



***Field Crops Studies***

***Volume X***

***No. 1***

***2016***

***Изследвания  
върху полските култури***

***Том X  
Книжка 1***

***2016***

## РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ:

**Гл. РЕДАКТОР:** Доц. д-р Юлия Енчева  
**РЕДАКТОРИ:** Проф. д-р Маргарита Нанкова  
Проф. д-р Валентина Енчева  
Проф. д-р Емил Пенчев  
Доц. д-р Татяна Петрова  
Доц. д-р Генчо Милев

**ЕЗИКОВИ  
РЕДАКТОРИ:** Катя Делчева  
Соня Димитрова  
гл. ас. д-р Даниела Вълкова

---

---

**Издател:** Добруджански земеделски институт  
**Редакция:** Добруджански земеделски институт  
гр. Генерал Тошево, 9520  
тел.: +359 58 / 603 125; факс: +359 58 / 603 183  
e-mail: [fcs@dai-gt.org](mailto:fcs@dai-gt.org); <http://fcs.dai-gt.org/>  
**Корица:** Катя Делчева, Стефан Димитров  
**Дизайн и предпечат:** Катя Делчева, Стефан Димитров  
**Печат:** "Нилекта Принт" ООД - гр. Добрич (+359 58 600 299)  
**ISSN 1312-3882**

---

---

## EDITORIAL BOARD:

**EDITOR IN CHIEF:** *Assoc. Prof. Julia Encheva*  
**EDITORS:** *Prof. Margarita Nankova*  
*Prof. Valentina Encheva*  
*Prof. Emli Penchev*  
*Assoc. Prof. Tatyana Petrova*  
*Assoc. Prof. Gencho Milev*

**LANGUAGE  
EDITORS:** Katia Delcheva  
Sonia Dimitrova  
Daniela Valkova

---

---

**Publisher:** Dobrudzha Agricultural Institute  
**Address:** Dobrudzha Agricultural Institute  
General Toshevo 9520  
phone: +359 58 / 603 125; fax: +359 58 / 603 183  
e-mail: [fcs@dai-gt.org](mailto:fcs@dai-gt.org); <http://fcs.dai-gt.org/>  
**Cover design by** Katia Delcheva & Stefan Dimitrov  
**Text design and typeset by** Katia Delcheva & Stefan Dimitrov  
**Printed by** Nilekta Print Ltd. - Dobrich (+359 58 600 299)  
**ISSN 1312-3882**

СЕЛЕКЦИЯ НА ТЕХНИЧЕСКИ И ДРУГИ КУЛТУРИ  
INDUSTRIAL and OTHER CROPS BREEDING



ХИБРИДИЗАЦИЯ НА КУЛТУРНИЯ СЛЪНЧОГЛЕД *HELIANTHUS ANNUUS* L. С ДИВИЯ ВИД *HELIANTHUS DIVARICATUS* L.

Даниела Вълкова\*, Нина Ненова, Юлия Енчева

Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево 9520, България

\*e-mail: valkova\_d@abv.bg

Резюме

Вълкова Д., Н. Ненова, Ю. Енчева, 2016. Хибридизация на културния слънчоглед *Helianthus annuus* L. с дивия вид *Helianthus divaricatus* L. FCS 10(1):83-88

Междувидова хибридизация е осъществена между културния слънчоглед *Helianthus annuus* L. и дивия многогодишен вид *Helianthus divaricatus* L. Хибридни растения са получени чрез прилагане на класически методи на селекция и биотехнологичния метод *embryo rescue*. Определена е степента на кръстосваемост. Получените растения са характеризирани по някои морфологични и фенологични признаци. Установено е, че проучваните образци от *H. divaricatus* са носители на Rf гени за CMS Pet1. Като резултат от самоопрашване, сестринско опрашване и бекросиране са получени F<sub>2</sub> и BC<sub>1</sub> генерации, които се характеризират с голямо разнообразие по морфологични и фенологични признаци. Методът *embryo rescue* може успешно да се използва за преодоляване трудностите при прилагане на методите на класическата селекция.

Ключови думи: *Helianthus divaricatus* L., кръстосваемост, *embryo rescue*

Abstract

Valkova D., N. Nenova, J. Encheva, 2016. Hybridization between cultivated sunflower *Helianthus annuus* L. and the wild species *Helianthus divaricatus* L. FCS 10(1):83-88

Interspecific hybridization was carried out between cultivated sunflower *Helianthus annuus* L. and wild perennial species *Helianthus divaricatus* L. Hybrid plants were produced using classical breeding methods and the biotechnological method *embryo rescue*. The degree of crossability was determined. The obtained plants were characterized on some morphological and phenological traits. It was established that studied accessions of *H. divaricatus* carried Rf genes for CMS Pet1. As a result of self-pollination, sib-pollination and back-crossing F<sub>2</sub> and BC<sub>1</sub> generations were obtained, characterized with great diversity in their morphological and phenological traits. The *embryo rescue* method could be successfully used for overcoming the difficulties in applying of classical breeding methods.

Key words: *Helianthus divaricatus* L., crossability, *embryo rescue*

## ВЪВЕДЕНИЕ

За страните от умерения климат, сред които е България, слънчогледът е най-важната маслодайна култура в продоволствен аспект. Това се дължи най-вече на високата хранителна и биологична стойност и много добрите вкусови качества на слънчогледовото масло. През последните години производителите на слънчоглед се стремят да използват високодобивни хибриди, които да притежават способността да преодоляват постоянно изменящите се стресови фактори като промени в екологичните и метеорологични условия на средата, нападение от болести и вредители по културния слънчоглед (Георгиев и др., 2012а; Георгиев и др., 2012б; Енчева и Георгиев, 2009). Широкото приложение на слънчогледа обосновава необходимостта от разрастване на подобрителната работа, което определя разнородните направления и специфични задачи в селекцията на тази култура (Христов, 1990). Приносът на селекцията в увеличаването и стабилизирането на продуктивния потенциал, както и преодоляването на стеснената генетична основа на вече навлезлите в практиката хибриди, е концентриран върху използването на отдалечената хибридизация за създаване и проучване на разнообразен изходен материал, притежаващ агрономически ценни качества.

Изучаването на генетичния потенциал на дивите видове от род *Helianthus* като важен изходен материал е обект на редица проучвания, насочени към създаване на устойчиви към биотичен и абиотичен стрес хибридни форми, отличаващи се с разнообразен мастнокиселинен състав. Чрез отдалечена хибридизация се създават нови форми растения, които съчетават ценни качества от два или повече различни вида на един и същ род и по-рядко от различни родове от семейство Asteraceae (Compositae). Това е дълготраен и трудоемък процес, чрез който може да се създаде хибриден материал, устойчив към болести, вредители и паразита синя китка, да се повиши продуктивността, качеството на слънчогледовото масло, да се получат нови източници на цитоплазмена мъжка стерилност (ЦМС) и възстановителни гени (Rf), както и други нови качества важни за селекцията на културния слънчоглед.

Род *Helianthus* включва видове с различно ниво на пloidност: диплоидни едногодишни и многогодишни видове ( $2n=34$ ); тетраплоидни многогодишни видове ( $2n=68$ ) и хексаплоидни многогодишни видове ( $2n=102$ ) с основен хромозомен набор  $x=17$ .

Хибридизацията между културния слънчоглед и многогодишните диви видове е съпроводена от по-сериозни затруднения в сравнение с тези при едногодишните видове. Те се изразяват в ниския завръз на семена от пита и слабата жизненост на получените хибридни растения, свързани с неправилно протичане на процесите на развитие на получените зародиши. Тези нарушения се свързват с липсата на кълняемост на семената, загиването на зародишите в ранните фази от тяхното развитие. Всички тези наблюдения говорят за отдалеченост на видовете от културния слънчоглед и проява на несъвместимост между тях, изразяваща се в нарушения в редуционното делене по време на мейозиса. До такива изводи достигат Георгиева-Тодорова, (1976), Николова, (1998), Христов (1990) и Христова-Чербаджи (2010). Atlagić (2004) допуска, че в случаите, когато се наблюдава пълна или частична несъвместимост между многогодишните видове от род *Helianthus* и културния слънчоглед, се проявява постзиготна несъвместимост между ембриото и ендосперма, което възпрепятства развитието на хибридите.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено в Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево. В него са включени стерилните аналози на три самоопрашени линии културен

слънчоглед – 325, SH 23, 813 и образците M-095 и M-168 от дивия вид *Helianthus divaricatus* L. ( $2n=34$ ), отглеждани в стационарна колекция в ДЗИ. Всеки образец от колекцията има свой каталожен номер, официален за регистъра на колекцията и фигуриращ в каталога на ФАО. Изборът на посочените образци е съобразен с това, че са рядко включвани в хибридизация и информация за техни хибриди се среща рядко в литературните източници. Междувидовите кръстоски по схемата културен слънчоглед  $\times$  див вид са осъществени при полски условия чрез прилагане на утвърдена методика (Христов, 1990). Семена от F1 хибридни растения са получени чрез прилагане на класически селекционни методи и ембриокултивиране (Ненова, 2002; Ненова и Друмева, 2012). Изучените морфологични и фенологични показатели на хибридните растения са съобразени с методиките на FAO (IBPGR, 1985). Завръзът на семена от хибридните растения е изчислен като отношение на броя получени семена спрямо общия брой тръбести цветчета от едно съцветие (Христов, 1990). Съдържанието на масло в ядката е определено по метода на обезмасления остатък (Рушковский, 1957). Техниката на ембриокултивиране по метода на Azpiroz et al. (1988) е приложена за преодоляване на некръстосваемостта.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Кръстоски от типа *културен слънчоглед  $\times$  див вид* са получени с участието на образци от вида *Helianthus divaricatus* L. ( $2n=34$ ). Естествената среда на местообитание на растенията от този вид са сухите и открити места на изток от река Мисисипи от Източна Оклахома до Източен Мисури. Данните за кръстосваемостта между образците от дивия вид (фиг.1) и културния слънчоглед са представени в таблица 1.



Фиг. 1 *H. divaricatus* L. ( M-168)  
 Fig. 1 *H. divaricatus* L. ( M-168)

Таблица 1. Кръстосваемост на дивия вид *H. divaricatus* с линии културен слънчоглед (*H. annuus*).

Table 1. Crossability of wild species *H. divaricatus* with cultivated sunflower lines (*H. annuus*).

Хибридна комбинация Hybrid combination	Опрашени съцветия Pollinated inflorescences			Получени семена Obtained seeds			Получени хибридни растения Obtained hybrid plants	
	Общ Брой Total number	Със семена With seeds		Средно от пита Average per head	Общ брой Total number	Завръз, Seed set %	Общ Брой Total number	Спрямо семената, Compared to the seeds, %
		Брой Number	%					
325 A $\times$ M-095	7	2	28,6	6	12	1,1	3	25
813 A $\times$ M-095	7	2	28,6	6	12	1,1	3	25
SH 23 $\times$ M-095	7	0	0	0	0	0	0	0
325 A $\times$ M-168	6	2	33,3	7,5	15	1,8	4	26,6
813 A $\times$ M-168	7	2	28,6	6	12	1,7	4	33,3
SH 23 $\times$ M-168	6	2	33,3	3	6	1,2	0	0

Резултатите от хибридизацията сочат (табл. 1), че степента на кръстосваемост варира от 28,6% до 33,3%. Завръзът на семена от една пита (процентът на осеменяване) е значително по-нисък и варира от 1,1% за кръстоските с участието на образец М-095 до 1,8% за кръстоските с участието на образец М-168. Тези данни доказват отдалечеността на културния слънчоглед от вида *H. divaricatus* в таксономично отношение.

Данните сочат, че несъвместимостта на културния слънчоглед с дивия вид е висока, макар че двата вида имат равен хромозомен брой в генома си. Получените хибридни растения са характеризирани морфологично (фиг.2). Всички получени растения са разклонени, с едногодишен и многогодишен жизнен цикъл. Те достигат височина 150 cm. Разклоненията се развиват предимно в долната част на стъблото. Листата са с триъгълно-овална форма, грапави отгоре и с власинки по долната страна, слабо назъбени, заострени на върха и тъмно зелени на цвят по подобие на дивия вид. Листната дръжка достига 6-10 cm, докато при дивия вид е много къса или липсва. Езичестите цветчета са с дължина 6-8 cm, а броят им надвишава този при дивия вид. Тръбестите цветчета са с антоцианова пигментация. При културния слънчоглед антоцианова пигментация липсва и наличието ѝ е подходящ морфологичен маркер за ранно установяване на хибридният характер на F1 растенията. Прилистниците, подобно на дивия



Фиг. 2. 325 A x M-168  
Fig. 2. 325 A x M-168

вид са широки, копиевидни, почти без власинки и с остър, извит връх. Получени са седем хибридни растения, четири от които са мъжко фертилни. Това доказва, че образците от дивия вид носят гени за възстановяване на фертилността на ЦМС-Pet 1. Изолирани и самоопрашени са растенията, които отделят прашец. Получените от тях 11 броя семена са кафеникаво черни. От тях са получени 8 F2 растения.

Те се отличават помежду си по височината на главното стъбло, дължината на разклоненията и листните дръжки. Наблюдава се в различна степен изразена антоцианова пигментация. След опрашване на стерилни съцветия от линия 813 A с прашец от F1 растенията са получени 28 семена, като завръзът на семена е 2,5-6,2%. В морфологично отношение по-разнообразни са растенията, получени след самоопрашване и сестринско опрашване на хибридните растения от първа генерация в сравнение с BC1 поколението. Установено е вариране във фазите начало на бутонизация, продължителност на цъфтеж и вегетационен период. Семената са с различна едрина и различно оцветени, от тъмно кафяво до сиво-черно. Вариране е установено по отношение масата на 1000 семена (43-56 g) и съдържанието на масло – от 41,5 до 46,8%.

За да се преодолеят трудностите при прилагане на методите на класическата селекция, свързани със слабо изразената кръстосваемост на културния слънчоглед и с цел да се получи максимален брой хибридни растения, бе приложен методът embryo rescue.



Фиг. 3. 813A x M-168  
Fig. 3. 813A x M-168



Първоначалните кръстоски са извършени при полски условия. От кръстоските са изолирани 8 зародиша и са култивирани върху твърда хранителна среда (Ненова, 2002). Малкият брой на получените зародиши след опрашване показва, че хибридизацията между културния слънчоглед и диплоидния многогодишен вид *H. divaricatus* L. е с нисък процент на оплождане и слаб завръз. В нашата практика сме наблюдавали абортиране на ембрионите. Затова приложихме метода *embryo rescue*. Най-подходящият срок за изолиране на ембрионите е 10-12-я ден след опрашване. F<sub>1</sub> хибридни растения от кръстоските 813 А х М-168 (фиг. 3) и 813 А х М-095 са получени в лаборатория и отгледани в оранжерийни условия. Процентът на получените хибридни растения варира от 12% до 45 %. Това показва, че методът *embryo rescue* може да бъде приложен успешно за получаване на повече от една генерация за година.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хибридни растения от отдалечени в таксономично отношение видове се получават твърде рядко по методите на класическата селекция. Направеният опит, свързан с прилагане на метода *embryo rescue* цели да се преодолее некръстосваемостта на културния слънчоглед с дивите видове от род *Helianthus*. Наличието на мъжко фертилни F<sub>1</sub> растения доказва, че включените в проучването образци от диплоидния многогодишен вид *H. divaricatus* L. притежават гени, които възстановяват цитоплазмената мъжка стерилност Pet-1.

Представените резултати показват, че успешна междувидова хибридизация може да бъде осъществена чрез прилагане на класически методи съчетани с метода *embryo rescue*. Ембриокултивирането позволява да се получат няколко генерации в рамките на една година. Получените семена от хибридни растения, отгледани в оранжерийни условия са достатъчни за да продължи целенасоченият отбор по важни за селекцията на слънчогледа признаци. Хибридните потомства се характеризират с вариране по повечето от изследваните морфологични признаци.

## ЛИТЕРАТУРА

- Георгиев Г., Пеевска П., Шиндрова П., Пенчев Е. 2012а. Продуктивни възможности и устойчивост на мана и синя китка на експериментални хибриди слънчоглед получени с участието на линия 217 като майчин компонент. *Field Crops Studies*, том VIII-2, р. 283-290.
- Георгиев, Г., Пеевска П., Шиндрова П., Пенчев Е. 2012б. Изследване на продуктивния потенциал на хибриди слънчоглед получени с участието на майчина линия 3А. *Аграрни науки*. Год. IV. Брой 11, р. 51-56.
- Георгиева-Тодорова, Й. 1976. Междувидови отношения в рода *Helianthus*.L. изд. БАН, София, 167 стр.
- Енчева В., Георгиев Г. 2009. Проучване и характеристика на хибридни материали за устойчивост към причинителите на сивите (*Phomopsis helianthi*) и черни (*Phoma macdonaldi*) петна по слънчогледа. *Селскостопанска академия. Растениевъдни науки*, 46, р. 342-345.
- Ненова, Н. 2002. Съчетаване методите на междувидовата хибридизация с *in vitro* техники за обогатяване генома на културния слънчоглед (*H. annuus* L.). Дисертация за присъждане на образователната и научна степен "Доктор", София, 2002, 179 стр.
- Ненова, Н. и Друмева М. 2012. Комбинирано прилагане на различни методи за създаване на устойчиви на икономически важни болести и паразити линии, възстановители на фертилността при слънчогледа. Трети международен научен конгрес „50 години Технически Университет Варна“, стр. 140-142.

- Николова, Л. 1998.** Проучване възможностите за използване на многогодишните диплоидни видове от род *Helianthus* за обогатяване генетичната плазма на културния слънчоглед. Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор”, София, 168 стр.
- Рушковский, С. В. 1957.** Методи исследования при селекции масличных растений на содержание масла и его качество.-М., Пищепромиздат.
- Христов, М. 1990.** Проучване на диви видове от род *Helianthus* с оглед използването им в селекцията на слънчогледа. Дисертация за присъждане на научната степен “Кандидат на селскостопанските науки”, София, 1990.
- Христова-Чербаджи, М., Христов М. 2010.** Характеристика на хибриди, получени след кръстосване на културния слънчоглед *H. annuus* L. с дивия многогодишен вид *H. divaricatus* L., Proc. 20<sup>th</sup> Anniversary Internat. Sci. Conference, 3-4 June, St. Zagora, pp. 177-181.
- Atlagic J. 2004.** Roles of interspecific hybridization and cytogenetic studies in sunflower breeding. *Helia*, 27 N: 41, pp. 1-24.
- Azpiroz H.S., Vincourt P., Serieys H. Gallais A. 1988.** *In vitro* immature embryo culture for accelerating the breeding cycle of sunflower lines and its morphovegetative effects. Sci. Bull. FAO Res. Network Romania (1987). *Helia* (10) pp. 35-38.
- IBPGR. 1985.** Descriptors for cultivated and wild sunflower. AGPG. IBPGR/85/54, Roma, Italy.