

УДК 58.084.1:58.039/.036.5:631.53.011.2/.3:582.736

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ ТВЕРДЫХ СЕМЯН БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

© 2024 г. А. Ю. Беляев<sup>1</sup>, Н. А. Кругликов<sup>2</sup>, \*, И. В. Кочев<sup>2</sup>, Д. А. Крылова<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук», Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физики металлов имени М.Н. Михеева Уральского отделения Российской академии наук», Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

\*E-mail: nick@imp.uran.ru

Поступила в редакцию 02.05.2024

После доработки 13.05.2024

Принята к публикации 31.05.2024

Использованы различные физические воздействия для преодоления твердосемянности бобовых. Показано, что всхожесть семян донника и клевера возрастала после криообработки. У солодки и астрагала всхожесть повышалась только после обработки гидростатическим давлением. Выдвинуто предположение, что жидкий кислород стимулирует развитие проростков донника. Обнаружено, что прорастание семян солодки влияет на их деформационное поведение: сопротивление деформированию (упрочнение) определяет оболочка семян (засушливые районы) либо семядоли (избыток влаги).

**Ключевые слова:** бобовые растения, твердосемянность, криообработка, барообработка, гидростатическое давление, механические испытания

DOI: 10.31857/S0367676524090117, EDN: ODGSEK

### ВВЕДЕНИЕ

Последствия воздействий разнообразных физических (физико-химических) факторов на семена растений изучаются уже в течение многих десятилетий и с различными целями. В основном это связано с разработкой методов улучшения посевных качеств семян, длительного сохранения их жизнеспособности и высокой всхожести [1]. В последнее время наблюдается увеличение потока данных, полученных в области биофизики семян с использованием передовых физических методик и высокотехнологичного оборудования [2]. Результаты этих исследований применяются для разработки методов освоения в культуре новых видов растений, сохранения и воспроизводства генетических ресурсов культивируемых растений и их диких сородичей, решения актуальных задач сельскохозяйственного производства и охраны окружающей среды.

Многие виды бобовых растений, относящиеся к таким родам как донник, клевер, астрагал, солодка, являются ценными кормовыми растениями и медоносами, используются для получения лекарственного и технического сырья. Они также широко

применяются для фитомелиорации (рекультивации) нарушенных земель. Особую ценность представляют природные популяции этих растений, которые кроме вышеперечисленных направлений использования являются источниками генофонда для получения новых культурных сортов [3]. В связи с этим требуются расширенное воспроизводство таких растений в условиях культуры и, соответственно – улучшение посевных качеств семян. В отношении ряда видов дикорастущих бобовых растений (например, видов солодки, астрагала) актуальна разработка технологий их массового семенного размножения для введения в культуру [4, 5]. При этом требуется решение проблемы твердосемянности: у многих дикорастущих бобовых растений 70–100% семян не прорастает даже при благоприятных условиях увлажнения и температуры в связи с особым строением семенной кожуры, в которой имеется слой специализированных плотно сомкнутых между собой толстостенных клеток. В совокупности с другими компонентами этот слой обеспечивает высокую прочность кожуры и ее непроницаемость для воды. Такие семена называют твердыми, для их

прорастания требуется скарификация (повреждение семенной кожуры) [6, 7]. Твердые семена вполне жизнеспособны, что является их характерным свойством, сохраняющимся в течение очень длительного времени, пока сохраняется водонепроницаемость [8]. Твердосемянность в значительной степени определяется генотипом растения, на котором формируются исследуемые семена [9]. Водонепроницаемость семенной кожуры твердых семян может обеспечиваться сложным сочетанием (взаимодействием) многих морфологических (особое клеточное строение), биохимических (наличие особых органических веществ), физико-химических признаков и свойств наружных покровов семени [6, 7, 10, 11]. У разных видов из указанных выше родов (таксонов) бобовых растений этот признак (свойство) имеет различное проявление, выражающееся как в различном количестве (доле) твердых семян в семенном материале, так и по степени (уровню) устойчивости этих семян к экстремальным физико-химическим воздействиям [6, 12, 13]. С учетом этого были выбраны объекты исследования – семена нескольких видов бобовых растений, которые существенно различаются по своим наследственно обусловленным экологическим характеристикам.

Выявление физических факторов, нарушающих водонепроницаемость оболочки твердых семян, может дать информацию о свойствах таких семян, их устойчивости у разных видов бобовых растений к воздействию внешних экстремальных факторов. Методы скарификации разнообразны. Они включают, в частности, различные механические и термические воздействия на семена [6, 13]. При этом не всегда достигается высокая всхожесть семян, часть из них теряет жизнеспособность. У части проростков появляются морфологические аномалии, дефекты, в большинстве своем такие проростки нежизнеспособны [5]. Поиск эффективных методов преодоления твердосемянности, обеспечивающих достижение высоких показателей всхожести семян и последующее нормальное развитие проростков продолжается постоянно, поскольку существующие методы не всегда обеспечивают достаточную всхожесть при сохранности зародыша.

Перспективны методы скарификации, основанные на криообработке семян жидким азотом: воздействию на семена сверхнизкой температурой (77 К) при различных режимах и условиях замораживания и оттаивания. Результативность таких воздействий для разных видов растений различна. Так, в отношении некоторых видов и сортов кормовых бобовых трав на основании экспериментов по замораживанию семян жидким азотом были разработаны эффективные способы преодоления твердосемянности [14]. Криообработка жидким азотом с целью преодоления твердосемянности хорошо сочетается с криохранением семян.

Значительное снижение доли твердых семян отмечалось для многих видов дикорастущих бобовых растений после хранения семян в течение одного месяца в жидком азоте [12]. При этом важно отметить, что в дальнейшем нормально прорастали и твердые, и «мягкие» семена [12, 15, 16]. Однако приводятся данные и о том, что криохранение семян некоторых видов астрагала в жидком азоте и различные способы их кратковременной обработки с использованием жидкого азота не обеспечивали существенного повышения всхожести [12, 15, 5].

Воздействие высоким гидростатическим давлением для повышения всхожести семян бобовых растений начали использовать еще в первой половине двадцатого века. В опытах Дэйвиса [17, 18] существенно повышалась всхожесть семян люцерны и донника (с долей фракции твердых семян 50% и более) после воздействия на них высоким гидростатическим давлением (до 200 МПа), но в этих работах не приведены данные о последующем развитии проростков. У современных исследователей сохраняется интерес к использованию высокого гидростатического давления для улучшения прорастания семян и параметров развития проростков бобовых растений. Но эти работы связаны, в основном, с решением вопросов производства пищевой продукции на основе микрорзелени [19, 20]. Данные наших предыдущих работ свидетельствуют о перспективности применения высокого гидростатического давления для преодоления твердосемянности у солодки уральской с целью ее массового семенного размножения и получения ценного лекарственного сырья [21, 22]. В работах других авторов также показано, что для преодоления твердосемянности с использованием высокого гидростатического давления и обеспечения последующего нормального развития проростков требуется установить оптимальные варианты обработки семян конкретных видов растений [19, 20].

Цель данной работы: в отношении разных видов дикорастущих и вводимых в культуру бобовых растений из природных популяций оценить влияние обработки семян сжиженными газами при сверхнизких температурах и высоким гидростатическим давлением на проявление свойства твердосемянности, на всхожесть обработанных семян и последующее развитие проростков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использованы семена нескольких видов дикорастущих бобовых растений непосредственно из природных популяций или выращенных в ботаническом саду. Они были представлены популяционными выборками (смесь семян от многих растений из популяции), а также посейменными выборками семян – от отдельных особей и клонов из популяций. Исследованы выборки

семян следующих растений: солодки голой (популяционная выборка и две посемейные выборки — клон 1 и клон 2 из этой же популяции), собранные в Астраханской области в 2008 году; введенного в культуру гибридного клона солодки голой из популяции Южного Урала (участок лекарственных растений Ботанического сада УрО РАН, урожай семян 2022 года); донника желтого и астрагала серпоплодного из коллекции Ботанического сада УрО РАН (популяционные выборки, урожай 2021 года); клевера лугового (популяционная выборка и посемейные выборки от трех отдельных особей) из природной популяции Свердловской области.

Обработке гидростатическим давлением (трижды по 100 МПа) подвергали семена солодки голой (четыре указанные выборки) и астрагала серпоплодного, а также донника желтого (трижды по 100 МПа и однократно 200 МПа) в лабораторном гидростате по ранее опубликованной методике [21–23]. В специальном криостате [24], оборудованном в сосуде Дьюара с жидким азотом, проводили обработку продолжительностью до 24 часов в жидких газах (кислороде, аргоне) выборок семян указанных выше видов по ранее описанной методике [21]. Она соответствует варианту обработки семян в тканевых мешочках при быстром замораживании и последующем постепенном оттаивании при комнатной температуре, описанному в работе [14]. Обработки семян жидким кислородом и жидким аргонном проводились в криостате при температуре жидкого азота (77 К) с целью выявления возможного эффекта кислорода как биологически активного вещества. Кроме обработки давлением популяционный образец семян солодки голой подвергался дополнительному воздействию сжиженным аргонном в течение 24 ч.

Каждый вариант опыта включал три повторности по 35–50 семян, их проращивали в чашках Петри под люминесцентными лампами (12 ч освещение, 12 ч темнота) при 23 °С. Изучалась всхожесть семян, оценивалось состояние проростков, проводился количественный учет нормальных и аномальных проростков, загнивших семян.

Для наиболее глубокого понимания природы твердосемянности необходимы исследования особенностей процесса деформирования семян определенных видов бобовых растений с использованием современных методов материаловедения [22]. Для изучения деформационного поведения семян солодки голой по ранее апробированной методике [22] проводилось их поштучное одноосное сжатие на машине для механических испытаний Shimadzu AGS-X с записью деформационных кривых в координатах усилие (P, Н) — абсолютная деформация ( $\Delta$ , мм). Было исследовано по 10 семян из двух посемейных выборок солодки голой (из Астраханской

области — клон 1 и клон 2) и из выборки от гибридного клона солодки голой с Южного Урала.

Для получения деформационных кривых в координатах напряжение (s, МПа) — относительная деформация ( $\delta$ , %) использовали методику аналогичную описанной в работе [25]. Для этого определяли геометрические размеры семян в трех направлениях при помощи микрометра с ценой деления 0.01 мм, вычисляли площадь поперечного сечения семени (мидель перпендикулярный оси сжатия) и для определения напряжения делили усилие на нее. Для определения относительной деформации значение абсолютной деформации, полученной в каждой точке деформационной кривой, делили на начальную высоту семени и умножали на 100%. Такой подход позволяет унифицировать кривые и проводить их сравнение более адекватно. Полученные кривые представлены на рис. 1–3, кривые пронумерованы в порядке проведения испытаний. Нам было важно определить влияния условий влияния происхождения и условий развития растений на качественное различие деформационного поведения семян между различными посемейными выборками и при сравнении семян, полученных с разных плодов одного и того же растения (в пределах клона). Абсолютные значения прочности семенной кожуры могут быть получены по более сложной методике, описанной в предыдущей нашей работе, и требуют проведения более детального исследования [22].

До проведения экспериментов семена хранились в лабораторных условиях при комнатной температуре и низкой относительной влажности воздуха (режим сухого хранения). Для опытов использовали очищенные от механических примесей и вполне зрелые по внешним признакам неповрежденные семена [8]. Были подготовлены и включены в эксперименты контрольные группы семян, что дало возможность четко оценить долю твердых семян в исследуемых образцах и эффект преодоления твердосемянности от воздействия экстремальных физических факторов [21]. В части выбора объектов и вариантов экстремальных физических воздействий данное исследование имело поисковый характер. При этом для минимизации издержек учитывали данные, полученные ранее нами и другими исследователями. Поэтому не все выборки семян подвергались одинаковым вариантам обработки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование направлено на поиск способов применения экстремальных физических воздействий для существенного снижения или полного преодоления твердосемянности в образцах (выборках) семян дикорастущих бобовых растений, используемых для создания посевов различного

назначения. Поэтому необходимо было исследовать особенности развития семян после обработок.

Проращивание семян в контрольных вариантах (без обработки) показало высокий уровень твердосемянности во всех исследованных выборках. Доля твердых семян у солодки голой (во всех четырех выборках) и донника желтого – около 95%, у астрагала серпоплодного – 92%, у клевера лугового из природной популяции – 70%.

После выдерживания семян донника желтого в различных жидких газах (азоте, кислороде, аргоне) при различных экспозициях (включая минимальную – 15 минут в жидком аргоне) всхожесть семян достигла 95–98%, и проростки развивались нормально. После обработки жидким кислородом (24 часа) наблюдалась наибольшая энергия прорастания семян донника (95%). Это согласуется с результатами наблюдений за прорастанием семян остролодочника после их криохранения в течение 100 суток в жидком азоте [16]. Авторами отмечалась высокая энергия прорастания семян и всхожесть около 98% после криохранения при исходной всхожести семян 12% (в контроле). Интересно отметить, что по данным работы [14] при одинаковом очень высоком содержании твердых семян (98–99%) в пробах у донника белого и донника желтого после криообработки семян в жидком азоте доля твердых семян существенно снизилась только у донника желтого. Это демонстрирует видовую специфичность реакции твердых семян донника на криообработку.

У клевера лугового обработка семян всех исследованных выборок сжиженными газами (кислородом и аргоном) привела к значительному увеличению всхожести при соответствующем уменьшении доли твердых семян. Всхожесть семян популяционной выборки (смесь семян от 26 растений клевера) в контроле составила 17%. После выдерживания семян в жидком кислороде (в течение 24 ч) всхожесть достигла 53%. При этом доля твердых семян уменьшилась с 70% до 20%. Семена каждой из трех посемейных выборок клевера лугового, находившиеся в жидком аргоне в течение 1 ч, также были проверены на всхожесть. Результат анализа оказался сходным с тем, что был получен после обработки популяционной выборки семян в жидком кислороде. Но было обнаружено значительное варьирование всхожести семян между посемейными выборками (от 41 до 77%). Это свидетельствует о существенной роли генотипа материнского растения (на котором сформировались семена, составляющие одну семью) в формировании особых морфофизиологических свойств семенной кожуры [3], определяющих, в частности, твердосемянность у дикорастущего клевера лугового.

При проращивании семян клевера лугового во всех вариантах выборок после обработки сжиженными газами у многих проростков наблюдалось

обламывание семядолей на уровне  $\frac{1}{4}$  их длины от основания. Подобное явление отмечали и другие исследователи после воздействий жидким азотом на семена дикорастущих бобовых растений [12]. Причина этого явления не установлена. Это может быть связано со значительными деформациями определенных участков семенной кожуры или тканей зародыша при погружении семян в жидкие газы. При этом происходило дальнейшее развитие проростков: развитие корней, первого настоящего листа и последующих ювенильных листьев. То есть, такие проростки могут быть использованы для получения рассады при воспроизводстве коллекционных образцов семян клевера лугового из природных популяций. Результаты этих опытов дают дополнительную информацию о возможных изменениях свойств семян дикорастущего клевера лугового после обработки сжиженными газами и при криохранении.

Обработка семян из популяционных выборок солодки голой и астрагала серпоплодного сжиженными газами не вызвала заметного снижения доли твердых семян в исследованных пробах. Так, не отличались по всхожести от контрольного варианта семена солодки после выдерживания в жидком кислороде в течение 24 ч. Доля твердых семян у астрагала серпоплодного незначительно уменьшилась после криообработок как в жидком кислороде, так и в жидком азоте в течение 24 ч. Всхожесть семян после таких обработок не превысила 10%.

В табл. 1 представлены данные, характеризующие изменения свойств семян (всхожести, доли твердых семян) в исследованных выборках после их обработки гидростатическим давлением (трижды по 100 МПа). Барообработка популяционной выборки семян солодки голой привела к прорастанию только 14% твердых семян через 17 дней проращивания. Такая же барообработка семян двух посемейных выборок (клон 1 и клон 2) из этой же популяции вызвала незначительное возрастание всхожести семян и соответствующее слабое снижение доли твердых семян (при сравнении с контрольными группами). Но ранее было показано, что после воздействия гидростатическим давлением трижды по 100 МПа в выборке семян солодки уральской (из Карагандинской области Казахстана) проросло в три раза больше семян [21]. Подобная же хорошая всхожесть (около 50%) наблюдалась после такой же барообработки семян, собранных с растений введенного в культуру гибридного клона солодки голой из южноуральской популяции (урожай семян 2022 года). Трехкратное воздействие на семена астрагала серпоплодного давлением 100 МПа также привело к возрастанию их всхожести до 40–50%. Подвергшиеся барообработке семена популяционной выборки солодки голой и дополнительно выдержанные в жидком аргоне в течение 24 ч показали незначительное увеличение

**Таблица 1.** Лабораторная всхожесть и доля твердых семян в исследованных выборках: в контрольных группах и после воздействия гидростатическим давлением (указаны средние значения в процентах от количества семян в выборках)

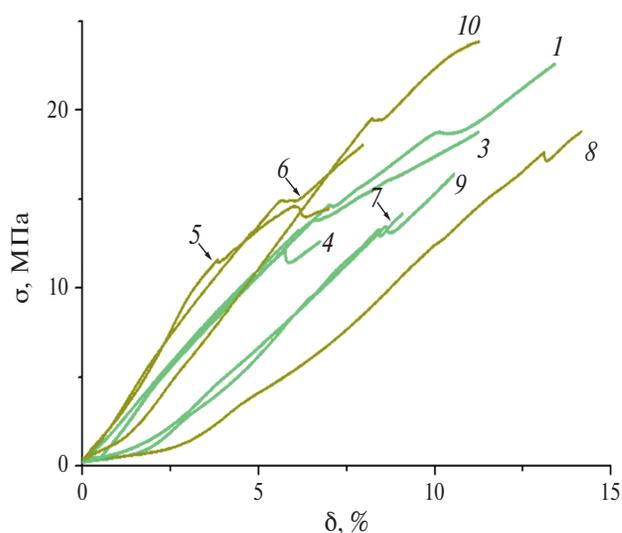
Наименование выборки (пробы) семян, год урожая:	Контроль (без обработки)		Барообработка: 100 МПа × 3 раза	
	Всхожесть	Доля твердых семян	Всхожесть	Доля твердых семян
Солодка голая, популяционная выборка, Астраханская обл., 2008 г.	5	94	14	78
Солодка голая, клон 1, Астраханская обл., 2008 г.	2	97	5	93
Солодка голая, клон 2, Астраханская обл., 2008 г.	3	96	8	86
Солодка голая, гибридный клон с Южного Урала, бот. сад УрО РАН, 2022 г.	3	95	49	30
Астрагал серпоплодный, популяционная выборка, бот. сад УрО РАН, 2021 г.	6	92	45	40
Донник желтый, популяционная выборка, бот. сад УрО РАН, 2021 г.	4	96	50	8

всхожести по сравнению с показателем всхожести для этой же выборки семян после барообработки. То есть, криообработка семян солодки голой после барообработки не усилила эффект скарификации, вызванный гидростатическим давлением. Важно отметить, что после всех перечисленных видов экстремальных воздействий из прорастающих семян солодки и астрагала формировались нормальные проростки, аномалий в их развитии не выявлено. Таким образом, вероятнее всего, давление и количество циклов могут быть увеличены.

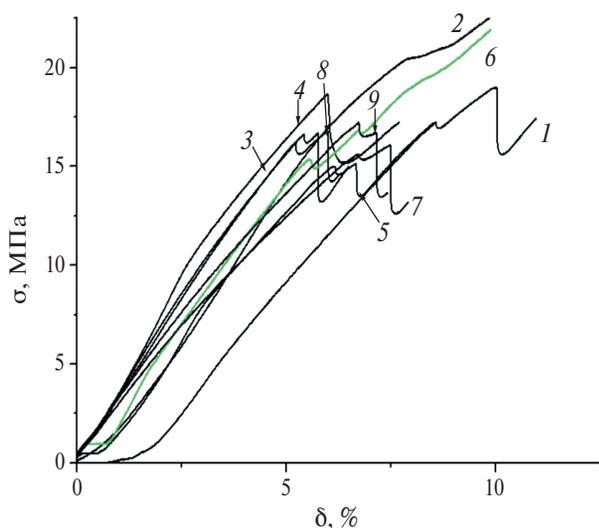
Однако барообработка семян донника желтого дала в этом смысле отрицательный результат. Семена донника после барообработки трижды по 100 МПа показали всхожесть около 50%, а после воздействия давлением 200 МПа – 80%. Но после таких воздействий аномальными и нежизнеспособными оказались более половины проростков, значительная часть семян утратила жизнеспособность (семена набухли и не проросли).

Сравнение деформационных кривых твердых семян из посемейных выборок солодки голой (клон 1, клон 2 и гибридный клон), подвергавшихся поштучно одноосному сжатию позволяет определить степень влияния происхождения семенного материала на деформационное поведение семенных оболочек. Необходимо отметить, что характер разрушения оболочки семян клонов 1 и 2 аналогичен. В частности, рис. 2 и рис. 3 демонстрируют резкое падение напряжения до определенного уровня после разрушения оболочки и некоторого дополнительного упрочнения

(увеличения деформирующего напряжения  $\sigma$ ). Причем у семян, полученных от гибридного клона, культивируемого в Ботаническом саду УрО РАН, участок деформационной кривой с резким сбросом отсутствует. Такая разница может объясняться наличием микрополостей между зародышем и семенной кожурой у семян, полученных от растений, развивавшихся в более засушливой климатической зоне и адаптированных в ней. К тому же семена клона 1 и клона 2



**Рис. 1.** Деформационные кривые для семян гибридного клона солодки голой с Южного Урала.



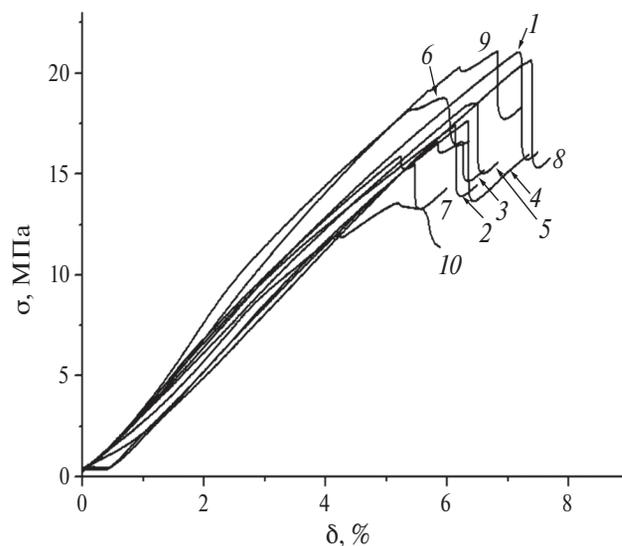
**Рис. 2.** Деформационные кривые для семян солодки голой (клон 1 из Астраханской области). Кривая 2 получена после неудачного позиционирования траверсы испытательной машины и имеет аномальный вид.

хранились в лаборатории существенно дольше чем гибридного клона, что также могло способствовать медленному испарению воды из семядолей. Разброс значений напряжения разрушения и относительной деформации в момент разрушения может быть связан, как с наличием и размером таких микрополостей, так и с неоднородностью клеточного строения семенной кожуры [7, 10].

При повторяющихся нагрузках во время гидростатического сжатия наличие таких неоднородностей также может вызывать образование трещин (дефектов) в семенной кожуре, что нарушит ее водонепроницаемость. Такие микротрещины были ранее выявлены в семенной кожуре солодки уральской методом электронной микроскопии [11].

Деформационные кривые семян гибридного клона в основном отличаются формой. На деформационных кривых 7–10 рис. 1 хорошо различаются два основных участка с разными наклонами (коэффициентами упрочнения), что свидетельствует о различных механизмах деформации на каждом из них. Первый, по всей видимости, связан с деформированием мягкой семенной оболочки и имеет различную продолжительность в зависимости от того, когда в деформировании начнут принимать участие семядоли. В результате общая степень деформации для обоих участков увеличивается. Такой участок можно различить и на остальных кривых, но он менее выражен и, кроме того, маскируется увеличением площади контактного пятна между семенем и плитой испытательной машины.

Вероятно, нагрузку в остальных случаях (кривые 1–6 на рис. 1) почти сразу принимают на себя семядоли, демонстрирующие упругость и пластичность



**Рис. 3.** Деформационные кривые для семян солодки голой (клон 2 из Астраханской области).

лучшие, чем у семенных оболочек. Семена гибридного клона оказались наименее устойчивы к гидростатическому сжатию, хотя и проявили наибольшую пластичность при одноосном сжатии, что очевидно связано с различными условиями формирования оболочек семян в условиях засушливого Поволжья и Среднего Урала со значительным количеством осадков в период формирования семенных оболочек. Кроме того, уменьшенная продолжительностью летнего периода, по всей видимости, повлияла на толщину семенной оболочки в выборке гибридного клона. Повышенная влажность оболочек привела к большей пластичности. Что вполне объяснимо, поскольку пластичность целлюлозы, являющейся армирующим каркасом семенной оболочки сильно зависит от влажности ее волокон. Матрицу такого природного композита составляют аморфные гемицеллюлозы, свойства которых также зависят от содержания воды. Сопоставление данных по одноосному сжатию семян и показателей изменения доли твердых семян в исследованных выборках после гидростатического сжатия с информацией о происхождении семян позволяет предположить, что деформационное поведение оболочек семян солодки связана с наследственными особенностями материнских растений и условиями формирования семян.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что твердые семена экологически разных видов бобовых растений (а также из разных посевных выборок у солодки) по-разному реагируют на использованные в экспериментах экстремальные физические воздействия. Обработкой семян

сжиженными газами (при температуре жидкого азота 77 К) достигается полное преодоление твердосемянности у донника желтого и существенное снижение доли твердых семян у клевера лугового из природной популяции. При этом важным фактором достижения хорошо выраженного эффекта скарификации (устранения водонепроницаемости семенной кожуры) является использованный режим замораживания-оттаивания: быстрое охлаждение при сверхнизкой температуре с последующим относительно медленным нагреванием при комнатной температуре, что использовалось и дало положительные результаты в других исследованиях [12, 14, 16]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что продолжительность выдерживания проб семян при сверхнизкой температуре существенно не влияет на достижение эффекта скарификации, что отмечалось и в работах [14, 26]. Но, как показали опыты с семенами донника желтого, химическая природа сжиженного газа может иметь существенное значение. Жидкий кислород (при воздействии в течение 24 ч) оказал стимулирующее влияние на прорастание семян донника. Естественным присутствием кислорода в составе жидкого азота можно также объяснить активизацию прорастания семян дикорастущих бобовых растений после криообработки и криохранения в жидком азоте [12, 15, 16]. Вероятно, уже на стадии быстрого замораживания семян при сверхнизкой температуре (77 К) может улучшаться проницаемость кожуры твердых семян некоторых бобовых растений для жидкого кислорода, который может влиять на прорастание семян.

После воздействий сжиженными газами развитие всех проростков у донника и большинства проростков клевера происходило нормально. Нормальное развитие проростков многих дикорастущих бобовых растений после криохранения семян в жидком азоте отмечалось в работах [12, 16]. Отмеченное нами у части проростков клевера лугового повреждение (обламывание) семядолей после криообработки семян замедляло, но не прекращало дальнейшее развитие проростков в лабораторных условиях, поскольку сохранялась часть фотосинтезирующих органов (оснований семядольных листьев).

В выборке семян гибридного клона солодки голой и у астрагала серпоплодного всхожесть семян существенно возрастала (снижалась доля твердых семян) только после их обработки высоким гидростатическим давлением (трижды по 100 МПа). Различные варианты криообработки популяционных выборок семян солодки голой и астрагала оказались неэффективными для преодоления твердосемянности.

Таким образом, было установлено, что твердые семена исследованных видов бобовых растений обладают разной устойчивостью к действию экстремальных факторов различной физической

природы. Устойчивость при этом характеризуется комплексом свойств твердых семян: способностью сохранять непроницаемость семенной кожуры для воды при разных вариантах и режимах воздействий, сохранять целостность зародыша и его нормальное физиологическое состояние.

Замораживание в сжиженных газах и гидростатическое сжатие, использованные нами как экстремальные физические воздействия на семена бобовых растений, качественно различаются по механизмам воздействия на биологические объекты [1, 27]. Проведенное исследование демонстрирует значительное разнообразие реакций исследованных семян на данные физические воздействия, что свидетельствует о сложной природе твердосемянности. Кроме того, показано, что твердые семена экологически разных дикорастущих и вводимых в культуру видов бобовых растений существенно различаются по способности сохранять непроницаемость семенной кожуры для воды под воздействием сжиженных газов (кислорода, азота, аргона) при сверхнизкой температуре (77 К) и обработке высоким гидростатическим давлением.

Исходя из полученных результатов, с целью подбора оптимальных условий и режимов обработки семян бобовых растений для преодоления твердосемянности можно рекомендовать поэтапное тестирование выборок семян, начиная с криообработки в сжиженных газах с последующим переходом (при необходимости) к обработке семян высоким гидростатическим давлением.

Представляет интерес изучение комбинированных вариантов обработки твердых семян, включающих криообработку и барообработку семян.

Результаты исследования могут служить основой для разработки эффективных методов предпосевной подготовки семян из природных популяций многих видов бобовых растений с высоким содержанием фракции твердых семян.

Работа выполнена в соответствии с темами государственных заданий Минобрнауки России: Института физики металлов УрО РАН (тема «Давление», № 122021000032-5) и Института экологии растений и животных УрО РАН (№ 122021000090-5). Работы по обработке семян в чистых сжиженных газах были выполнены на базе отдела криогенных технологий центра коллективного пользования ИФМ УрО РАН.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Rifna E.J., Ratish Ramanan K., Mahendran R. // Trends Food Sci. Technol. 2019. V. 86. P. 95.*
2. *Лебедев В.М., Платова Н.Г., Спасский А.В. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. 2020. Т. 84. № 4. С. 487; Lebedev V.M., Platova N.G., Spassky A.V. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2020. V. 84. No. 4. P. 373.*

3. Мухина Н.А., Хорошайлов Н.Г., Коломиец Т.А., Станкевич А.К. Культурная флора: Многолетние бобовые травы. Т. 13. М.: Колос, 1993. 335 с.
4. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Гранкина В.П., и др. Солодка: биоразнообразие, химия, применение в медицине. Новосибирск: Гео, 2007. 311 с.
5. Shibata T., Sakai E., Shimomura K. // J. Plant Physiol. 1995. V. 147. P. 127.
6. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л.: Наука. 1985. 348 с.
7. Baskin J.M., Baskin C.C., Li X. // Plant Spec. Biology. 2000. V. 15. No. 2. P. 139.
8. Международные правила анализа семян. М.: Колос, 1984. 310 с.
9. Zhang X., Zhao J., Bu Y. et al. // Plant Mol. Biol. Rep. 2018. V. 36. P. 605.
10. Vaskin C.C. // New Phytol. 2003. V. 158. P. 227.
11. Sun Q., Zhu L., Zhang W. et al. // Legume Res. 2018. V. 41. No. 3. P. 441.
12. Kholina A.B., Voronkova N.M. // J. Botany. 2012. V. 2012. Art. No. 186891.
13. Kimura E., Islam M.A. // Res. J. Seed Sci. 2012. V. 5. No. 2. P. 38.
14. Молодкин В.Ю. // Науч.-техн. бюлл. пробл. семеновед. ВНИИ Растениевод. им. Н.И. Вавилова. 1985. Т. 152. С. 60.
15. Холина А.Б., Воронкова Н.М. // Растит. ресурсы. 2001. № 2. С. 39.
16. Kholina A.B., Voronkova N.M., Nakonechaya O.V., Koren O.G. // Turczaninowia. 2015. V. 18. No. 1. P. 99.
17. Davies P.A. // Amer. J. Botany. 1928. V. 15. No. 2. P. 149.
18. Davies P.A. // Amer. J. Botany. 1928. V. 15. No. 7. P. 433.
19. Penas E., Gomez R., Frias J., Vidal-Valverde C. // Food Control. 2008. V. 19. P. 698.
20. Alexandre E.M.C., Carvalho A.M., Saraiva J.A. // High Press. Res. 2014. V. 34. No. 1. P. 133.
21. Кругликов Н.А., Быструшкин А.Г., Беляев А.Ю. // Изв. РАН. Сер. физ. 2022. Т. 86. № 2. С. 228; Kruglikov N.A., Bystrushkin A.G., Belyaev A.Yu. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2022. V. 86. No. 2. P. 170.
22. Кругликов Н.А., Беляев А.Ю., Минин М.Г., Яковлев Г.А. // Изв. РАН. Сер. физ. 2023. Т. 87. № 11. С. 1593; Kruglikov N.A., Belyaev A.Yu., Minin M.G., Yakovlev G.A. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2023. V. 87. No. 11. P. 1625.
23. Логинов Ю.Н., Каменецкий Б.И., Булычёв Д.К. Гидростат. Патент № 95992. СССР. Бюллетень № 35. 1982.
24. Кругликов Н.А., Кочев И.В., Беляев А.Ю., Соколов А.Л. // Тез. докл. СПФКС-23 (Екатеринбург, 2023). С. 238.
25. Крылов О.Н., Дородов П.В., Мохов А.А. // Достиж. науки и техн. АПК. 2013. № 8. С. 61.
26. Jastrzebowski S., Ukalska J., Kantorowicz W. et al. // Eur. J. Forest Res. 2017. V. 136. P. 471.
27. Красс А.Е. Жизненные процессы и гидростатическое давление. М: Наука, 1973. 272 с.

## Extreme physical impacts usage for hard seeds properties studying of legume plants

A. Yu. Belyaev<sup>1</sup>, N. A. Kruglikov<sup>2,\*</sup>, I. V. Kochev<sup>2</sup>, D. A. Krylova<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144, Russia*

<sup>2</sup>*Mikheev Institute of Metal Physics of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences Yekaterinburg, 620108, Russia*

<sup>3</sup>*Ural Federal University, Yekaterinburg, 620202, Russia*

\*e-mail: nick@imp.uran.ru

It was shown that with a high content of solid seeds in the samples, the germination of yellow clover and meadow clover seeds increased sharply after cryoprocessing, and in naked licorice and sickle astragalus, germination increased significantly only after seed treatment with high hydrostatic pressure. It turned out that liquid oxygen stimulates the development of clover seedlings. The origin and conditions of licorice seed formation significantly affect their mechanical properties.

**Keywords:** legume plants, hard-seededness, cryoprocessing, high pressure treatment, hydrostatic pressure, mechanical tests