

Влияние криоконсервации на всхожесть семян *Glycyrrhiza glabra* L.

Корзина Н.В. *, к.б.н., зав. лаб. морфогенеза и депонирования растений *in vitro*;
Иванова Н.Н., к.б.н., с.н.с.

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН», Ялта, Россия

*email: natali.korz@yandex.ru

В 2024 году в НБС-ННЦ начаты исследования по изучению отдельных этапов криоконсервации семян дикорастущего вида *Glycyrrhiza glabra* L. Оценка лабораторной всхожести семян показала, что глубокое замораживание не оказало значительного влияния на жизнеспособность в сравнении с контрольным вариантом, однако способствовало увеличению периода прорастания. Всхожесть в контроле составила 40,7 %, после погружения в жидкий азот – 38,6 %.

Ключевые слова: *Glycyrrhiza glabra* L., проросток, сверхнизкая температура, семена.

Influence of cryopreservation on the germination of *Glycyrrhiza glabra* L. seeds

Korzina N.V. *, Ph.D., Head. lab. morphogenesis and deposition of plants *in vitro*;
Ivanova N.N., Ph.D., senior researcher.

FGBUN Order of the Red Banner of Labor Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Yalta, Russia

*email: natali.korz@yandex.ru

The research was carried out at the NBG-NSC to study individual stages of cryopreservation of seeds of the wild species *Glycyrrhiza glabra* L. in 2024. The evaluation of laboratory seed germination showed that deep freezing did not have a significant effect on viability compared to the control option, but contributed to an increase in the germination period. Germination in the control was 40,7 %, after immersion in liquid nitrogen – 38,6 %.

Key words: *Glycyrrhiza glabra* L., seedling, ultra-low temperature, seeds.

Угроза биоразнообразию в условиях возрастания антропогенной нагрузки и климатических изменений актуализирует задачу по сохранению дикорастущих редких и эндемичных видов. Применение биотехнологических методов в сочетании с долговременным хранением семенного материала при сверхнизких температурах является одним из способов решения этой проблемы [1–6]. Целью настоящей работы являлось исследование влияния жидкого азота (–196 °C) на всхожесть семян редкого вида Крыма *Glycyrrhiza glabra* L.

В качестве объекта исследования использовали семена редкого вида Крымской флоры солодки голой *Glycyrrhiza glabra* L. Вид псаммофитона, литоралофитона, галофитона. Ксеромезофит, гелиофит. В заказнике «Арабатский» и на Камыш-Бурунской косе формирует моноценозы с проективным покрытием от 60–80 % до 100 %. Размножается вегетативно, редко семенами. Согласно Красной книге факторами угроз для данного вида является антропогенное воздействие на природные экотопы [7]. Сбор семян проводился в августе–сентябре 2020 г. Образцы хранили при температуре 4 ± 1 в бумажных пакетах, вложенных в полиэтиленовые пакеты с Zip-lock застежкой в холодильнике Indesit DF 5201 X RM. Срок хранения составил 36 месяцев.

Для определения всхожести семян их разделили на 3 партии по 10 шт. в каждой ($n=30$), в рулоне из фильтровальной бумаги ставили в стакан с дистиллированной водой, который помещали в климатическую камеру с температурой $24\text{ }^{\circ}\text{C}$. Энергию прорастания (ЭП) семян фиксировали через 3 суток, лабораторную всхожесть (ЛВ) – через 7 суток. Для семян после погружения в жидкий азот ЭП и ЛВ посчитывали через 3 и 9 суток.

Вычисление ЭП проводили по формуле: $\text{ЭП} = \frac{n}{N} * 100\%$,

где n – количество семян, проросших за 1/2 или 1/3 срока проращивания, N – общее количество семян в опыте.

Вычисление ЛВ выполняли по аналогичной формуле, предварительно удаляя проросшие и погибшие семена. Жизнеспособность семян оценивали, суммируя проценты ЭП и ЛВ [8, 9].

В опыте по криосохранению проводили закаливание семян в морозильной камере при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 14 суток. Семена *G. glabra* распределяли в криопробирки по 35 шт. ($n=70$) и погружали в жидкий азот ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) на 3 часа. Размораживание криопробирок с семенами выполняли двумя способами: 1) при комнатной температуре в течение 30 мин; 2) погружением в теплую воду (температура $40\text{ }^{\circ}\text{C}$) на 1 мин.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью STATISTICA for Windows 10.0 (StatSoft, Inc).

Известно, что семена постепенно теряют всхожесть с течением времени даже в условиях хранения при низких положительных температурах ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) Также семена многих видов не имеют ярко выраженного покоя, но энергия прорастания их низка в силу их неоднородности, в том числе, по степени зрелости [10]. У дикорастущих растений растянутость периода прорастания выражена особенно сильно. В связи с этим для семян, хранящихся в течение четырех лет при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, провели опыт на определение энергии прорастания и всхожести.

Все семена ($n=30$), помещенные в рулоны фильтровальной бумаги, через 3 суток увеличились в размерах, у 5 шт. проклюнулся зародышевый корешок,

что соответствует 16,7 % энергии прорастания у солодки голой. Для определения лабораторной всхожести проросшие и погибшие семена удаляли, оставшиеся повторно помещали в бумажный рулон, который погружали в емкость с водой.

Измерение лабораторной всхожести *G. glabra* через 7 суток показало прорастание еще 24% семян, оставшиеся были набухшими и потемневшими. Таким образом, процент жизнеспособности *G. glabra* составил 40,7 % ($\text{ЭП} + \text{ЛВ} = 16,7 + 24,0$) по данным 7 суток измерений.

Развитие проростков из семян *G. glabra*, прошедших обработку сверхнизкой температурой $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, наблюдали во всех исследуемых условиях размораживания: оттаивании при комнатной температуре и в теплой воде. Через трое суток наблюдали 3 основных состояния семян после воздействия жидким азотом: 1) плотные, темно-коричневые, без визуальных изменений; 2) набухшие, увеличившиеся в размерах; 3) семена с появившимся зародышевым корешком. ЭП в варианте размораживанием при комнатной температуре составила 2,9 % ($n=35$), при погружении в воду – 11,4 % ($n=35$). ЭП всех семян в опыте составила 7,14 % ($n=70$).

Визуальный анализ семенного материала спустя 9 суток показал, что проростки исследуемого вида *G. glabra* имели хорошо развитый главный корень без значительных повреждений или деформаций, отмечено раскрытие семядолей желтого цвета и формирование корневых волосков (рис. 1).



Рис. 1. Этапы развития семян *G. glabra* в течение 9 суток после криообработки: А – набухание семени; Б – разрыв кожуры; В, Г – удлинение гипокотилия; Д – вынос семядолей; Е – разворачивание семядолей. Масштаб 1 см

Лабораторная всхожесть проростков после оттаивания при комнатной температуре и в воде составила 40,0 и 22,9 % ($n = 35$) соответственно, процент проросших семян в разных условиях через 9 суток – 42,9 и 34,3 %. Статистическая разница между вариантами размораживания семенного материала оказалась незначительна, и не позволяет оказать предпочтение какому-либо из них на данном этапе исследований. ЛВ всех развившихся после криообработки семян составила 38,6 % ($n=70$).

Развившиеся проростки были высажены в субстрат для проверки на жизнеспособность, спустя 9 суток растения удлинились, появились первые настоящие зеленые листья (рис. 2).



Рис. 2. Проростки *G. glabra*, развившиеся из прошедших криообработку семян *ex situ*

Таким образом, погружение семян редкого вида флоры Крыма *G. glabra* в жидкий азот не привело к заметному снижению энергии прорастания (38,6 %) по сравнению вариантом проращивания в стандартных условиях (40,7 %). При этом необходимо учесть, что не проросшие семена могли изначально быть невсхожими вследствие длительного хранения. Наличие набухших семян и различной степени сформированности проростков свидетельствует о растянутости периода их прорастания. Эксперимент показал, что криоконсервацию можно рассматривать как перспективный способ длительного хранения семян данного вида.

Финансирование: Работа выполнена по Госзаданию FNNS-2022-0002 ФГБУН «НБС-ННЦ» на оборудовании УНУ «Научный центр биотехнологии, геномики и депонирования растений» («ФИТОБИОГЕН») ФГБУН «НБС-ННЦ» (Ялта, Россия).

Список литературы

- 1 Chen S.-L., Luo H.-M., Wu Q., Li C.-F., Steinmetz A. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress and prospects // Chinese Medicine. 2016. Vol. 11. No. 37. P. 2–10. DOI:10.1186/s13020-016-0108-7
- 2 Engelmann F. Present development and use of *in vitro* culture techniques for the conservation of plant genetic resources // Acta Hort. 1997. Vol. 447. P. 471–475. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.447.96
- 3 Sarasan W., Cripps G., Ramsay M., Atherton C., McMichen M., Prendergast G., Rowntree J. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade // *In Vitro Cell. Biol. Plant*. 2006. Vol. 42. N 3. P. 206–214. DOI:10.1079/IVP2006769
- 4 Cruz-Cruz C.A., González-Arno M.T., Engelmann F. Biotechnology and Conservation of Plant Biodiversity // Resources. 2013. Vol. 2. P. 73–95. DOI:10.3390/resources2020073
- 5 Romadanova N., Kushnarenko S., Karasholakova L. Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit *in vitro* // Cellular & Developmental Biology. 2017. Vol. 53. No 4. P. 382–393. DOI:10.1007/s11627-017-9849-y

- 6 Ковальчук И.Ю., Кушнарченко С.В., Турдиев Т.Т., Мухитдинова З.Р., Фролов С.Н., Романована Н.В., Рид Б.М. Создание криобанка гермоплазмы плодовых и ягодных культур: Методические рекомендации. Алматы, 2011. 44 с.
- 7 Красная книга Республики Крым. Растения, водоросли и грибы / Отв. ред. д.б.н., проф. А.В. Ена и к.б.н. А.В. Фатерыга. Симферополь: ООО «ИТ «АРИАЛ». 2015. 480 с.
- 8 Кушнарченко С.В., Мухитдинова З.Р., Аралбаева М.М. Криоконсервация семян. Методические рекомендации. Алматы: TST-Company, 2011. 33 с.
- 9 Справочник по проращиванию покоящихся семян / М.Г. Николаева, М.В. Разумова, В.Н. Гладкова; Отв. ред. М.Ф. Данилова. Л.: Наука: Ленингр. отд-ние, 1985. 348 с.
- 10 Дорогина О.В., Елисафенко Т.В. Некоторые аспекты изучения биологии прорастания семян редких и исчезающих видов // Криохранение семян: итоги и перспективы. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2014. С. 92–99.

DOI 10.18699/GPB2024-43

Скрининг сортов *Linum usitatissimum* L. по комбинационной способности в системе диаллельных скрещиваний

*Королев К.П. *, к.с.-х.н., н.с.; Боме Н.А., д.с.-х.н., профессор, зав. кафедрой.
ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия
email: korolevkonstantin799@gmail.com

Представлены результаты оценки сортов льна по общей и специфической комбинационной способности. Выделены генотипы с положительными эффектами ОКС и СКС у льна-долгунца (Ярок, Грант, Betertelsdorf 6884/60) и льна масличного (Северный, Нилин, Бирюза) по отдельным количественным признакам.

Ключевые слова: лен, гибридизация, комбинационная способность, продуктивность.

Screening of *Linum usitatissimum* L. varieties for combining ability in a system of diallelic crosses

*Korolev K.P. *, Candidate of Agricultural Sciences, Researcher; Bome N. A., Doctor of Agricultural Sciences, Head. Departments.*

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Tyumen State University, Tyumen, Russia

**email: korolevkonstantin799@gmail.com*

The results of assessing flax varieties for general and specific combining ability are presented. Genotypes with positive effects of GCA and SCA were identified in fiber flax (Yarok, Grant, Betertelsdorf 6884/60) and linseeds (Severny, Nilin, Biryuz) based on individual quantitative traits.

Key words: flax, hybridization, combinative ability, productivity.