

Влияние температурных режимов хранения семян сосны и ели на всхожесть и зараженность патогенными грибами

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-157-167

УДК. 630.3:632:58

Поступление/Received: 30.03.2020

Принято/Accepted: 01.03.2021

М. А. НИКОЛАЕВА^{1*}, Е. Ю. ВАРЕНЦОВА¹, Г. Ф. САФИНА²

¹ Санкт-Петербургский государственный
лесотехнический университет,
194021 Россия, г. Санкт-Петербург,
Институтский пер., 5

* ✉ marin.nikol_1060@mail.ru

² Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
✉ g.safina52@gmail.com

The impact of temperature patterns during storage of Scots pine and Norway spruce seeds on their germination and fungal infection rates

М. А. NIKOLAEVA^{1*}, Е. YU. VARENTSOVA¹, G. F. SAFINA²

¹ St Petersburg State Forest
Technical University,
5 Institutsky Lane,
St. Petersburg 194021, Russia;
* ✉ marin.nikol_1060@mail.ru

² N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia;
✉ g.safina52@gmail.com

Актуальность. Одним из путей решения проблемы сохранения генофонда лесообразующих видов является сохранение качественного семенного материала *ex situ*. Результаты исследований могут быть использованы в областях науки, связанных с лесным семеноводством и лесной фитопатологией.

Материалы и методы. Исследовали семена, относящиеся к ортодоксальному типу – *Pinus sylvestris* L. и *Picea abies* (L.) Karst. разных лет заготовки (1996–2011 гг.), заложенные на хранение в 2011 г. при разных температурных режимах: +20°C, +4°C, –18°C и в парах жидкого азота (–182°C). Перед закладкой образцы семян были подсушены до влажности 4,2–4,4% и герметично упакованы. Всхожесть семян определяли перед закладкой на хранение, спустя 3 года, 5 и 8 лет. Определены зараженность семян и состав патогенных грибов.

Результаты. За восьмилетний срок хранения при температуре +20°C потеря всхожести семян сосны и ели, в зависимости от партии и года заготовки, составила от 13 до 60%. Хранение при –18°C и –182°C препятствует заражению и позволяет максимально сохранить посевные качества семян. В большинстве случаев энергия прорастания и всхожесть отрицательно коррелировали с уровнем зараженности семян. Биоразнообразие патогенных (плесневых) грибов на поверхности семян установлено на уровне 10 родов; наиболее часто встречаются: *Aspergillus* P. Micheli, *Penicillium* Link, *Rhizopus* Ehrenb., *Scopulariopsis* Bainier.

Заключение. Показана успешность хранения семян при режимах низких и сверхнизких температур. Условия криоконсервации рекомендуются для долгосрочного хранения селекционно улучшенных и ценных семян.

Ключевые слова: низкотемпературное хранение, криоконсервация, хвойные породы, качество семян, патогенная микобиота.

Relevance of the study. One of the ways to maintain the genetic diversity of forest-forming species is to preserve high-quality seed material *ex situ*. However, the relationship between the diversity of pathogenic mycobiota and the duration and methods of forest tree seed storage remains underexplored. The results of research into this problem can be used in forest seed production and forest phytopathology.

Materials and methods. For our study we used seeds of *Pinus sylvestris* L. and *Picea abies* (L.) Karst. of the orthodox type, harvested in the period of 1996–2011 and stored under different temperatures: +20°C, +4°C, –18°C, and in liquid nitrogen vapor (–182°C) since 2011. Prior to their storage, seed samples were dried to a moisture content of 4.2–4.4% and hermetically packed. Seed germination was tested before and after three, five and eight years of storage, following GOST 13056.6-97 standards. The level of seed infection and the composition of pathogenic fungi were assessed.

Results. After eight years of storage at +20°C, pine and spruce seed germination capacity decreased by 13–60%, depending on the year of harvesting. Seed storage at –18°C and –182°C allowed us to prevent seed infection and preserve seed viability. In most cases, the germination energy and germination capacity were negatively correlated with the level of seed infection. The diversity of pathogenic (mold) fungi on the surface of seeds was represented by ten genera; the most common were saprotrophs: *Aspergillus* P. Micheli, *Penicillium* Link, *Rhizopus* Ehrenb., *Scopulariopsis* Bainier.

Conclusion. At the present stage of research, the success of seed storage at low and ultralow temperatures was demonstrated. We recommend cryopreservation for the long-term storage of improved and valuable seeds.

Key words: low-temperature storage, cryopreservation, coniferous tree species, seed quality, pathogenic mycobiota.

Введение

Корифей лесной науки проф. М. М. Орлов в далеком 1918 г. писал: «Берегите русские леса! <...> Не преувеличивайте лесного богатства России» (Orlov, 1918, p. 1 и 132). В XXI веке продолжают снижаться возрасты рубок, на смену ценным лесам приходят второстепенные, лесокультурные работы ежегодно требуют сотни килограммов дорогостоящих семян. Периодичность урожайных лет хвойных пород и нехватка местных семян зачастую приводят к практике использования низкокачественных и нерайонированных семян, что негативно отражается на устойчивости создаваемых насаждений. Принимая во внимание огромную экономическую роль лесов, учитывая расширение зон экологических бедствий, сохранение лесных ресурсов страны остается серьезной и нерешенной проблемой.

Одним из способов сохранения генофонда основных лесобразующих видов является хранение семенного материала *ex situ*. Длительность хранения семян в жизнеспособном состоянии в значительной мере зависит от влажности и температуры хранения (Verzhuk et al., 2012). Семена, относящиеся к ортодоксальной категории, можно высушивать до низкого уровня влажности (менее 10%) и длительное время успешно хранить при температуре ниже точки замерзания. В большинстве развитых стран ортодоксальные семена, подсушенные и герметично упакованные, хранятся при температурах в пределах от -1°C до -20°C . Так, в Швеции оптимальный режим хранения семян сосны и ели: влажность семян – 5,7%; температура в холодильной камере – от -5°C до -20°C при колебаниях не более $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (Gladsy et al., 2004). В Forest Gene Bank Kostrzyca (Польша) семена ели европейской хранятся при температуре -20°C (Suszka et al., 2005). В 2007 г. в г. Пушкино под Москвой основан Федеральный фонд семян хвойных пород, организаторы которого полагают, что при температуре -18°C семена без потери качества можно хранить до 30 лет; однако целью его создания является обеспечение воспроизводства лесов в стране только в случае чрезвычайных ситуаций (пожаров, вспышек массового размножения насекомых-вредителей и т. п.) (Concept of the Federal Target Program..., 2008). В Норвегии на о. Свальбард (архипелаг Шпицберген), в условиях вечной мерзлоты, где температура не поднимается выше $-3,5^{\circ}\text{C}$, в крупнейшем в мире хранилище коллекции семян хранятся в камерах с поддерживаемой постоянной температурой -18°C (For grateful descendants..., 2008).

J. D. Simpson et al. (2004) приводят данные о долгосрочном хранении семян в Национальном центре семян древесных пород (National Tree Seed Centre) в Канаде. Всхожесть семян *Picea glauca* (Moench) Voss, хранившихся в течение 24 лет при -20°C и влажности менее 10%, осталась на прежнем уровне; данные о всхожести семян видов ели (*Picea glauca*, *P. mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenb., *P. rubens* Sarg., *P. sitchensis* (Bong.) Carr.) и сосны (*Pinus banksiana* Lamb., *P. contorta* Dougl. ex Loud. var. *latifolia* Engelm., *P. resinosa* Ait.) со сроком хранения 30 лет и более показали, что при соблюдении условий хранения функциональная способность этих семян к сохранению всхожести на уровне не менее 60% может достигать 100 лет; отмечено, что долговечность лесных семян при хранении прямо пропорциональна их качеству.

Результаты 29-летних исследований В. Suszka et al. (2005) указывают на очень высокую жизнеспособность семян ели европейской; заготовленные в Германии (Hoch-

sauerland) семена, подсушенные и обезвоженные, хранились в герметичной упаковке в течение первых 16 лет при температуре -5°C ÷ -6°C , затем в Польше при -3°C ; отмечено безупречное качество семян перед закладкой на хранение; спустя 8 лет после начала опыта всхожесть составляла 98%, через 16 лет – 89%, к концу опыта – 83%.

Длительное и надежное хранение ценных семян требует еще более низких температур. Даже при -130°C в мембранах растительных клеток возможны процессы кристаллизации и перекристаллизации, исключающие долгосрочное хранение замороженного материала; ввести семена в состояние полного анабиоза возможно при криогенном хранении в среде жидкого азота при -196°C , когда все процессы метаболизма в клетках прекращаются (Orekhova, 2010). Криохранилище признано перспективным инструментом длительного хранения семян лесных пород; главный его принцип – сохранение растительного материала в жизнеспособной, но не активной стадии (Gantait et al., 2016).

В результате быстрого погружения семян сосны (*Pinus canariensis* C. Sm., *P. halepensis* Mill., *P. nigra* Arnold, *P. pinaster* Aiton, *P. sylvestris* L., *P. uncinata* Ramond ex DC.) в жидкий азот (-196°C) и 4-дневного хранения в условиях криоконсервации различия в прорастании и всхожести семян до и после замораживания не выявлены (Sanx et al., 1998). Изучение устойчивости семян (*Picea glauca* × *engelmannii* complex, *Pinus contorta*, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco и *Thuja plicata* Donn ex D. Donn) с разной степенью влажности к замораживанию при -196°C в течение трех часов показало преимущество семян сухих, в сравнении со стратифицированными, набухшими и проросшими, то есть семена хвойных пород способны выдерживать экстремально низкие температуры, но с повышением влажности они становятся более уязвимыми к быстрому замораживанию (Hawkins et al., 2003).

Во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) накоплен богатый опыт по хранению семян плодовых и ягодных культур (Safina, 2008; Verzhuk et al., 2012). Существующие способы долгосрочного хранения семян в настоящее время теоретически обоснованы (Bonner, Karrfalt, 2008), надо только грамотно применить тот или иной способ на практике, учитывая биологические особенности вида.

В России, согласно действующим правилам (Guidelines..., 2000), для хранения семян сосны и ели сроком более пяти лет оптимальной является температура от -1°C до -10°C ; допускаемая влажность семян при хранении – 4,5–7,5%. Тем не менее неглубокое замораживание не всегда обеспечивает сохранение семян в жизнеспособном состоянии.

С целью изучения особенностей влияния разных температурных режимов хранения на качество семян в 2011 г. в ВИР нами был заложен опыт по длительному хранению партий семян хвойных пород. Через три года опубликованы первые результаты (Safina, Nikolaeva, 2014). В настоящей статье представлен очередной этап испытаний и показана динамика изменения качества семян за период 2011–2019 гг.

Материалы и методы

Объектом исследований являются семена ортодоксального типа – сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской *Picea abies* (L.) H. Karst.). Для опытов использован семенной материал, заготовленный в разные годы в пределах Ленинградской области, в том

числе на Гатчинской лесосеменной станции (ЛСС); одна из партий семян ели – в Карелии (Заонежье). Партии семян различаются исходными посевными качествами (табл. 1).

(ГОСТ 13056.6-97. Seeds of trees..., 1997); в случае неопределенности закладывали дополнительную пробу на проращивание. В процессе проращивания заплесневевшие семена снимали с лотка и перекладывали в стерилизо-

Таблица 1. Происхождение и качество партий семян

Table 1. Background information about the origin and quality of seed lots

Происхождение семенного материала		Посевные качества семян (2011 г.)	
Год заготовки	Район заготовки	Энергия прорастания	Лабораторная всхожесть
<i>Pinus sylvestris</i> L.			
1996	Кипень, Гатчинская ЛОС	32,0 ± 1,9	50,0 ± 2,0
1999	Рощинский лесхоз	42,5 ± 1,5	56,5 ± 1,5
2001	Кипень, Гатчинская ЛОС	41,0 ± 2,0	55,0 ± 2,0
2011	Кипень (ссыпка* № 2)	64,0 ± 2,5	79,0 ± 2,5
2011	Кипень (ссыпка* № 3)	53,0 ± 2,5	73,0 ± 1,4
<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.			
2001	Заонежский лесхоз (ссыпка* № 2)	65,0 ± 2,0	76,0 ± 2,0
2004	Гатчинский лесхоз	50,5 ± 2,0	79,0 ± 1,5
2008	Бокситогорское лесничество, Кургальское участковое лесничество	32,0 ± 1,4	71,5 ± 1,5
2009	Любанское лесничество, географические культуры, костромское потомство	52,0 ± 1,5	92,0 ± 1,4
2011	Ленинградская обл. (ссыпка* № 1)	75,5 ± 2,2	84,0 ± 1,9

Примечание: ссыпка* – партия семян, полученная в 2011 г. от Центра защиты леса Ленинградской обл.

Note: * – seed mix; a batch of seeds received in 2011 from the Center for Forest Protection of Leningrad Province

До 2011 г. семена хранились, в зависимости от партии и года заготовки семян (1996 ÷ 2011 гг.), от полугода до 15 лет в холодильнике при температуре +5 ÷ +6°C, в герметично закрытой стеклянной таре и имели влажность 5,80–5,85% (ель) и 6,1–6,2% (сосна).

Перед закладкой на хранение семена были подсушены в условиях, рекомендуемых Genebank Standards (1994) в сушильной камере при температуре +18°C и относительной влажности воздуха 10–12% до равновесной влажности 4,2–4,4%. Влажность семян определяли по ГОСТ 13056.3-86 (ГОСТ 13056.3-86. Seed of trees..., 1986). Затем образцы семян герметично упаковывали по 50 шт. в ламинированные пакеты из фольги и закладывали на хранение при температурных режимах: +20°C, +4°C, –18°C и –182°C; для каждой партии семян каждый температурный режим представлен в 12–14-кратной повторности; в такой же упаковке заложены семена, оставшиеся неотсчитанными. Для низкотемпературного хранения и криоконсервации использован режим быстрого замораживания путем помещения пакетов с семенами в морозильную камеру (–18°C) или в пары жидкого азота (–182°C) и оттаивания при комнатной температуре в течение суток.

Определение качества семян – энергии прорастания и лабораторной всхожести – выполнено в трехкратной повторности (в повторности – 50 семян), с применением аппарата Якобсена в соответствии с ГОСТ 13056.6-97

важные чашки Петри с фильтровальной бумагой для последующего определения зараженности и состава патогенных грибов. Оценка зараженности выполнена по степени встречаемости зараженных семян по ГОСТ 13056.5-76 (ГОСТ 13056.6-76. Seeds of trees..., 1976). Состав патогенных грибов определяли согласно приложениям ГОСТ 13056.5-76, определителям (Khokhryakov et al., 1984; Zhukov A., Zhukov P., 2012) визуальным осмотром с помощью светового микроскопа при 10-кратном увеличении и по фотографиям, сделанным с помощью микроскопа ЛОМО МБИ-3 с цифровым адаптером на основе фотокамеры Sony ILCE-7 с разрешением кадров 44 тыс. точек на дюйм (DPI). Съемка производилась с бреккетингом фокуса и последующей сшивкой в программе Helicon Focus.

С помощью программы Microsoft Excel определены средние значения энергии прорастания и всхожести, их стандартные ошибки и коэффициент изменчивости; по *t*-критерию Стьюдента рассчитана достоверность различий между показателями качества семян перед началом опыта (2011 г.) и в годы исследований (2014–2019 гг.) ($P = 0,95$; $n_1 = 4$ и $n_2 = 4$; $t > 2,447$), а также оценена значимость коэффициентов корреляции ($P = 0,95$; $n = 4$; $t > 4,303$).

Результаты и обсуждение

В таблице 2 представлена динамика изменения посевных качеств семян спустя три года после начала опыта

Таблица 2. Качество семян сосны и ели в разные годы исследования
Table 2. Scots pine and Norway spruce seed quality in different years of research

Год заготовки семенного материала*	Температурный режим хранения, t°C	Год исследования					
		2014		2016		2019	
		энергия прорастания, %	всхожесть, %	энергия прорастания, %	всхожесть, %	энергия прорастания, %	всхожесть, %
Pinus sylvestris L.							
1996 (32,0±1,9 50,0±2,0)	+20	18,0±2,8	30,0±1,9	16,0±3,9	24,0±3,1	10,3±2,9	17,3±2,5
	+4	18,0±1,4	31,3±2,3	18,0±2,5	28,7±1,5	13,0±1,9	30,0±3,2
	-18	24,3±2,5	47,3±2,3	24,0±2,5	35,3±2,9	17,0±2,1	35,7±2,7
	-182	32,0±2,5	48,0±2,1	26,0±2,5	38,0±1,9	17,0±3,2	37,0±2,5
1999 (42,5±1,5 56,5±1,5)	+20	26,3±3,2	30,3±2,2	26,3±1,5	30,0±1,2	3,0±1,4	15,3±1,8
	+4	44,0±2,1	54,0±2,5	41,7±1,5	53,7±1,8	36,7±1,8	42,0±1,9
	-18	43,7±2,0	57,7±0,8	42,3±1,6	57,7±1,1	42,3±2,1	55,3±1,8
	-182	43,3±1,6	56,3±1,5	43,0±1,9	56,7±0,8	42,0±1,9	55,3±1,1
2001 (41,0±2,0 55,0±2,0)	+20	16,0±2,8	38,3±1,9	10,0±2,8	31,0±2,5	13,7±2,9	32,0±2,8
	+4	27,3±1,8	55,0±2,1	12,3±2,7	44,0±1,9	13,7±2,7	37,3±1,8
	-18	39,7±1,8	54,3±2,0	39,0±1,9	54,3±2,2	27,0±2,1	53,7±2,5
	-182	42,0±1,9	56,0±1,4	39,7±1,8	55,0±2,5	35,0±1,4	54,0±2,5
2011 (№ 2**) (64,0±2,5 79,0±2,5)	+20	-		15,3±2,9	55,3±1,5	16,0±2,5	57,0±1,9
	+4			35,0±2,4	74,7±1,5	35,3±2,2	72,3±2,2
	-18			63,3±1,8	79,3±1,5	60,7±1,8	79,3±1,8
	-182			64,3±1,1	80,3±1,8	62,3±1,5	80,0±1,9
2011 (№ 3**) (53,0±2,5 73,0±1,4)	+20	10,0±3,2	40,3±2,0	-		10,0±2,5	38,3±3,3
	+4	23,0±3,1	53,3±1,8			22,7±3,3	53,0±2,5
	-18	50,3±2,2	74,3±1,8			50,3±2,2	74,0±2,4
	-182	54,0±2,7	74,0±2,2			54,0±2,5	74,0±2,1

Таблица 2. Окончание
Table 2. The end

Год заготовки семенного материала*	Температурный режим хранения, t°C	Год исследования					
		2014		2016		2019	
		энергия прорастания, %	всхожесть, %	энергия прорастания, %	всхожесть, %	энергия прорастания, %	всхожесть, %
Picea abies (L.) H. Karst.							
2001 (65,0±2,0 76,0±2,0)	+20	18,0±3,2	25,3±1,8	16,0±2,4	24,0±2,4	11,3±2,9	17,0±2,8
	+4	46,3±2,2	60,0±1,9	41,0±1,9	58,0±2,1	37,3±2,2	52,0±2,4
	-18	51,3±2,2	72,3±1,8	50,7±2,3	74,0±1,9	50,3±2,2	75,7±1,6
	-182	52,3±2,3	75,0±1,4	50,3±0,8	76,0±1,4	50,0±2,1	75,0±1,9
2004 (50,5±2,0 79,0±1,5)	+20	26,0±3,5	36,3±1,8	26,0±2,1	37,0±2,5	20,0±2,5	29,0±1,9
	+4	46,7±2,0	80,0±2,8	32,3±2,0	56,3±2,2	33,7±1,1	44,3±1,6
	-18	50,3±2,0	80,0±2,1	49,7±2,2	74,0±2,2	50,7±1,6	74,0±1,9
	-182	50,7±2,5	79,0±1,9	49,3±2,2	78,0±1,9	50,3±1,5	77,0±1,2
2008 (32,0±1,4 71,5±1,5)	+20	23,3±2,8	51,7±2,0	-		3,0±0,0	14,0±0,7
	+4	25,0±2,5	54,7±2,3			25,7±2,5	53,0±1,4
	-18	32,3±1,1	72,0±2,1			31,3±1,9	72,3±1,8
	-182	33,0±1,5	71,7±1,8			31,7±1,5	71,7±1,4
2009 (52,0±1,5 92,0±1,4)	+20	41,3±1,8	86,0±2,1	34,0±1,4	85,7±1,8	31,3±2,3	79,3±1,5
	+4	44,0±1,9	88,3±1,8	44,0±1,9	90,0±1,9	42,3±1,6	90,3±1,8
	-18	51,0±1,8	92,0±1,4	51,3±2,3	92,0±1,9	51,3±1,9	92,0±1,5
	-182	52,7±2,5	93,3±1,5	52,0±1,4	94,0±1,4	51,7±2,2	92,3±1,1
2011 (75,5±2,2 84,0±1,9)	+20	-		22,0±2,1	44,0±1,9	11,0±2,8	39,3±1,8
	+4			52,0±2,5	69,0±1,9	48,0±1,9	62,3±2,3
	-18			73,0±2,1	84,0±2,5	73,0±1,2	82,0±1,9
	-182			75,7±2,9	84,0±1,9	75,7±1,8	84,0±1,4

Примечание: * в скобках указаны энергия прорастания (верхняя строка) и всхожесть семян (нижняя строка) до начала опыта (2011 г.);

** № 2, № 3 – ссыпка; партии семян, полученные в 2011 г. от ЦЗЛ Ленинградской обл.;

*** курсивом выделены различия между показателями качества семян до начала опыта (2011 г.) и в годы исследований (2014, 2016, 2019 г.) достоверны ($t_{расч} > 2,447$)

Note: * Parenthesized are seed germination energy (top line) and seed germination rate (bottom line) before the start of the experiment (2011);

** № 2, № 3 – seed mix; batches of seeds received in 2011 from the Center for Forest Protection of Leningrad Province;

*** *Italicized* are differences between seed quality indicators before the start of the experiment (2011) and during the years of research (2014, 2016, 2019) they are statistically significant ($t_{est.} > 2,447$)

(Safina, Nikolayeva, 2014), пяти лет и восьми лет хранения при разных температурных режимах. На разных этапах наблюдений (2014, 2016, 2019 г.) прослежена стабильность показателей качества семян после хранения при температурах -18°C и -182°C .

Оценка результатов исследований показала, что расхождение значений одного анализа одного образца, состоящего из трех проб, не превышало значения, допускаемого ГОСТ 13056.6-97. Коэффициент изменчивости признаков качества семян – энергии прорастания и всхожести – на всех этапах наблюдений в случае хранения семян при отрицательных температурах находился на низком или очень низком уровне (1,9–11,1%). Вариация показателей качества семян ели после хранения при $+4^{\circ}\text{C}$ не превысила уровня 16%, в двух образцах семян сосны 1996 и 2001 года заготовки (г.з.) она достигла уровня 21–30,7 %. Самые значительные колебания с уровнем изменчивости 34,8–66,6% были отмечены при оценке энергии прорастания после хранения семян при температуре $+20^{\circ}\text{C}$ (сосны – 1996, 1999, 2001 и 2011 (№ 3) г.з.; ели – 2011 г.з.).

Энергия прорастания, показывающая способность семян быстро и дружно прорасти, резко сократилась

за период 2011–2014 гг. у образцов, хранившихся при положительных температурах, особенно при $+20^{\circ}\text{C}$. За 8-летний период хранения (2011–2019 гг.) при $+20^{\circ}\text{C}$ снижение энергии прорастания семян сосны наблюдалось, в зависимости от партии и года заготовки, в пределах 22–48%, ели – 21–65%; всхожесть снизилась соответственно на 23–40% и 13–60%. Ухудшение показателей качества семян как сосны, так и ели после хранения при $+4^{\circ}\text{C}$ выражено слабее.

Как известно, низкотемпературное и криогенное хранение ортодоксальных семян максимально замедляет окислительные процессы в семенах, тем самым сохраняя их жизнеспособность. Опыт показал, что температуры -18°C и -182°C позволяют сохранить качество семян на уровне 2011 г. ($\pm 5\%$). Исключением являются семена сосны 1996 г.з., у которых за 8 лет хранения при -18°C и -182°C энергия прорастания сократилась почти вдвое (от 32 до 17%), а всхожесть ухудшилась на 13–14%; однако полученный результат требует уточнения.

Одной из причин, вызывающих снижение качества семян, является повреждение их патогенными грибами (табл. 3).

Таблица 3. Зараженность семян сосны и ели патогенными грибами

Table 3. Levels of infection of Scots pine and Norway spruce seeds with pathogenic fungi

Год заготовки семенного материала	Температурный режим хранения, <i>t</i> °C	Зараженность семян в год исследования, %		
		2014	2016	2019
<i>Pinus sylvestris</i> L.				
1996	+20	25	70–71	80
	+4	18	65–66	68
	–18	16	56	56
	–182	1–2	6–7	50
1999	+20	20	30	60
	+4	8	11	18
	–18	8	10	10
	–182	3	6–7	7
2001	+20	22	34	34–35
	+4	4	24	30
	–18	2	2	3
	–182	2	2	3
2011 (ссыпка* № 2)	+20	–	30	25
	+4		7	11
	–18		3	3
	–182		3-4	3
2011 (ссыпка* № 3)	+20	18	–	30
	+4	16		20
	–18	2		2-3
	–182	2		2

Таблица 3. Окончание

Table 3. The end

Год заготовки семенного материала	Температурный режим хранения, t ^o C	Зараженность семян в год исследования, %		
		2014	2016	2019
Picea abies (L.) H. Karst.				
2001	+20	70	70	80
	+4	35	35	44
	-18	10	10-11	10-11
	-182	6	10	10
2004	+20	62	64	65
	+4	16	20-22	20
	-18	8	8	8
	-182	7	7	7
2008	+20	4	-	70
	+4	2		30
	-18	2		5
	-182	0		5
2009	+20	2	1	1
	+4	1	1	0
	-18	0	0	0
	-182	0	0	0
2011	+20	-	33-34	55
	+4		15-16	20
	-18		4-7	7-8
	-182		3-4	7-8

Примечание: * ссыпка – партия семян, полученная в 2011 г. от ЦЗЛ Ленинградской обл.

Note: * – seed mix; batches of seeds received in 2011 from the Center for Forest Protection of Leningrad Province

На основании сравнительной оценки первых результатов было установлено, что с повышением температуры хранения зараженность семян возрастает (Nikolaeva et al., 2018). За восьмилетний период исследований степень встречаемости зараженных семян после хранения в условиях низких и сверхнизких температур мало изменилась, не превысив 10–11%, за исключением партий семян наиболее давних сроков заготовки. Проращивание семян сосны 1996 г.з. после хранения при всех температурных режимах на четвертый день показало первые признаки развития плесени; на 15-й день в случае хранения при +20°C практически все оставшиеся семена (80%) были поражены плесневыми грибами. Семена данной партии характеризуются наиболее активным процессом старе-

ния, что обусловлено зараженностью их до начала опыта (до 2011 г.). Хранение семян ели 2001 г.з. при комнатной температуре, так же как и семян сосны 1996 г.з., за восемь лет привело к сильной степени зараженности семян и к резкому ухудшению их качества (2016 г. – 70 %, 2019 г. – 80%); встречаемость зараженных семян на шестой день проращивания в 2019 г. составила 70%.

Партия семян ели 2009 г.з., в которой отмечались только единичные признаки заражения, характеризуется самым высоким качеством.

Фитопатогенные грибы существенно различаются между собой по уровню патогенности и специализации, а вызываемые ими болезни разнообразны по характеру развития и симптомам (Vojko et al., 2012). Развитию фи-

топатогенных грибов, вызывающих загнивание, способствует целый комплекс факторов, которые могут понизить устойчивость семян или вызвать отмирание их тканей (характер семенных покровов и механические повреждения, подмерзание, чрезмерное увлажнение или пересыхание семян, повышенная температура, недостаточная аэрация, состав атмосферы хранилища или упаковки, степень зрелости и т. д.).

На поверхности семян как сосны, так и ели наиболее часты различные виды плесени, возбудителями которых являются сапротрофные грибы родов *Penicillium* Link, *Aspergillus* P. Micheli, *Rhizopus* Ehrenb., *Scopulariopsis* Bainier (рис. 1 и 2). Они встречаются преимущественно после хранения при температурах +20°C и +4°C.

Кроме перечисленных родов, в партиях семян сосны 1996 и 2001 г.з. встречаются сапротрофные грибы рода *Cladosporium* Link, вызывающие темно-оливковую плесень, и *Oedocephalum* Preuss. Зараженность грибами рода *Mucor* Fresen – слабая (до 20%) во всех партиях семян сосны. Паразитный гриб *Botrytis cinerea* Pers. – возбудитель серой плесени – обнаружен в партиях семян 1996 и 1999 г.з.; на семенах 1996 г.з. единично были отмечены грибы родов *Alternaria* Nees. и *Thamnidium* Link (Zhukov A., Zhukov P., 2012).

В партиях семян ели 2001, 2004 и 2011 г.з. после хранения при положительных температурах зараженность сапротрофным грибом *Spicaria elegans* (Corda) Harz. (= *Paeclomyces elegans* (Corda) Mason et Hughes) (Zhukov A., Zhu-

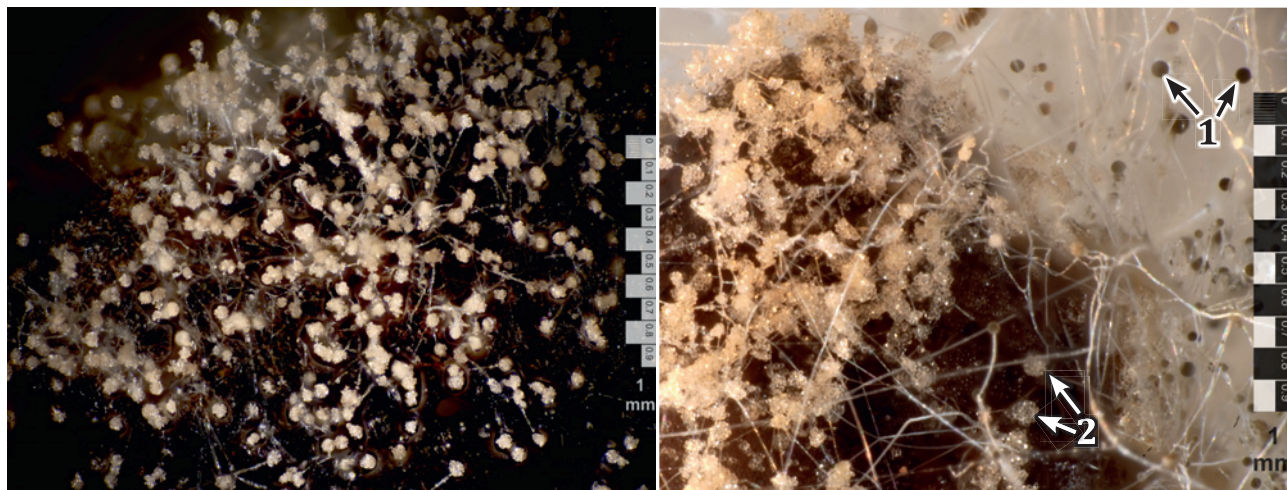


Рис. 1. Патогенные грибы на семенах сосны после хранения при температуре: +20°C, 2001 год заготовки, *Aspergillus* sp. (слева); -18°C, 1996 год заготовки, (1) *Mucor* sp. и (2) *Thamnidium* sp. (справа)

Fig. 1. Pathogenic fungi on Scots pine seeds after storage at temperatures: +20°C, placed for storage in 2001, *Aspergillus* sp. (left); -18°C, placed for storage in 1996, (1) *Mucor* sp. and (2) *Thamnidium* sp. (right)

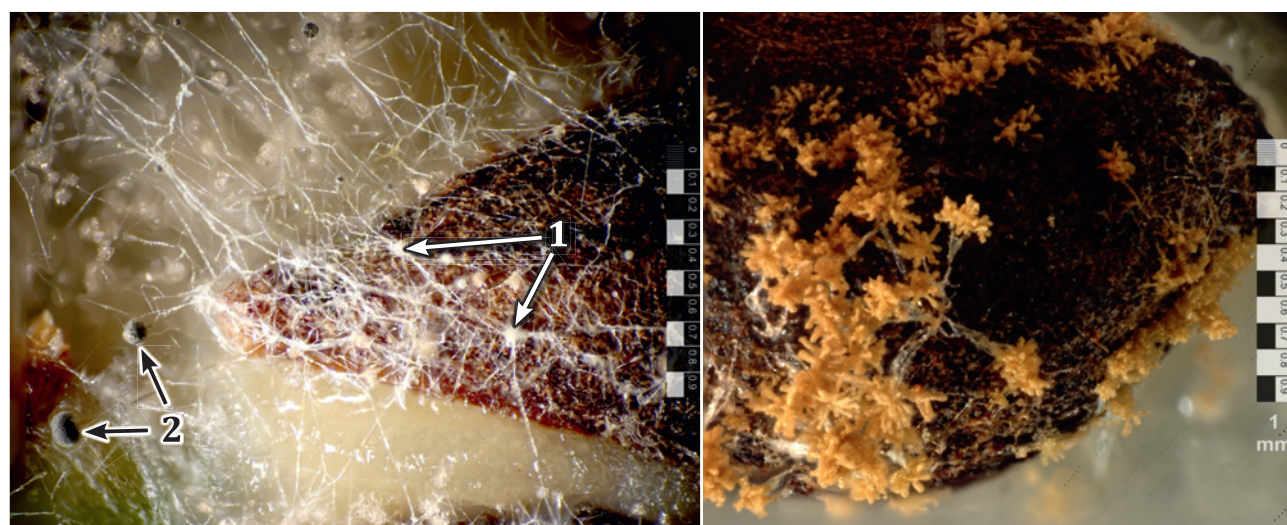


Рис. 2. Патогенные грибы на семенах ели после хранения при температуре: +20°C, 2011 год заготовки, (1) *Thamnidium* sp. и (2) *Rhizopus* sp. (слева); +4°C, 2004 год заготовки, *Scopulariopsis* sp. (справа)

Fig. 2. Pathogenic fungi on Norway spruce seeds after storage at temperatures: +20°C, placed for storage in 2011, (1) *Thamnidium* sp. and (2) *Rhizopus* sp. (left); +4°C, placed for storage in 2004, *Scopulariopsis* sp. (right)

ков Р., 2012), возбудителем белой плесени, наблюдалась на уровне 15–25%. Зараженность головчатой плесенью (*Mucor* spp.) в партиях 2001 и 2008 г.з. не превысила 15%; в этих же партиях наблюдали *Oedocephalum* spp.; на семенах партий 2001 и 2011 г.з. – *Thamnidium* spp. и единично – сапротроф *Cladosporium* spp.; на семенах 2001 г.з., единично были отмечены виды рода *Alternaria*.

Таким образом, на семенах наиболее давних сроков заготовки после хранения при положительных температурах можно наблюдать комплекс патогенной микобиоты, негативно воздействующей на их посевные качества.

В большинстве случаев прослежена достоверная связь между зараженностью и показателями посевных качеств семян в зависимости от температурных режимов хранения. Хранение семян при положительных температурах приводит к ускорению процессов физиолого-биохимических изменений, происходящих в семенах, что благоприятно для развития грибной инфекции, соответственно и к снижению качества семян; в то же время отрицательные температуры препятствуют развитию инфекции. Чем меньше встречаемость патогенных грибов, что наблюдается после хранения при -18°C и -182°C , тем закономерно выше энергия прорастания и всхожесть семян (табл. 4).

Заключение

Испытание различных температурных режимов хранения ($+20^{\circ}\text{C}$, $+4^{\circ}\text{C}$, -18°C , -182°C) ортодоксальных семян *Pinus sylvestris* и *Picea abies* в течение восьми лет (2011–2019) показало существенное преимущество отрицательных температур по сравнению с положительными.

Установлено, что хранение семян сосны и ели в герметично упакованной таре и при влажности семян 4,2–4,4% в условиях морозильной камеры (-18°C) и в парах жидкого азота (-182°C) блокировало распространение и не допускало развитие патогенной микобиоты, что позволило сохранить качество и жизнеспособность семян на уровне начала опыта. Температура хранения семян $+20^{\circ}\text{C}$, несмотря на герметичность упаковки и низкую влажность семян, способствовала ускорению темпов распространения болезней; хранение при $+4^{\circ}\text{C}$, в сравнении с $+20^{\circ}\text{C}$, до некоторой степени его сдерживало.

Температура хранения семян должна быть тем ниже, чем дольше планируемый срок хранения. Абсолютное сохранение посевных качеств семян возможно при полном отсутствии зараженности их грибами перед закладкой на хранение, как это наблюдается в одной из партий семян ели.

Таблица 4. Корреляционная связь между зараженностью семян грибами и показателями посевных качеств в зависимости от температурных режимов хранения

Table 4. Correlations between the level of seed infection with pathogenic fungi and indicators of sowing qualities depending on storage temperature patterns

Год заготовки семенного материала	Корреляция между зараженностью и показателями посевных качеств семян, в год проведения исследований					
	2014	2016	2019	2014	2016	2019
	с энергией прорастания семян			с лабораторной всхожестью		
<i>Pinus sylvestris</i> L.						
1996	-0,941	-0,831	-0,982±0,134	-0,778	-0,818	-0,966±0,183
1999	-0,935	-0,995±0,071	-0,997±0,055	-0,944	-0,986±0,118	-0,987±0,114
2001	-0,892	-0,980±0,141	-0,945	-0,993±0,084	-0,972±0,166	-0,996±0,063
2011 (№ 2)	-	-0,890	-0,976±0,154	-	-0,996±0,063	-0,999±0,032
2011 (№ 3)	-0,985±0,122	-	-0,997±0,055	-0,974±0,160	-	-0,999±0,032
<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.						
2001	-0,959±0,200	-0,989±0,105	-0,987±0,114	-0,987±0,114	-0,996±0,063	-0,996±0,063
2004	-0,999±0,032	-0,878	-0,940	-0,986±0,118	-0,959±0,200	-0,893
2008	-0,721	-	-0,982±0,134	-0,754	-	-0,998±0,045
2009	-0,989±0,105	-0,872	-0,890	-0,987±0,114	-0,838	-0,990±0,100
2011	-	-0,999±0,032	-0,985±0,122	-	-0,997±0,055	-0,973±0,163

Примечание: *выделение курсивом* – значимость коэффициента корреляции отсутствует
 Note: *Italicized* is the absence of statistical significance for the correlation coefficient

В большинстве случаев прослежена закономерная зависимость: чем меньше семена заражены патогенными грибами, тем выше энергия прорастания и всхожесть семян, что в свою очередь связано с температурным режимом хранения. Видовое разнообразие патогенной микобиоты на семенах сосны и ели (за исключением семян ели 2009 года закладки) представлено, в первую очередь, сапротрофными представителями родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*; реже встречались *Cladosporium*, *Oedocephalum*, *Mucor*, единично – грибы рода *Alternaria*. В некоторых партиях отмечены виды рода *Thamnidium*, вызывающие загнивание семян в результате антисанитарных условий при сборе. Грибы рода *Botrytis* отмечены только на семенах сосны, сапротроф *Spicaria elegans* – только на семенах ели.

Работа третьего автора выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0481-2020-0001 «Обеспечение сохранения и пополнения коллекции генетических ресурсов растений».

Авторы выражают благодарность в оказании помощи по определению и фотофиксации микофлоры семян Е. В. Журишкиной, научному сотруднику ПИЯФ имени Б.П. Константинова, и Д. Д. Сластуну, сотруднику Ботанического института имени В.Л. Комарова.

The work of the third author was carried out within the framework of a State Task in accordance with the theme plan of VIR under Project No. 0481-2019-0003 "Ensuring the conservation and replenishment of the collection of plant genetic resources".

The authors are grateful to E. V. Zhurishkina, a researcher at the B.P. Konstantinov St. Petersburg Institute of Nuclear Physics, and D. D. Slastunov, an employee of the Komarov Botanical Institute, for their assistance in the identification and photofixation of seed mycoflora.

References / Литература

Bojko T.A., Krylova I.O. Luk K.S. Phytopathogen fungi as contaminants of hylophate seeds. Perm: Perm State Agricultural Academy; 2012. [in Russian] (Бойко Т.А., Крылова И.О. Люк К.С. Фитопатогенные грибы – контаминанты семян лесных растений. Пермь: Пермская ГСХА; 2012).

Bonner F.T., Karrfalt R.P. The Woody Plant Seed Manual. Agricultural Handbook No. 727. Washington, DC: USDA Forest Service; 2008.

Concept of the Federal Target Program "Development of forest seed production for the period of 2009–2020" (Konseptsiya Federalnoy tsелеvoy программы "Razvitiye lesnogo semenovodstva na period 2009–2020 gg."). *Lesnaya Rossiya = Forest Russia*. 2008;9:9-15. [in Russian] (Концепция Федеральной целевой программы «Развитие лесного семеноводства на период 2009–2020 гг.». *Лесная Россия*. 2008;9:9-15).

For grateful descendants (Dlya blagodarnykh potomkov). *Lesnaya Rossiya = Forest Russia*. 2008;1:44-48. [in Russian] (Для благодарных потомков. *Лесная Россия*. 2008;1:44-48).

Gantait S., Kundu S., Wani S.H., Das P.K. Cryopreservation of forest tree seeds: A mini-review. *Journal of Forest*

Environmental Science. 2016;32(3):311-322. DOI: 10.7747/JFES.2016.32.3.311

Genebank Standards. Rome: FAO, IPGRI; 1994. Available from: <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/meeting/015/aj680e.pdf> [accessed Nov. 12, 2020].

Gladsky M., Prokazin A.E., Rutkovsky I.V. About some promising technologies of forest seed production and nurseries (from the Swedish experience) (O nekotorykh perspektivnykh tekhnologiyakh lesnogo semenovodstva i pitomnicheskogo dela [iz shvedskogo opyta]). *Forestry Information*. 2004;1:52-63. [in Russian] (Гладский М., Проказин А.Е., Рутковский И.В. О некоторых перспективных технологиях лесного семеноводства и питомнического дела (из шведского опыта). *Лесохозяйственная информация*. 2004;1:52-63).

GOST 130056.3-86. Seed of trees and shrubs. Methods for determination of moisture. Moscow; 1988. [in Russian] (ГОСТ 130056.3-86. Семена деревьев и кустарников. Методы определения влажности. Москва; 1988). URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200025564> [дата обращения: 08.10.2020].

GOST 13056.5-76. Seed of trees and shrubs. Methods of phytopathological analysis. Moscow; 1988. [in Russian] (ГОСТ 13056.5-76. Семена деревьев и кустарников. Методы фитопатологического анализа Москва; 1988). URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200025566> [дата обращения: 08.10.2020].

GOST 13056.6-97. Seeds of trees and shrubs. Method for determination of germination. Moscow; 1998. [in Russian] (ГОСТ 13056.6-97. Семена деревьев и кустарников. Методы определения всхожести. Москва; 1998). URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200025567> [дата обращения: 08.10.2020].

Guidelines for forest seed production in the Russian Federation (Ukazaniya po lesnomu semenovodstvu v Rossiyskoy Federatsii). Moscow; 2000. [in Russian] (Указания по лесному семеноводству в Российской Федерации. Москва; 2000). URL: <http://www.alppp.ru/law/okruzhayuschaja-sreda-i-prirodnye-resursy/ispolzovanie-ohrana-zaschita-i-vosproizvodstvo-lesov/8/ukazaniya-po-lesnomu-semenovodstvu-v-rossijskoj-federacii.pdf> [дата обращения: 01.10.2020].

Hawkins B.J., Guest H.J., Kolotelo D. Freezing tolerance of conifer seeds and germinants. *Tree Physiology*. 2003;23(18):1237-1246. DOI: 10.1093/treephys/23.18.1237

Khokhryakov M.K., Potlaychuk V.I., Semenov A.Ya., Elbakyan M.A. Key to crop disease (Opredelitel bolezney sel'skokhozyaystvennykh kultur). Leningrad: Kolos; 1984. [in Russian] (Хохряков М.К., Потлайчук В.И., Семенов А.Я., Элбакян М.А. Определитель болезней сельскохозяйственных культур. Ленинград: Колос; 1984).

Nikolaeva M.A., Varentsova E.Yu., Safina G.F., Zamnius A.V. The influence of storage temperature conditions on the development of fungal diseases in pine and spruce seeds (Vliyaniye temperaturnykh rezhimov khraneniya na razvitiye gribnykh bolezney semyan sosny i yeli). In: V.M. Gedyo (ed.). *Forests in Russia: Policy, Industry Science, Education (Lesa Rossii: politika, promyshlennost, nauka, obrazovaniye). Proceedings of the 3rd International Scientific and Technical Conference; May 23–24, 2018; St. Petersburg, Russia. Vol. 1*. St. Petersburg: State Forest Technical University; 2018. p.222-225. [in Russian] (Николаева М.А., Варенцова Е.Ю., Сафина Г.Ф., Замниус А.В. Влияние температурных режимов хра-

нения на развитие грибных болезней семян сосны и ели. В кн.: *Леса России: Политика, промышленность, наука, образование. Материалы 3-й международной научно-технической конференции; 23–24 мая 2018 г.; Санкт-Петербург, Россия. Т. 1* / под ред. В.М. Гедьо. Санкт-Петербург: СПбГЛТУ; 2018. С.222–225).

- Orekhova T.P. Creation of long-term seed bank of woody species – the real way of preservation of their genofund. *Conifers of the Boreal Area*. 2010;27(1-2):25–31. [in Russian] (Орехова Т.П. Создание долговременного банка семян древесных видов – реальный способ сохранения их генофонда. *Хвойные бореальной зоны*. 2010;27(1-2):25–31).
- Orlov M.M. On the foundations of Russian state forestry (Ob osnovakh russkogo gosudarstvennogo lesnogo khozyaystva). Petrograd: 9th State Printing House; 1918. [in Russian] (Орлов М.М. Об основах русского государственного лесного хозяйства. Петроград: 9-я Государственная типография; 1918).
- Safina G.F. The influence of low and ultralow temperature on viability of fruit and berry seeds. *Informatsionny vestnik VOGiS = Bulletin of the Vavilov Society of Geneticists and Plant Breeders*. 2008;12(4):541–547. [in Russian] (Сафина Г.Ф. Влияние низких и сверхнизких температур на жизнеспособность семян плодовых и ягодных растений. *Информационный вестник ВОГиС*. 2008;12(4):541–547).
- Safina G.F., Nikolayeva M.A. Prospects for cryopreservation of seeds used to store the genetic resources of conifer plants. *Biosfera = Biosphere*. 2014;6(4):365–372. [in Russian] (Сафина Г.Ф., Николаева М.А. Перспективы использования криоконсервации семян для сохранения генетических ресурсов хвойных. *Биосфера*. 2014;6(4):365–372). DOI: 10.24855/biosfera.v6i4.181

- Sanz V., Escudero A., Pita J.M. Seed cryopreservation of seven Spanish native pine species. *Silvae Genetica*. 1998;47(4):220–223.
- Simpson J.D., Wang B.S.P., Daigle B.I. Long-term seed storage of various Canadian hardwoods and conifers. *Seed Science and Technology*. 2004;32(2):561–572. DOI: 10.15258/sst.2004.32.2.25
- Suszka B., Chmielarz P., Walkenhorst R. How long can seeds of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) be stored? *Annals of Forest Science*. 2005;62(1):73–78. DOI: 10.1051/forest:2004082
- Verzhuk V.G., Filipenko G.I., Safina G.F., Pavlov A.V., Zhestkov A.S. Cryopreservation is an effective method of fruit crops genetic resources conservation. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2012;169:270–279. [in Russian] (Вержук В.Г., Филипенко Г.И., Сафина Г.Ф., Павлов А.В., Жестков А.С. Криоконсервация – эффективный метод сохранения генетических ресурсов плодовых и ягодных культур. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2012;169:270–279).
- Zhukov A.M., Zhukov P.D. Atlas of coniferous seed fungi diseases. Pushkino: VNIILM; 2012. [in Russian] (Жуков А.М., Жуков П.Д. Атлас грибных болезней семян хвойных пород. Пушкино: ВНИИЛМ; 2012).

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Николаева М.А., Варенцова Е.Ю., Сафина Г.Ф. Влияние температурных режимов хранения семян сосны и ели на всхожесть и зараженность патогенными грибами. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2021;182(1):157–167. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-157-167

Nikolaeva M.A., Varentsova E.Yu., Safina G.F. The impact of temperature patterns during storage of Scots pine and Norway spruce seeds on their germination and fungal infection rates. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021;182(1):157–167. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-1-157-167

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2021-1-157-167>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Nikolaeva M.A. <https://orcid.org/0000-0002-1777-3937>

Varentsova E.Yu. <https://orcid.org/0000-0002-4616-2289>

Safina G.F. <https://orcid.org/0000-0002-8566-0192>