърна на третираните репродуктивни органи от сорт Заря. За сравнение в контролния вариант (нетретираните растения) прорастваше 90% от прашеца, вследствие на което температура 35°C за 90 min оказваше полуетален ефект върху жизнеността му. С определения критичен температурен режим бяха тествани 125 образци градински фасул. Въз основа на реакцията на прашеца те бяха класифицирани в 7 групи с интервал 10% с жизненост на прашеца от 0 до 70%. Данните от изследването показваха, че в 90.4% от третираните образци прашецът беше чувствителен към температурния стрес, като прорастваха от 0 до 40% прашникови зърна. С по-висока жизненост на прашеца (до 50, 60 и 70%) бяха 4.8, 3.2 и 1.6% от тестваните генотипове. Въз основа на тези изследвания бяха отбрани образци, които отговарят в различна степен на целите на селекцията. Селекционните линии RH 13 и BBSR 17 са включени в хибридизация, в резултат на което вече са създадени рекомбинантни инбредни линии с високи стопански качества.

Установеното вариране на жизнеността на прашеца между растенията, от една страна, и между репродуктивните органи на изследваните растения, от друга, ни дава основание да използваме гаметната селекция. През 2003 година третирахме растения от сорт *Ореол* с температура 40°C в продължение на 120 и 180 min с цел преживелите, толерантни към високотемпературен стрес гамети да извършат оплождането. В края на вегетационния период от етикетирания преди третирането репродуктивни органи прибрахме 290 и съответно 234 семена. Предстои тези семена да бъдат засети и растенията отново да бъдат подложени на температурен стрес. Възможно е по пътя на отбор на прашец, толерантен към висока температура, да се повиши устойчивостта и на спорофитното поколение.

## ИЗВОДИ

1. Определени са параметрите и границите на вариране на основните морфологични признаци на образците от генофонда на градинския фасул. Отделени са образци, представляващи интерес за селекцията.

2. Чрез отбор в местни популации са създадени сортовете Тракийски, Илинден и Пловдивски жълт, предназначени за консумация в непреработено състояние и ръчна беритба. Характеризират се с високо качество на зеления фасул и висок потенциал за добив.

3. Отбрани са образци със семена, устойчиви на механични травми. Най-висока устойчивост притежават образците с бели, овални семена и по-дебела семенна обвивка.

4. Отбрани са образци, устойчиви на фасулев зърнояд, които са включени в хибридизация и са създадени рекомбинантни инбредни линии с високо качество на зеления фасул и ценни стопански качества.

5. Отбрани са образци с повишена устойчивост на ниски температури по време на поникването и началните етапи от развитието на фасулевите растения.

6. Високата температура 35/29°C (дневна/нощна), обхващаща целия репродуктивен период (от началото на бутонизацията до края на цъфтежа) на растенията, блокира напълно образуването на семена.

7. Температура 40°C с продължителност на въздействие 90 min е подходяща за скрининг на селекционни материали зелен фасул чрез измерване параметрите на хлорофилната флуоресценция и въз основа реакцията на прашеца към този температурен стрес.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Кръстева, Л. 1989.** Събиране, съхранение и използване на растителните ресурси при зеленчуковите култури. Проблеми за опазване на растителното богатство на България. София.
- Кръстева, Л. 2000.** Генфондът на зеленият фасул в колекция *ex situ* – оценка, идентификация, съхранение и приложение. Дисертация за ДСН. ИРГР, Садово.
- Петкова, В., Е. Начева. 2001.** Влияние на високата температура и засушаването върху параметрите на хлорофилната флуоресценция при сортове и селекционни линии картофи. Научни труд. на Съюза на учените, Пловдив, т. II, 87-91.
- Порязов, И. 1990.** Селекционни изследвания при зеления фасул. Хабилизационен труд. НИЗК – Пловдив. 272.
- Briantais, J. M., J. Dacosta, Y.Goulas, J.M. Ducruet, I. Moya. 1996.** Heat stress induced in leaves an increase of the minimum level of the chlorophyll fluorescence  $F_0$ : a time-resolved analysis. *Photosynth. Res.* 48: 189-196.
- Dickson, M.H., M.A. Boettger. 1977.** Applied selection for mechanical damage resistance in snap beans using the mechanical damage simulator. Annual report of Bean Improvement Cooperative.V.20: 38-39.
- Goltsev, V., I.Yordanov, T.Tsonev. 1994.** Evaluation of relative contribution of initial and variable chlorophyll fluorescence measured at different temperatures. *Photosynthetica.* 30: 629-643.
- Pastenesm, C., P.Horton. 1999.** Resistance of photosynthesis to high temperature in two bean varieties (*Phaseolus vulgaris L.*). *Photosynth. Res.* 62: 197-203.
- Schoenhoven,V., Pastor M.A. Corales. 1987.** Standard System for the evaluation of bean germplasm, CIAT.
- Yamane, Y., T. Shikanai, Y.Kashino, H. Koike, K. Satoh. 2000.** Reduction of  $Q_A$  in dark: Another cause of fluorescence  $F_0$  increases by high temperatures in higher plants. *Photosynth. Res.* 63: 23 -34.
- Yordanov, I., T.Tsonev, V.Goltsev, L.Kruleva, V.Velikova. 1997.** Interactive effect of water deficit and high temperature on photosynthesis of sunflower and maize plants: 1. Changes in parameters of chlorophyll fluorescence induction kinetics and fluorescence quenching. *Photosynthetica*, 33: (3-4), 391-402.