



СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ – СОФИЯ



ЗЕМЕДЕЛСКИ ИНСТИТУТ – ШУМЕН

Станислав Дечков Божимиров

**„ВЛИЯНИЕ НА ГЕНОТИПА ВЪРХУ РАЗВИТИЕТО
И РЕПРОДУКЦИЯТА НА СТЕВИЯ (*STEVIA
REBAUDIANA BERTONI*) В УСЛОВИЯТА НА
БЪЛГАРИЯ”**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация за присъждане на образователна и научна
степен „Доктор”
по професионално направление „Растениевъдство“
специалност „Селекция и семенпроизводство на културните
растения”

Научни ръководители:

Проф. д-р Цветан Кикиндонов

Проф. д-р Драгомир Пламенов

2025

ШУМЕН

Дисертацията е написана на 142 страници и включва 34 таблици и 2 фигури. Бяха използвани общо 251 литературни източници, от които 204 на латиница.

Номерацията на разделите, таблиците и фигурите не съответства на посочената в дисертационния труд.

Изказвам искрени благодарности на проф. д-р Цветан Кикиндонов и проф. д-р Драгомир Пламенов за научното ръководство на докторантския труд.

Благодаря на колегите от Земеделски Институт – Шумен за оказаното съдействие и ценните препоръки. Изказвам благодарности и на техниците и лаборантите за оказаната ми помощ при извършване на експерименталната и лабораторна работа.

Не на последно място изказвам сърдечни благодарности на моето семейство за проявеното разбиране и моралната подкрепа.

Защитата ще се състои на от..... часа
.....

1. Увод

Стевията (*Stevia rebaudiana Bertoni*) е многогодишно кръстосано опрашващо се храстовидно растение от семейство Сложноцветни, произхождащо от високопланински тропични райони на Парагвай и Бразилия. Ценността и се дължи на интензивно сладкия вкус на листата, които съдържат сладки компоненти наричани с общото наименование стевиол гликозиди (стевиозиди). При дивите видове стевия, стевиозидите представляват между 3% и 9% от сухото вещество (изсушени листа), докато при култивираните видове са средно около 10-15%. Стевиол гликозидите, които представляват повече от 95% от общото количество сладки вещества са - стевиозид и ребаудиозид А.

Стевиозидите са много сладки, но не съдържат никакви калории и са безвредни за хората. Използването на стевията като естествен подсладител, конкуриращ се със захарта и изкуствените подсладители, увеличава интереса към отглеждането и консумацията на растението в световен мащаб.

В родината си стевията е многогодишно растение, размножаващо се със семена в условията на късия ден. В България стевията се отглежда като едногодишно растение със съхранение на коренищата и *in vivo* и *in vitro* размножаване.

Института по захарно цвекло, днес преструктуриран в отдел по Растениевъдство към Земеделски Институт – Шумен, е пионер във въвеждането на културата още от осемдесетте години на 20^{-ти} век и отглеждането на стевията в условията на България. След прекъсване за 20 години, от 2010 г. се води интензивна работа по репродукция, селекция, технология и популяризиране на стевията. През 2016 е признат първия и единствен български сорт Стела.

2. Цел, материал и методи

2.1. Цел на изследването

Целта на изследванията в докторската дисертация е проучване на влиянието на генотипа върху развитието и репродукцията на стевия в условията на България. За реализирането на поставената цел са изпълнени следните задачи:

1. Оптимизиране на методите за репродукция със семена в условията на България за обогатяване на генофонда.
2. Установяване на параметрите на ефективно вкореняване, адаптиране и развитие при външни условия.
3. Влияние на генотипа, начина на размножаване и условията върху морфологичните и стопански качества.

2.2. Материал и методи

Изследванията са проведени в лабораториите и опитното поле на Земеделски Институт – Шумен, Отдел Растениевъдство в с. Царев брод, през периода 2018 -2021 г. В дисертацията са включени и по-ранни проучвания за кълняемостта *in vitro* и *in vivo* от периода 2009 – 2010 г.

2.2.1. Материал

В изследването е използван селекционен материал от генофонда на Земеделски Институт - Шумен. Източниците са с произход от Япония – по-дребнолистни, но гъсто обрасли, и Америка – с по-големи и тлъсти листни петури. След многогодишна работа по индивидуален, фамилен и клонов отбор и адаптация към нашите условия, са формирани елитни клонове, както и произходи - продукт на соматклонално и гаметоклонално вариране в култура *in vitro* на меристеми, зародиши и семена.

Ежегодно се съхраняват и засаждат многогодишни коренища от 15 до 30 елитни клона, включително базовия компонент на сорт Стела, едногодишни коренища от отглежданите през преходната година клонове от разсад и нов разсад от *in vitro* микроразмножаване на поддържани клонове, резници от коренища и от семена.

Всяка година се оформят смесени популации от елитни растения, отбирани по морфологични и стопански качества, устойчивост на болести и с потенциал за репродуктивно развитие, с цел запазване на хетерогенност на генофонда и отбор на

изходен материал. От тези популации и от отделните елитни клонове се отбират растенията за получаване на семена, коренища за получаване на резници и се изолират *in vitro* меристеми. В **Таблица 1** са посочени елитните клонове с различен произход, поддържани чрез съхраняване на коренища, резници и *in vitro* микроразмножаване. След отбор на елитни растения от тях, се формират смесените популации от семенни и клонални потомства.

Таблица 1

Описание на използваните елитни клонове

№	Вариант	Произход
1	203/2	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
2	204/2	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
3	210/2	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
4	210/9	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
5	214/2	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
6	302/8	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
7	404/7	Американски, от семена, <i>in vitro</i> клониран
8	A8	Японски, <i>in vitro</i> клониране
9	A9	Японски, <i>in vitro</i> клониране
10	A10	Японски, <i>in vitro</i> клониране
11	25Я	Японски, <i>in vitro</i> клониране
12	3E	Елитно растение, <i>in vitro</i> клониран
13	4E	Елитно растение, <i>in vitro</i> клониран
14	7E	Елитно растение, <i>in vitro</i> клониран
15	8E	Елитно растение, <i>in vitro</i> клониран
16	9E	Елитно растение, <i>in vitro</i> клониран
17	10E	Елитно растение, <i>in vitro</i> клониран
18	№1	Елитно растение, клониран с резници
19	№3	Елитно растение, клониран с резници
20	№4	Елитно растение, клониран с резници
21	№ 5	Елитно растение, клониран с резници
22	10 ШЗ	<i>In vitro</i> регенерант от зародиш
23	30 ШЗ	<i>In vitro</i> регенерант от зародиш
24	62 ШЗ	<i>In vitro</i> регенерант от зародиш
25	75 ШЗ	<i>In vitro</i> регенерант от зародиш
26	97 ШЗ	<i>In vitro</i> регенерант от зародиш
27	27 СР	<i>In vitro</i> соматоклонал регенерант
28	28 СР	<i>In vitro</i> соматоклонал регенерант
29	162 СР	<i>In vitro</i> соматоклонал регенерант
30	СТЕЛА	Първият български сорт стевия

2.2.2. Методи

Експерименталната дейност се извършва в лабораторни, вегетационни и полски условия със съответните методи:

2.2.2.1. Лабораторни условия

В лабораторията по тъканни култури по разработени методики са изолирани меристеми, зародиши и семена след предварителна стерилизация с работни разтвори на живачен двухлорид, Tween-20, Цитросепт и меден сулфат, и промиване със стерилна дестилирана вода при стерилни условия в бокс.

След покълване експлантите се пасират последователно на хранителни среди за регенерация, микроразмножаване и вкореняване *in vitro*. Използват се хранителни среди на основата на Leroivge (1977), модифицирани от Славова (1988). Култивирането е в термостатно помещение при 16 часа фотопериод с поддържане на температура от 25 до 27 °C.

В лабораторията, чрез периодично пасиране на свежи среди, се поддържат до 20 елитни клона за опазване на генната идентичност и размножаване.

В лабораторията по семезнание са проведени изпитванията за лабораторна кълняемост и е измерена масата на семената и прорастъците. За определяне на лабораторната кълняемост почистените семена се залагат във филтърна хартия на хармоники в пластмасови торбички или на дискове в петрита, в 1-6 повторения с по 20-100 броя, за всеки произход и вариант.

За оценка на влиянието на генотипа на майчините растения са избрани 4, 7 и 14^{-ти} ден при култивиране в термостат с температура от 25 – 27 °C, за отчитане на лабораторната кълняемост.

2.2.2.2. Вегетационни условия

В адаптационни помещения с контролирана температура се провеждат изследванията по:

- кълняемост на семената;
- адаптиране на вкоренените *in vitro* регенеранти към външни условия;
- вкореняването на резници от коренища и млади растения;
- пикирането и отглеждането до годен за засаждане при полски условия разсад;

Почистените семена се засяват в почвен субстрат от торф, пясък и перлит в съотношение 4:1:1 в саксии, чрез равномерно разпределение на повърхността с

притискане без засипване. С полиетиленово покритие се осигурява влажна камера плътно за 4-6 дни и с постепенно откриване до 14^{-тия} ден.

При същите условия се засаждат почистените от хранителната среда вкоренени *in vitro* регенеранти и резници с 3-5 листни възли от върховете на пониците от коренища. За първите 20 дни до развитието на коренова система може да се засаждат по-гъсто, тъй като част от тях не развиват корени или загниват.

За увеличение коефициента на размножение се практикува и отрязване на върхове от вече развития разсад за вкореняване като резници. За по-гъсто поникналите от семена растения и заложи за вкореняване резници се извършва пикиране.

За получаване на годен разсад са необходими от 45 до 60 дни на култивиране, като при семенните потомства този период се удължава до 75 дни.

След това се изнасят на открито за 14-20 дни за адаптиране към външни условия преди засаждане при полски условия.

2.2.2.3. Полски условия

Почвата на опитното поле е песъчливо-глинест карбонатен чернозем, формиран върху лъсови песъчливи глини. Горният хоризонт съдържа 50% глина и над 5% карбонати. Реакцията на почвения разтвор е слабо алкална. Пределната полска влагоемкост е 25%, а влажността на завяхване - 13%. Сеитбооборота е четириполно от сорго – цвекло – овес – стевия.

Проучванията са проведени в сравнителни опити за оценка по морфологични и стопански качества на коренища и разсад от елитни клонове, и в селекционни питомници за размножение и оценка на генофонда от клонове и популации.

Засаждането се извърши ръчно в началото на май при надвишаване на почвената температура от 10-12 °C на 50 cm междуредово разстояние и 30 cm вътрередово разстояние. В крайните редове е осигурена охрана, а между повторенията, пътеки от 1 m. По този начин в 1 декар са осигурени 6666 растения.

Съгласно агротехническата справка е извършена есенна дълбока оран на 35 cm. Две култивирания на почвата, като между двете култивирания е извършено торене с 20 kg амониев нитрат. Борбата с плевелите е водена чрез окопавания с плевене на растенията. През вегетацията се осигури капково напояване на растенията за да може да се поддържа влажност на почвата между 70% и 80% от ППВ.

Прибирането на растенията е ръчно, чрез отрязване на стъблата с лозарска ножица. Всяко растение се прибира отделно и след това в лабораторията се изследва индивидуално.

През вегетацията, в периода от разсаждането на полето до прибирането се извършват биометрични измервания и анализи на:

- брой основни стъбла;
- височина на основните стъбла в cm;
- тегло на надземната част на едно растение в g;
- тегло на подземната част на едно растение в g;
- тегло на зелената листна маса от 1 растение в g;
- тегло на сухата листна маса от 1 растение в g;
- рандеман като съотношение на суха лисна маса към обща свежа маса в %;
- отчитане на нападението от болести като дял на растения със симптоми на листни болести в %;
- съдържание на сладки вещества в g/100 g;

За определяне на съдържанието на сладки вещества пробите се изпратиха за изследване в лаборатория по БАВ гр. Пловдив към лабораторията по органична химия на БАН.

След оформянето на храста и оценка на хабитуса и устойчивост на листни болести от елитните клонове и смесените популации се отбират най-добрите растения за получаване на семена. Те не се косят за листна маса.

В началото семена се прибираха през вегетацията, неколkokратно ръчно на единични узрели семена с оформени парашутчета от развитите репродуктивни растения. Този начин е подходящ за по-малък обем на семепроизводство и получените семена са с по-висока кълняемост.

За получаване на повече семена от повече произходи се прибират цели растения в края на вегетацията, по възможност най - късно, с репродуктивно развитие на осеменени храсти на различен етап на узряване. След престояване от 1-2 месеца за доузряване и изсушаване в климатизирано помещение се извършва първоначално грубо овършаване и по-детайлно почистване ръчно.

Коренищата на отбраните след оценка и здрави растения се прибират за съхранение в избени помещения при температура над 1 °C във влажни дървени стърготини.

На следващата година преди засаждане съхранените коренища се почистват и се отчитат загнилите и загиналите, а здравите се използват за производство на стъблени

резници и се засаждат за изпитване на продуктивността през втората година като коренища първа година.

Математическата обработка на данните от лабораторните проучвания и биометричните анализи се обработват със стандартни методи за вариационен анализ.

3. Резултати и обсъждане

3.1. Агрометеорологични условия

Отразени са метеорологичните условия за сумите на валежите, температурата на въздуха през 4^{-те} години на изпитване – 2018 - 2021 г.

През 2018 година продължава тенденцията за студена и влажна пролет до края на април, последвана от силно засушаване до края на май. Падналите валежи през юни и юли, както и продължителната есен със сравнително високи температури до края на ноември позволи масово осеменяване на оставените за цъфтеж храсти и получаване на семена с добри качества за анализ.

Агрометеорологичните условия през 2019 година показват, че в началото на вегетацията те се характеризират като благоприятни, с добро овлажняване на почвата и достатъчно висока температура за нормално засаждане и оформяне на гарнирани посеви на опитите и питомниците. Падналите валежи през юли дадоха възможност за интензивно развитие. От средата на август до края на октомври последва екстремно засушаване, което от една страна намали натрупването на биомаса, но създаде благоприятни условия за производство на качествени семена и за извеждането на агротехническите мероприятия по прибирането на опитите и съхранение на размножените материали коренища.

Агрометеорологичните условия през 2020 годината се характеризират като извънредно неблагоприятни, с рекордни стойности на воден дефицит. Зимните валежи са наполовина на нормата. Падналите валежи в рамките на нормата през юни не успяха да компенсират натрупания воден дефицит. Последвалото продължително екстремно засушаване през юли и август необратимо се отрази на развитието, а пресъхването на водоизточника на базата и липсата на поливане намали продуктивността при стевията. И през тази година условията на продължителна топла есен без слани до края на ноември благоприятстваха репродуктивното развитие на зрели семена.

Обилните валежи през зимните и пролетните месеци през 2021 година възстановиха екстремалния воден дефицит, натрупан през преходния период. Продължителните валежи през май и юни възпрепятстваха необходимите мероприятия

по окопаване, в резултат на което се оформиха негарнирани и заплевени посеви. Условието през следващия период, въпреки слабите валежи през юли и август, благоприятстваха развитието на вегетативна маса, но по-късното залагане на разсада и по-ниските температури през цялата вегетация забавиха силно репродуктивното развитие и не бяха реколтирани семена.

Данните подчертават значителната вариация на метеорологичните условия през различните години, което оказва пряко влияние върху растежа на стевията. Тези вариации на средата спомагат за оценка на влиянието на условията за получаване на семена.

3.2. Оптимизиране на методите за репродукция със семена в условията на България за обогатяване на генофонда

През периода 2009 – 2010 г. са проведени начални проучвания за възможностите за репродукция със семена в условията на *in vitro* и *in vivo* отглеждане.

Целта беше да се разработи ефективна методика за обогатяване генофонда от стевията чрез покълване на семена в тъканна култура. Подобен метод не се влияе от сезонните дадености, като в същото време позволява бързо клониране на получените прорастъци до необходимия за първоначално проучване брой растения.

Експерименталната работа е проведена за периода 2009-2010 г. в лабораторията по тъканни култури на Земеделския Институт в Шумен. Използвани са семена от стевията, произведени през 2009 г. от 6 свободно опрашващи се изходни растения, от два генотипа, отглеждани в полето на института. За предизвикване на *in vitro* покълване на семената са използвани две хранителни среди (L1 и L2), представляващи модификация на хранителна среда за вкореняване на захарно цвекло (Славова, 1988), чиято основа е хранителна среда Leroivre (Quorin et al., 1977). Количеството на ауксина АНОК (α -нафтил оцетна киселина) в двете използвани среди е намалено на 0.2 mg/l, допълнително е добавян AgNO_3 - 1 mg/l, а към L2 е включен още 0.2 ml/l Цитросепт. Средата е разливана в епруветки - 90/20 mm преди автоклавирането и при 121 °C.

Стерилизацията на семената, заложили в двете контроли е извършвана с потапяне в разтвор от 0.04% HgCl_2 и 0.1% Tween-20 за 90 минути с последващо трикратно промиване със стерилна дестилирана вода (15 минути всяко). При останалите варианти стерилизацията е засилена с допълнителни обработки с Цитросепт и CuSO_4 , целящи намаляване на гъбната инфекция по семената, а те се изразяват в следното - семената са

промита след основната стерилизация със стерилна вода с участие на 0.5 ml/l Цитросепт в нея и предварително са обработени с 1% CuSO₄ (третиране за 10 минути). В епруветка са залагани по 4 или 5 семена, свободно разположени по повърхността на хранителната среда.

Получените прорастъци от семена бяха включени в следващите фази на *in vitro* култивиране с оглед получаването на клонирани растения, необходими за по-нататъшно отглеждане и оценяване на получените нови произходи.

Условия на култивиране са 16 часов фотопериод и температура от 25 ± 1°C.

Таблица 2

Поникване на семена от стевия в условия *in vitro*, 2009-2010 г.

Варианти	Хранителна среда/ брой семена	10 дни, %	16 дни, %	29 дни, %	42 дни, %	70 дни, %
Контрола генотип I	L1/100	24.0	25.0	28.0	33.0	37.0
Контрола генотип II	L1/100	29.0	32.0	34.0	39.0	40.0
Генотип I	L1/105	17.8	54.5	64.4	65.3	65.3
Генотип I	L2/104	36.5	43.3	50.0	51.0	51.0
Генотип II	L1/97	30.9	47.4	59.8	60.8	61.9
Генотип II	L2/94	25.0	37.5	47.9	50.0	50.0
+/- m		4.9	5.1	5.0	5.0	4.9
P%		6.4	7.0	6.5	6.6	6.5

От данните, представени в **Таблица 2** могат да се проследят получените резултати. Незадоволителните резултати от покълването на семената от контролните залагания определено се дължат на неефективната стерилизация на семената. В първото залагане (контрола I) покълването е добро, но гъбната инфекция не беше потисната. Появата и беше масова - около 1/3 от епруветките със семена бяха обхванати още след 10^{-я} ден от култивирането, а към 12-13^{-я} ден семената бяха покрити с гъби и не беше възможно отчитане. Близки са резултатите от повторното залагане след същата стерилизация на семената (контрола II) – 40.0 ± 3.4%. Оптимизирана беше стерилизацията на семената от стевия с допълнителни обработки с Цитросепт и CuSO₄, така покълването на семената от различните генотипове на двете хранителни среди беше доказано увеличена. Гъбната инфекция беше сведена до минимум, като най-добър резултат (65.3 ± 4.9%) за покълване на семената е получен при генотип I на среда L1, следван от този генотип II на среда L1

(61.9 ± 4.9%). В останалите варианти прорастъците от семена имаха добре оформени котиледони, хипокотил (вариращ по дължина за отделните растения) и зародишни коренчета (1-2 mm), които видимо бяха потиснати от въздействието на 0.5 ml/l Цитросепт в L2 хранителната среда.

Начало на покълване на семената за всички повторения е отбелязано още на 4-5^{ти} ден от залагането, до 29-30^{ти} ден - то нараства интензивно, а след това до 70^{ти} ден има само единични, късно прораснали семена. Характерно за прорастъците е, че след първоначалното си развитие (котиледони, хипокотил и корен) те остават в тази фаза до следващото си субкултивиране, когато след отстраняване на коренчето възобновяват развитието си и се оформят като нормални растения. Същите с лекота преминават следващите задължителни етапи на *in vitro* микроразмножаване и *in vivo* адаптиране, предхождани полското отглеждане, за което са нужни най-малко 2 месеца - един за адаптиране при същите условия и един при оранжерийни условия.

След успешно *in vitro* култивиране на наши и чужди семена от стевия си поставихме за цел да установим подходящи условия за *in vivo* покълване на получени от нас семена. Имайки предвид разнообразието от генотипове, които се получават чрез семенното размножаване, се очаква и получаването на произходи с по-добри стопански качества, които след оценяването могат да се размножават вегетативно по установени вече методики както *in vivo*, така и *in vitro*.

Изследването е осъществено през 2009-2010 г. от колектива на лабораторията по тъканни култури към Земеделски институт - Шумен. Семената са събирани неколkokратно, ръчно от 6 различни, естествено опрашени растения от 3 генотипа, поддържани в колекцията от стевия в продължение на две десетилетия. Събирането на семена от 6 различни растения от три генотипа започна на 23 юли (около 80-ти ден след засаждането на полето) и завърши в края на октомври. Семената зрееха поетапно, а неприбраните окапваха. След приключване на събирането, семената бяха изсушени. След това семената от различните растения от всеки генотип бяха смесени и добре объркани. Допълнително след отстраняване на празните семена бяха премахнати и парашутчетата.

Използваният почвен субстрат за покълване на семената и развитие на пикираните млади растения представляваше смес от торф, пясък и перлит в съотношение 4:1:1, съответно разпределен в 3 саксийки с размери 105 mm диаметър и 85 mm височина. Смесените семена от всеки от генотиповете бяха разпределени в различни саксийки. Семената бяха разпределени по повърхността на предварително навлажнени почвен

субстрат с леко притискане без допълнително закриване. Веднага беше създадена влажна камера с полиетиленово покритие, което остана плътно до 4^{-я} ден, след което до 12^{-я} постепенно беше премахнато. Поливането ставаше само при нужда, винаги отдолу, без допускане на преовлажняване, което може да причини загиване и отмиране на прорастъците.

Първият месец след поникването растенията са отглеждани в термостатно помещение с режим на осветление от 16 часа и температура между 18 и 20 °C. След този период са пренесени за още 3 седмици в оранжерийни условия, след което последва едноседмично отглеждане на открито преди окончателното им засаждане при полски условия.

Масово развитие беше наблюдавано още на 4^{-я} ден след сеитбата. При първото изброяване на поникналите семена (6^{-ти} ден), 77% от заложените семена бяха в котиледонна фаза, като по генотипове поникването е следното: 82.4% за първият, 75.8% за вторият и 72.7% за третият. До 15^{-я} ден е регистрирано загиване на две растения. За този период част от растенията имаха вече първи чифт същински листа - 37% от всички запазени растения. До 19^{-я} ден повечето растения бяха с листа, но отново имаше пропаднали. На 19^{-я} ден е извършено и пикирането на по-едрите растения - 56 броя (78.9% от оцелелите), а останалите бяха пикирани след седмица като доотглеждането на всички растения продължи при оранжерийни условия. За този период стана ясен и окончателният резултат - 71 процента, или $71.0 \pm 4,6\%$ от заложените семена успешно са се развили в нормални растения. Отпадналите бяха по-дребни, със забавен растеж и развитие, което в крайна сметка беше причина и за тяхното отмиране.

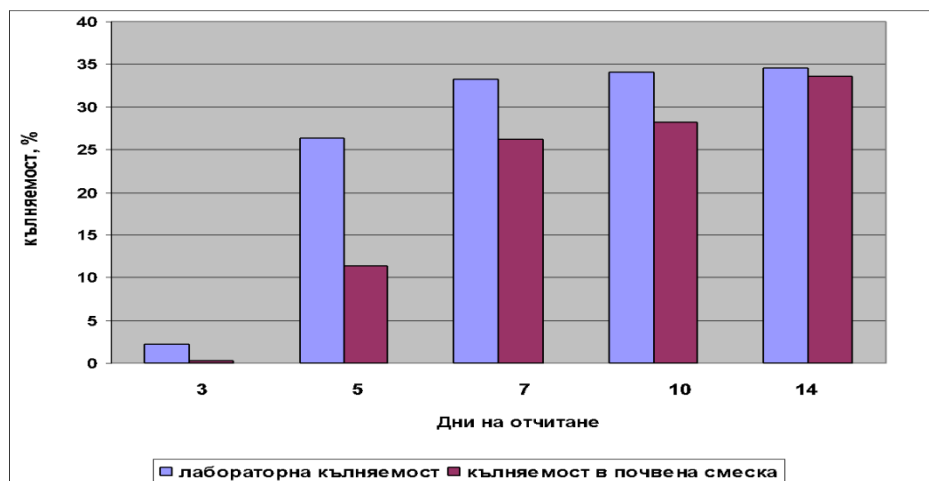
След прекъсване през 2018г. продължиха изследванията по темата на дисертацията с разширяване на обема на проучвания генофонд. От над 212^{-те} засадени през 2018 г. произходи от 85 са прибрани семена. За предварително установяване на оптималните дати на отчитане на покълване през 2018 г. е заложена смесена проба в 6 повторения и се отчитат прорасналите кълнове на 3, 5, 7, 10 и 14^{-ти} ден.

От данните във **Фигура 1** може да се проследи динамиката на поникването на семената при лабораторни и контролирани външни условия. Още на петия ден се проявява кълняемата енергия на семената в оптималните лабораторни условия, като между седмия и десетия ден се достигат крайните параметри за кълняемост на семената. По-късно поникналите кълнове са с ниска жизненост и обикновено не развиват нормални растения. В почвена смеска се отбелязва слабо забавяне на процесите на поникване.

Оптимални за отчитане на кълняемостта и енергията на начално развитие са 7 и 14^{-тия} ден на отчитане.

Фигура 1

Динамика на поникване на семена



В Таблицы 3 и 4 са посочени резултатите на общо 48 произходи, от които е имало достатъчно семена за залагане по четири повторения при лабораторни и контролирани външни условия /280 броя общо/. Това е свидетелство, че при повечето от генотиповете с реколтирани семена протича нормално завързване и узряване на семената и че от над 22% от изпитаните произходи се получава жизнено семенно потомство.

Резултатите са интерпретирани отделно за семенните потомства и за регенерантите с цел да се установи евентуален отбор при семенно размножаване. За семенните потомства при лабораторни условия кълняемата енергия на четвъртия ден достига до 25.8%. Варирането е сравнително високо с CV от 35.6%. На седмия ден средната кълняемост се увеличава до 40.9% с идентично високо вариране от 16.6% до 66.6% и CV - 31.7%.

В почвена смеска средната стойност за седмия ден незначително отстъпва на тези при лабораторни условия, като варирането между произходите значително е по-високо - от 6.0% до 70.3% и коефициент на вариация от 41.4%. С увеличаване тежестта на факторите на средата при външни условия се проявяват по-силно генотипните различия. Кълняемостта на 14^{-тия} ден се увеличава до 47.5% средно, като при отделни генотипове достига до над 75%.

Таблица 3

Кълняемост на семената от растения на семенни потомства при стевия (*Stevia rebaudiana*), 2018 г.

№	Вариант	Кълняемост (%):			
		Лабораторни условия		Външни контролирани условия	
		4-ти ден	7-ми ден	7-ми ден	14-ти ден
1	IV-30	22.0	33.1	20.0	34.0
2	IV-39	28.0	50.0	28.0	44.1
3	IV-43	32.4	48.0	70.3	78.7
4	IV-46	23.7	43.0	34.2	40.0
5	IV-50	28.0	62.1	40.4	50.1
6	IV-64	26.1	45.0	32.0	36.3
7	IV-65	28.2	66.6	68.0	78.3
8	IV-66	6.6	16.6	6.0	6.0
9	V-79	13.0	22.0	28.3	50.0
10	V-91	18.5	40.3	40.0	50.6
11	V-102	33.3	50.0	46.6	72.0
12	V-116	20.2	52.0	62.0	82.0
13	V-124	23.3	45.5	36.0	44.0
14	IV-66	15.5	21.2	10.7	24.0
15	V-96	15.0	31.6	24.0	26.6
16	IV-67	26.6	45.0	30.0	44.0
17	IV-16	45.7	48.3	38.1	46.9
18	IV-32	46.2	50.0	50.0	52.1
19	IV-54	21.6	38.3	32.0	42.0
20	V-84	30.0	41.6	36.3	46.7
21	VI-20	33.7	38.3	34.0	42.3
22	IV-44	20.0	20.0	28.8	54.0
23	IV-83	26.7	40.1	38.0	44.0
24	IV-33	33.3	33.3	40.0	46.7
	\bar{x}	25.8	40.9	36.8	47.5
	Sx	1.9	1.7	3.1	3.6
	CV%	35.6	31.7	41.4	36.8
	P%	4.7	3.6	6.9	3.8

Резултатите за семената от регенеранти (Таблица 4) сочат понижаване на средните стойности на кълняемостта от 40.9% на 36.2% при лабораторни и от 47.5% на 31.1% при външни условия. По-голямо вариране се отчита в кълняемата енергия в лабораторни условия.

Таблица 4

Кълняемост на семената от растения регенеранти при стевия (*Stevia rebaudiana*), 2018 г.

№	Вариант	Кълняемост (%):			
		Лабораторни условия		Външни контролирани условия	
		4-ти ден	7-ми ден	7-ми ден	14-ти ден
1	VI-17	33.0	48.0	32.3	38.0
2	V-137	13.3	33.3	24.0	34.6
3	V-150	25.0	36.0	17.6	23.0
4	VI-18	32.3	35.0	28.0	34.0
5	V-143	25.0	33.3	14.6	16.0
6	III-168	35.3	38.6	30.0	46.0
7	III-165	36.0	46.6	30.6	36.6
8	III-180	21.6	30.0	12.0	20.0
9	III-192	3.3	21.6	14.7	32.0
10	III-162	46.7	50.0	34.1	42.7
11	V-153	13.3	31.7	20.0	34.3
12	III-166	20.7	66.0	14.7	14.0
13	III-163	13.3	40.0	22.3	32.0
14	V-147	13.0	33.0	24.7	27.7
15	III-167	8.3	36.6	32.0	52.3
16	III-170	13.0	13.0	4.0	8.7
17	V-158	20.7	20.7	17.8	23.4
18	III-191	13.0	13.0	30.3	38.0
19	III-161	13.3	53.0	30.7	34.0
20	III-175	13.3	20.0	14.7	32.3
21	III-185	40.0	40.0	24.3	24.3
22	III-195	26.7	60.0	42.3	54.0
23	V-173	32.0	35.3	28.0	34.7
24	VI-20	25.1	33.0	12.7	16.0
	\bar{x}	22.5	36.2	23.2	31.1
	S_x	2.3	7.4	4.7	2.4
	$CV\%$	49.4	36.8	38.2	37.0
	$P\%$	4.0	7.0	5.8	3.8

Положителната корелация между лабораторната кълняемост и на поникналите растения в почвена смеска е $r = 0.678$, което прави лабораторната кълняемост достоверен параметър за оценка на жизнеността на семенните потомства за стевията при реални условия.

Таблица 5 показва резултата от кълняемостта на семена от различни произходи стевия при лабораторни и вегетационни условия и след съхранение, в продължение на една година. Кълняемостта на семената засадени след една година е значително по-малка, както от лабораторно установената кълняемост, така и от полската. Средната

лабораторна кълняемост на семената на ден седми е 33.0% с коефициент на вариация от 47.0%. Както може да се очаква има малко отклонение на тези показатели в отрицателна посока, за семена засети при контролирани полски условия – средната кълняемост тук е 28.7%, което е близко до лабораторната.

Таблица 5

Кълняемост на семена от стевия при лабораторни и вегетационни условия и след съхранение, 2018 - 2019 г.

№	Вариант	Лабораторни условия 2018, %		Външни контролируеми условия 2018, %		Лабораторни след 1 година съхранение 2019, %	
		Четвърти ден	Седми ден	Седми ден	Четиринадесети ден	Четвърти ден	Седми ден
1	IV-30	6.7	26.7	22	24	12	12
2	IV-39	15	15	31	30	10	20.7
3	IV-43	13.3	33.3	36	52	12.7	20.1
4	IV-46	13.3	26.6	36	36	10	20.2
5	IV-50	6.7	6.7	32	34	10	24
6	IV-64	53.3	53.3	22	20	0	0
7	III-165	6.7	33.7	32	32	0	12.7
8	III-180	20	20	20	20	21	30
9	III-192	53.3	60	12	12	0	0
10	III-162	33.7	33.7	20	14	21.7	21
11	V-153	46.7	46.7	29	22	40.6	42
12	III-166	26.7	40	52	40	0	0
	\bar{x}	24.6	33.0	28.7	28.0	11.5	16.9
	Sx	5.2	4.5	3.0	3.3	3.5	3.7
	CV%	73.0	47.0	36.4	41.3	104.2	75.8
	P%	21.1	13.6	10.5	11.9	30.1	21.9

На четиринадесетият ден кълняемостта при полски условия остава почти същата, като тази на седми ден, като само леко намалява – средната кълняемост е 28%. Впечатление прави, че процента на кълняемост на семената, засети след една година е почти наполовина на веднага засадените, като средния процент на кълняемост тук е 16.9%. Тук можем да забележим и ролята на наследствеността измежду произходите. Няма значителна зависимост между кълняемостта преди и след съхранение на семената, вземайки под внимание всички генотипове, и коефициента на вариация тук е много голям – 104.2% на четвърти ден и 75.8% на седми ден. Но разглеждайки ги поотделно прави голямо впечатление, че 25% от тях нямат никаква кълняемост след съхранение от

една година, а други 25 процента имат по-голяма кълняемост на седми ден след съхранение в сравнение с кълняемостта им преди съхранение. В останалите 50% от изследваните групи семена, процента след съхранение е по-малък от процентното съотношение на покълналите семена преди съхранение.

На **Таблица 6** можем да видим оценка на качеството на семената на елитни произходи през 2019 г. Семената са събрани и изброени без да се разделят по цвят и плътност, като по този начин се проучва масово събиране на семена и оценка на общото количество събрани семена. Измерена е масата на 1000 семена и се установи диапазон на теглото между 320 mg и 510 mg. Средното тегло измежду изследваните произходи е 403.6 mg за 1000 броя семена. Изследвана е лабораторната кълняемост и кълняемост в почвена смеска, състояща се от смес на торф, пясък и перлит в съотношение 4:1:1.

Таблица 6

Оценка за качества на семената от елити стевия, 2019 г.

№	произход	Маса на 1000 семена, mg	Лабораторна кълняемост, %	Кълняемост в почвена смеска, %	Маса на растение на 30 ^{-ти} ден, mg
1	19 - 20	350	13.3	32.0	48
2	19 - 9	354	0	20.0	44
3	19 - 6	320	13.3	38.0	48
4	19 - 11	350	20.0	34.0	52
5	19 - 14	360	0	32.0	48
6	19 - 15	450	15.3	30.0	58
7	19 - 10	430	26.7	34.0	64
8	19 - 18	490	13.3	40.0	43
9	19 - 16	400	40.0	43.0	34
10	19 - 19	510	40.0	50.0	25
11	19 - 12	390	40.0	40.0	35
12	19 - 5	350	53.3	43.0	41
13	19 - 7	430	15.3	21.0	35
14	19 -13	440	8.0	27.0	34
15	19 - 2	430	40.0	42.0	55
	\bar{x}	403.6	22.6	35.1	44.3
	CV%	14.0	72.8	24.0	23.9
	P%	3.6	18.8	6.2	6.2

Наличните значителни разлики между лабораторната и почвената кълняемост и факта, че лабораторната кълняемост при повечето произходи е по-ниска, може да се дължи на факта, че при лабораторни условия се отчита силно развитие на плесени и мухъл от семенната микрофлора, които потискат поникването. Средната кълняемост в

почвена смеска е 35.1%. Като при различните генотипове тя варира между 20% и 50%. Няма явна връзка между кълняемостта и масата на растенията на 30^{-ти} ден след засаждането. Но се наблюдава положителна зависимост между масата на семената и процента кълняемост на различните генотипове. Това е обяснимо, защото семената, които не са зрели и жизнени, са обикновено празни и леки.

Неедновременното узряване на семената силно затруднява получаването на семена с висока кълняемост. Резултатите от лабораторната кълняемост на 7^{-ми} ден от семена на 8 растения, получени чрез прибиране поединично от интактни растения на полето и вършитба от окосени и изсъхнали растения показват голяма разлика в полза на събраните поединично зрели семена. Прибирането на узрели семена поединично на полето е силно ограничено като обем, и е подходящо предимно за експериментална дейност. За практически цели се налага използването на втория вариант.

В изследването ни през 2020 година използвахме двата начина за събиране на семена. Първият начин беше чрез индивидуално събиране на семена от растения на полето. Вторият начин беше като целите растения се прибират от полето на края на сезона и се изсушават целите растения. След това семената се събират чрез вършене без да се разделят празните от пълните семена. Семената събрани по тези два начина бяха оценени за кълняемост при лабораторни условия. Разликите в кълняемостта е значителна в полза на събраните поединично семена със среден процент на кълняемост от 55.7%. Събраните семена чрез вършитба на изсушени цели растения има средна кълняемост от 21.9%, с по-нисък коефициент на вариация – 22.6%. Предимствата на втория метод е получаването на повече семена с по-малко ресурси. Това позволява по-масовата употреба на семената за размножаване в практиката.

3.3. Установяване на параметрите за ефективно вкореняване, адаптиране и развитие при външни условия

Адаптиране на поникналите растения от семена към външни условия

С цел увеличаване на обема на получаване на разсад от стевия, получените семена от 2021 г. са засети в серии през 15-20 дни в саксийки с почвена смеска по 100 грама от произход. На 14^{-ти} ден се отчитат поникналите семена. След този период част от поникналите растения не преживяват и 45-50 дни след поникването преживелите

растения се отчитат и се пикират за получаване на адаптиран разсад за засаждане на полето (Таблица 7).

От предишни изследвания са установени нивата на масата на 1000 семена от 400 mg или с 100 g се засяват приблизително 250 семена. Това значително улеснява технологията за ускорено размножаване.

Кълняемостта в почвена смеска и преживяемостта на семена от реколта 2021 г. е сравнително висока, с висока степен на вариация както в зависимост от генотипа, така и от типа на донорните растения. Най-жизнени са семената от едногодишен разсад. Генотипът е определящ фактор за репродукцията със семена в рамките на една реколта. За България конкретните агроклиматичните условия за годината са лимитиращия фактор.

Таблица 7

Кълняемост и преживяемост при репродукция от семена стевия в зависимост от възрастта на донорните растения, 2021 г.

Варианти	Едногодишен разсад		Двугодишни коренища		Многогодишни коренища	
	Поникнали растения (от 100 g семена)	Преживели растения след 45-50 дни	Поникнали растения (от 100 g семена)	Преживели растения след 45-50 дни	Поникнали растения (от 100 g семена)	Преживели растения след 45-50 дни
	бр.	%	бр.	%	бр.	%
1	9	11.1	10	90.0	34	94.1
2	127	78.0	9	66.7	95	84.2
3	6	16.7	4	25.0	5	40.0
4	123	69.9	85	63.5	6	33.3
5	92	91.3	89	78.7	11	9.1
6	80	80.0	66	81.8	6	33.3
7	110	72.7	123	79.7	74	67.6
8	61	90.2	65	86.2	77	80.5
9	95	86.3	91	87.9	93	36.6
10	124	95.2	5	20.0	34	38.2
\bar{x}		69.1		67.9		51.7
CV%		43.8		37.5		53.9
Sx±x		9.6		8.1		8.8
P%		13.8		11.8		17.0

Изследвана е възможността за получаване на пълноценен разсад от семена като се компенсира по-бавното първоначално развитие. За целта непикиран разсад от семена се засади по-късно на 15.06, гъсто - средно по 50 растения на квадратен метър. Прибрана е

реколтата и е изчислен добивът на листна маса. В края на вегетацията от 35 m² са получени 1800 коренища с тегло 10-15 g, годни след съхранение за засаждане през следващата година. Прибраната суха листна маса от тази площ е 9.17 kg което се равнява на 2700 kg на хектар и значителни допълнителни приходи.

Вкореняване на резници от коренища

За нуждите на установяване на параметрите за ефективно вкореняване на резници, получени от съхранени коренища, бяха избрани 7 произхода, като растенията от всеки от произходите бяха разделени наполовина и бяха заложени на две различни дати – едните на 25.03, а другите на 25.05. Целта беше да се установи дали има значение датите на залагане с процента на вкореняване на растенията. Общия процент на вкоренени растения през месец март е значително по-голям от тези заложени през месец май – процента на вкоренени растения през март е 79.76%, докато процента през май е 67.38%. Единствено отклонение от средните стойности се наблюдава при два от произходите А10 и Е7, което най-вероятно се дължи на генетични фактори.

През 2020 година този експеримент беше разширен и общо 15 произхода бяха използвани за да се проследи ефективно вкореняване на резници, като резниците бяха заложени на три групи през различни месеци – януари, февруари и март, предхождащи датите от предишното изследване. Освен заложените 7 произхода в първият експеримент бяха добавени и още 8 произхода. От **Таблица 8** може ясно да се види, че общия процент на вкоренени растения през месец януари е по-голям от тези заложени през месец февруари, който е по-голям от тези, заложени през месец март – процента на вкоренени растения през януари е 98.54%, като през следващият месец намалява до 81.96% и до 72.95% през месец март. Отново отклонение беше наблюдавано при някои от произходите – 7Е, 9Е и А10, където през месец февруари имаше по-малко или същият процент вкоренени растения в сравнение с месец март. Това потвърждава твърдението, че наследствените фактори имат значение за вкореняването на растенията. Впечатление прави и това, че процента на вкоренените растения през месец март през 2018 и 2020 година е приблизително еднакъв за произходите, използвани и в двата експеримента. От направените наблюдения може да се заключи, че за най-успешно вкореняване на растенията, резниците трябва да бъдат заложени максимално рано през годината.

Таблица 8

Резултати от вкореняване *in vivo* на резници от коренища в зависимост от датите на вкореняване, 2020 г.

Произход	26-30.01		28-30.02		26-30.03		общ брой, count	общо вкоренени, %
	Заложени, count	Вкоренени, %	Заложени, count	Вкоренени, %	Заложени, count	Вкоренени, %		
3	30	100.0	45	97.8	20	85.0	95	95.8
4	28	100.0	35	60.0	25	48.0	88	69.3
5	18	100.0	30	80.0	15	60.0	63	81.0
1-1	25	92.0	30	86.7	15	66.7	70	84.3
10 ШЗ	31	100.0	40	85.0	25	80.0	96	88.5
75 ШЗ	20	95.0	15	93.3	20	80.0	55	89.1
203/2	15	100.0	15	86.7	15	73.3	45	86.7
210/9	36	97.2	45	91.1	22	77.3	103	90.3
214/2	43	97.7	15	93.3	15	86.7	73	94.5
7 E	11	100.0	15	73.3	15	80.0	41	82.9
9 E	17	100.0	15	60.0	15	73.3	47	78.7
A 10	40	100.0	45	62.2	25	60.0	110	75.5
CP 27	26	96.2	30	76.7	15	60.0	71	80.3
CP 28	15	100.0	30	90.0	20	80.0	65	89.2
CP 162	13	100.0	30	93.3	25	84.0	68	91.2
\bar{x}	24.5	98.5	29.0	82.0	19.1	73.0	72.7	85.2
Sx	2.6	0.6	3.0	3.3	1.1	3.0	5.6	1.9
CV	41.0	2.5	40.3	15.6	22.9	15.7	29.7	8.6
P %	10.6	0.6	10.4	4.0	5.9	4.1	7.7	2.2

Вкореняване на *in vitro* регенеранти

Извършена е оценка на вкореняването на регенеранти, получени от *in vitro* култури през периода 2018-2020 г. (Таблица 9). Бяха използвани 15 произхода, като за всеки произход е измерен процента на вкоренени растения. Резултатите са представени по години както и сумарно за трите години. Средно за всеки от произходите са използвани по 324 регенеранта, като за индивидуалните генотипове общия брой варира между 270 и 413 индивида. Средния процент на вкореняване общо за трите години е 87.2%. Интерес представлява факта, че за някои от генотиповете (40% от генотиповете) вкореняването е 100%. Като 60 % от произходите постигат вкореняване, сумарно и за трите години, повече от 90%.

Таблица 9

Резултати от вкореняване на регенеранти *in vitro*, 2018-2020 г.

произход	2018		2019		2020		Общо за периода 2018-2020	
	общ брой, count	с корен, %	общ брой, count	с корен, %	общ брой, count	с корен, %	общ брой, count	с корен, %
3	120	100.0	90	100.0	100	86.0	310	95.5
4	74	94.6	155	54.8	100	90.0	329	74.5
5	105	36.2	57	96.5	120	95.0	282	73.4
1-1	100	37.0	120	90.0	100	88.0	320	72.8
10 ШЗ	100	100.0	100	85.0	75	93.3	275	92.7
75 ШЗ	120	89.2	70	100.0	185	100.0	375	96.5
203/2	105	100.0	90	85.6	100	90.0	295	92.2
210/9	100	67.0	100	91.0	100	85.0	300	81.0
214/2	30	86.7	145	97.9	95	87.4	270	93.0
7 E	143	93.0	120	90.8	80	95.0	343	92.7
9 E	174	89.1	120	85.8	100	89.0	394	88.1
A 10	150	59.3	150	90.0	95	92.6	395	79.0
CP 27	120	70.8	70	100.0	105	100.0	295	88.1
CP 28	60	100.0	100	96.0	112	98.2	272	97.8
CP 162	75	74.7	175	92.6	163	96.3	413	90.8
\bar{x}		79.8		90.4		92.3	324.5	87.2
S_x		5.6		2.9		1.3	12.6	2.3
$CV\%$		27.3		12.4		5.4	15.0	10.0
$P\%$		7.1		3.2		1.4	3.9	2.6

Оценка на адаптиран разсад от регенеранти *in vitro* и от резници от коренища.

Таблица 10 показва оценката на адаптиран разсад от регенеранти *in vitro* и от резници от коренища. Прави впечатление, че от данните за параметрите за оценка на двете групи растения, растенията получени от регенеранти *in vitro* са с по-високи показатели спрямо тези, получени от резници. Сравнени бяха параметри като височина на стъблата, брой листа, дължина на корен, както и теглото на сухото вещество (корен, листа, стъбло). Наблюдаваната разлика по отношение на височина, броя листа и корен е значителна и е в полза на растенията получени от регенеранти *in vitro*. Общото сухо вещество на растенията получени от резници е също по-малко от това на растенията получени от регенеранти *in vitro*. При направен анализ на различните части на растенията, се установява, че теглото на изсушените корен и на стъбло при *in vitro* регенеранти е по-голямо в сравнение със същото тегло на растения, получени от резници. Обратно, сухото тегло на листата при растенията получени от резници, е по-голямо от това на листата на регенерантите *in vitro*. Това важи не само за средната стойност на

теглото на листата, но и за всяко от растенията сравнени поотделно. Имайки предвид, че средния брой листа на растенията, получени от резници е по-малък, а сухото тегло на листата е по-голям, може да се направи извод, че растенията получени от резници може да имат по-голям икономически ефект, спрямо растенията получени *in vitro*, тъй като основното количество на стевиозидите се намира в листата. Трябва да се вземе предвид обаче и това, че растенията получени от резници могат да пренасят заболявания и да страдат по-често от тях, освен това след определен брой цикли е възможно понижаване на всички показатели като цяло.

Таблица 10

Оценка на адаптиран разсад от регенеранти *in vitro* и от резници от коренища, 2019 г.

Варианти	Височина Стъбла, cm	Листа, count	Дължина Корен, cm	Тегло (g):			
				корен	листа	стъбло	Общо сухо в-во
Резници							
1.	13.5	10.0	6.0	0.48	0.44	0.28	0.24
2.	11.0	13.1	5.2	0.23	0.34	0.13	0.14
3.	10.5	10.7	3.5	0.17	0.16	0.27	0.12
4.	10.9	10.0	9.9	0.47	0.29	0.14	0.18
5.	14.5	12.0	7.0	1.04	0.44	0.21	0.34
6.	21.0	12.3	6.1	0.40	0.63	0.30	0.26
7.	15.2	12.0	5.1	0.48	0.44	0.17	0.22
8.	16.2	10.6	5.4	0.41	0.32	0.18	0.13
9.	14.1	10.0	9.4	0.47	0.38	0.17	0.21
10.	11.4	10.6	7.4	0.41	0.34	0.15	0.18
11.	17.2	14.0	8.4	0.33	0.59	0.28	0.24
12.	8.0	10.0	5.6	0.19	0.23	0.18	0.18
\bar{x}	13.6	11.3	6.6	0.42	0.38	0.20	0.20
Регенеранти							
1.	23.5	16.0	12.1	0.40	0.25	0.30	0.26
2.	19.5	16.3	9.5	0.49	0.26	0.43	0.31
3.	21.0	14.0	11.0	0.61	0.30	0.48	0.38
4.	23.4	18.0	13.0	1.07	0.25	0.47	0.48
5.	18.2	16.3	11.0	0.60	0.27	0.38	0.34
6.	18.0	16.0	9.8	0.67	0.23	0.41	0.35
7.	17.0	12.0	9.0	0.77	0.22	0.42	0.38
8.	16.7	12.3	8.5	0.38	0.23	0.31	0.25
9.	17.2	14.0	11.0	0.90	0.30	0.48	0.45
10.	18.0	14.0	13.0	0.74	0.23	0.52	0.40
11.	17.5	16.3	15.0	0.91	0.31	0.52	0.49
12.	12.5	12.0	11.0	0.28	0.12	0.29	0.49
\bar{x}	18.5	14.8	11.2	0.65	0.24	0.42	0.35

Оценка на развитието при полски условия

Направена е оценка на динамиката на развитие на засаден при полски условия разсад по някои морфологични и стопански показатели през 2019 г. Направените оценки на растенията са направени на 3 дати след засяването (25.03):

– в периода, когато вече може да се наблюдава развит храст (30.07) – след около 4 месеца от датата на засяването (**Таблица 11**);

– в периода преди бутонизацията (05.09) – след около 6 месеца от датата на засяването (**Таблица 12**);

– в периода на цъфтеж (20.10) – след около 7 месеца от датата на засяването (**Таблица 13**);

Както може да се види от **Таблица 12**, растенията оценени в периода преди бутонизацията са с по-голяма височина и брой разклонения, в сравнение с растенията в периода на развит храст. Възлите по основното стъбло остават почти същите. По отношение на теглото, както в свежо, така и в сухо състояние се наблюдава значително увеличение при растенията оценени в периода преди бутонизацията.

Както може да се види от **Таблица 13**, цъфтящите растения са с по-голяма височина, средно 113.1 cm и повече разклонения (средно 25.7) от растенията преди бутонизация, също значително увеличение се наблюдава и при свежото и сухото тегло на различните части на растенията – корен, стъбло и листа.

Таблица 11

Оценка на нарастването при полски условия на разсад в периода на развит храст – 30^{ти} юли, 2019 г.

Вариант	Височина, cm	Възли по осн. стъбло	Брой разклонения	Тегло (g) – свежо/сухо					
				корен		стъбло		листа	
				свежо	сухо	свежо	сухо	свежо	сухо
1.	55	24	12	5	2	10	2	10	2
2.	72	23	12	10	3	30	8	25	6
3.	65	20	13	20	6	30	9	25	6
4.	60	16	4	10	2	15	4	10	3
5.	49	12	8	10	3	25	6	30	8
6.	38	10	6	5	2	10	3	13	3
7.	46	12	8	10	3	25	6	30	8
8.	68	22	7	15	4	35	7	35	9
9.	55	15	4	10	2	20	3	15	3
10.	70	20	6	15	6	35	7	20	6
11.	53	14	2	15	6	25	6	25	6
12.	42	12	2	10	2	10	2	15	2
\bar{x}	56.1	16.7	7.0	11.2	3.4	22.5	5.2	21.1	5.2

Таблица 12

Оценка на нарастването при полски условия на разсад в периода преди бутонизация, 5-ти септември 2019 г.

Вариант	Височина, см	Възли по осн. стъбло	Брой разклонения	Тегло (g) – свежо/сухо					
				корен		Стъбло		листа	
				свежо	сухо	свежо	сухо	свежо	сухо
1.	73	18	15	15	5	70	18	55	15
2.	66	18	13	10	4	55	14	55	12
3.	65	16	13	10	4	30	8	35	10
4.	70	5	20	10	4	30	10	25	9
5.	62	8	10	5	2	30	8	25	7
6.	65	19	15	30	18	70	12	70	20
7.	73	20	17	25	15	95	19	80	24
8.	65	16	14	40	18	85	20	85	22
9.	63	16	11	20	12	45	21	45	11
10.	68	19	18	25	11	70	16	75	17
11.	57	14	16	25	12	60	10	55	12
12.	58	14	14	15	6	75	16	70	15
\bar{x}	64.9	15.2	14.7	19.2	9.2	59.6	14.3	56.2	14.5

Таблица 13

Оценка на цъфтящи растения при полски условия на 20-ти октомври, 2019 г.

Вариант	Височина, см	Брой цветоносни разклонения	Тегло (g) - свежо/сухо							
			корен		стъбло		листа		цветове	
			свежо	сухо	свежо	сухо	свежо	сухо	свежо	сухо
1.	95	22	85	40	85	27	65	14	20	5
2.	97	15	35	15	105	30	75	16	18	4
3.	125	27	120	75	185	50	80	22	30	7
4.	120	20	105	60	85	26	80	20	25	5
5.	90	28	120	74	110	44	120	27	15	3
6.	100	24	121	64	150	57	140	31	23	6
7.	115	32	95	40	265	78	195	42	70	18
8.	120	24	40	24	167	44	140	25	35	6
9.	130	32	155	90	150	50	145	25	50	19
10.	120	30	200	115	135	41	125	22	40	15
11.	125	28	130	93	170	54	145	27	50	21
12.	120	26	150	90	190	70	165	32	65	27
\bar{x}	113.1	25.7	113.0	64.2	247.2	47.6	122.9	25.2	36.7	11.3

През периода 2019-2020 г. беше направено наблюдение на броя здрави коренища, оцелели от съхраняваните коренища през пролетта, засадени на полето, които след жътвата и прибирането им през есента бяха описани и оценени поединично. По този начин се изчислява процента на преживяване по време на съхранение и отглеждане на многогодишни коренища от елитни клонове на избрани растения от елити стевия (Таблица 14). Средно около 15% от засадените коренища отпадат по време на

вегетацията и не се достигат до прибиране на листа за сушене и съхранение на коренищата за другата година. По време на зимното съхранение и преди пролетно изнасяне на коренищата, поради гниене и липсата на жизнеспособни стъбла се губят средно 26% от коренищата.

Таблица 14

Оценка на параметрите за преживяемост по време на съхранение на коренища стевия с различен произход, 2019 - 2020 г.

Варианти	Съхранени 2019		Засадени 2020	
	брой	Преживели (%)	брой	Реколтирани (%)
203/2	50	56.2	24	95.8
А 8	48	75.0	28	89.3
9 Е	49	50.0	39	97.4
97 ШЗ	40	50.0	26	100.0
10 ШЗ	73	68.0	35	91.4
7 Е	56	76.0	31	93.9
№ 3	50	74.5	44	72.7
№ 5	50	61.8	50	66.0
75 ШЗ	45	83.3	39	87.2
214/2	40	65.0	20	80.0
А 9	39	79.5	25	92.0
А 10	51	80.0	45	86.7
162 СР	43	68.8	18	50.0
75 ШЗ-Re	47	88.0	35	100.0
№ 3 -Re	53	76.4	29	100.0
97 ШЗ -Re	54	88.9	33	97.1
27 СР	27	55.6	15	73.3
70 Re	42	92.9	35	100.0
30 Ш-Re	23	95.6	21	95.2
7 Е-Re	21	72.2	12	91.7
62 ШЗ -Re	30	80.0	15	80.0
28 СР-Re	25	74.3	14	28.6
25 Я Re	27	100.0	15	100.0
СТЕЛА- ЕК	61	63.7	40	92.5
Общо/средно	1045	73.8	688	85.8

3.4. Оценка на морфологични признаци и стопански качества на стевия в зависимост от генотипа, начина на размножаване и условията на средата

През 2019 г. са проучени морфологични признаци и стопански качества на някои генотипове стевия от генофонда на Земеделски Институт - Шумен в зависимост от произхода на разсада.

От **Таблица 15** се вижда, че за стевията, размножена от коренища (втора година), средният брой стъбла е 9.8, а средната височина на стъблата е 93.2 cm. Най-високи стойности за тези показатели са отчетени при клоновете от произход 9Е с 12 стъбла и височина 110 cm. По отношение на свежото и сухото тегло на листата, клоновете от произход 9Е отново показват най-високите показатели, съответно 229 g и 55 g. Това показва, че клоновете от произход 9Е са особено продуктивни по отношение на количество и качество на листата.

Таблица 15

Стопански качества на елитни клонове стевия, размножени от коренища 2^{-ра} година, 2019 г.

Произход	стъбла				листа	
	брой	височина	свежо тегло	сухо тегло	свежо тегло	сухо тегло
	count	cm	g	g	g	g
Стела	7	90	134	57	159	48
№ 3	7	110	150	52	138	41
№ 4	14	91	116	48	119	40
№ 5	16	105	141	54	123	36
А 8	5	85	128	53	147	41
А 10	5	85	93	42	127	39
7 Е	9	95	135	61	138	42
9 Е	12	110	222	67	229	55
203/2	6	80	115	52	108	33
214/2	13	87	163	79	167	50
27 СР	14	86	150	64	107	34
28 СР	8	92	84	34	89	33
10 ШЗ	12	95	242	66	161	48
62 ШЗ	7	110	145	43	152	39
75 ШЗ	12	75	131	40	143	46
97 ШЗ	6	100	137	44	158	42
25 Я	4	92	93	29	89	28
30 Ш	20	89	204	75	169	52
\bar{x}	9.8	93.2	143.5	53.3	140.2	41.5
Sx	1.1	2.4	10.0	3.2	7.9	1.7
CV%	45.4	11.1	29.7	25.6	23.9	17.5
P%	10.7	2.6	7.0	6.0	5.6	4.1

В **Таблица 16** за стевия, размножена с коренища през първата година, средният брой стъбла е 13.9, с височина на стъблата 82.1 cm. Това е значително по-висок брой стъбла в сравнение с размножаването от коренища през втората година. Стойностите на

теглата на свежите и сухи листа показват, че най-високото качество по отношение на листата отново е при 9E (свежо тегло 304 g и сухо тегло 81 g).

Таблица 16

Стопански качества на елитни клонове стевия, размножени с коренища 1^{-ва} година, 2019 г.

Произход	стъбла				листа	
	брой	височина	свежо тегло	сухо тегло	свежо тегло	сухо тегло
	count	cm	g	g	g	g
Стела	5	60	58	15	67	18
№ 3	8	85	155	54	139	40
№ 4	19	80	146	48	144	47
№ 5	21	85	212	67	202	60
A 8	14	95	203	93	201	58
A 10	24	71	177	58	211	62
7 E	15	90	268	117	308	82
9 E	17	80	267	100	304	81
203/2	9	62	103	28	123	33
214/2	11	61	113	31	125	44
27 CP	20	110	261	83	226	65
28 CP	14	70	191	56	287	59
10 ШЗ	13	92	208	83	217	66
62 ШЗ	8	85	104	33	109	32
75 ШЗ	16	100	191	67	197	59
97 ШЗ	9	88	173	81	249	67
\bar{x}	13.9	82.1	176.9	63.4	194.3	54.6
Sx	1.3	3.6	15.4	7.1	18.0	4.4
CV%	38.7	17.5	34.9	44.9	37.0	32.4
P%	9.7	4.4	8.7	11.2	9.2	8.1

Данните за биометричните параметри в **Таблица 17** показват, че разнообразието в продуктивността зависи не само от генетичните характеристики, но и от възрастта на растенията. Стъблата на растенията, репродуцирани от резници, имат средна височина от 93.2 cm, като най-високите стойности са достигнати от растенията с произход № 3, които са 118% над средните стойности за височина на стъблата и 198.3% за броя на стъблата.

Таблица 17

Биометрични параметри на селекционни материали стевия репродуцирани от резници, 2019 г.

Произход	Брой отчетени растения,	Относителен %	Общ брой стъбла	Относителен %	Среден брой стъбла на 1 растение		Височина на стъблата	Относителен %
	count	%	count	%	count	%	count	%
Стела	27	101.3	202	88.6	7.5	82.4	90	96.6
№ 3	63	236.3	452	198.3	7.2	79.0	110	118.1
№ 4	20	75.0	275	120.6	13.8	151.5	91	97.7
№ 5	38	142.5	609	267.2	16.0	176.6	105	112.7
A 8	43	161.3	218	95.6	5.1	55.9	85	91.2
A 10	36	135.0	180	79.0	5.0	55.1	85	91.2
7 E	12	45.0	105	46.1	8.8	96.4	95	102.0
9 E	27	101.3	318	139.5	11.8	129.7	110	118.1
203/2	23	86.3	140	61.4	6.1	67.1	80	85.9
214/2	20	75.0	252	110.6	12.6	138.8	87	93.4
27 CP	24	90.0	336	147.4	14.0	154.2	86	92.3
28 CP	8	30.0	63	27.6	7.9	86.8	92	98.7
10 ШЗ	17	63.8	198	86.9	11.6	128.3	95	102.0
62 ШЗ	13	48.8	87	38.2	6.7	73.7	110	118.1
75 ШЗ	5	18.8	60	26.3	12.0	132.2	75	80.5
97 ШЗ	52	195.0	330	144.8	6.3	69.9	100	107.3
25 Я	29	108.8	108	47.4	3.7	41.0	92	98.7
30 Ш	23	86.3	170	74.6	7.4	81.4	89	95.5
\bar{x}	26.7	100.0	227.9	100.0	7.3	100.0	93.2	100.0
Sx	3.6		33.7		0.9		2.4	
CV%	56.7		62.8		49.4		11.1	
P%	13.4		14.8		11.7		2.6	

Данните в Таблица 18 показват, че произход 9E е с най-високо общо тегло на зеленото растение от 450.7 грама, а също така и с най-висок добив по отношение на теглото на сухите листа – 55.2 грама, които са най-богати на стевииозиди и са от съществено значение за селекцията. Това показва, че растенията от тези произходи показват висока биометрична продуктивност.

Таблица 18

**Продуктивни качества на селекционни материали стевия репродуцирани от
резници, 2019 г.**

Произход	Общо тегло	Относи телен %	Тегло зелени листа	Относи телен %	Тегло сухи листа	Относи телен %	Ранде ман	Относи телен %
	g	%	g	%	g	%	%	%
Стела	292.0	103.0	158.5	113.2	47.6	114.9	16.3	109.2
№ 3	287.2	101.3	137.5	98.2	40.8	98.5	14.2	95.1
№ 4	235.3	83.0	119.3	85.1	40.0	96.6	17.0	113.9
№ 5	263.6	93.0	122.9	87.7	36.2	87.4	13.7	92.0
A 8	275.0	97.0	146.6	104.7	41.0	99.1	14.9	100.0
A 10	219.9	77.6	127.1	90.7	38.8	93.5	17.6	118.1
7 E	273.3	96.4	138.3	98.8	41.7	100.6	15.2	102.1
9 E	450.7	159.0	228.5	163.1	55.2	133.2	12.2	82.0
203/2	223.3	78.8	108.5	77.4	33.3	80.3	14.9	99.8
214/2	329.8	116.3	166.8	119.0	50.0	120.7	15.2	101.6
27 CP	256.5	90.5	106.9	76.3	33.8	81.5	13.2	88.1
28 CP	172.5	60.9	88.8	63.4	33.1	80.0	19.2	128.6
10 ШЗ	402.6	142.0	160.9	114.9	47.9	115.7	11.9	79.8
62 ШЗ	296.5	104.6	151.5	108.2	38.8	93.8	13.1	87.7
75 ШЗ	274.0	96.7	143.0	102.1	46.0	111.1	16.8	112.4
97 ШЗ	295.0	104.1	158.0	112.8	41.9	101.2	14.2	95.2
25 Я	182.2	64.3	89.1	63.6	27.6	66.6	15.1	101.1
30 Ш	372.8	131.5	169.1	120.7	52.0	125.4	13.9	93.3
\bar{x}	283.5	100.0	140.1	100.0	41.4	100.0	14.9	100.0
Sx	16.8		7.9		1.7		0.4	
CV%	25.2		23.8		17.6		12.8	
P%	5.9		5.6		4.2		3.0	

Обобщавайки данните, можем да заключим, че изборът на произход на растенията играе съществена роля за постигане на високи стопански качества и биометрични параметри. Най-продуктивните растения, независимо дали са размножени чрез коренища или резници, идват от произход 9 E, което подсказва, че този генотип може да бъде използван за оптимизиране на производството на стевия. В същото време, размножаването с коренища (1^{-ва} година) дава по-висок брой стъбла в сравнение с 2^{-ра} година, но по-малка височина и производителност на листа.

През 2020 година бяха засадени при полски условия регенеранти от резници на коренища, *in vitro* регенеранти и семена от елитни клонове на сорт Стела. **Таблица 19,**

20 и 21 показва биометричните и продуктивни показатели от разсад съответно на *in vitro* регенеранти, разсад от резници и семенно потомство. *In vitro* регенерантите показват най-силно развитие на вегетативна маса, отразявайки по-голямата височина на растенията, развитието на повече разклонения и по-голямото акумулиране на свежа и суха биомаса. Растенията получени от резници имат по-усилено развитие в сравнение с растенията от семенно потомство, което се дължи на по-бавното първоначално развитие от поникването до получаването на адаптирания разсад. По икономически показатели като сухо съдържание и добив разликите са незначителни. Идентичните и относително ниски нива на вариация също са впечатляващи. Това е показател, че прилагането на размножителните схеми не влияе на устойчивостта на фенотипа на сорта.

Таблица 19

Биометрични и продуктивни показатели за разсад от *in vitro* регенеранти, произход сорт Стела, 2020 г.

Произход	Височина cm	Стъбла count	Свежа маса от		Суха маса от		Сухо %	Ранде ман %
			Листа g	Стъбла g	Листа g	Стъбла g		
К - №3	80	5	180	120	55	35	30.0	18.3
К - №4	76	5	260	180	70	50	27.3	15.9
К - №5	65	3	240	170	65	50	28.0	15.8
К - 184 Ш	82	7	260	185	85	55	31.5	19.1
К - 185 Ш	95	7	280	245	70	40	20.9	13.3
К - 290 Ш	67	4	270	210	70	60	27.1	14.6
К - 71 ШЗ	80	5	360	280	90	85	27.3	14.1
К-197 ШЗ	68	5	280	180	100	50	32.6	21.7
К - 163 СР	78	6	230	150	65	40	27.6	17.1
К - 204/2	90	9	310	280	70	80	25.4	11.9
К - 210/2	80	5	350	220	105	75	31.6	18.4
\bar{x}	78.3	5.6	274.6	201.8	76.8	56.4	28.1	16.4
max	95.0	9.0	360.0	280.0	105.0	85.0	32.6	21.7
min	65.0	3.0	180.0	120.0	55.0	35.0	20.9	11.9
Sx	9.2	1.6	51.8	51.1	15.9	16.9	3.3	2.9
CV%	11.8	29.5	18.9	25.3	20.6	30.0	11.8	17.5
Sx±x	2.8	0.5	15.6	15.4	4.8	5.1	1.0	0.9
P%	3.6	8.9	5.7	7.6	6.2	9.0	3.6	5.3

In vitro регенерантите показват най-силно развитие на вегетативната маса, с високи стойности за височина, брой на разклонения и значително натрупване на свежа и суха биомаса. Средната височина на растенията е 78.27 cm, като те показват силно развитие в сравнение с останалите групи. Най-голямото натрупване на свежа маса се отчита при К-71 ШЗ (360 g от стъбла и 280 g от листа), което има и висок рандеман, показвайки

добро продуктивно представяне. Въпреки тези високи стойности, разликите в икономическите показатели като сухо съдържание и добив са сравнително малки между различните източници на размножаване, което подчертава устойчивостта на фенотипа на сорта. В Таблица 19 са показани сравнително ниски нива на вариация, което показва, че прилагането на различни схеми за размножаване не води до значителни колебания в характеристиките на елитни клонове на сорт Стела.

Таблица 20

Биометрични и продуктивни показатели за разсад от резници, произход сорт Стела, 2020 г.

Произход	Височина	Стъбла	Свежа маса от		Суха маса от		Сухо	Рандеман
			Листа	Стъбла	Листа	Стъбла		
	cm	count	g	g	g	g	%	%
R - 163 CP	85	7	300	190	90	65	31.6	18.4
R - 188 Ш	68	6	220	160	60	45	27.6	15.8
R - 202/7	70	12	380	200	115	60	30.2	19.8
R - 23/211	70	11	230	125	60	35	23.9	14.1
R - 8/6	73	5	325	210	90	70	29.9	16.8
R - 8/10	75	12	280	170	75	50	27.8	21.4
R - 8/205	82	12	360	260	90	65	24.2	14.5
R - 8/213	68	8	150	100	35	25	24.0	14.0
R - 9/114	65	7	180	85	50	25	28.3	18.9
R - K 68	75	6	220	135	60	40	29.9	16.9
R - K 196	65	5	170	130	45	35	26.7	15.0
\bar{x}	72.4	8.3	255.9	160.5	70.0	46.8	27.7	16.9
max	85.0	12.0	380.0	260.0	115.0	70.0	31.6	21.4
min	65.0	5.0	150.0	85.0	35.0	25.0	23.9	14.0
Sx	6.5	2.9	78.2	52.0	24.1	16.3	2.7	2.5
CV%	9.0	35.1	30.6	32.4	34.4	34.9	9.8	14.7
Sx±x	2.0	0.9	23.6	15.7	7.3	4.9	0.8	0.8
P%	2.7	10.6	9.2	9.8	10.4	10.5	2.9	4.4

Разсадът от резници показва по-малко развитие в сравнение с *in vitro* регенерантите, като средната височина е 72.36 cm. Въпреки това, растенията от резници имат добри показатели по отношение на сухото съдържание и добивите от свежа и суха биомаса. Разклоненията и развитието на листната маса също са добри, но вариациите между отделните растения са по-големи отколкото при *in vitro* регенерантите, като коефициентът на вариация е 9.0% за височината и 30.6% за свежата маса от листа.

Разсадът от семенно потомство показва най-слабо развитие сред трите групи, като средната височина е 71.9 cm. Въпреки това, тази група разсад също показва значителни добиви на биомаса, с добри стойности за сухото съдържание и сравнително високи

стойности за рандеман при някои растения. Например, разсадът от семенно потомство на S - 86 показва най-висок рандеман на свежа маса от листа (46.8%) и стъбла (25.5%). Въпреки това, вариацията в показателите на семенния разсад е относително висока, като коефициентът на вариация достига 26.7% за броя стъбла и 14.7% за свежата маса от листа, което показва по-голяма хетерогенност в развитието на растенията от семена в сравнение с *in vitro* и разсада от резници.

Таблица 21

Биометрични и продуктивни показатели за разсад от семенно потомство, произход сорт Стела, 2020 г.

Произход	Височина cm	Стъбла count	Свежа маса от		Суха маса от		Сухо %	Рандеман %
			Листа g	Стъбла g	Листа g	Стъбла g		
S - 100	80	6	170	105	55	35	32.7	20.0
S - 105	94	7	210	150	50	45	26.4	13.9
S - 169 Ш	70	7	200	120	50	30	25.0	15.6
S - 20	64	5	150	100	50	25	30.0	20.0
S - 304/7	76	9	200	110	60	30	29.0	19.4
S - 65	64	5	210	155	65	35	27.4	17.8
S - 73	66	7	190	150	50	45	27.9	14.7
S - 84	70	6	200	135	60	45	31.3	17.9
S - 86	73	5	125	110	60	50	46.8	25.5
S - 88	74	5	180	150	45	30	22.7	13.6
S - 90	60	3	170	105	50	35	30.9	18.2
\bar{x}	71.9	5.9	182.3	126.4	54.1	36.8	30.0	17.9
max	94.0	9.0	210.0	155.0	65.0	50.0	46.8	25.5
min	60.0	3.0	125.0	100.0	45.0	25.0	22.7	13.6
Sx	9.4	1.6	26.8	21.8	6.3	8.2	6.3	3.5
CV%	13.1	26.7	14.7	17.3	19.6	22.1	21.0	19.3
Sx±x	2.8	0.5	8.1	6.6	1.9	2.5	1.9	1.0
P%	3.9	8.1	4.4	5.2	3.5	6.7	6.3	5.8

Разликите в икономическите показатели между трите групи не са съществени, което показва, че различните методи за размножаване не влияят значително на устойчивостта и продуктивността на растенията.

През 2021 г. са засадени растения за сравнителен опит и селекционен питомник за оценка и възпроизводство на елитни клонове и нови материали за обогатяване на генофонда. В **Таблица 22** са посочени обобщени данни за продуктивността на листна маса в зависимост от начина на репродукция.

Таблица 22

**Изпитване продуктивността на стевия в зависимост от начина на репродукция,
2021 г.**

Варианти	Брой изпитани растения	Височина, cm	Добив листна маса			
			Свежа маса		Суха маса	
			kg/da	Сухо, %	kg/da	Рандеман, %
Коренища многогодишни	42	51.7	875	20.5	175.0	14.5
Коренища III година	64	55.0	1187	15.8	190.0	14.9
Коренища II година	72	56.3	1298	17.7	230.0	15.2
Средно Коренища		54.3	1120	18.0	198.3	14.9
Разсад от семена	124	68.0	1186	15.3	178.9	18.0
Разсад от резници	240	65.3	1012	16.2	161.9	16.3
Разсад от In vitro	48	66.5	1284	13.0	167.3	18.4
Средно Разсад		66.6	1160.7	14.8	169.4	17.6

Размножените с коренища II година растения са по-продуктивни, но при по-продължително използване на този метод в коренищата се натрупват фитопатогени на листни болести, които компрометират добива на качествена суха листна маса. Размножените с разсад растения са с по-високи стойности за рандемана (17.6% срещу 14.9% за коренища) като съотношение на сухата маса листа към общото свежо тегло на стъблата и листата.

В **Таблица 23** са посочени резултатите от продуктивността и съдържанието на стевииозиди на елитни клонове стевия с различен произход през 2022 г.

Използването на репродукция със семена разширява възможностите за внедряване в практиката на производството на стевия в условията на България. Прави впечатление, че при повечето от произходите получени от семена (10ШЗ, 30ШЗ, 62ШЗ, 83ШЗ, 97ШЗ) съотношението между стевииозид и ребаудизид е по-малко от 2:1, което е показател за измерване на сладостта на екстракта от стевия и увеличеното количество на ребаудизиди е показател за намаляването до елиминирането на горчивият послевкус на екстракта. За нуждите на селекцията перспективни остават методите на *in vitro* микроразмножаване и от резници за запазване на изходния генотип.

Таблица 23

Стопански качества и химичен състав на сухите листа от произходи стевия, 2022 г.

№	произходи	добив сухи листа (mg)	Отн. % към средното	Steviosid (mg/kg)	Rebaudioside (mg/kg)	S : R
От резници						
1	1	12.7	59.8	69.3	40.9	1.7:1
2	3	208.5	102.5	70.2	38.9	1.8:1
3	11	134.8	66.2	64.2	36.7	1.7:1
4	A8	341.7	167.9	80.2	30.9	2.6:1
5	A9	217.8	107.0	42.5	16.7	2.5:1
6	A10	196.6	96.6	70.2	31.8	2.2:1
8	Ш56	279.8	137.5	43.6	14.1	3.1:1
9	Ш62	325.6	160.0	67.4	30.3	2.2:1
От семена						
10	10Ш3	302.2	148.5	50.4	33.8	1.5:1
11	30Ш3	281.1	138.1	54.4	38.5	1.4:1
12	62Ш3	312.8	153.7	55.5	48.5	1.1:1
13	64Ш3	277.4	136.3	60.9	20.6	3.0:1
14	75Ш3	299.2	147.0	87.4	36.9	2.4:1
15	83Ш3	282.9	139.0	57.3	51.4	1.1:1
16	97Ш3	324.3	159.5	71.6	38.6	1.9:1
17	99Ш3	300.7	147.8	37.2	n.n	
От in vitro размножаване						
18	CP1 κ1	203.5	100.0	55.1	25.2	2.2:1
19	CP2 κ1	261.6	128.6	43.1	17.1	2.5:1
20	CP3 κ1	252.5	124.1	20.2	6.9	2.9:1
21	CP60 κ3	395.5	194.3	71.6	24.5	2.9:1
22	CP144 π3	155.6	76.5	114.4	n.n	
23	CP145 π3	261.1	128.3	83.7	34.8	2.4:1
24	CP146 π3	243.7	119.8	81.6	39.3	2.1:1

4. Изводи

1. С промените на агроклиматичните условия на късна есен и липса на ранни застудявания се увеличава възможността за получаване на жизнени семена в условията на България.

2. Установена е подходяща хранителна среда за *in vitro* покълване на семена и е оптимизирана методика за стерилизация на семената за да се предотврати развитието на гъбни инфекции. Успешна стерилизация на семената, предхождаща *in vitro* култивирането е постигната след обработването им с 0.04% HgCl₂ и 0.1% Tween-20 за 90 минути с последващо трикратно промиване със стерилна дестилирана вода, към която е добавян 0.5 ml/l Цитросепт (15 минути всяко).

3. Установени са оптимални условия за *in vivo* покълване на семена. Масово поникване на семената от стевия ($77 \pm 4.6\%$) се постига върху почвен субстрат смес от торф, пясък и перлит в съотношение 4:1:1, в термостатно помещение с осветление за 16 часа на ден и температура между 18-20 °C.

4. Установена е положителна корелация между лабораторната кълняемост и на поникналите растения в почвена смеска ($r = 0.678$), което прави лабораторната кълняемост достоверен параметър за оценка на жизнеността на семенните потомства за стевията при реални условия.

5. Кълняемостта на семената засадени след една година съхранение е значително по-малка, както от лабораторно установената кълняемост, така и от полската. Разглеждайки резултатите на всеки от произходите се отчита влиянието на генотипа. 20% от тях нямат никаква кълняемост след съхранение от една година, а други 20% имат по-голяма кълняемост на седми ден след съхранение в сравнение с кълняемостта им преди съхранение.

6. За най-успешно вкореняване на растенията от резници, те трябва да бъдат заложени максимално рано през годината. Отклонение беше наблюдавано при произходите – 7E, 9E и A10. Това потвърждава влиянието на генотипа за вкореняването на растенията.

7. Размножаването чрез коренища води до натрупване на почвени патогени през годините и увеличава случаите на листни заболявания. Това налага редуване на размножаване чрез коренища, *in vitro* и *in vivo* размножаване за производството на елитни разсади. Най-ефективната схема за практическо прилагане на разсад е чрез засяване на семената при контролирани условия през януари-февруари, отглеждане на

покълнали и стабилизирани растения през април-май, разсаждане през юни-юли и прибиране на коренищата през октомври, които след съхранение се реализират в следващия период.

8. Средно около 15% от засадените коренища отпадат по време на растежният сезон и не се достига до прибиране на листа за сушене и съхранение на коренищата за другата година. По време на зимното съхранение и преди пролетно изнасяне на коренищата, поради гниене и липсата на жизнеспособни стъбла се губят средно 26%. Това може да се дължи на натрупването на почвени патогени през годините и увеличаването на заболяванията по растенията, което да води до отпадането на растения.

9. Установява се, че по отношение на броят стъбла и височината на стъблата се наблюдават разлики в зависимост от датите на реколтиране на растенията получени от коренища, в зависимост от периода на използването им. Но по отношение на показателя сухи листа, разлика в показателите за различните дати на реколтиране не се наблюдава. Наблюдава се увеличаване на добива на сухи листа от растения получени от многогодишни коренища (средно 84.6 g) в сравнение с двугодишни (средно 76.8 g), а най-нисък добив на сухи листа имат растенията получени от едногодишни коренища (средно 74.6 g).

10. Използването на репродукция със семена разширява възможностите за внедряване в практиката на производството на стевия в условията на България. При повечето от производите получени от семена съотношението между стевиозид и ребаудизид е по-малко от 2:1, което е показател за измерване на сладостта на екстракта от стевия и увеличеното количество на ребаудизиди е показател за намаляването до елиминирането на горчивият послевкус на екстракта. За нуждите на селекцията перспективни остават методите на *in vitro* микроразмножаване и от резници за запазване на изходния генотип.

5. Приноси

5.1. Научни приноси

- За първи път в България е доказана възможността за използване на репродукция чрез семена за селекцията и практиката.
- Установени са различни методи за прибиране на узрелите семена в зависимост от това дали ще се използват за експериментална или производствена дейност, за да се получат семена с висока кълняемост.
- Разработена е подходяща хранителна среда за *in vitro* покълване на семена от *Stevia rebaudiana Bertoni*. Оптимизирана е методика за стерилизация на семената за да се предотврати развитието на гъбни инфекции.
- Установена е оптимална почвена смеска и оптимални условия за *in vivo* покълване на семена от *Stevia rebaudiana Bertoni*.
- Направени са изследвания върху лабораторна и полска кълняемост, кълняема енергия и кълняемост, включително и влиянието на периода на съхранение на семената от стевия.

5.2. Научно-приложни приноси

- Установен е оптималния период от годината за залагане на резници за вкореняване на растенията.
- Направена е оценка на биометрични и продуктивни показатели на адаптиран разсад от регенеранти *in vitro* и от резници от коренища.
- Установено е влиянието на срока за реколтиране на растенията върху добива на суха маса и получаване на жизнени семена.
- Разработена е ефективна методика за производство на елитни разсади чрез задължително редуване на размножаване чрез коренища, *in vitro* и *in vivo* размножаване.
- Установява се, че прилагането на размножителни схеми не влияе на устойчивостта на фенотипа при поддържане на сорта.
- Използването на репродукция със семена разширява възможностите за внедряване в практиката на производството на стевия в условията на България. За нуждите на селекцията перспективни остават методите на *in vitro* микроразмножаване и от резници за запазване на изходния генотип.

Influence of genotype on the development and reproduction of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in Bulgarian conditions

Stanislav Bozhimirov
Agricultural Institute - Shumen

Abstract

The research was conducted in the laboratories and experimental field of the Agricultural Institute - Shumen during the period 2018-2021, including earlier studies on germination in vitro and in vivo from the period 2009-2010.

The aim of the research was to assess the influence of genotype on the development and reproduction of stevia in the conditions of Bulgaria. To achieve the set goal, the following tasks were completed: - Optimization of seed reproduction methods in the conditions of Bulgaria to enrich the gene pool. - Establishment of the parameters of effective rooting, adaptation and development under external conditions. - Influence of genotype, method of reproduction and conditions on morphological and economic qualities.

The main conclusions of the studies are:

- With the changes in the agro-climatic conditions of late autumn and the absence of early frosts, the possibility of obtaining viable seeds in the conditions of Bulgaria increases.
- A suitable nutrient medium has been established for in vitro seed germination. Successful sterilization of the seeds prior to in vitro cultivation was achieved after treating them with 0.04% HgCl₂ and 0.1% Tween-20 for 90 minutes followed by three washes with sterile distilled water to which 0.5 ml/l Citrosept was added.
- Optimal conditions for in vivo seed germination have been established. Mass germination of stevia seeds ($77 \pm 4.6\%$) was achieved on a soil substrate mixture of peat, sand and perlite in a ratio of 4:1:1, in a thermostatic room with lighting for 16 hours a day and a temperature between 18 and 20 °C.
- A positive correlation was found between laboratory germination and the germination of plants in a soil mixture ($r = 0.678$), which makes laboratory germination a reliable parameter for assessing the viability of seed progenies for stevia under field conditions.
- The germination of seeds planted after one year of storage is significantly lower than both laboratory-determined germination and the field germination. Looking at the results of each origin, the influence of genotype is taken into account.
- For the most successful rooting of plants from cuttings, they should be planted as early as possible in the year.
- The most effective scheme for practical application of seedlings is by sowing seeds under controlled conditions in January-February, growing germinated and stabilized plants in April-May, transplanting in June-July and harvesting the rhizomes in October, which after storage are realized in the next period.
- On average, about 15% of the planted rhizomes are lost during the growing season and do not reach the time of harvesting the leaves for drying and storing the rhizomes for the following year. During winter storage and before spring removal of the rhizomes, an average of 26% is lost due to rotting and the lack of viable stems.
- An increase in the yield of dry leaves from plants obtained from perennial rhizomes (average 84.6 g) compared to two-year-olds (average 76.8 g), and the lowest yield of dry leaves was observed for plants obtained from annual rhizomes (average 74.6 g).
- The use of seed reproduction expands the possibilities for implementation in the practice of stevia production in the conditions of Bulgaria. In most of the origins obtained from seeds, the ratio between stevioside and rebaudioside is less than 2:1, which is an indicator for measuring the sweetness of the stevia extract and the increased amount of rebaudiosides is an indicator for the reduction or elimination of the bitter aftertaste of the extract.

Списък

на научните публикации във връзка с дисертацията

Божимиров С., Й. Славова. 2011. Изследвания върху получаването и прорастването на семена от стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) в условията на България, Растениевъдни науки, 48, 330 - 333

Божимиров С., Й. Славова. 2011. Прорастване на семена от стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) в условия in vitro, Растениевъдни науки, 48, 399 - 402

Bojimirov St., Kikindonov T., Mehmed A. 2020. Assessment of Stevia (*Stevia Rebaudiana B.*) seeds vitality in the conditions of Bulgaria, Scientific Papers. Series B, Horticulture. Vol. LXIV, No. 2, 2020, pp 177 - 181



Растения стевия in vitro



Семена от стевия



Избрано растение за събиране на семена



Оценка на адаптиран разсад стевия



Прорастъци от семена стевия в почвена
смеска



Съхранени коренища за получаване на
резници



Вкоренени регенеранти, получени от ин
витро култури



Опитно поле на стевия