CZU: 633.11:631.53.026

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ СЕМЯН ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM DURUM* DESF.) ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ СПОСОБНОСТИ К ДЛИТЕЛЬНОМУ ХРАНЕНИЮ

Лолита МЕЛИЯН, Людмила КОРЛЭТЯНУ, Виктория МИХЭИЛЭ, Анатолие ГАНЯ, Сильвия РОТАРЬ

Институт генетики, физиологии и защиты растений

UTILIZAREA METODEI DE ÎMBĂTRÂNIRE ACCELERATĂ A SEMINȚELOR GRÂULUI DURUM (*TRITICUM DURUM* DESF.) PENTRU EVALUAREA CAPACITĂȚII LOR DE PĂSTRARE ÎNDELUNGATĂ

Articolul este dedicat analizei eficacității metodei de îmbătrânire accelerată a semințelor de grâu durum (ÎA) pentru evaluarea capacității acestora de a fi stocate pe un termen îndelungat în banca de gene. Utilizarea metodei ÎA, care constă în incubarea semințelor timp de 72 de ore la umiditate ridicată (90-100%) și temperatură a aerului (43^{0}C), vă permite de a imita în mod adecvat impactul factorilor de stres care joacă un rol decisiv în îmbătrânirea semințelor de grâu durum. Efectuarea analizei statistice după un set de parametri morfofiziologici, foarte importanți, așa ca: germinarea semințelor, lungimea medie a rădăcinițelor germenilor, biomasa proaspătă și uscată a radiculelor și scurgerea electroliților, permite a prognoza termenul de stocare a probelor de semințe în banca de gene.

Cuvinte-cheie: *grâu durum, îmbătrânire accelerată a semințelor, germinare, energia germinativă a semințelor, potențial de păstrare a semințelor.*

APPLICATION OF THE METHOD OF ACCELERATED AGING OF DURUM WHEAT SEEDS (*TRITICUM DURUM* DESF.) TO ASSESS THEIR LONG-TERM STORAGE CAPACITY

The article is devoted to the analysis of the effectiveness of accelerated aging (AA) method to assess the shelf life of durum wheat seeds. The use of AA aging method, which consists in incubating seeds for 72 hours at high humidity (90-100%) and air temperature (43^{0}C), allows you to adequately simulate the impact of adverse factors that play a decisive role in the aging of durum wheat seeds. Cluster statistical analysis of such important morphophysiological parameters as seed germination, average seedling root length, crude and dry root biomass and electrolyte leakage predicting terms of specimen long-term storage in the plant genetic bank.

Keywords: *durum wheat, accelerated aging, germination, seed germination energy, seed storage potential.*

Введение

Генетические ресурсы растений являются важным источником удовлетворения потребностей населения в продовольствии и для обеспечения развития сельского хозяйства. Угроза безопасности ресурсов возрастает в связи с глобальным изменением климата и с причинами, по которым невозможно своевременное воспроизводство ценных селекционных сортов. В последнее время в мировой практике возрос интерес к проблемам долговременного хранения семян и продления их жизнеспособности. Именно генные банки обеспечивают необходимые условия для хранения семян в течение длительного времени. Тем не менее, долговечность семян зависит не только от условий хранения, но и от жизнеспособности, размеров, созревания семян в конкретных полевых условиях, наличия или отсутствия патогенных микроорганизмов, генотипической индивидуальности [1]. Для определения потенциала хранения (ПХ) семян в генетических банках растений различных стран используют тест на ускоренное старение семян, который заключается в инкубации семян в условиях повышенной температуры (40-46^{0}C) и влажности воздуха (90-100%); срок воздействия этих факторов на семена зависит от каждой конкретной культуры, а иногда и от конкретного генотипа [2]. С помощью теста на УСТ семян можно осуществлять мониторинг коллекционных образцов растительного генофонда, что способствует возможности учета изменения их жизнеспособности. Тест позволяет адекватно моделировать

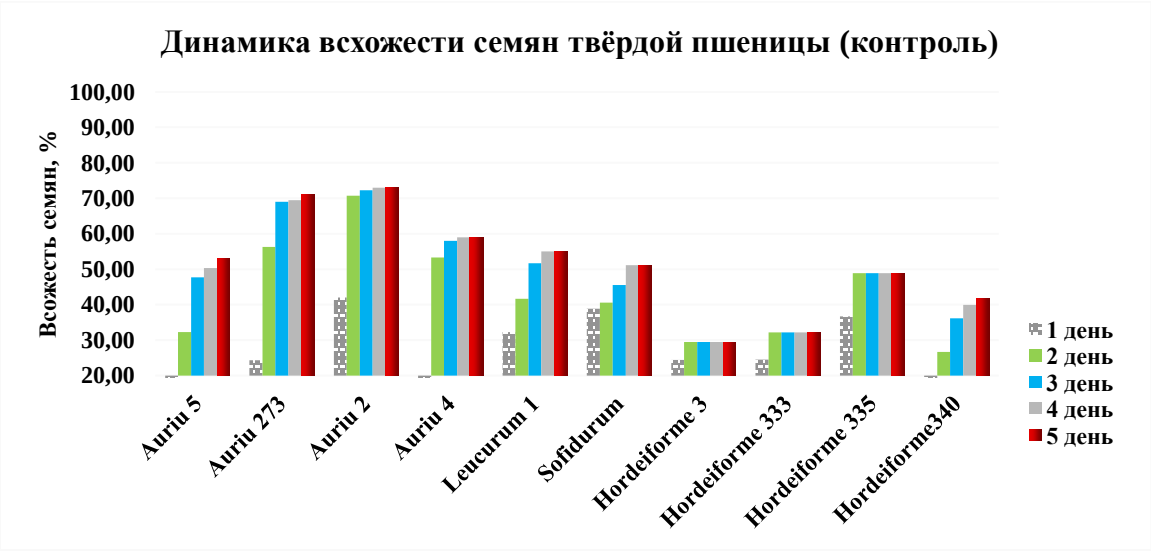
и прогнозировать долговечность хранения семян, оценивать различия по устойчивости к старению между сортами разных видов сельскохозяйственных культур [3]. Прогноз, полученный данным методом, хорошо коррелирует с полевой всхожестью семян [4]. Это особенно важно для определения сроков воспроизводства активных коллекций в генетических банках растений. Целью настоящих исследований было охарактеризовать потенциал хранения коллекционных образцов твердой пшеницы и провести градацию генотипов по степени долговечности семян.

Объекты и методы исследования

Тестировались коллекционные образцы твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) репродукции 2021 года местной селекции из активной коллекции генетического банка растений, а именно: Hordeiforme 3, Hordeiforme 333, Hordeiforme 335, Hordeiforme 340, Auriu 2, Auriu 4, Auriu 5, Auriu 243, Sofidurum, Leucurum 1. На 10 образцах твердой пшеницы применяли тест на ускоренное старение семян, для проведения которого использовали общепринятые в международной практике методики [5,6]. Для семян твердой пшеницы применяли температуру воздуха 43^{0}С при относительной влажности воздуха 90-100%, срок старения составлял 72 часа. После проведения теста на УСТ семена проращивали в термостате при температуре 25^{0}С. В каждом варианте было по 300 семян, эксперименты проводились в 3-х кратной повторности. Контролем являлись семена из этой же репродукции. В ходе экспериментов определяли различные морфофизиологические параметры семян и проростков твердой пшеницы: энергию прорастания и всхожесть семян, длину и число корешков, сырую и сухую биомассу корешков, выход электролитов по электропроводности растворов с семенами при экспозициях 24 и 48 часов [7]. Для определения электропроводности растворов семян использовали кондуктометр N5721M. Экспериментальные данные были обработаны с использованием пакета программ Statistica 7.

Результаты и обсуждение

После применения теста УСТ семян на 10-ти образцах твердой пшеницы была изучена динамика всхожести семян в контрольных и опытных условиях (Рис.1). Если в контроле проклевывание семян отмечалось на 4-е сутки после закладки опыта (1-й день измерений), то в вариантах УСТ этот процесс проходил с замедлением на 24 часа и начинался на 5-е сутки после закладки на проращивание (1-й день измерений после УСТ). Окончательная лабораторная всхожесть семян в контроле могла быть выявлена на 6-й день эксперимента (3-й день измерений), а в опытных вариантах этот процесс был растянут по времени и завершился лишь на 9-й день (5-й день измерений). В контроле окончательная всхожесть варьировала от 90,5 до 98,0%, а после УСТ семян значения значительно снижались и находились в диапазоне от 29,5 до 73,0%.



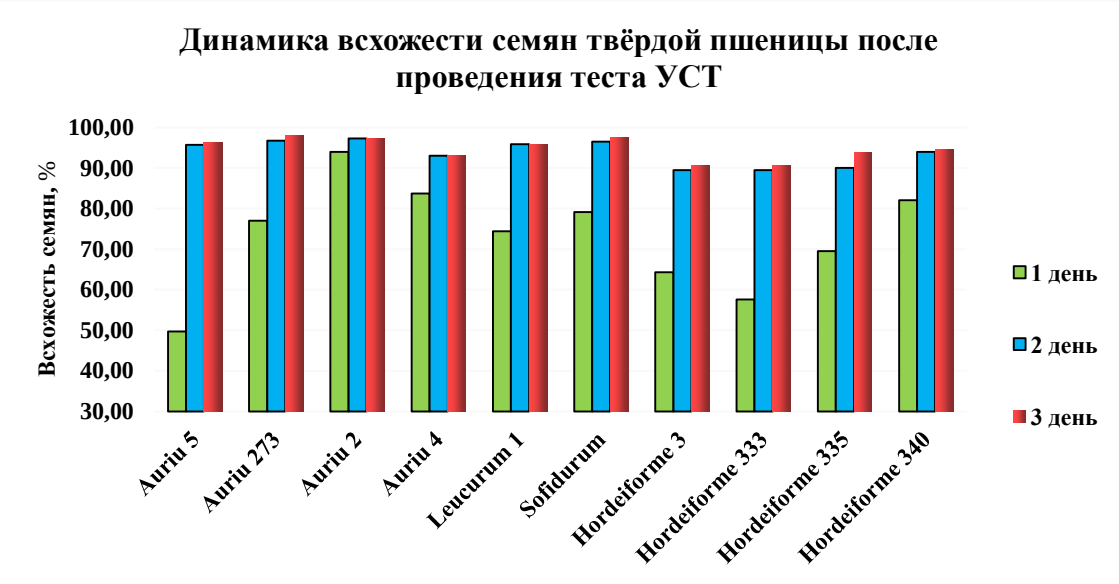


Рис.1. Изменение динамики всхожести семян различных генотипов твердой пшеницы в норме и после УСТ.

УСТ семян твердой пшеницы влияло на значения таких морфофизиологических параметров, как: всхожесть семян, длина корешков, сырая и сухая биомасса корешков (см. таблицу). Морфобиологические параметры в большей или меньшей степени подвергались изменениям в зависимости от генотипа. Из полученных данных, отраженных в этой таблице, видно, что такой показатель, как количество образующихся боковых корешков семени при прорастании, не являлся значимым при анализе влияния УСТ и не может быть определяющим в оценке генотипов по старению семян. Контрольные и опытные варианты у 10 коллекционных образцов твердой пшеницы не были различимы. Этот показатель не может быть использован для прогнозирования потенциала хранения образцов твердой пшеницы, в отличие от таких показателей, как: всхожесть семян, рост корешков, сырой и сухой вес семян.

Таблица

Влияние УСТ на некоторые морфофизиологические параметры семян твердой пшеницы

Генотип	Вариант опыта	Всхожесть семян, %	Длина корешков, мм	Количество корешков, шт.	Сырой вес, % к контролю	Сухой вес, % к контролю
Auriu 5	контроль	96,3 ± 5,6	11,9 ± 4,7	2,97 ± 0,2	66,57	33,33
	опыт	53,0 ± 7,8*	7,7 ± 2,4*	2,97 ± 0,2		
Auriu 273	контроль	98,0 ± 1,3	13,4 ± 4,9	3,0 ± 0,0	59,85	44,22
	опыт	71,0 ± 7,2*	7,03 ± 2,1*	3,0 ± 0,0		
Auriu 2	контроль	97,3 ± 3,3	18,3 ± 3,0	3,0 ± 0,0	65,12	49,89
	опыт	73,0 ± 2,1*	13,3 ± 3,4	3,0 ± 0,0		
Auriu 4	контроль	93,0 ± 2,1	23,03 ± 3,2	3,0 ± 0,0	63,33	35,82
	опыт	59,0 ± 2,1*	7,5 ± 1,3*	3,0 ± 0,0		

Leucurum 1	контроль	95,9 ± 0,8	21,2 ± 2,7	3,0 ± 0,0	50,8	33,3
	опыт	55 ± 6,1*	10,1 ± 3,2*	3,0 ± 0,0		
Sofidurum	контроль	97,5 ± 0,8	20,7 ± 2,4	3,0 ± 0,0	76,01	58,92
	опыт	51,1 ± 6,2*	11,8 ± 4,4*	3,0 ± 0,0		
Hordeiforme 3	контроль	90,5 ± 2,1	18,9 ± 2,7	3,0 ± 0,0	79,17	65,33
	опыт	29,5 ± 6,3*	13,3 ± 4,3*	3,0 ± 0,0		
Hordeiforme 333	контроль	89,5 ± 2,8	17,4 ± 2,2	3,0 ± 0,0	83,62	66,6
	опыт	32,2 ± 0,9*	13,9 ± 3,6	3,0 ± 0,0		
Hordeiforme 335	контроль	93,8 ± 0,8	19,3 ± 3,2	2,97 ± 0,2	89,7	66,3
	опыт	48,9 ± 6,0*	13,8 ± 3,5	2,97 ± 0,2		
Hordeiforme 340	контроль	95,0 ± 2,3	21,9 ± 2,8	2,97 ± 0,2	29,03	30,77
	опыт	41,7 ± 5,7*	11,1 ± 3,2*	2,97 ± 0,2		

*- разница существенна при p< 0,05

После УСТ генотипическая изменчивость по признаку старения семян наиболее ярко проявлялась по реакции всхожести семян и по средней длине корешков. На Рис.2 отражена группировка изученных генотипов по этим признакам в % по отношению к контролю.

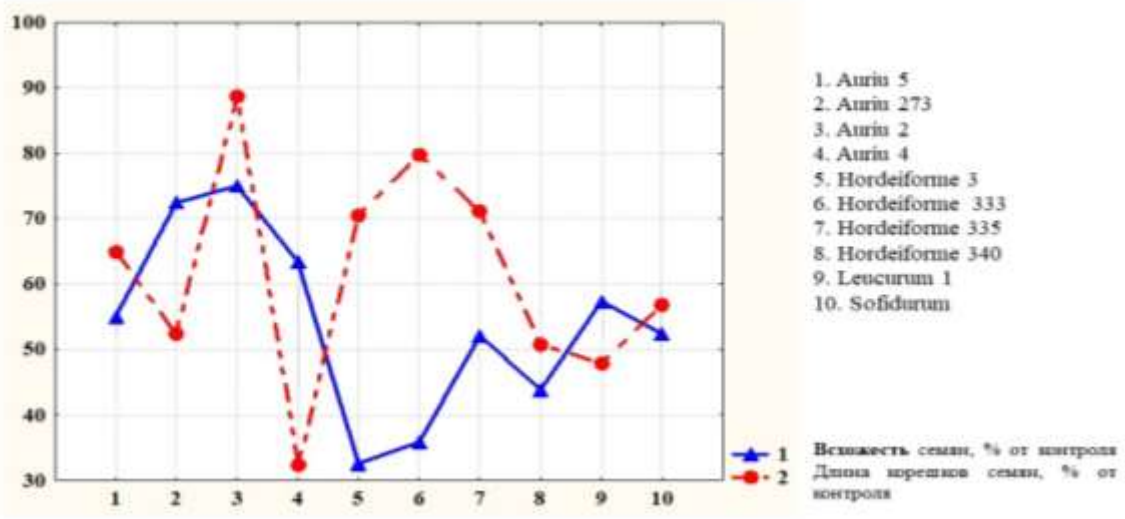


Рис.2. Всхожесть и длина корешков семян после УСТ некоторых генотипов твердой пшеницы (% к контролю).

Образцы Hordeiforme 3, Hordeiforme 333, Hordeiforme 335, Hordeiforme 340 наиболее чувствительны по показателям роста семян и их всхожести после примененной процедуры УСТ. В то же время, образцы Auriu 2, Auriu 4, Auriu 5, Auriu 273 более устойчивы, а Sofidurum и Leucurum 1 занимают промежуточное положение.

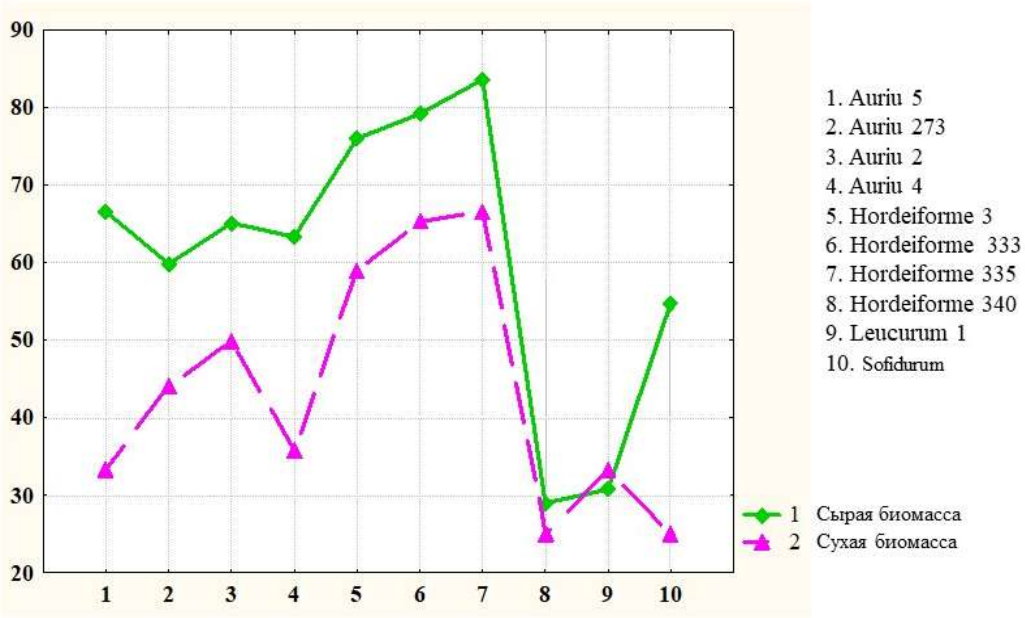


Рис.3. Сырая и сухая биомасса корешков твердой пшеницы после УСТ, % к контролю.

Показатели сырой и сухой биомассы корешков после применения УСТ семян также выявили генотипические реакции у твердой пшеницы (Рис.3). Сходным образом, как и в случае со всхожестью семян и длиной корешков, результаты сгруппировались в 3 группы. К первой можно отнести сорта Auriu 2, Auriu 4, Auriu 5, Auriu 273 как менее чувствительные к старению семян. Более чувствительными оказались генотипы Hordeiforme 3, Hordeiforme 333, Hordeiforme 335, Hordeiforme 340, в средней группе по значениям этих параметров оказались генотипы Sofidurum и Leucurum 1.

Из литературы известно, что по выходу электролитов из семян можно проводить оценку их жизнеспособности [8]. Кондуктометрический метод позволяет оценить целостность клеточных мембран по выходу электролитов. По мере того как семена гидратируются, способность их клеточных мембран к восстановлению повреждений, полученных в период созревания и хранения, будет влиять на степень выхода электролитов (таких как сахарофосфаты, аминокислоты, ионы К+ и т.п.). Следовательно, чем выше скорость, с которой семена могут восстанавливать целостность мембран, тем ниже выход электролитов и тем лучше качество семян [8]. Данные закономерности выявлены и в наших опытах – после проведения УСТ семян твердой пшеницы, были обнаружены различия между генотипами. Полученные результаты, представленные на Рис.4, показывают различия выхода электролитов между контролем и опытом при экспозициях набухания семян 24 часа и 48 часов. Наибольшее увеличение электропроводности опытных растворов с состаренными семенами по сравнению с нормальными семенами обнаруживалось после замачивания семян в течение 48 часов. У образцов Hordeiforme 3, Hordeiforme 333 этот показатель составил 112,5 и 128,3% по отношению к контролю.

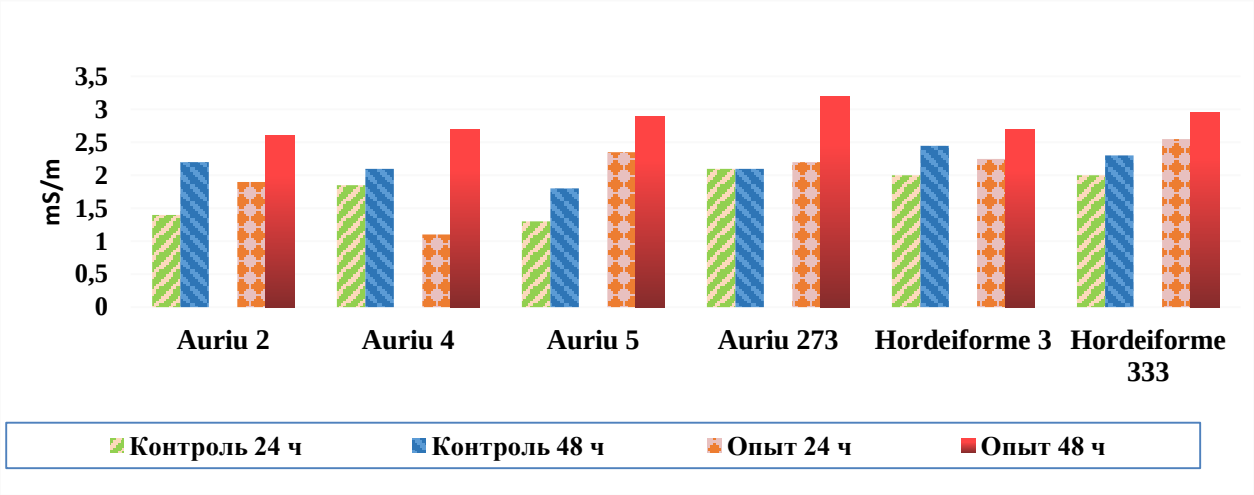


Рис.4. Электропроводность растворов с замоченными семенами твердой пшеницы в контроле и после теста на УСТ, mS/m.

В то же время, у таких коллекционных форм как Auriu 2, Auriu 4, Auriu 5, Auriu 273 увеличение электропроводности растворов с семенами составило 118,2-161,1% по отношению к контролю. Таким образом, тест на электропроводность растворов с семенами может быть использован для оценки потенциала хранения семян твердой пшеницы. Существенные колебания данных по электропроводности растворов в опытных и в контрольных вариантах свидетельствуют об индивидуальной реакции коллекционных образцов на старение.

Таким образом, исходя из всех вышеописанных полученных результатов, следует, что такие параметры, как энергия прорастания и всхожесть семян, длина корешков, сырая и сухая биомасса корешков, а также выход электролитов, различались после УСТ в зависимости от генотипа. На основании полученных данных был проведен кластерный анализ, в результате которого выделены три группы генотипов твердой пшеницы (Рис.5). К генотипам с наибольшим потенциалом хранения можно отнести образцы Auriu 5, Auriu 273, Auriu 4, Sofidurum, к промежуточной группе – Auriu 2, Hordeiforme 3, Hordeiforme 333, Hordeiforme 335, а более чувствительными генотипами оказались Hordeiforme 340, Leucurum 1.

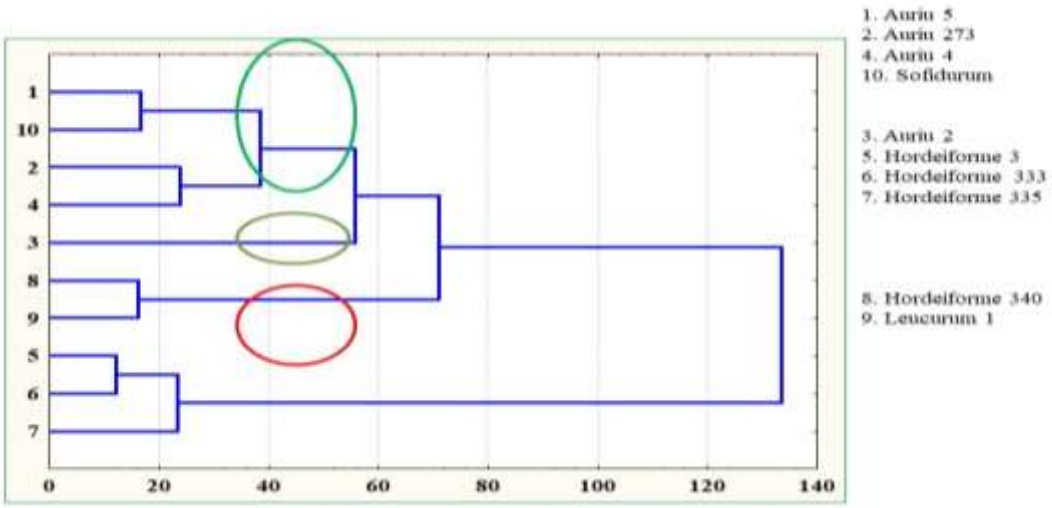


Рис.5. Кластерный анализ реакции образцов твердой пшеницы по значимым параметрам (всхожесть семян, длина корешков, сырая и сухая биомасса корешков, выход электролитов).

Выводы

Показана возможность прогнозирования потенциала хранения образцов из активных коллекций генетического банка растений по изменению морфофизиологических параметров с помощью применения теста на ускоренное старение семян.

Использование метода УСТ, который заключается в инкубации в течении 72 часов семян при повышенной влажности (90-100%) и температуре воздуха (43^{0}C), позволяет адекватно имитировать воздействие неблагоприятных факторов, играющих решающую роль в старении семян твердой пшеницы.

Существенное увеличение электропроводности растворов с состаренными семенами по сравнению с контролем свидетельствует об индивидуальной специфичности коллекционных образцов твердой ншеницы.

Применение теста на ускоренное старение семян и комплексное изучение его влияния на такие морфофизиологические параметры, как энергия прорастания и всхожесть семян, длина корешков, сырая и сухая биомасса корешков, а также выход электролитов, является важным этапом при закладке семян твердой пшеницы на длительное хранение в генетический банк растений.

Литература:

1. БУХАРОВ, А., БАЛЕЕВ, Д., БУХАРОВА, А. Кинетика прорастания семян. Методы исследования и параметры. В: *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*, 2017, вып.2, с.5-19. ISSN 0021-342X2
2. International rules for seed testing. Edition 2004. The International Seed Testing Association (ISTA), Switzerland. 2004, 310 p.
3. СМОЛИКОВА, Г.Н. Применение метода ускоренного старения для оценки семян к стрессовым воздействиям. В: *Вестник СПбГУ*, 2014, вып.2, сер.3, с.82-93.
4. АЛЕКСЕЙЧУК, Г.Н. *Сила роста семян зерновых культур и ее оценка методом ускоренного старения*. Минск: Право и экономика, 2009. 44 с. ISBN 978-985-442-647-1
5. HAMPTON, J.G., TEKRONY, D.M. *Handbook of vigor test methods. International Seed Testing Assn*. Zurich, Switzerland, 1995. 120 p.
6. *International rules for seed testing*. Москва: Колос, 1984. 310 с.
7. DASCALIUC, A., CUZA, P. Determinarea termotolerantei la gorun si stejarul pedunculat cu ajutorul metodei de scurgere a electrolitilor. În: *Mediul Ambiant*, 2007, nr.6(36), p.27-31.
8. АЛЕКСЕЙЧУК, Г.Н., ЛАМАН, Н.А. Механизмы старения семян при неблагоприятных условиях хранения. В: Сб. науч. тр.: Ботаника (исследования) / Ин-т экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАНБ / под ред. Н.А. Ламана. Минск: Право и экономика, Вып.36, 2008, с.311-325.

Примечание: Исследования проведены в рамках проекта Государственной Программы *Длительное сохранение генетических ресурсов растений в генном банке с использованием методов молекулярной биологии в тестировании состояния здоровья растительной зародышевой плазмы*, 20.80009.5107.11, финансируемой Национальным Агентством по Исследованиям и Развитию.

Данные авторов:
Лолита МЕЛИЯН, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория генетических ресурсов растений, Институт генетики, физиологии и защиты растений.
E-mail: lolitamelian@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9192-0560
Людмила КОРЛЭТЯНУ, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория генетических ресурсов растений, Институт генетики, физиологии и защиты растений.
E-mail: lcorlateanu@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-1018-1832
Виктория МИХЭИЛЭ, научный сотрудник, лаборатория генетических ресурсов растений, Институт генетики, физиологии и защиты растений.
E-mail: victoriamihaila373@gmail.com
ORCID: 0000-0003-3984-9477
Анатолие ГАНЯ, доктор биологических наук, заведующий лабораторией генетических ресурсов растений, Институт генетики, физиологии и защиты растений.
E-mail: anatol.ganea@gmail.com
ORCID: 0000-0002-8658-6879
Сильвия РОТАРЬ, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория прикладной генетики, Институт генетики, физиологии и защиты растений.
E-mail: rotari.1960@mail.ru

Prezentat la 26.07.2022