

ЗАДОРОЖНА О. А.^{1✉}, ЗАДОРОЖНИЙ К. М.²¹ Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН,

Україна, 61060, м. Харків, просп. Героїв Харкова, 142, ORCID: 0000-0002-4424-0482

² Харківський національний університет міського господарства ім. О. М. Бекетова,

Україна, 61002, м. Харків, вул. Маршала Бажанова, 17, ORCID: 0000-0002-5786-8850

✉ olzador@ukr.net

ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ДОВГОВІЧНОСТІ НАСІННЯ ДЕЯКИХ ЗЕРНОВИХ І БОБОВИХ

Мета. Висвітлити важливість генетичних аспектів зберігання насіння на прикладі важливих сільськогосподарських культур, таких як пшениця, горох, соя та інші. Показати реакцію зразків різних генотипів на довговічність насіння при різних умовах його формування. **Методи.** Лабораторне дослідження схожості насіння, моніторинг метеорологічних умов формування насіння, статистична обробка отриманих результатів. **Результати.** Проаналізовано результати моніторингу схожості насіння пшениці, гороху, нуту, сої, що зберігалось довше п'яти років. При вологості 5-8 % показана різниця довговічності насіння зразків генофонду при різних умовах формування та зберігання. Обговорюються проблеми та перспективи такого аналізу. **Висновки.** Отримані результати моніторингу свідчать про важливість генетичного підходу для прогнозування довговічності насіння. Слід з'ясувати транскрипційну регуляцію формування насіння, яка впливає потім на його здатність до проростання та довговічність.

Ключові слова: генофонд, транскрипційна регуляція, насіння, довговічність, генотип.

Сучасне зберігання генофонду сільськогосподарських культур досить оптимізоване. Тому для обґрунтування прогнозування довговічності насіння зараз усе більше уваги приділяється його генетичним аспектам. Якість насіння може погіршуватись ще на батьківських рослинах під час його формування, зразу ж після проростання через вплив несприятливих погодних умов, під дією патогенів, а також під час зберігання [1, 2]. У погіршенні стану насіння під час зберігання, як правило задіяні багато фізичних і хімічних змін, що включає порушення внутрішньоклітинної цілісності, зменшення активності ферментів, перекисного окиснення ліпідів, деяких неферментних реакцій. У свою чергу антиоксиданти, білки теплового шоку, ферменти, що беруть участь у відновленні пошкоджень білків пом'якшують вплив старіння на довговічність

насіння. На сучасному рівні досліджень відомо, що під час формування насіння задіяно багато чинників. Усі ці чинники впливають на фізіологію досягання, що в свою чергу впливає на довговічність насіння. Водночас відомо про варіювання довговічності насіння різних партій одного сорту та навіть окремих насінин у межах однієї партії. Існують дослідження, що висвітлюють генетичне підґрунтя довговічності насіння різних видів [3].

Про генетичне підґрунтя довговічності насіння інформація обмежена, бо більшість досліджень присвячені вивченню впливу чинників навколишнього середовища під час формування, збирання та зберігання насіння. Вважається, що ця ознака насіння складна і контролюється багатьма генами, її відносять до кількісних ознак [4].

Відомі дослідження на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* L. по картуванню локусів, що контролюють різні аспекти довговічності насіння під час зберігання. Для цього аналізу використовували різні рекомбінантні лінії, що походили від схрещувань *Landsberg erecta* (*Ler*) and *Shakdara* (*Sha*). Для інбредних рекомбінантних ліній 114 F9 проводили визначення генотипів за допомогою 65 ПЛР маркерів та фенотиповим маркером *erecta*. Серед проаналізованих ознак були: стан спокою, швидкість проростання, вміст цукрів у насінні, проростання насіння після контрольного тесту на життєздатність, вплив перекису водню, абсцизової кислоти, а також: вплив теплового, сольового (NaCl), осмотичного стресу та природного старіння. Для кожної ознаки було встановлено один чи декілька відповідних QTL (*quantitative trait loci*) [5].

У відповідних мутантів *Arabidopsis abscisic acid insensitive3* (*abi3*), *abscisic acid deficient1* (*aba1*), and *aberrant test shape* (*ats*) встановлена менша довговічність насіння [6].

Генетичне картування насіння було розпочато лише у 21 столітті коли молекулярні марке-

ри стали легко доступні і селекціонери почали використовувати їх для розшифрування генів та молекулярних механізмів, що лежать в основі варіабельності [7].

Для модельного об'єкта *Arabidopsis* встановлені алелі кількісних ознак, які викликали різну реакцію на умови навколишнього середовища. Так зчеплення локусів *GAAS* і *DOG* було підтверджено на ізогенних лініях. Було встановлено, що вони контролюють довговічність насіння та спокій. Між цими процесами встановлена від'ємна кореляція, яка обґрунтовується наявністю двох різних молекулярних шляхів метаболізму [8].

Встановлена фізіологічна роль сенсорних кіназ які пов'язані з проростанням. Вони впливають на якість насіння, що має вирішальне значення для виживання рослин у природному середовищі та сталого виробництва сільськогосподарських культур [9]. Внутрішньовидове варіювання довговічності та проростання насіння *Arabidopsis* може контролюватись цитоплазматичним геномом та взаємодією ядра та цитоплазми. [10].

У 2021 році було продемонстровано, що транскрипційний фактор AtHB25 регулює проникність насінини та довговічність при природному старінні насіння, а також накопичення природних поліефірів у насіннєвій оболонці. [11].

Зараз визначено, що довговічність насіння *Arabidopsis thaliana* модулюється генетичними факторами. Встановлений генетичний локус, пов'язаний з цією ознакою. Реверсивна генетика ідентифікувала транскрипційний фактор DOF4.1 як новий фактор довговічності насіння. Рослини з втратою функції DOF4.1 продукують насіння, яке демонструє вищу схожість після модельних умов прискореного старіння [12].

Генетичні аспекти зберігання насіння *Arabidopsis* якоюсь мірою висвітлені. Метою даної роботи було: висвітлити важливість генетичних аспектів зберігання насіння на прикладі таких сільськогосподарських культур, таких як пшениця, горох, соя; проаналізувати довговічність насіння різних генотипів зразків за різних умов його формування.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були зразків пшениці, гороху, нуту, сої, що зберігались тривалий час у Національному сховищі. Перед закладанням на зберігання насіння спочатку висушували силікагелем (1994–1995 рр.) протягом

14 діб. У більш пізні роки висушування насіння проводилось потоком повітря за температури не вище 25°C та відносної вологості 25 % за допомогою осушувача до рекомендованої вологості 5–8 %.

Після висушування насіння поміщали в герметичну тару, використовували скляні герметичні пляшки, які зберігали в сховищі з нерегульованою температурою східного лісостепу України. Середньорічна температура в цьому сховищі становила 9°C при коливанні в межах від – 18°C до 25°C. Для визначення схожості насіння на час закладання та в контролі під час зберігання застосовували стандартні методики пророщування. Результати обробляли за допомогою методів варіаційної статистики.

Ураховуючи те, що метеорологічні умови вирощування, особливо в період наливу зерна та збирання, впливають на довговічність насіння під час зберігання, при аналізі насіння використовувались показники гідротермічного коефіцієнта (ГТК). Вважається, що рік сухий за ГТК < 0,5; посушливий за $0,5 \leq \text{ГТК} < 1$; вологий за $1 \leq \text{ГТК} < 1,5$; з надмірним зволоженням за ГТК $1,5 \leq \text{ГТК}$. Дані ГТК у роки вирощування насіння в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (східний лісостеп України) наведені на рис. 1.

Результати та обговорення

За результатами досліджень встановлено, що при зберіганні насіння сортів пшениці твердої (*Triticum durum* Desf. var. *hordeiforme* (Host) Koern) через 10 років істотно — на 11 % ($p > 0,05$) знизилась схожість насіння (з початкової 98 %) зразка Дніпряна (рис. 2). При подальшому зберіганні насіння цієї групи зразків спостерігали продовження зниження схожості лише в зразка Айсберг одеський репродукції Селекційно-генетичного інституту (СГІ) 1998 року. Схожість решти зразків залишилась без змін. У липні 1998 року на території, де вирощувалось насіння, у СГІ випало 106 мм опадів, що майже удвічі більше, ніж за цей же період на території дослідних полів, Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (ІР), східний лісостеп України, де вирощувались інші зразки. Вважаємо, що зниження схожості насіння зразка Айсберг одеський 1998 року пов'язано реакцією цього генотипу на умови досягання насіння, бо в зразка Аргонавт цього ж року і місця репродукції схожість протягом того ж терміну зберігання залишилась на вихідному рівні.

За результатами дослідження довговічності насіння пшениці твердої решти зразків спостерігали відсутність істотних змін у зразків 1998 року: сорти Дніпряна, Аргонавт репродукції 1998 року репродукції (Херсонська та Одеська області) та сорту Айсберг одеський репродукції 1999 року Харківської області.

Ураховуючи, що насіння пшениці зберігалось приблизно при одній вологості, можна припустити, що така різниця в довговічності пов'язана з умовами формування зернин. При наявності відповідних молекулярно-генетичних підходів можна запропонувати обґрунтування базуючись на регуляції транскрипції під час формування насінин.

Зразки гороху (*Pisum sativum* L. convar. *ruminatum* var. *cirrosum* Makash.) сорту Овоче-

вий 76 мали різну довговічність залежно від року репродукції одного генотипу (рис. 3).

У сортів виду гороху *Pisum sativum* L. convar. *ruminatum* var. *ruminatum* Alef. спостерігали відмінності за довговічністю насіння незважаючи на один рік репродукції 2000 (рис. 4). Схожість насіння сорту Matrigolt (вирощено в східному лісостепу України у 2004 році) через вісім років зберігання не змінилась, не спостерігали і її подальшого зниження. Проте схожість лінії UD011254, насіння якої вирощувалось там же у 2000 році, вже через три роки розпочала зниження. Через 10 років зберігання схожість цього зразка зменшилась майже в чотири рази. Вважаємо, що такі розбіжності є наслідком реакції відповідних генотипів на умови вирощування та формування насіння (рис. 1).

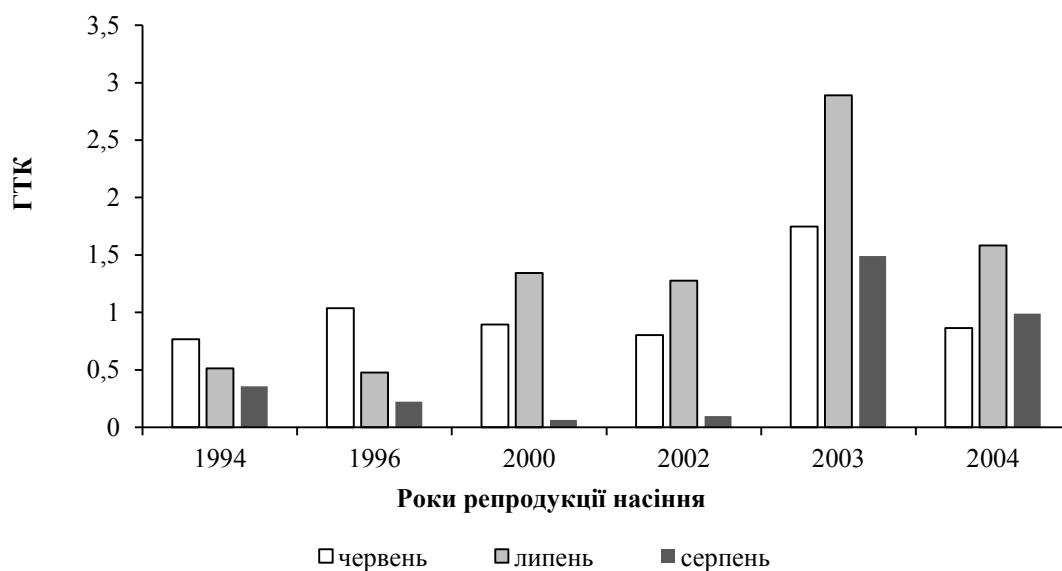


Рис. 1. Гідротермічний коефіцієнт умов року репродукції насіння.

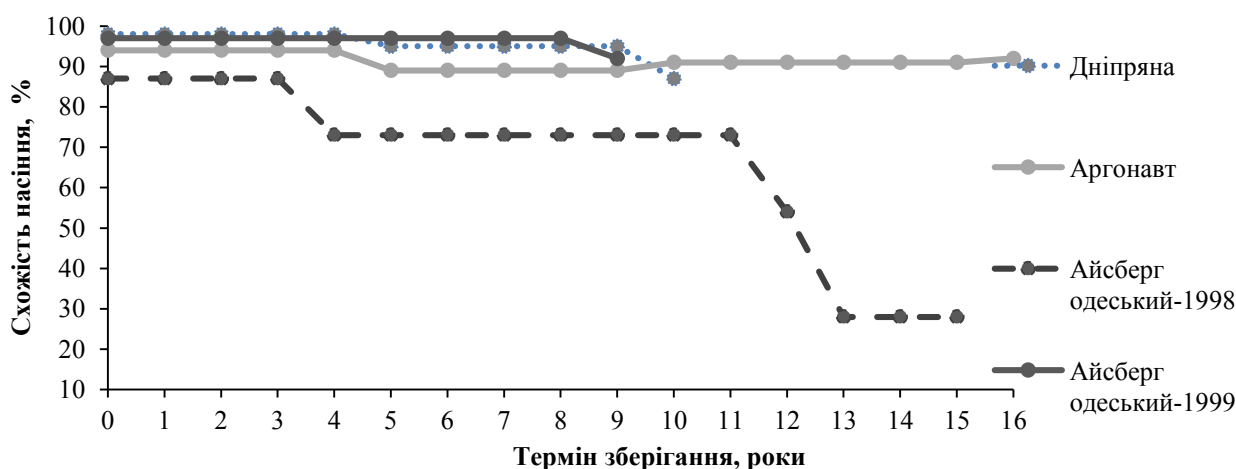


Рис. 2. Довговічність насіння пшениці твердої.

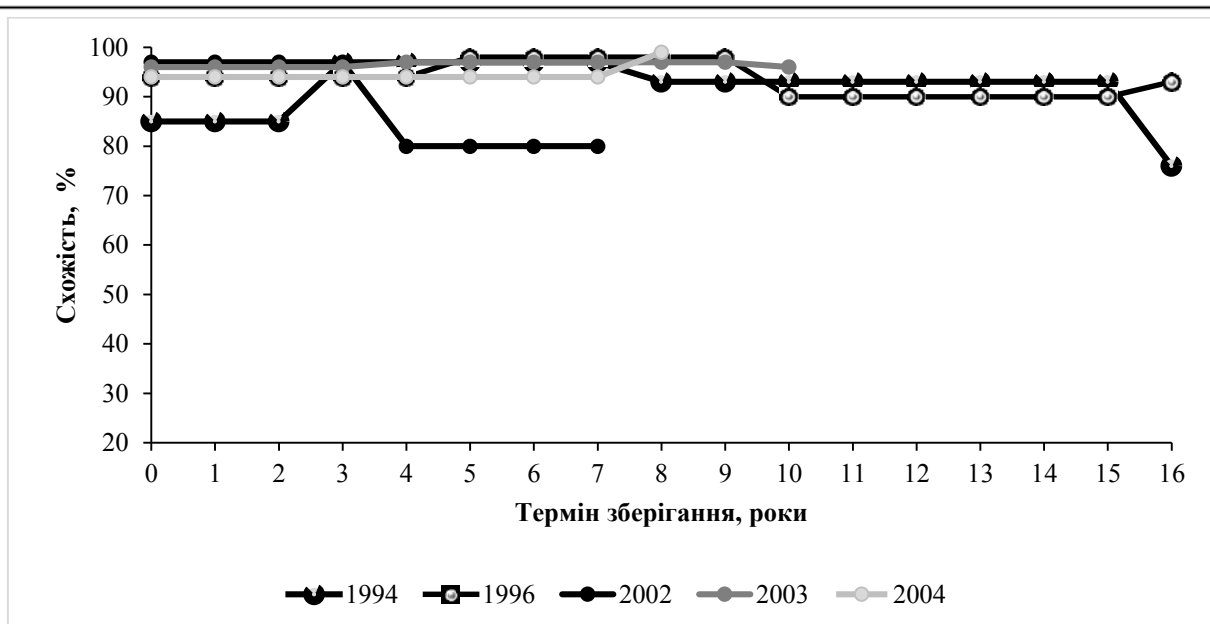


Рис. 3. Довговічність насіння гороху Овочевий 76 різних років репродукції.

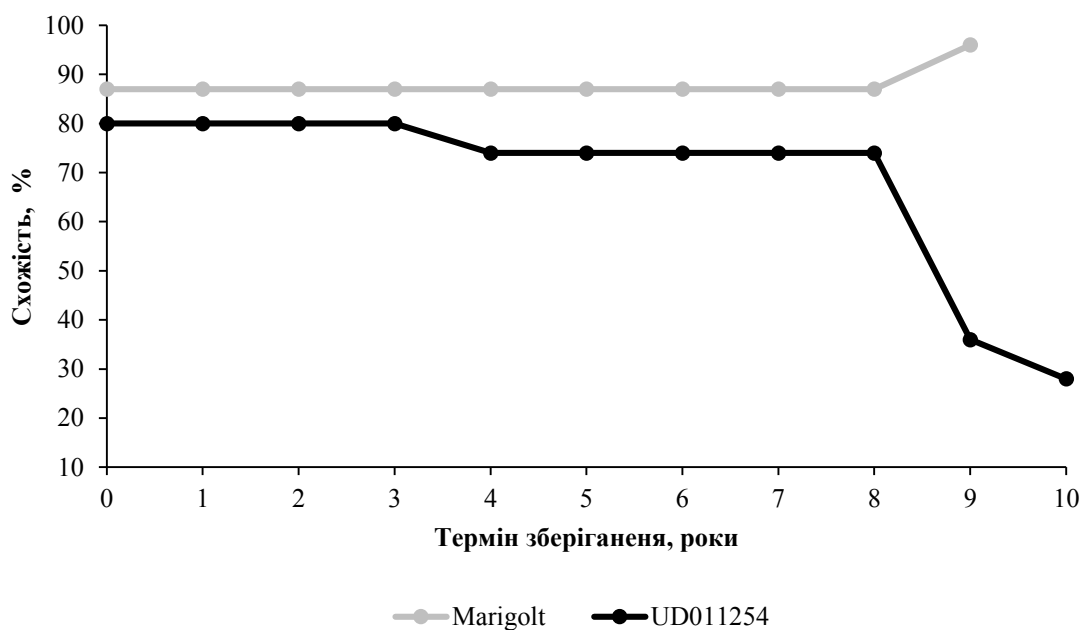


Рис. 4. Довговічність насіння зразків гороху 2000 року репродукції.

Не виявлено значної відмінності за довговічності насіння з вологістю 6-7 % у нуту та сочевиці [14]. Підтверджується також краща довговічність при твердонасінності, при високій вологості зберігання у різновидів нуту (*Cicer arietinum* L.) та сої (*Glycine max* (L.) Merr.) із темним забарвленням покриву. Описана довговічність насіння різних зразків сої 2004 року

репродукції з очікуваним варіюванням (рис. 5). Так за результатом зберігання зразків насіння сої Л 441, Хаджибей, Даурія, Асійська акліматизована, Святкова врожаю 2004 року репродукції, що зберігались у сховищі за температури 4°C показана відсутність зміни схожості через чотири роки зберігання.

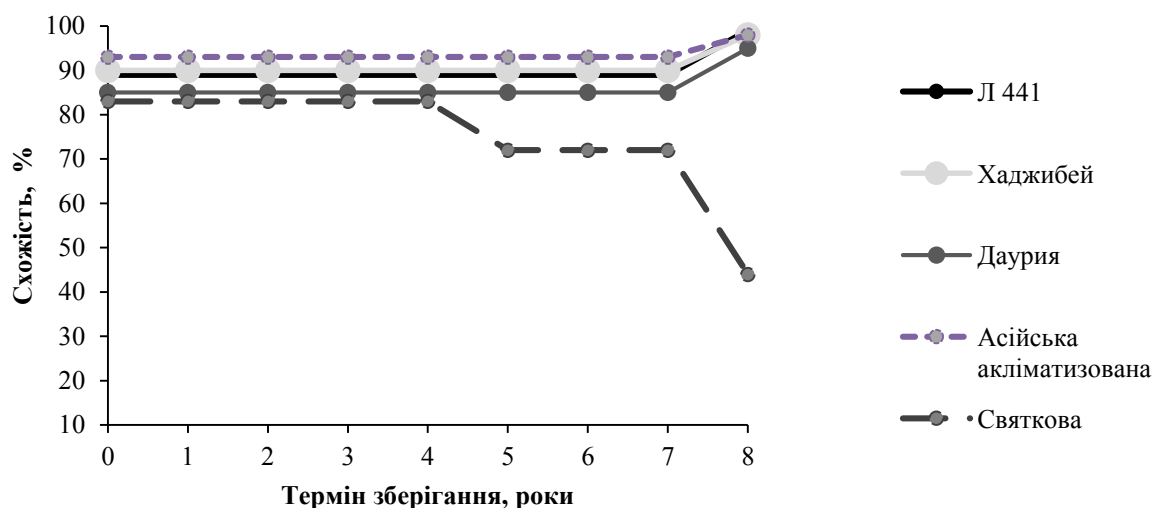


Рис. 5. Довговічність насіння зразків сої 2004 року репродукції.

Після восьми років зберігання в зазначених умовах зразки Л 441, Хаджибей, Даурия, Асійська акліматизована, демонстрували підвищення схожості близько 10% ($p > 0,05$). Ці зразки вирощувались у східному Лісостепу України (ІР) і належали до скоростиглих. У сорту Святкова, який вирощувався у 2004 році в південному лісостепу України спостерігали зниження схожості та через вісім років вона склала 44%. У серпні-вересні 2004 році у місці вирощування сорту Святкова спостерігали високі показники ГТК — 2. Можливо, такі умови негативно вплинули на довговічність насіння цього зразка у порівнянні з 1,2 ІР (рис. 1). Для обґрунтування

такого варіювання довговічності потрібні молекулярні підходи в дослідженні. Можна очікувати, що в цьому випадку такі відмінності можна пояснити змінами в регуляції транскрипції у рослині під час формування насіння.

Висновки

Отримані результати моніторингу свідчать про важливість генетичного підходу для прогнозування довговічності насіння. Слід з'ясувати транскрипційну регуляцію формування насіння, яка впливає потім на його здатність до проростання та довговічність.

References

1. Coolbear P. Mechanisms of seed deterioration. Seed Quality. CRC Press (USA): Boca Raton, 2020. P. 223–277. doi: 10.4324/9781003075226-8.
2. McGee D. C. Pathology of seed deterioration. Genet. Improv. Seed Qual. 2000. Vol. 31. P. 11–19. doi: 10.2135/cssaspecpub31.c2.
3. Arif M. A. R., Afzal I., Börner A. Genetic aspects and molecular causes of seed longevity in plants – a review. Plants (Basel). 2022. 11. P. 598. doi: 10.3390/plants11050598
4. Nagel M., Börner A. The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. Seed Sci. Res. 2010. Vol. 20 (1). P. 1–12. doi: 10.1017/S0960258509990213.
5. Clercx E. J., El-Lithy M. E., Vierling E., Ruys G. J., Blankestijn-De Vries H., Groot S. P., Vreugdenhil D., Koornneef M. Analysis of natural allelic variation of Arabidopsis seed germination and seed longevity traits between the accessions Landsberg erecta and Shikdara, using a new recombinant inbred line population. Plant Physiol. 2004. Vol. 135. P. 432–443.
6. Clercx E. J., Blankestijn-De Vries H., Ruys G. J., Groot S. P., Koornneef M. Genetic differences in seed longevity of various Arabidopsis mutants. Physiol. Plant. 2004. Vol. 121. P. 448–461.
7. Arif M. A. R., Nagel M., Lohwasser U., Börner A. Genetic architecture of seed longevity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Biosci. 2017. Vol. 42. P. 81–89. doi: 10.1007/s12038-016-9661-6.
8. Nguyen T.-P., Keizer P., van Eeuwijk F., Smeekens S., Bentsink L. Natural variation for seed longevity and seed dormancy are negatively correlated in Arabidopsis. Plant Physiol. 2012. Vol. 160. P. 2083–2092. doi: 10.1104/pp.112.206649.
9. Waterworth W. M., Footitt S., Bray C. M., Finch-Savage W. E., West C. E. DNA damage checkpoint kinase ATM regulates germination and maintains genome stability in seeds. Proc. Natl. Acad. Sci. 2016. 113. 9647–9652. doi: 10.1073/pnas.1608829113.
10. Boussardon C., Martin-Magniette M. L., Godin B., Benamar A., Vittrant B., Citerne S., Mary-Huard T., Macherel D., Rajjou L., Budar F. Novel cytonuclear combinations modify *Arabidopsis thaliana* seed physiology and vigor. Front Plant Sci. 2019. Vol. 10. doi: 10.3389/fpls.2019.00032.

11. Renard J., Martínez-Almonacid I., Queralta Castillo I., Sonntag A., Hashim A., Bissoli G., Campos L., Muñoz-Bertomeu J., Niñoles R., Roach T. Apoplastic lipid barriers regulated by conserved homeobox transcription factors extend seed longevity in multiple plant species. *New Phytol.* 2021. Vol. 231. P. 679–694. doi: 10.1111/nph.17399.
12. Niñoles R., Ruiz-Pastor C. M., Arjona-Mudarra P., Casañ J. P., Renard J., Bueso E., Mateos R., Serrano R., Gadea J. Transcription factor DOF4.1 regulates seed longevity in Arabidopsis via seed permeability and modulation of seed storage protein accumulation. *Frontiers in Plant Science.* 2022. Vol. 13. doi: 10.3389/fpls.2022.915184.
13. Zadorozhna O. A., Shyianova T. P., Skorokhodov M. Yu. Seed storage durum wheat (*Triticum durum* Desf.) Under controlled conditions. *Genetični Resursi Roslin.* 2020. No. 26. P. 104–114. doi: 10.36814/pgr.2020.26.10. [in Ukrainian]
14. Zadorozhna O. A., Herasimov M. V., Shyianova T. P., Bezuhla O. N., Potiomkina L. M., Bozhko T. N. Storage of pea, chickpea and lentil seed under controlled conditions. *Genetični Resursi Roslin.* 2015. No. 16. P. 86–98. [in Ukrainian]
15. Zadorozhna O. A., Herasimov M. V., Shyianova T. P., Kobyzieva L. N., Bezuhla O. M. Seed storage of soybean accessions and their longevity. *Genetični Resursi Roslin.* 2017. No. 21. P. 104–115. [in Ukrainian]

ZADOROZHNA O. A., ZADOROZHNYI K. M.

*Plant Production Institute named after V. Ya. Yuriev of NAAS,
Ukraine, 61060, Kharkiv, Heroiv Kharkova ave., 142
O. M. Beketov Kharkiv National University of Urban Economy,
Ukraine, 61002, Kharkiv, Marshala Bazhanova str., 17*

GENETIC ASPECTS OF SEED LONGEVITY OF SOME CEREALS AND LEGUMES

Aim. To highlight the importance of genetic aspects of seed storage on the example of important crops such as wheat, peas, soybeans and others. To show the response of different genotypes of samples to seed longevity under different conditions of seed formation. **Methods.** Laboratory studies of seed germination, monitoring of meteorological conditions of seed formation, statistical processing of the results. **Results.** The results of monitoring the germination of wheat, peas, chickpeas and soybean seeds stored for more than five years were analyzed. At moisture content 5-8 %, the difference in seed longevity of gene pool samples under different conditions of formation and storage is shown. The problems and prospects of such analysis are discussed. **Conclusions.** The obtained monitoring results indicate the importance of the genetic pathway for predicting seed longevity. The transcriptional regulation of seed formation, which then affects its ability to germinate and longevity should be studied.

Keywords: gene pool, transcriptional regulation, seeds, longevity, genotype.