

**ПРИМЕНЕНИЕ ПРИРОДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ  
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СЕМЯН ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР  
ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ**

*Людмила КОРЛЭТЯНУ*

*Центр генетических ресурсов растений. Институт генетики и физиологии растений АН Молдовы*

În articol sunt prezentate date științifice privind acțiunea glicozidelor steroidice asupra proceselor primare ale metabolismului semințelor plantelor leguminoase (tomate, castraveți) în condițiile conservării lor *ex situ*. S-a evidențiat acțiunea stimulatorie a bioreglatoarelor naturale *Moldstimul*, *SG<sub>1</sub>* și s-au stabilit concentrațiile lor optime. Prelucrarea semințelor îmbătrânite cu aceste glicozide majorează energia de creștere și germinația semințelor, optimizează procesul de scurgere a electroliților. Rezultatele obținute permit a recomanda *Moldstimul* și *SG<sub>1</sub>* pentru sporirea viabilității semințelor de tomate și castraveți după păstrarea lor îndelungată în băncile de gene.

The data on the influence of the steroid glycosides on the initial processes of the metabolism in seeds of the vegetable crops (tomato, cucumber) under the *ex situ* conservation are presented in the article. The stimulating action of the natural bioregulators *Moldstim* and *SG<sub>1</sub>* was displayed and their optimal concentrations were revealed. The treatment of the old seeds with these glycosides increased the germination power and germination of seeds, promoted the optimization of the process of electrolyte leakage. The obtained experimental data allows us to recommend *Moldstim* and *SG<sub>1</sub>* for the increase of the viability of tomato and cucumber seeds after their long-term storage in plant genebanks.

Консервация *ex situ* зародышевой плазмы растений в генетических банках является очень важной проблемой, успешное решение которой способствует рациональному сохранению внутривидового и межвидового биоразнообразия. Большинство генетических банков растений преследуют главную цель: обеспечить селекционеров необходимым коллекционным материалом для создания более урожайных, более устойчивых сортов и гибридов, а также помочь экологам сохранить популяции, находящиеся на грани исчезновения, до тех пор, пока они не будут реинтродуцированы в прежнюю естественную среду [1].

Сохранение генетического разнообразия растений также необходимо для создания ландшафтов путем интродукции видов, адаптированных к изменяющимся условиям среды [2]. Учеными разных стран проводится значительная работа в этом направлении, разрабатываются современные стратегии консервации *ex situ* зародышевой плазмы растений. Речь идет о подборе оптимальных режимов сохранения гермоплазмы растений (температура и влажность воздуха, продолжительность хранения и др.), о биологическом описании генетического материала, о поддержании его в активном состоянии [3,4].

В случае невозможности воспроизведения ценных генетических источников и в связи с проблемами старения крайне необходимы методы и приемы повышения жизнеспособности семян после их длительного хранения. Для этих целей используются факторы различной природы, обеспечивающие повышение адаптивного потенциала генотипа (химические и физические).

Одним из химических методов активизации первичных процессов метаболизма старых семян является применение биологически активных веществ (БАВ). В последние годы на растительных объектах все чаще используют природные биорегуляторы – стероидные гликозиды (СГ), обладающие полифункциональным спектром действия [5]. СГ накапливаются в различных органах растений и локализируются в клетках и клеточных мембранах [6]. В зависимости от концентрации и структуры гликозиды могут обладать стимулирующим или ингибирующим действием на семена растений [7,8]. Было выявлено положительное влияние данных регуляторов на жизнеспособность пыльцы, на процессы прорастания семян, устойчивость и продуктивность сельскохозяйственных растений [9,10]. Некоторые гликозиды проявляют иммуномодулирующие свойства, являясь хорошими экзоиндукторами комплексной устойчивости растений к биотическим и абиотическим факторам [11].

Целью данной работы было изучение природных биорегуляторов на примере стероидных гликозидов в качестве экзогенных индукторов, повышающих жизнеспособность семян овощных культур в условиях консервации *ex situ*. В задачи исследований входило тестирование эффективности некоторых стероидных гликозидов и выявление их оптимальных концентраций при действии на старые семена.

### Материал и методы

Объектами исследований являлись семена районированных сортов томата (сорт Викторина) и огурца (сорт Кустовой) после длительного хранения в генетическом банке растений. Использовались старые семена томата репродукции 1989 года и семена, подвергнутые ускоренному старению (УСТ) по методике, описанной Schoettle A.W., Leopold A.D. [12]. Концепция этой методики заключается в том, что семена помещают в условия повышенной температуры и влажности, и они проходят процесс старения в более короткие сроки.

УСТ семян томата проводили при следующих условиях среды: температура воздуха 41°C, относительная влажность воздуха 90-100%, продолжительность старения 72 часа. На старых семенах испытывали действие стероидного гликозида Молдстима (М) [13] в концентрациях 0,01; 0,05; 0,08; 0,1%, а также химического препарата димексида, который применяли в 5, 10 и 20%-ных растворах отдельно и в смеси с 0,05%-ным раствором Молдстима.

В опытах со старыми семенами огурца (репродукция 1988 года) изучалось влияние стероидных гликозидов SG<sub>1</sub>, SG<sub>2</sub> и SG<sub>3</sub> в концентрациях 0,1; 0,05; 0,01; 0,001%.

Семена томата и огурца замачивали в водных растворах гликозидов в течение 24 часов. Контролем являлись семена, замачиваемые в дистиллированной воде. Количество семян в каждом варианте опыта составляло 200-300 штук. После обработки СГ семена проращивали в чашках Петри в термостате при температуре 25°C. Анализ энергии прорастания и всхожести семян проводили согласно международным правилам ISTA [14]. Выход электролитов из семян определяли согласно методике С.Ф. Негруцкого и др. с использованием мегомметра [15]. Для цитологического анализа корешки семян фиксировали в фиксаторе Кларка, а затем готовили временные ацетокарминовые препараты по методике З.П. Паушевой [16]. Учитывали частоту и спектр хромосомных aberrаций в ана-телофазе первых митозов зародышевых корешков.

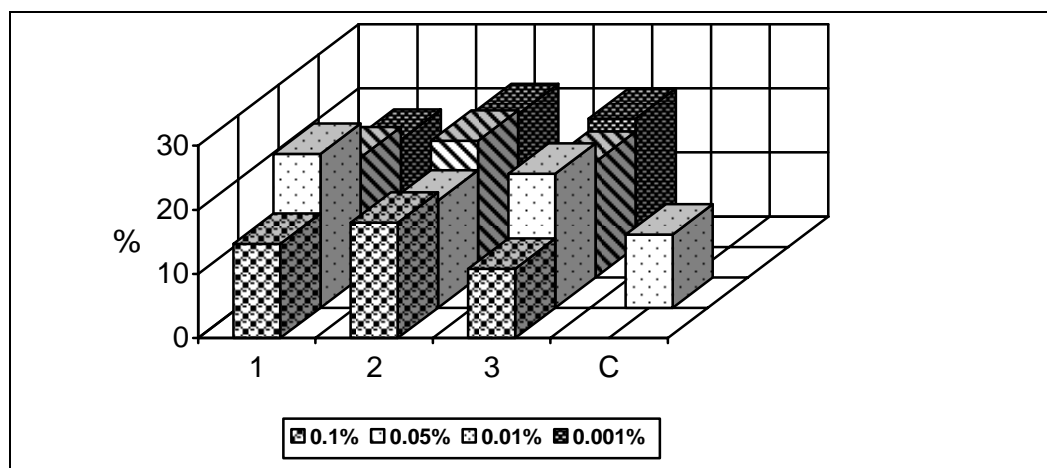
### Результаты и обсуждение

На семенах огурца (сорт Кустовой) репродукции 1988 года изучалось действие трех стероидных гликозидов (SG<sub>1</sub>, SG<sub>2</sub> и SG<sub>3</sub>), выделенных из семян *Solanum sysimbrifolium* L. Результаты проведенных опытов показали, что все тестируемые гликозиды оказывают стимулирующее действие на первичные процессы метаболизма семян. Это относится к таким физиологическим параметрам, как энергия прорастания, полная всхожесть, рост проростков.

Стимуляционный эффект гликозидов на старых семенах огурца проявился при всех изучаемых концентрациях: 0,1; 0,05; 0,01; 0,001% (рис.1). Исключение составили только семена, обработанные SG<sub>2</sub> и SG<sub>3</sub> в концентрации 0,1%, т.к. в этих вариантах природные биорегуляторы проявили незначительный ингибирующий эффект на энергию прорастания. В то же время на полную всхожесть семян 0,1%-ная обработка SG<sub>2</sub> оказала положительное действие (всхожесть повысилась по отношению к контролю более чем в 1,5 раза), а при применении SG<sub>3</sub> процент всхожести был на уровне контроля. Интересно отметить, что из всех четырех применяемых концентраций SG<sub>1</sub>, SG<sub>2</sub> и SG<sub>3</sub> максимальная концентрация (0,1%) оказала минимальное стимулирующее действие на процессы прорастания старых семян огурца. Максимальный стимулирующий эффект проявился при замачивании семян в 0,05%-ных растворах SG<sub>1</sub> и SG<sub>3</sub>. Полная всхожесть семян в этих случаях превышала контроль соответственно в 2,1 и 1,8 раза. Сравнение действия различных концентраций SG<sub>2</sub> на процессы прорастания показало, что наибольшее стимулирование достигалось при обработке семян 0,01%-ным раствором. Полная всхожесть семян при этом превосходила контроль в 1,9 раза. Из всех природных биорегуляторов, протестированных на старых семенах огурца, наибольшую активность проявил стероидный гликозид SG<sub>1</sub> в концентрации 0,05%. Энергия прорастания семян после обработки возростала по сравнению с контролем в 1,8, а полная всхожесть – в 2,1 раза.

Важным показателем физиологического состояния семян является проницаемость мембран клеток, которую можно использовать в качестве теста на старение семян. Следовательно, выход электролитов, вымываемых из тканей растений в дистиллированную воду, может характеризовать функциональный статус различных биологических объектов. Было обнаружено увеличение выхода электролитов из клеток старых семян огурца по сравнению с нормальными семенами, т.к. сопротивление раствора в первом случае было меньше на 0,22 МОм. Это является прямым доказательством нарушения проницаемости протоплазматических мембран клеток семян при старении. Обработка СГ несколько снизила выход электролитов из клеток семян во многих вариантах; в среднем сопротивление раствора возростало на

0,18 МОм. Варианты обработки семян СГ, оказавшиеся стимуляционными по энергии прорастания и всхожести, характеризовались более высокими значениями сопротивления раствора. Следовательно, после обработки природными биорегуляторами происходило уменьшение выхода электролитов из семян.



**Рис.1.** Влияние стероидных гликозидов на всхожесть старых семян огурца, %.  
Условные обозначения: 1 – SG<sub>1</sub>; 2 – SG<sub>2</sub>; 3 – SG<sub>3</sub>; C – контроль.

Возможность повышения жизнеспособности семян томата с помощью СГ изучалась на естественно состаренных (ЕСТ) и УСТ семенах. После проведения УСТ всхожесть семян понизилась по сравнению с нормальными в среднем почти на 30%, что указывает на то, что условия искусственного старения были подобраны правильно. Иногда они могут быть специфичными для каждого генотипа.

В данных экспериментах изучалось влияние Молдстима, применяемого в концентрациях 0,01; 0,05; 0,08; 0,1%, на процессы прорастания ЕСТ и УСТ семян томата. Из данных, представленных в таблице 1, видно, что почти во всех вариантах обработки ЕСТ семян Молдстимом различия статистически недостоверны за исключением варианта 0,08%, где превышение по энергии прорастания составило 16,2% по отношению к контролю. Стимулирующий эффект в этом варианте был подтвержден по параметру полной всхожести (всхожесть превышала контроль на 16%). Интересно отметить, что при дальнейшем возрастании концентрации Молдстима (до 0,1%) наблюдалось ингибирование процессов прорастания семян: и энергия прорастания, и всхожесть понижались до уровня контроля. Цитологический анализ ЕСТ семян томата показал, что в вариантах с Молдстимом частота aberrаций хромосом достоверно ниже, чем в контрольном варианте. По спектру хромосомных aberrаций наблюдалось преобладание одиночных хромосомных мостов, несколько реже отмечались двойные хромосомные мосты и отставание хромосом. Одновременно был проведен опыт с УСТ семенами томата (табл.2). Максимальный эффект на процессы прорастания семян также был обнаружен при применении раствора Молдстима в концентрации 0,08%. Энергия прорастания семян в этом случае возрастала по отношению к контролю на 19%. Эта же концентрация Молдстима оказалась стимулирующей и при определении полной всхожести семян, которая превышала контроль на 10,3%. Характерно, что дальнейшее повышение концентрации препарата, как и в предыдущем эксперименте, привело к угнетению процессов прорастания. Таким образом, у ЕСТ и УСТ семян томата наблюдалась аналогичная динамика изменения ростовых процессов при использовании одних и тех же концентраций стероидного гликозида.

**Таблица 1**

**Влияние стероидного гликозида Молдстима на энергию прорастания и всхожесть семян томата, %, (сорт Викторина 1989 г. репродукции)**

№ варианта	Концентрация Молдстима, %	Энергия прорастания, %	Всхожесть семян, %
1.	0,01	38,7±2,2	75,0±3,2
2.	0,05	40,0±2,9	78,2±4,1
3.	0,08	45,2±2,4	89,1±3,8
4.	0,1	39,4±2,9	74,3±3,6
5.	Контроль (дист. вода)	38,9±3,1	73,1±4,0

Таблица 2

**Энергия прорастания и всхожесть ускоренно состаренных семян томата (сорт Викторина) после обработки стероидным гликозидом Молдстимом, %**

№ варианта	Концентрация Молдстима, %	Энергия прорастания, %	Всхожесть семян, %
1.	0,01	28,3±1,4	69,0±2,8
2.	0,05	33,5±2,6	72,9±3,5
3.	0,08	39,9±2,4	78,5±3,9
4.	0,1	33,8±2,0	73,1±4,4
5.	Контроль (дист. вода)	33,5±1,9	68,2±2,4

В отдельном опыте изучалось влияние на старые семена томата химического препарата димексида (Д), обладающего способностью повышать проницаемость мембран для молекул химических веществ. Препарат применяли в 5, 10 и 20%-ных растворах отдельно и совместно с 0,05%-ным раствором Молдстима. Из всех изучаемых вариантов отдельного и совместного применения препаратов выделялась лишь одна комбинация: это смесь 5%-ного димексида и 0,05%-ного Молдстима, которая активизировала процессы прорастания старых семян томата (табл.3).

Таблица 3

**Всхожесть семян томата сорта Викторина (репродукция 1989 года) при отдельном и совместном применении димексида (Д) и Молдстима (М), %**

№ варианта	Концентрация БАВ, %	Всхожесть семян, %		
		5 день (энергия прорастания)	11 день	13 день
1.	Д 5%	18,0±0,9	76,0±3,3	78,0±2,9
2.	Д 10%	14,8±0,5	69,2±3,2	70,1±3,2
3.	Д 20%	19,2±0,4	77,0±2,8	78,2±3,0
4.	Д 5%+М 0,05%	30,0±1,7	86,1±4,2	88,0±3,5
5.	Д 10%+М 0,05%	10,1±0,9	66,3±3,1	70,8±3,3
6.	Д 20%+М 0,05%	11,9±0,7	66,0±2,4	69,6±3,1
7.	М 0,05%	21,2±1,3	79,0±4,1	80,9±3,8
8.	Контроль (дист. вода)	15,0±0,6	74,2±3,5	75,0±3,2

Энергия прорастания семян при этом превышала контроль в 2 раза, а всхожесть возрастала на 13% (опыт – 88%, контроль – 75%). На втором месте по своему стимулирующему эффекту на старые семена находится Молдстим в 0,05%-ной концентрации. Индивидуальная обработка семян данным препаратом также оказала положительное влияние на жизнеспособность старых семян томата. Совместное применение 10 и 20%-ных растворов димексида с 0,05%-ным раствором Молдстима, как и отдельное применение 10%-ного димексида, ингибировало прорастание семян томата.

**Выводы**

1. Установлено стимулирующее действие стероидного гликозида SG<sub>1</sub> в концентрации 0,05% на первичные процессы метаболизма семян огурца в условиях консервации *ex situ*.
2. Выявлен стимулирующий эффект стероидного гликозида Молдстима в концентрации 0,08% на процессы прорастания естественно и ускоренно состаренных семян томата.
3. Частота и спектр хромосомных aberrаций апикальной меристемы зародышевых корешков проросших старых семян томата существенно возрастают по сравнению с нормальными семенами, а обработка Молдстимом способствует достоверному снижению этих показателей.
4. Совместное применение 5%-ного димексида и 0,05%-ного раствора Молдстима оказывает позитивное действие на всхожесть семян томата после их длительного хранения.
5. Таким образом, представляется целесообразным применение стероидных гликозидов SG<sub>1</sub> и Молдстима для повышения жизнеспособности семян огурца и томата при консервации *ex situ*.

**Литература:**

1. Агаев М.Г. Основы общей теории дифференциальной мобилизации генофонда особо ценных видов культурных и дикорастущих растений // Генетические ресурсы растений: Межд. научно-практ. конф. - СПб., 2001, с.7-9.
2. Walters, C. Principles for Preserving Germplasm in Genebanks // Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild. Island Press, Covela, CA, 2004, p.113-138.
3. Walters, C. Ex situ Conservation of Plant Genetic Resources // International Symposium on ART for the Conservation and Genetic Managment of Wildlife. Doorly Zoo, Omaha, NE, 2002, p.193-195.
4. <http://www.ecpgr.cgiar.org/publications/gpaeur/pgrc.htm>
5. Кинтя П.К. и др. Структура и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана. - Кишинев: Штиинца, 1987. - 142 с.
6. Veselova et.al. Quantifying the loss of seed viability under various storage conditions // Russ. J. Plant Physiol. - 1995. - Vol. 42. - №4. - P. 547-551.
7. Corlăteanu L., Ganea A., Chintea P. The use of natural bioregulators as inducers of defence reactions in some crops // Tehnologii biologice avansate și impactul lor în economia Moldovei: Materialele simpozionului. - Chișinău, 2002, p.53-55.
8. Corlăteanu L.B. Natural bioregulators – exogenous inductors of seed germination under the ex situ conservation // Plant Agrobiodiversity. - Chisinau, 2006, p.221-232.
9. Бочваров П.З. и др. Сельскохозяйственная биология. - 1983. - №6. - С.66-68.
10. Ганя А.И., Корлэтяну Л.Б., Кинтя П.К. и др. Влияние природного биорегулятора экостима на жизнеспособность старых семян *Cicer arietinum* L. // Межд. научно-практ. конф.: Приоритетные направления в селекции и семеноводстве растений. - Москва, 2003, с.260-262.
11. Лупашку Г.А. и др. Иммуномодуляторная активность стероидных гликозидов // Доклады РАСХН. - 2004. - №4. - С.28 -31.
12. Shoetle A.W., Leopold A.D. // Crop. Sci. - 1984. - Vol.24. - №5. - P.835-838.
13. Preparate chimice și biologice de protecție și stimulare a creșterii plantelor. - Chișinău: Știința, 1997. - 90 p.
14. International rules for seed testing. - Москва: Колос, 1988. - 288 с.
15. Негруцкий С.Ф. и др. Определение проницаемости протоплазмы клеток растений электролитическим путем при помощи мегомметра // Физиол. и биохим. культурн. раст. - 1971. Том 3. - Вып. 4. - С.421-424.
16. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. - Москва: Колос, 1988. - 288 с.

Prezentat la 02.02.2007