

ВУС Н. О.✉, ВАСИЛЕНКО А. О., ШЕВЧЕНКО Л. М.

Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН,

Україна, 60061, м. Харків, пр-т Московський, 142, e-mail: vus.nadezhda@gmail.com✉ vus.nadezhda@gmail.com, (050) 901-53-09**ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ ЗРАЗКІВ НАЦІОНАЛЬНОЇ КОЛЕКЦІЇ СОЧЕВИЦІ ЗА РІВНЕМ ПОСУХОСТІЙКОСТІ НА РОЗЧИНІ ПЕГ-6000 РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ**

Мета. Оцінка зразків національної колекції сочевиці за рівнем посухостійкості на розчині ПЕГ-6000. **Методи.** Пророщування проводили у ростильнях на ложі із фільтрувального паперу за $t = 21$ °С упродовж п'яти діб. Застосовували робочий розчин ПЕГ-6000 концентрацій 15,0 % та 19,5 %. Як контроль використовували насіння, яке пророщували на дистильованій воді. Вимірювали довжину пагона та паростка і розраховували рівень депресії ростових процесів. **Результати.** За пророщування на розчині ПЕГ-6000 концентрації 19,5 % переважна кількість зразків мала показники депресії для пагонів вищі від 85 % та вищі від 60 % для корінців, і тому виокремити толерантні до дії ПЕГ-6000 зразки не вдалося. За пророщування на розчині ПЕГ-6000 за концентрації 15 % помічено більший діапазон варіювання: депресія за показником «довжина корінця» становила від 0 % до 100 %, «довжина пагонів» – від 50 % до 100 %. Розрахований коефіцієнт рангової кореляції Спірмена підтверджує, що пагони, у порівнянні з корінцями, є більш чутливими до дії осмотика в обох варіантах досліду. **Висновки.** Встановлено концентрацію ПЕГ-6000 для виділення джерел та ранжування зразків за посухостійкістю. Виділено джерела посухостійкості – зразки з *subsp. microsperma*: 8-MIL M 5 (UD0600007, Франція), UD0600028 (Ефіопія), Giza 9 (UD0600065, Єгипет) та еталон посухостійкості – зразок Горностепная (UD0600131, Вірменія) *subsp. microsperma*.

Ключові слова: сочевиця, ПЕГ-6000, концентрація, джерела посухостійкості.

Сочевиця – давня традиційна культура України. Нині вона несправедливо забута у виробників через відсутність обладнання для її вирощування та переробки. В світі виробництво сочевиці досягло в 2019 р. 5,7 млн тонн [1]. З огляду на зміни клімату, що стає більш континентальним, та світові тренди розвитку здоро-

вого харчування, попит на високоякісне, корисне до здоров'я насіння сочевиці як культури з високим рівнем посухостійкості стає більш важливим. Для України, як і для всього світу, особливого значення набуває оцінка посухостійкості зразків, добір джерел для створення нових посухостійких сортів [2].

Для оцінки рівня посухостійкості зразків застосовують різноманітні методики. Та на сучасному етапі одним із найбільш ефективних лабораторних методів є метод пророщування на розчинах осмотиків, що дозволяє оцінювати великі обсяги селекційного та колекційного матеріалу незалежно від погодних умов.

Науковці обирають для своєї дослідницької роботи різні варіанти цього методу шляхом застосування різних осмотичних компонентів, концентрацій, експозицій та схем проведення експерименту. Наприклад, в Індії було досліджено 48 зразків сочевиці на розчині ПЕГ-6000 за осмотичного тиску у 9 Бар, в результаті чого було виділено посухостійкі та сприйнятливі до посухи зразки для подальшого використання в селекційній роботі [3].

Для посухостійкої культури нуту грецькі вчені застосували розчини 5 %, 10 %, 20 %, 30 % та 50 % ПЕГ-6000, оцінивши розвиток проростків 10 зразків культури на 7 та 15 добу. Було встановлено, що розмір корінців максимально відображає вплив стресового фактора, а рівень їх розвитку має тісний зв'язок із подальшим ростом рослин. Для оцінки комплексу усіх показників ними було використано індекс життєздатності проростків. У результаті проведених досліджень були виділені джерела посухостійкості [4]. Для оцінки посухостійкості двох сортів томатів вченими були змодельовані умови посухи за допомогою розчину ПЕГ-6000 осмотичним тиском 0,25; 0,5; 0,75 та 1 МПа. У подальшому було досліджено 27 зразків томатів на розчині з осмотичним тиском 0,5 МПа. Оцінка

посухостійкості проведена за відсотком схожості насіння [5].

У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що для сочевиці за ЛД₅₀ робочим розчином ПЕГ-6000 з найвищою диференціюючою здатністю виявилася концентрація 19,5 % [6]. Цей робочий розчин було застосовано для оцінки рівня лабораторної посухостійкості 72 зразків. У результаті було помічено значний вплив на схожість насіння, але провести диференціацію зразків за рівнем посухостійкості та виділити джерела посухостійкості не вдалося через значну депресію ростових процесів у досліджуваних зразках. Для подальшої роботи з метою виділення джерел посухостійкості було вирішено провести дослідження схожості насіння сочевиці на розчині ПЕГ-6000 концентрації 15,0 %.

Матеріали і методи

Досліди проведено в лабораторії генетичних ресурсів зернобобових та круп'яних культур Інституту рослинництва ім В. Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України (ІР НААН). Було досліджено насіння 72 зразків базової колекції сочевиці (*Lens culinaris* Medik.) Національного центру генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ) різного еколого-географічного походження, з них 16 зразків належать до *subsp. macrosperma* та 56 – до *subsp. microsperma*.

Для дослідження використовували насіння урожаю 2019 року.

На сьому добу досліду вимірювали довжину пагона і корінців на контролі і досліді. Рівень депресії ростових процесів за впливу стресового фактора визначали за формулою:

$$Z = 100 - \left(\frac{y}{x} \cdot 100\% \right) [7],$$

де x – середнє значення показника на контролі, y – середнє значення показника на розчині ПЕГ-6000.

Результати та обговорення

За вирощування на розчині ПЕГ-6000 концентрації 19,5 % спостерігали односпрямований вплив осмотика, що призвів до значної депресії ростових процесів практично у всіх зразків. Так, переважна кількість зразків мала показники депресії для пагонів вищі від 85 % та вищі від 60 % для корінців. У ході застосування такої концентрації розчину важко виокремити толерантні до дії ПЕГ-6000 зразки.

На рисунку 1 представлено розподіл зразків у двомірній системі координат, де на осях x та y відображено рівень депресії ростових процесів. Так, переважна більшість зразків згрупована у верхньому правому кватилі, що відповідає високим показникам депресії як корінця, так і пагона (рис. 1).

Лише зразки номер 363 та 1101 значно відрізнялися від загальної вибірки за досліджуваними показниками.

У ході аналізу результатів, що були отримані за пророщування насіння сочевиці на розчині ПЕГ-6000 за концентрації 15 %, помічено більший діапазон варіювання: депресія росту корінців мала показники від 0 % до 100 %, пагонів – від 50 % до 100 %.

На двомірному графіку зразки розподілились більш зосереджено, ніж на рис. 1. і, зразки на графіку утворюють не таку щільну групу (рис. 2).

У зразка номер 363 практично була відсутня депресія за показником кореня і значно зменшилася депресія за показником пагона. На відміну від зразка 363, у зразка 1101 практично не змінилися показники депресії. В інших зразків зменшився рівень депресії показника кореня, але рівень депресії пагона залишився практично незмінним.

Середні показники депресії ростових процесів представлені у таблиці 1.

Показник депресії корінця під час застосування концентрації 19,5 % збільшився у середньому на 19,19 % у порівнянні із показником депресії корінця під час пророщування за концентрації 15,0 %, щодо варіативності показника, то вона зменшилася з 17,73 % до 13,05 %. Вплив на лінійні показники пагона, у порівнянні із корінцем, був значно більшим, а за концентрації у 19,5 % становив 96,25 %. При цьому рівень варіабельності показника депресії пагона становив лише 5,09 %, що може свідчити про односпрямовану реакцію у всіх зразках.

Максимальна кількість зразків сочевиці (53 зразки, 74 %) за пророщування на концентрації 19,5 % має рівень депресії пагона від 95 % до 100 %. Депресія росту корінців для 51 зразка становить 80 %–100 %, а у 15 зразків цей рівень становить 95 %–100 %.

Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена доводить, що пагони, у порівнянні із корінцями, є більш чутливими до стресового фактора, зокрема такого, як концентрація осмотика в обох варіантах досліду (табл. 2).

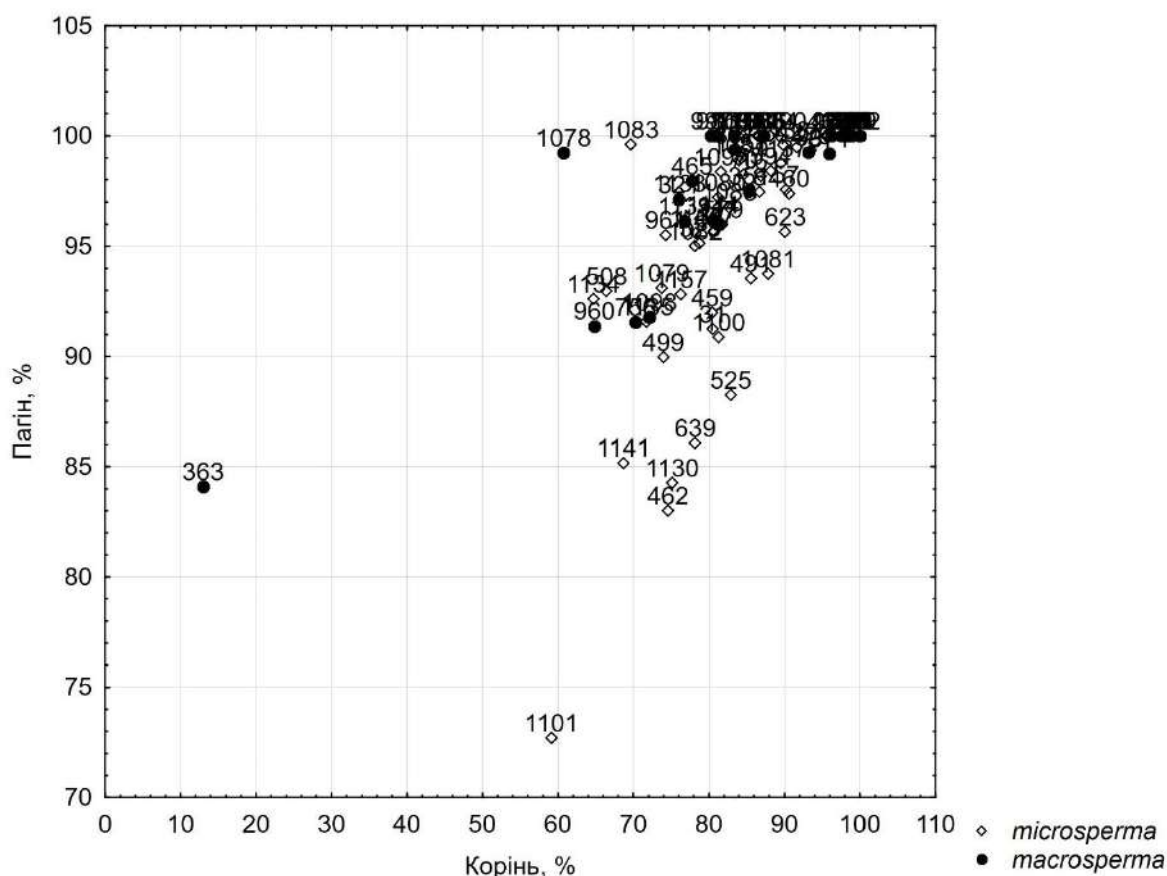


Рис. 1. Розподіл зразків сочевиці за депресією ростових процесів за концентрації ПЕГ-6000 у 19,5 %.

Таблиця 1. Рівні депресії ростових процесів зразків сочевиці у розчинах ПЕГ-6000 концентрації 15,0 % та 19,5 %

Концентрація розчину ПЕГ-6000, %	Корінь		Пагін	
	Середній показник депресії	Ст. відхилення	Середній показник депресії	Ст. відхилення
15,0	63,94	17,73	80,80	12,52
19,5	83,13	13,05	96,25	5,09

Таблиця 2. Рангові кореляції Спірмена

Пари	N	Спірмена-R	t(N-2)
Корінь – 15,0–19,5 %	72	0,27*	
Пагін – 15,0–19,5%	72	0,31*	
Корінь–Концентрація (середнє)	144	0,59*	8,72
Пагін–Концентрація (середнє)	144	0,64*	9,87

Для визначення істотності різниці значень середніх рівнів депресій ознак застосовували порівняння двох незалежних груп показників. Різниця статистично значуща (p менше 0,05), що доводить, що зв'язок між матрицями відсутній, і у ході застосування кожної концентрації можна визначати індивідуальний рівень реакції на стрес.

Для оцінки досліджених зразків, виділення джерел посухостійкості та зразків-еталонів

різних рівнів стійкості до посухи було проведено ранжування зразків за рівнем депресії ростових процесів корінців та пагонів на обох концентраціях осмотика за сумою рангів і принципом: чим вищий рівень депресії, тим нижча посухостійкість. За сумою рангів зразки розподілилися від 4 до 212 (рис. 3).

Досліджені зразки розділили на п'ять класів за сумою рангів, характеристика яких представлена у таблиці 3.

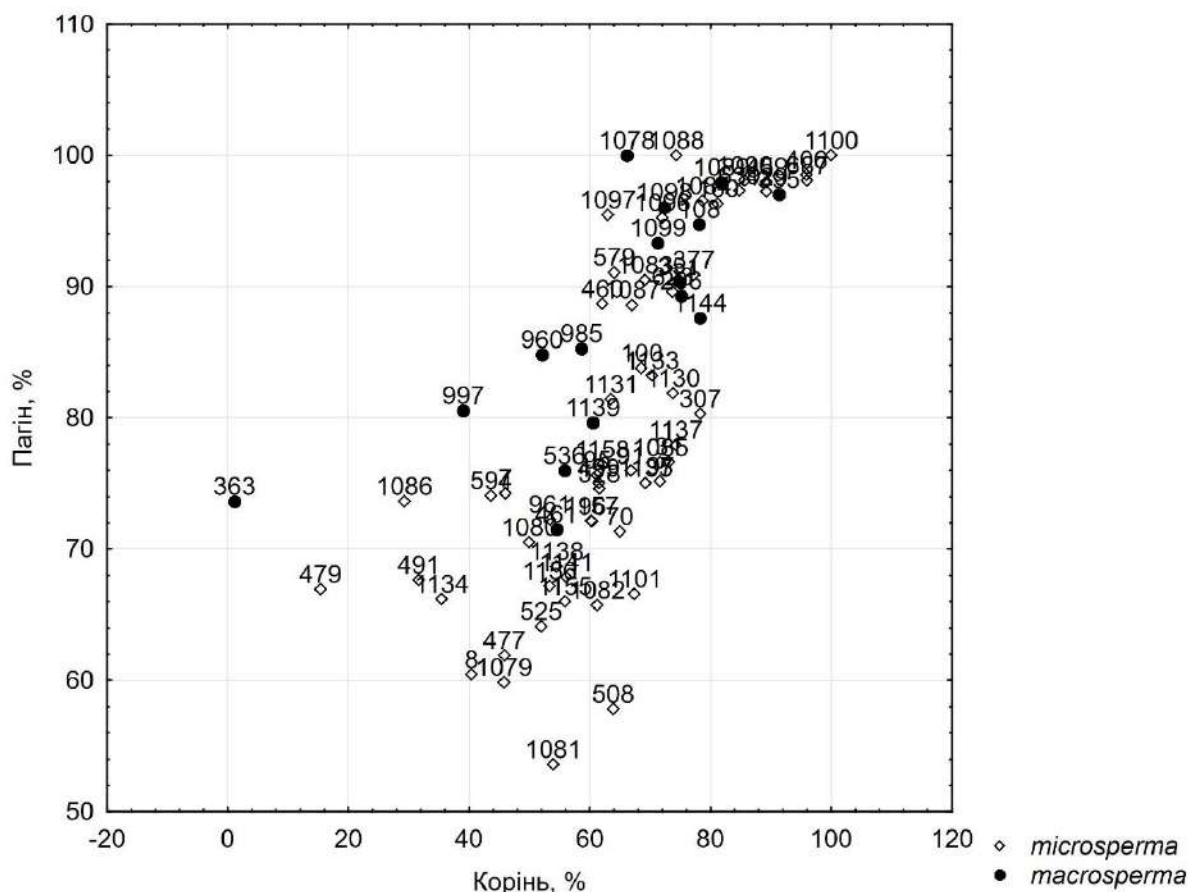


Рис. 2. Розподіл зразків сочевиці за депресією ростових процесів за концентрації ПЕГ-6000 у 15,0 %.

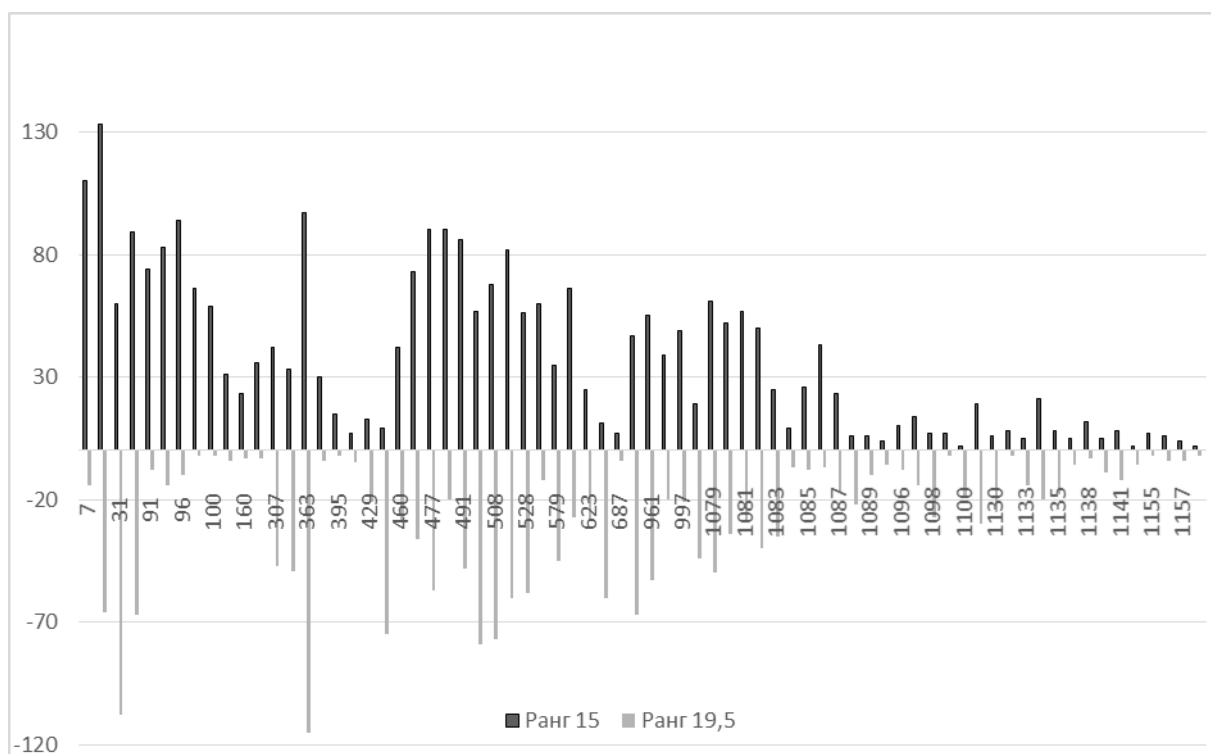


Рис. 3. Рангові значення показника депресії ростових процесів зразків сочевиці на розчинах ПЕГ-6000 концентрацій 15,0 % та 19,5 %.

Таблиця 3. Кількісний розподіл зразків сочевиці за сумою рангів

Сума рангів	Характеристика зразка	Кількість зразків
від 0 до 50	сприйнятливі до посухи	35 зразків
50–100	низький рівень посухостійкості	20 зразків
100–150	середньо стійкі	13 зразків
150–200	посухостійкі	3 зразки
вище 200	дуже посухостійкі	1 зразок

Зразків із сумою рангів вищою від 150 в дослідженій вибірці було лише три, і їх можна вважати джерелами посухостійкості та використовувати в подальшій селекційній роботі. Це зразки з subsp. *microperma*: 8-MIL M 5 (UD0600007, Франція), (UD0600028, Ефіопія), Giza 9 (UD0600065, Єгипет). Зразок із максимальною сумою рангів 212, що також належить до subsp. *microperma*, – Горностепная (UD0600131, Вірменія), його можна вважати еталоном посухостійкості.

Висновки

Таким чином, для диференціації зразків сочевиці можна використовувати два робочих розчини ПЕГ-6000 (залежно від мети дослідження). Для виділення еталонів посухостійкості рекомендуємо використовувати концентрацію 19,5 %, а концентрацію 15 % можна використовувати для виділення джерел посухостійкості і диференціації наявного матеріалу культури.

References

1. FAOSTAT, 2021. Retrieved from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
2. Sichkar V.I., Kryvenko A.I., Solomonov R.V. Lentil in world and Ukraine: current state and prospect. *Journal of Native and Alien Plant Studies*. 2020. Vol. 16. P. 178–193. <https://doi.org/10.37555/2707-3114.16.2020.219830>.
3. Dash A.P., De D.K., Mohanty S., Lenka D. Screening of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Genotypes and Correlation Analysis under PEG Imposed Water Stress Condition. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*. 2017. Vol. 8 (4). P. 539–547. doi: <https://doi.org/10.23910/ijbsm/2017.8.4.1829c>.
4. Koskosidis A., Khah E., Mavromatis A., Pavli O., Vlachostergios D. Effect of PEG-induced drought stress on germination of ten chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2020. Vol. 48 (1). P. 294–304. doi: [10.15835/nbha48111799](https://doi.org/10.15835/nbha48111799).
5. Florido M., Bao L., Lara R.M., Castro Y., Acosta R., Álvarez M. Effect of water stress simulated with PEG 6000 on tomato seed germination (Solanum section Lycopersicon) *Cultivos Tropicales*. 2018. Vol. 39 (1). P. 87–92. Retrieved from: <http://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/download/1429/pdf>.
6. Vus N., Vasylenko A., Lutenko V., Kobyzeva L., Besuhla O., Shevchenko L., Ponurenko S., Feng Baili, Saliy D. Concentration effect of polyethylene glycol in evaluation of grain legumes for drought tolerance. *Žemės Ūkio Mokslai*. 2020. Vol. 27 (2). P. 149–159.
7. Kobyzeva L.N., Bezugla O.M., Sylenko S.I., Kolotylov V.V., Sokol T.V., Dokukina K.I., Vasylenko A.O., Bezuglyi I.M., Vus N.O. Methodical recommendations for studying the genetic resources of legumes. NAAS of Ukraine. Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev. Kharkiv, 2016. 84 p. [in Ukrainian]

VUS N., VASYLENKO A., SHEVCHENKO L.

Plant Production Institute named after V. Ya. Yuriev NAAS of Ukraine, Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovskiy av., 142, e-mail: vus.nadezhda@gmail.com

DIFFERENTIATION OF ACCESSIONS FROM THE NATIONAL LENTIL COLLECTION ACCORDING TO THE LEVEL OF DROUGHT RESISTANCE ON A VARIOUS CONCENTRATIONS PEG-6000 SOLUTION

Aim. assessment of accessions from the lentil national collection on the level of drought resistance on a PEG-6000 solution. **Methods.** The germination was carried out in growth plates on a filter paper bed at $t = 21^{\circ}\text{C}$ for five days. A working solution of PEG-6000 with concentrations of 15.0% and 19.5% was used. The control was germinated in distilled water. The length of the shoot and root was measured and the level of depression of growth processes was calculated. **Results.** When germinating on a PEG-6000 solution with 19.5% concentration, the overwhelming number of accessions had depression indicators for shoots above 85% and above 60% for roots, and therefore it was not possible to isolate samples tolerant to the action of PEG-6000. When germinating on a 15% solution of PEG-6000, a wider range of variation was noted: depression in feature of “root length” ranged from 0% to 100%, “shoot length” - from 50% to

100%. The calculated Spearman's rank correlation coefficient confirms that shoots, in comparison with roots, are more sensitive to the action of osmotic in both variants of the experiment. **Conclusions.** The concentration of PEG-6000 was established for the selection of sources and the ranking of samples by drought resistance. Sources of drought resistance were identified from the studied sample – accessions subsp. *microperma*: 8-MIL M 5 (UD0600007, France), UD0600028 (Ethiopia), Giza 9 (UD0600065, Egypt) and the accession-standard of drought resistance is Gornostepnaya (UD0600131, Armenia) subsp. *microperma*.

Keywords: lentil, PEG-6000, concentration, sources of drought resistance.