

УДК 575.222.73 : 633.854.78

В.Н. ПОПОВ, Л.Л. ЮШКИНА,  
Я.Ю. ШАРЫПИНА, В.В. КИРИЧЕНКО

Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева,  
пр. Московский, 142, Харьков, 61060, Украина  
E-mail: vnpop@mail.ru

ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
СКРЕЩИВАЕМОСТИ КУЛЬТУРНОГО  
ПОДСОЛНЕЧНИКА С ДИКИМИ  
ВИДАМИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ  
ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ  
ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ



*Изучены особенности влияния генотипов культурного и дикорастущих сородичей подсолнечника на показатели скрещиваемости, развитие гибридных зародышей в условиях in vitro. Показано, что подбор исходного материала может значительно влиять на завязывание семян и развитие зародышей in vitro в группе скрещиваний культурного подсолнечника с однолетними и многолетними дикими видами. Установлено, что количество растений-регенерантов, полученных путем соматического эмбриогенеза и адвентивного побегообразования, было выше, чем при прямом доразивании зародышей in vitro.*

© В.Н. ПОПОВ, Л.Л. ЮШКИНА, Я.Ю. ШАРЫПИНА,  
В.В. КИРИЧЕНКО, 2005

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2005. № 1

**Введение.** Система рода *Helianthus* представлена множеством видов, которые различаются по морфологии, типу развития, уровню пloidности (выделяют ди-, тетра- и гексаплоидные виды) [1]. В полевой культуре распространены только два вида: однолетний диплоидный (*H. annuus* L.) и многолетний гексаплоидный (*H. tuberosus* L.). Большое разнообразие диких форм открывает широкие возможности для изучения филогенетического родства [2–4], ядерно-цитоплазматических взаимоотношений [5], интрогрессии генетического материала в геном культурного подсолнечника (*H. annuus*) с целью улучшения хозяйственно ценных признаков — устойчивости к болезням [6], высокого содержания некоторых жирных кислот [7], а также устойчивости к засухе и засолению [8, 9]. Расширились также исследования по выделению новых источников цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), генов Rf, на базе которых происходит создание принципиально нового селекционного материала [10, 11].

Получение межвидовых гибридов в основном ведется путем гибридизации, успех которой зависит от многих факторов. Лимитирующими факторами получения межвидовых гибридов являются постгамная несовместимость родительских форм, приводящая к абортированию зародыша вскоре после оплодотворения, и слабая жизнеспособность гибридных семян. Для преодоления постгамной несовместимости может быть использован метод незрелых зародышей, который успешно применяется для решения селекционных задач [12]. Техника и оптимальные сроки вычленения незрелых зародышей подсолнечника описаны в литературе [13–15].

Весьма важным представляется вопрос о влиянии родительских компонентов скрещивания на завязываемость семян при скрещивании диких видов и нескольких генотипов культурного подсолнечника. Кроме того, успешное прорастание зародышей в культуре in vitro также в значительной степени определяется генотипом, что подтверждается экспериментальными данными [16, 17]. Поэтому, изучив особенности скрещиваемости исходных родительских форм, возможно значительно оптимизировать селекционный процесс. В этой связи целесообразно изучить влияние генотипического разнообразия родительских форм на скрещиваемость и жизнеспособность зародышей в условиях in vitro. Следует отметить, что генотипы подсолнечника (инб-

редные линии) отечественной селекции в этом направлении изучены слабо, что значительно затрудняет работу селекционеров по созданию исходного материала на базе межвидовых гибридов.

**Материал и методы.** В качестве материнского компонента скрещивания были взяты одно- и многолетние виды подсолнечника разного уровня плоидности (табл. 1), а как опылители использовали инбредные линии подсолнечника селекции Института растениеводства им. В.Я. Юрьева.

Для подсолнечника характерна протерандрия, которая заключается в опережающем созревании пыльников по отношению к пестикам, а также цветение трубчатых цветков идет от периферии к центру корзинки. В связи с этим гибридизацию проводили в несколько этапов. На первом этапе рано утром осуществляли кастрацию тычинок (пыльниковая стадия) определенного яруса, которые по мере роста полностью выходят из венчика трубчатых цветков. Эту процедуру повторяли три-четыре раза. Вторым этапом заключался в опылении столбиков пылью отцовской формы.

Для доращивания гибридные зародыши вычленили из семян в асептических условиях на 10–11-е сутки после опыления. Перед высадкой на среду зародыши стерилизовали 6%-ным раствором хлорамина в течение 20 мин и трижды промывали стерильной водой. Для доращивания гибридных зародышей использовали среду Гамборга (среда I), содержащую 90 г/л сахарозы, по 0,01 мг/л фитогормоны БАП, НУК и ИУК, 8 г/л агара, pH 5,6–5,8.

Таблица 1

Виды рода *Helianthus*, вовлеченные в скрещивания с культурным подсолнечником

Секция	Серия	Вид	Плоидность	Тип развития
<i>Helianthus</i>	—	<i>H. annuus</i>	D	A
		<i>H. argophyllus</i>	D	A
		<i>H. debilis</i>	D	A
		<i>H. praecox</i>	D	A
<i>Divaricati</i>	<i>Corona-solis</i>	<i>H. decapetalus</i>	T	P
		<i>H. divaricatus</i>	D	P
		<i>H. grosseserratus</i>	D	P
		<i>H. salicifolius</i>	D	P
		<i>H. maximiliani</i>	D	P
		<i>H. resinusus</i>	H	P
<i>Divaricati</i>	<i>Antrorubentes</i>	<i>H. occidentalis</i>	D	P

Примечание. D — диплоид, T — тетраплоид, H — гексаплоид; A — однолетний, P — многолетний.

В экспериментах по доращиванию незрелых зародышей, полученных в скрещиваниях с многолетними дикими видами, использовали две среды. Первый пассаж осуществляли на среду I, а второй пассаж на такую же среду с модификациями (среда II), которая содержала 30 г/л сахарозы, 0,1 мг/л БАП и 0,01 мг/л ГК.

Полученные данные подвергались статистической обработке путем попарного сравнения комбинаций скрещивания между собой с использованием критерия Стьюдента (t) и по критерию Фишера (φ) [18].

Авторы выражают благодарность докторам R.A. Stebbins и L.F. Marek (Северо-центральная региональная станция интродукции растений США) за предоставленные семена диких однолетних видов подсолнечника.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для изучения влияния генотипов исходных родительских форм на скрещиваемость и культивирование незрелых зародышей было получено 35 гибридных комбинаций, из которых 24 — в группе скрещиваний с дикими однолетними видами, а 11 — с участием многолетних видов подсолнечника. При изучении скрещиваемости учитывали два показателя: общее количество завязавшихся семян и семян с зародышами.

Завязываемость семян в исследуемых комбинациях, полученных от скрещивания однолетних видов подсолнечника с инбредными линиями, варьировала в широких пределах: от 1 (*H. annuus* ANN1064 × X1002-Б) до 99 % (*H. argophyllus* 1807 × X908-Б) (табл. 2).

По степени завязываемости гибридных семян полученные комбинации условно можно разбить на пять групп: комбинации с очень низкой завязываемостью, которая не превышала 3 %, низкой — до 19 %, средней — 20–40 %, высокой — 41–90 % и очень высокой — более 90 %. В среднем наибольшее количество завязавшихся семян получено с участием *H. annuus* ANN1064, которое было достоверно выше по сравнению с другими группами скрещиваний. В результате опыления 1456 цветков удалось получить 1216 семян, что составило  $83,5 \pm 1,0$  %. Наименьшее число семян получено в группе скрещиваний с *H. argophyllus*. Из 750 опыленных цветков завязалось 164 семечки ( $21,9 \pm 1,5$  %). Следует отметить, что в гибридном потомстве некоторых материнских форм выделились комбинации

как с очень низкой, так и высокой степенью завязываемости семянков и выявлены достоверные различия между ними. Например, при скрещивании *H. argophyllus* 1807 с линией X1002-Б завязываемость семянков составила  $1,0 \pm 0,7$  %, а с участием линии X908-Б —  $99 \pm 1,0$  % (табл. 2). Вероятно, существенные различия по количеству завязавшихся семянков в этих скрещиваниях связаны с особенностями взаимодействия между гаметофитом и спорофитом при прорастании пылевых трубок.

При визуальной оценке полученных в исследовании семянков было показано, что они содержали нормально развитые зародыши к моменту их вычленения на питательную среду. Всего в результате опыления 5317 цветков завязалось 3200 семянков, что составило 60,2 % общего числа опыленных цветков.

В эксперименте с многолетними дикими видами подсолнечника не удалось получить комбинации по полной схеме в силу несовпадения сроков цветения родительских компонентов скрещивания. Результаты анализа полученных скрещиваний выявили значительное варьирование показателей скрещиваемости в различных комбинациях. При этом частоты завязываемости семянков изменялись от 0 до  $39,5 \pm 4,6$  %, а семянков с зародышами от 0 до  $27,2 \pm 4,2$  % (табл. 3). Среди диких многолетних видов подсолнечника с наиболее высокой способностью завязывать семянки при скрещивании с культурным можно выделить следующие материнские формы: *H. decapetalus*, *H. salicifolius*, *H. divaricatus* и *H. occidentalis*. Максимальное число завязавшихся семянков получено в комбинации скрещивания *H. decapetalus* × X1012-Б — 45, что составило  $39,5 \pm 4,6$  % общего числа опыленных цветков.

По количеству морфологически нормально развитых зародышей выделились гибридные комбинации, где материнскими формами были *H. decapetalus* и *H. salicifolius*. Они достоверно отличались по этому показателю от других комбинаций скрещивания. Частота семянков с зародышами при скрещивании этих видов с инбредными линиями варьировала от  $11,1 \pm 3,7$  до  $27,2 \pm 4,2$  % (табл. 3). Среди исследуемых комбинаций были такие, у которых частота завязывания семянков относительно высокая, а семянков с зародышами — очень низкая. Так, в комбинациях *H. occidentalis* × X2111-Б и *H. divaricatus* ×

Таблица 2

Результаты завязываемости семянков при скрещивании диких однолетних видов с культурным подсолнечником

Комбинация скрещивания		Опылено цветков	Завязалось семянков	
♀	♂		шт.	%
<i>H. annuus</i> Н-151	X908-Б	203	78	$38,4 \pm 3,4$
	X1006-Б	229	151	$65,9 \pm 3,1$
	X1002-Б	282	226	$80,1 \pm 2,4$
	X2122-Б	292	216	$73,9 \pm 2,6$
Всего		1006	747	$74,3 \pm 1,4$
<i>H. annuus</i> ANN1064	X908-Б	170	78	$45,9 \pm 3,8$
	X1006-Б	178	142	$79,8 \pm 3,0$
	X1002-Б	903	823	$91,1 \pm 3,0$
	X2122-Б	205	173	$84,4 \pm 2,5$
Всего		1456	1216	$83,5 \pm 1,0$
<i>H. argophyllus</i> 1807	X908-Б	103	102	$99,0 \pm 1,0$
	X1006-Б	152	4	$2,6 \pm 1,3$
	X1002-Б	199	2	$1,0 \pm 0,7$
	X2122-Б	191	159	$83,2 \pm 3,4$
Всего		645	267	$41,4 \pm 1,9$
<i>H. argophyllus</i>	X908-Б	220	47	$21,4 \pm 2,8$
	X1006-Б	63	26	$41,3 \pm 6,3$
	X1002-Б	230	50	$21,7 \pm 2,7$
	X2122-Б	237	41	$17,3 \pm 2,5$
Всего		750	164	$21,9 \pm 1,5$
<i>H. debilis</i>	X908-Б	82	24	$29,3 \pm 5,0$
	X1006-Б	150	27	$18,0 \pm 3,1$
	X1002-Б	136	22	$16,2 \pm 3,1$
	X2122-Б	321	210	$65,4 \pm 2,7$
Всего		689	283	$41,1 \pm 1,8$
<i>H. praecox</i>	X908-Б	199	152	$76,4 \pm 3,0$
	X1006-Б	222	136	$61,3 \pm 3,3$
	X1002-Б	228	160	$70,1 \pm 3,0$
	X2122-Б	122	75	$61,5 \pm 4,4$
Всего		771	523	$67,8 \pm 1,7$

×X2111-Б насчитывалось  $22,9 \pm 2,8$  и  $21,6 \pm 2,8$  % семянков, в то время как частота семянков с зародышами составила 0 и  $1,1 \pm 0,8$  % соответственно. Вероятно, низкая частота образования семянков с зародышами связана с нарушениями в формировании гибридных зародышей при ранних делениях зиготы. Остальные комбинации скрещивания характеризовались слабой завязываемостью и соответственно низкой частотой семянков с зародышами.

Сравнивая данные по завязываемости семянков в серии опытов, можно заключить, что хоро-

Результаты завязываемости семян при скрещивании диких многолетних видов с культурным подсолнечником

Комбинация скрещивания	Опылено цветков	Завязалось семян			
		всего		с зародышами	
		шт.	%	шт.	%
<i>H. decapetalus</i> × X503-Б	56	21	37,5 ± 6,4	9	16,1 ± 4,9
<i>H. decapetalus</i> × X1012-Б	114	45	39,5 ± 4,6	31	27,2 ± 4,2
<i>H. decapetalus</i> × X2111-Б	228	71	31,1 ± 3,1	60	26,3 ± 2,9
<i>H. salicifolius</i> × X2111-Б	72	26	36,1 ± 5,7	8	11,1 ± 3,7
<i>H. maximiliani</i> × X503-Б	124	1	0,8 ± 0,8	1	0,8 ± 0,8
<i>H. maximiliani</i> × X1002-Б	112	3	2,7 ± 1,5	1	0,9 ± 0,8
<i>H. divaricatus</i> × X1002-Б	120	4	3,3 ± 2,7	1	0,8 ± 0,7
<i>H. divaricatus</i> × X2111-Б	190	41	21,6 ± 3,0	2	1,1 ± 0,8
<i>H. resinusus</i> × X908-Б	68	1	1,5 ± 1,5	0	0
<i>H. occidentalis</i> × X2111-Б	218	50	22,9 ± 2,8	0	0
<i>H. grosseserratus</i> × X2111-Б	42	0	0	0	0

шая совместимость с культурным подсолнечником наблюдается при скрещивании однолетних видов и частичная — многолетних видов. Вероятно, при вовлечении многолетних видов в скрещивания мы сталкиваемся с разнообразными нарушениями, связанными со взаимоотношениями мужского гаметофита и пестика, оплодотворением и развитием зародышей. Приведенные результаты достаточно высокой совместимости культурного подсолнечника и однолетних видов (по сравнению с многолетними) могут свидетельствовать о близком филогенетическом родстве между этими видами, что подтверждается последними исследованиями ряда авторов [4, 19, 20].

После опыления 10–11-дневные зародыши размером около 2 мм вычленили и культивировали *in vitro* для дорастивания и последующей регенерации. Жизнеспособность гибридных зародышей при культивировании *in vitro*, полученных с участием однолетних видов, была различной. Исследования показали, что основная часть зародышей дифференцировалась и давала нормально развитые растения, которые затем высаживали в грунт. Другая часть зародышей развивалась аномально, они формировали хлорозные семядольные листочки, в некоторых случаях с зелеными полосами и без корней. Некоторые гибридные зародыши не проросли и вскоре погибли.

При дорастивании зародышей, полученных в группе скрещиваний с однолетними видами подсолнечника, количество полученных расте-

ний достоверно различалось в зависимости от комбинаций скрещивания. Частота регенерации варьировала от 0 до 72 % в разных гибридных комбинациях (табл. 4). Максимальное их количество было получено для гибридных комбинаций *H. annuus* ANN1064 × X908-Б и *H. argophyllus* 1807 × X908-Б. В результате эксперимента всего было высажено 473 гибридных зародыша и получено 189 нормально развитых проростков, что составило 39,9 %.

Полученные данные в каждой группе скрещиваний позволяют сделать вывод о том, что выход растений-регенерантов в условиях *in vitro* в большей степени определяется генотипическими особенностями опылителей (инбредные линии).

Зародыши, полученные от скрещивания многолетних видов с инбредными линиями, развивались путем прямого органогенеза, активации пазушных почек и соматического эмбриогенеза. При первом пассаже гибридные зародыши получили дальнейшее развитие только в комбинации *H. decapetalus* × X2111-Б. По этой комбинации скрещивания только 10 % зародышей хорошо дифференцировались и сформировали нормально развитые растения.

Некоторые зародыши по другим комбинациям развивались слабо и свое развитие прекращали на стадии развернутых семядолей, в то время как другие погибали (табл. 5). Через 6 нед зародыши, которые прекратили свое развитие, пересаживали на среду II. В результате пересадки зародыши, полученные по комбинациям *H. decapetalus* ×

×X2111-Б и *H. salicifolius* × X2111-Б, развивались по пути прямого органогенеза, адвентивного побегообразования и соматического эмбриогенеза. В результате эксперимента по этим гибридным комбинациям 6 зародышей прорастали путем прямого дорастивания, у 21 удалось индуцировать формирование адвентивных побегов, а 3 развивались путем соматического эмбриогенеза с последующей регенерацией.

В результате индукции адвентивного побегообразования и соматического эмбриогенеза уда-

Таблица 4

Результаты развития гибридных зародышей при дорастивании на питательной среде

Комбинация скрещивания		Высажено зародышей	Гибридные растения	
♀	♂		шт.	%
<i>H. annuus</i> Н-151	X908-Б	25	16	64,0 ± 9,6
	X1006-Б	25	9	36,0 ± 9,6
	X1002-Б	20	14	70,0 ± 7,8
	X2122-Б	20	10	50,0 ± 11,2
Всего		90	49	54,4 ± 5,3
<i>H. annuus</i> ANN1064	X908-Б	25	18	72,0 ± 9,0
	X1006-Б	20	0	0
	X1002-Б	20	1	5,0 ± 4,9
	X2122-Б	20	4	20,0 ± 8,9
Всего		85	23	27,0 ± 4,8
<i>H. argophyllus</i> 1807	X908-Б	25	18	72,0 ± 9,0
	X1006-Б	3	0	0
	X1002-Б	2	2	100,0 *
	X2122-Б	20	14	70,0 ± 10,2
Всего		50	34	68,0 ± 6,6
<i>H. argophyllus</i>	X908-Б	25	15	60,0 ± 9,8
	X1006-Б	15	7	46,6 ± 12,9
	X1002-Б	20	0	0
	X2122-Б	20	6	30,0 ± 10,2
Всего		80	28	35,0 ± 5,3
<i>H. debilis</i>	X908-Б	21	10	47,6 ± 10,9
	X1006-Б	20	3	15,0 ± 8,0
	X1002-Б	22	5	22,7 ± 8,9
	X2122-Б	20	11	55,0 ± 11,1
Всего		83	29	34,9 ± 5,2
<i>H. praecox</i>	X908-Б	25	17	68,0 ± 9,3
	X1006-Б	20	3	15,0 ± 8,0
	X1002-Б	20	4	20,0 ± 8,9
	X2122-Б	20	2	10,0 ± 6,7
Всего		85	26	30,6 ± 5,0

\* Данные исключены из дальнейшего анализа ввиду малочисленности выборки.

Таблица 5

Результаты развития гибридных зародышей подсолнечника при дорастивании на питательной среде

Комбинация скрещивания	Высажено зародышей	Получено растений		Из них с корнями	
		шт.	%	шт.	%
<i>H. decapetalus</i> × X503-Б	9	1	11,1	1	11,1
<i>H. decapetalus</i> × X1012-Б	31	19	61,3	19	61,3
<i>H. decapetalus</i> × X2111-Б	60	181	301,6	148	246,6
<i>H. salicifolius</i> × X2111-Б	8	32	400,0	1	12,5
<i>H. maximiliani</i> × X503-Б	2	—	—	—	—
<i>H. maximiliani</i> × X1002-Б	1	—	—	—	—
<i>H. divaricatus</i> × X1002-Б	1	—	—	—	—
<i>H. divaricatus</i> × X2111-Б	2	—	—	—	—

лось получить 181 и 32 растений-регенерантов, что составило 301,6 и 400,0 % от числа высаженных зародышей для комбинаций *H. decapetalus* × X2111-Б и *H. salicifolius* × X2111-Б соответственно. Из этих растений по комбинации *H. decapetalus* × X2111-Б 148 сформировали хорошо развитую корневую систему. К сожалению, формирования корневой части у растений комбинации *H. salicifolius* × X2111-Б удалось добиться только у одного проростка, что ограничило выход нормально развитых растений. Некоторые авторы также указывают на недостаточность формирования корневой части зародыша [13]. Вероятно, причинами этого являются нарушения в ходе эмбриогенеза. У зародышей от скрещивания *H. divaricatus* × X2111-Б наблюдали ризогенез, но при дальнейшем их культивировании не удалось получить нормально развитые растения. Впоследствии на корнях наблюдались случаи спонтанного образования каллусов без регенерации из них растений.

Итак, путем индукции различных типов развития зародышей удалось увеличить выход растений-регенерантов за счет высокого коэффициента размножения, что составило в среднем 1,5 растения на каждый высаженный зародыш. В результате проведенных скрещиваний с последующим применением эмбриокультуры удалось получить 358 растений F<sub>1</sub>, которые вовлечены в различные селекционно-генетические программы исследований.

Таким образом, анализируя полученные результаты, можно заключить, что при скрещивании культурного подсолнечника с однолетними дикими видами гибридные семянки образуются с

различной частотой в зависимости от подбора пар. Отмечено также влияние генотипического разнообразия исходных форм на результаты культивирования незрелых зародышей *in vitro*. При гибридизации многолетних диких видов с культурным подсолнечником наблюдается лишь частичная совместимость скрещиваемых форм, а метод культивирования незрелых зародышей позволил получить растения-регенеранты.

**SUMMARY.** Peculiarities of the genotype effect of cultivated and wild sunflower species on crossability indices and *in vitro* hybrid embryonic development have been investigated. It was shown that selection of initial material can considerably influence seed-setting and *in vitro* embryonic development in the cross group of cultivated sunflower with annual and perennial wild species. The range of plant hybrids obtained through somatic embryogenesis and induction of adventitious shoots was higher in comparison with direct growth of embryos in *in vitro* culture.

**РЕЗЮМЕ.** Вивчено особливості впливу генотипів культурного та дикорослих видів соняшника на показники схрещуваності, розвиток гібридних зародків в умовах *in vitro*. Показано, що підбір вихідного матеріалу може значно впливати на зав'язування сім'янок й розвиток зародків *in vitro* в групах схрещувань культурного соняшника з однорічними та багаторічними дикими видами. Встановлено, що кількість рослин-регенерантів, створених шляхом соматичного ембріогенезу і адвентивного пагоноутворення, була вищою, ніж при прямому дорощуванні зародків *in vitro*.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rogers C.E., Thompson T.E., Seiler G.J. Sunflower species of the United States // Bismarck, North Dakota: Nat. Sunflower Ass., 1982. — P. 1—60.
2. Rieseberg L.H. Hybrid origins of plant species // Annu. Rev. Syst. — 1997. — 28. — P. 359—389.
3. Schilling E.E. Phylogenetic analysis of *Helianthus* (Asteraceae) based on chloroplast DNA restriction site data // Theor. Appl. Genet. — 1997. — 94. — P. 925—933.
4. Schilling E.E., Linder C.R., Noyes R.D., Rieseberg L.H. Phylogenetic relationships in *Helianthus* (Asteraceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequence data // Syst. Bot. — 1998. — 23, № 2. — P. 177—187.
5. Rieseberg L.H., Van Fossen C., Arias D., Carter R.L. Cytoplasmic male sterility in sunflower: origin, inheritance and frequency in natural populations // J. Heredity. — 1994. — 85, № 3. — P. 233—238.
6. Cerboncini C., Beine G., Binsfeld P.C., Dresen B., Peisker H., Zerwas A., Schnabl H. Source of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary in a natural *Helianthus* gene pool // Helia. — 2002. — 25, № 36. — P. 167—176.
7. Seiler G. J. Wild perennial sunflower as a potential sources of reduced palmitic and stearic fatty acids in sunflower oil // Helia. — 2002. — 25, № 36. — P. 79—84.
8. Baldini M., Cecconi F., Vannozzi G.P. Influence of water deficit on gas exchange and dry matter accumulation in sunflower cultivars and a wild species (*Helianthus argophyllus*) // Helia. — 1993. — 16, № 19. — P. 1—10.
9. Seiler G.J. Registration of 15 interspecific sunflower germplasm lines derived from wild annual species // Crop Sci. — 1991. — 31, № 5. — P. 1389—1390.
10. Christov M. Production of new CMS sources in sunflower // Helia. — 1999. — 22, № 31. — P. 1—12.
11. Christov M., Shindrova P., Encheva V. et al. Development of fertility restorer lines originating from interspecific hybrids of genus *Helianthus* // Helia. — 1996. — 19, № 24. — P. 65—72.
12. Плотников В.А. Использование метода культуры молодых зародышей для ускоренного развития ЦМС-аналогов подсолнечника // Цитология и генетика. — 1983. — 17, № 6. — С. 42—46.
13. Пушкаренко А.Я. Культура *in vitro* незрелых зародышей подсолнечника // Методы биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений : Сб. науч. тр. — Одесса : СГИ, 1992. — С. 31—38.
14. McCann A.W., Cooley G., Dreser J. A system for routine plantlet regeneration of sunflower (*Helianthus annuus* L.) from immature embryo-derived callus // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. — 1988. — 14. — P. 103—110.
15. Sukno S., Ruso J., Jan C.C., Melero-Vara J.M., Fernandez-Martinez J.M. Interspecific hybridization between sunflower and wild perennial *Helianthus* species via embryo rescue // Euphytica. — 1999. — 106. — P. 69—78.
16. Банникова В.П., Хведьнич О.А., Кравец Е.А. и др. Основы эмбриогенеза злаков. — Киев : Наук. думка, 1991. — 175 с.
17. Witzens B., Scrocroft W.R., Downes R.W., Zarkin P.I. Tissue culture and plant regeneration from sunflower (*Helianthus annuus*) and interspecific hybrids (*H. tuberosus* × *H. annuus*) // Plant Cell Tissue. — 1988. — 13. — P. 61—76.
18. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1980. — 294 с.
19. Sossey-Alaoui K., Serieys H., Tersac M., Lambert P. et al. Molecular relationships of *Helianthus* based on RAPD markers // Helia. — 1999. — 22, № 30. — P. 1—18.
20. Sivolap Yu. M., Solodenko A.E. Inter- and intraspecific differentiation in the genus *Helianthus* by RAPD analysis // Helia. — 1998. — 21, № 29. — P. 9—18.

Поступила 20.07.04