

ŻYWOTNOŚĆ NASION GRYKI (*FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH) PRZECHOWYWANYCH DŁUGOTERMINOWO W BANKU GENÓW

Grzegorz Gryziak

Streszczenie. Celem pracy było określenie żywotności nasion gryki zwyczajnej po długoterminowym przechowywaniu w banku genów. W tym celu określono zdolność kiełkowania 25 odmian gryki przed umieszczeniem w banku genów oraz po 6, 11, 21 latach. Po 21 latach przechowywania długoterminowego gryki nie wykazano istotnej zmiany żywotności nasion. Wykazano, że kontrola żywotności dobrej jakości i dosuszanych nasion gryki nie musi być przeprowadzana po raz pierwszy wcześniej niż po 20 latach, jeśli przechowywane są w stabilnym środowisku banku genów.

Słowa kluczowe: *Fagopyrum esculentum*, gryka, bank genów, długoterminowe przechowywanie

WSTĘP

Walka z erozją genetyczną w rolnictwie jest jednym z priorytetów wspólnej polityki rolnej Unii Europejskiej i tym samym Polski. Znajduje to odzwierciedlenie w programach poświęconych rolnictwu. Na przykład głównym celem Pakietu 6 „Zachowanie zagrożonych zasobów genetycznych roślin w rolnictwie” w ramach Działania rolno-środowiskowo-klimatycznego Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014–2020 jest m.in. zachowanie ginących i cennych odmian, gatunków, ekotypów roślin uprawnych oraz wytwarzanie nasion gatunków zagrożonych erozją genetyczną. Realizacja pakietu polega na uprawie lub wytwarzaniu nasion roślin zagrożonych erozją genetyczną, w tym gryki [MRiRW 2014]. Zatem ważnym aspektem tych działań jest jakość potencjalnie możliwych do wykorzystania nasion przechowywanych w bankach genów. Banki genów są to bowiem obiekty służące do długoterminowego przechowywania *ex situ* zasobów genowych (głównie pod postacią nasion) cennych lub rzadkich gatunków i odmian roślin użyt-

Adres do korespondencji – Corresponding author: Grzegorz Gryziak, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych, 05-870 Radzików, e-mail: g.gryziak@ihar.edu.pl

kowych, ważnych dla wyżywienia i rolnictwa. Obiekty przechowywane są w obniżonej temperaturze i w hermetycznie zamkniętych pojemnikach. Niemniej, mimo zapewnienia jak najlepszych warunków, nasiona stopniowo tracą żywotność. Zgodnie ze standardami banków genów [FAO 2013] testy żywotności obiektów w nich przechowywanych powinny być przeprowadzane po upływie 1/3 prognozowanego czasu, w którym żywotność ma spaść do 85% żywotności początkowej (czas ten dla niektórych gatunków można ustalić na podstawie równania Ellisa–Robertsza [1980]), przy czym, nie powinien przekraczać 40 lat. Wynik równania Ellisa–Robertsza to estymacja na podstawie wyników testów żywotności nasion poddanych przyspieszonemu postarzaniu w różnych warunkach. Nawet niewielkie zaokrąglenie parametrów wejściowych tego równania (rzędu 0,01) daje różnicę w oczekiwanej żywotności sięgającą nawet ponad 70 lat. Jej przeszacowanie i w konsekwencji nie odnotowanie spadającej żywotności może prowadzić do bezpowrotnej utraty bezcennych zasobów genowych [Sapra i in. 2003]. Tym samym wyniki wieloletniej obserwacji nasion przechowywanych w stałych warunkach w banku genów są niezastąpione.

Celem pracy jest było określenie wpływu długoterminowego przechowywania nasion gryki na ich żywotność wyrażoną zdolnością kiełkowania.

MATERIAŁ I METODY

Obecnie w banku genów Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR-PIB znajduje się 209 obiektów z rodzaju *Fagopyrum* Mill., w tym 195 obiektów gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench) [IHAR-PIB 2015]. Do porównania żywotności nasion gryki wybrano 25 odmian przechowywanych od 1991 roku w komorach chłodniczych w temperaturze 0,5°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$). Przed umieszczeniem w przechowalni nasiona gryki zostały poddane podsuszaniu do stanu równowagi powietrznej, tj. do 6–8% zawartości wody, po czym zostały zamknięte przy użyciu pakowarki próżniowej w litrowych słoikach z wieczkiem typu twist-off. W tym samym roku określono ich żywotność początkową zgodnie z przepisami ISTA [1985], tj. łącznie po 400 losowo wybranych nasion każdej odmiany umieszczano między arkuszami bibuły filtracyjnej zwilżonej wodą destylowaną. Nasiona inkubowano w zamkniętych szalkach Petriego, w temperaturze 20°C przez 16 h na dobę, a następnie w 30°C przez 8 h na dobę. Żywotność oceniano po 4 i 7 dniach. Testy żywotności wykonano ponownie w latach 1997, 2002 oraz 2012 (tj. po 6, 11 i 21 latach), przy czym w 2012 roku zastosowano uproszczoną metodę testowania: zmniejszono liczbę nasion do 75 i zmieniono podłoże na wacik kosmetyczny, natomiast pozostałe parametry pozostały bez zmian. Zmniejszenie liczby nasion do 75 wynikało z konieczności zachowania jak największej liczby nasion obiektów przechowywanych w banku genów, zgodnie z międzynarodowymi standardami banków genów [FAO/IPGRI 1994], natomiast zmiana podłoża była podyktowana usprawnieniem testowania obiektów. Obliczano odsetek kiełkujących nasion.

Aby określić zależność między żywotnością (zdolnością kiełkowania) nasion a czasem ich przechowywania, obliczono współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r), przy poziomie istotności $p < 0,05$, zarówno dla każdej z odmian jak i dla średnich rocznych żywotności wszystkich odmian. Dla tych ostatnich wyliczono także współczynnik determinacji (R^2). Do obliczeń użyto programu statystycznego PAST w wersji 3.07 [Hammer i in. 2001].

WYNIKI I DISKUSJA

Żywotność odmian gryki wahała się od 71 (odmiana Togo, rok 1991) do 100% (17 odmian w 2012 roku) – tabela.

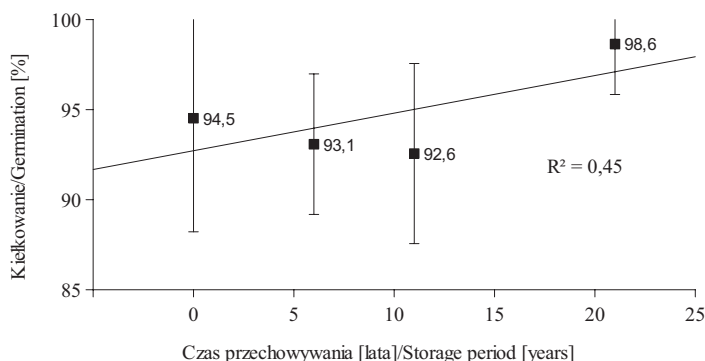
Wartość współczynnika korelacji r zawierała się w zakresie od $-0,29$ (Red Corolla 2 i Red Corolla 4) do $0,99$ (Bednara), ale tylko w przypadku odmiany Bednara była ona istotna statystycznie. Również dla obliczonych średnich żywotności wszystkich odmian, które wahały się w przedziale od $92,6$ do $98,6\%$, wartość współczynnika Pearsona nie była istotna i wynosiła $0,68$. Brak trendu żywotności (wzrostu lub spadku) potwierdził także współczynnik determinacji, wykazał bowiem niezadowalające dopasowanie linii trendu ($R^2 = 0,45$) – rysunek.

Tabela. Żywotność nasion (% kiełkujących nasion \pm SE) gryki przechowywanych w banku genów w latach 1991–2012

Table. Viability (% of germinated seeds \pm SE) of buckwheat seeds stored in the genebank in 1991–2012

Numer akcesyjny Accession number	Odmiana Cultivar	Żywotność w danym roku Viability in the given year [%]				r
		1991	1997	2002	2012	
63019	Ballada	94	91	92	100	0,72
63021	Brańszczyk	90	95	85	100	0,52
63022	Czernigowska	95	88	88	100	0,46
63023	Bednara	94	95	97	100	0,99*
63038	Emka	95	92	96	100	0,79
63039	Erkeja	90	87	92	100	0,87
63044	Green Corolla 1	98	94	88	100	0,16
63045	Green Corolla 2	98	97	96	99	0,34
63046	Green Corolla 3	99	94	96	100	0,33
63048	Hruszowska	96	95	92	100	0,49
63049	Iskra	97	93	79	100	0,09
63050	Iwate	93	89	92	99	0,73
63055	Jeżyk	98	96	99	100	0,69
63056	Jubilejna	99	94	89	100	0,10
63057	Kasanskaja	85	82	96	100	0,87
63059	Noheji	98	93	96	100	0,47
63062	Orle Oczko	99	98	91	100	0,03
63063	Puławska n/Fo.	94	91	96	100	0,82
63064	Red Corolla 1	98	97	96	100	0,52
63065	Red Corolla 2	97	95	95	96	$-0,29$
63066	Red Corolla 3	97	96	97	97	0,26
63067	Red Corolla 4	98	95	91	96	$-0,29$
63070	Tempest	97	93	91	95	$-0,26$
63071	Togo	71	91	88	88	0,62
63072	Tufunskaja	93	96	96	96	0,71

r – współczynnik Pearsona/Pearson's coefficient; * $p = 0,008$.



Rys. Średnia żywotność (% kielkujących nasion \pm SE) nasion gryki przechowywanej w banku genów w latach 1991–2012

Fig. Mean viability (% of germinated seeds \pm SE) of buckwheat seeds stored in the genebank in 1991–2012

Przeprowadzone testy żywotności nie wykazały obniżenia żywotności nasion gryki w wyniku 21-letniego przechowywania w banku genów. Nieistotny statystycznie wzrost żywotności nasion w ostatnim badanym terminie prawdopodobnie spowodowany był zastosowaniem mniej precyzyjnej, uproszczonej metody. Zmniejszenie liczby nasion, jakie były poddawane badaniu, z 400 do 75 sztuk z pewnością zwiększyło błąd pomiaru. Jednakże standardy banków genów [FAO 2013] dopuszczają błąd ok. \pm 5%, bowiem jest ważny nie tyle pojedynczy pomiar żywotności, ale tendencja. Ważniejsze jest oszczędne zużywanie przechowywanych nasion niż precyzja pomiaru. Szczególnie gdy mamy do czynienia z obiektami, które nie mają już swoich odpowiedników w naturze. Banki genów posiadają nierzadko bowiem nasiona odmian i ras, które już wyginęły.

Uzyskane wyniki pokrywają się z obserwacjami dokonanymi przez Ho-Sun i innych [2013]. Autorzy wykazali, że żywotność 10 analizowanych obiektów gryki przechowywanych w banku genów przez 10 lat w temperaturze 4°C i przy wilgotności względnej powietrza wynoszącej 30–40% nie zmieniła się w sposób istotny statystycznie. W doświadczeniu obejmującym 26 odmian gryki przechowywanych przez 11 lat w hermetycznych pojemnikach, w temperaturze 1°C zaobserwowano natomiast nieznaczne obniżenie żywotności z 94,6 do 92,1%, jednak nie wskazano, czy był to spadek istotny statystycznie [Górski 2004]. Niemniej przechowywanie dłuższe niż ok. 20 lat może powodować istotne obniżenie żywotności nasion gryki. Luthar [2013] wykazała bowiem, że żywotność nasion gryki przechowywanych od 27 do 34 lat w banku genów Uniwersytetu w Lublanie spadła o 5–27% (średnio o 13,2%; brak informacji o istotności statystycznej). Być może niższa temperatura w banku genów w Radzikowie (0,5°C \pm 0,5°C) spowolni proces starzenia się nasion gryki i istotna utrata żywotności będzie obserwowana później. Co więcej Luthar [2013] analizowała żywotność nasion dzikich form gryki zebranych w czasie ekspedycji terenowych. Jak wiadomo, nasiona takich form mogą szybciej tracić żywotność w warunkach banku genów niż odmiany uprawne [Niedzielski i in. 2009].

Kluczowy wpływ na żywotność nasion mają warunki, w jakich są przechowywane. Na przykład zmienne warunki, obserwowane w glebowym banku nasion, są skrajnie nie-

korzystne i uniemożliwiają długotrwałe zachowanie żywotności. Dowodzą tego badania Conna i Werdin-Pfisterer [2010]. W 1984 roku nasiona m.in. dzikich ras gryki zakopano w Fairbanks na Alasce w warunkach klimatu subarktycznego, w glebie na głębokości do 15 cm. Po upływie ok. 20 i 25 lat przeprowadzono testy kiełkowania nasion, które wykazały żywotność odpowiednio 1,5 i 0,3%. Autorzy podają, że głębokość umieszczenia nasion w glebie nie miała wpływu na uzyskane parametry. Według Chojnowskiego [2007] ściśle przestrzeganie standardów w bankach genów w zakresie wilgotności nasion i temperatury przechowywania pozwala na znaczne wydłużenie czasu optymalnej żywotności nasion, a co za tym idzie zmniejszenie częstotliwości jej oceny i regeneracji obiektów.

WNIOSKI

1. Nasiona gryki przechowywane przez 21 lat w warunkach banku genów nie wykazują istotnej zmiany żywotności.
2. Kontrola żywotności nasion gryki nie musi być przeprowadzana po raz pierwszy wcześniej niż po 20 latach (pod warunkiem, że nasiona były dobrej jakości i zawierały nie więcej niż 6–8% wody oraz były przechowywane w temperaturze ok. 1°C w hermetycznych pojemnikach).

LITERATURA

- Chojnowski M., 2007. Przechowywanie nasion roślin uprawnych w bankach genów – standardy i wymagania. ZPPNR 517, 127–137.
- Conn J.S., Werdin-Pfisterer N.R., 2010. Variation in seed viability and dormancy of 17 weed species after 24.7 years of burial: the concept of buried seed safe sites. *Weed Sci.* 58, 209–215.
- IHAR-PIB, 2015. EGISET Dystrybucja obiektów. Dostępne na <http://egiset.ihar.edu.pl/> (data dostępu: 13.07.2015).
- Ellis R.H., Roberts E.H., 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Ann. Bot.* 45, 13–30.
- FAO, 2013. Genebank standards for plant genetic resources for food and agriculture. Rome.
- Górski M., 2004. Reakcja odmian gryki na długoterminowe przechowywanie w banku genów. *Biul. IHAR* 233, 157–162.
- FAO/IPGRI, 1994. Genebank standards. Rome.
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D., 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeon. Electron.* 4 (1), 9.
- Ho-Sun L., Young-Ah J., Young-Yi L., Sok-Young L., Yeon-Gyu K., 2013. Comparison of seed viability among 42 species stored in a genebank. *Korean J. Crop Sci.* 58(4), 432–438.
- ISTA, 1985. International rules for seed testing. Rules and Annexes 1985. *Seed Sci. Technol.* 13, 299–513.
- Luthar Z., 2013. Determination of germination and freshness of preserved buckwheat samples in the genebank. W: *New challenges in agronomy 2013, Zreče, Slovenia, 24–25 January, 2013. Symposium Proceedings* (Red. B. Čeh, P. Dolničar, R. Mihelič) Slovenian Society for Agronomy, Lublana, 315–321.

- MRiRW, 2014. Program Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014–2020. Skrócona wersja Programu. Warszawa. Pobrane z <http://www.minrol.gov.pl/content/download/50664/278862/version/3/file/PROW2014-2020.pdf> (data dostępu: 24.07.2015).
- Niedzielski M., Walters C., Łuczak W., Hill L.M., Wheeler L.J., Puchalski J., 2009. Assessment of variation in seed longevity within rye, wheat and the intergenetic hybrid triticale. *Seed Sci. Res.* 19, 213–224.
- Sapra R.L., Narain P., Bhat S.R., Lal S.K., Jain S.K., 2003. Prediction of seed longevity in the genebank: How reliable are the estimates? *Curr. Sci.* 85, 1612–1616.

VIABILITY OF LONG-TERM STORED BUCKWHEAT SEEDS (*FAGOPYRUM ESCULENTUM MOENCH*) IN A GENE BANK

Summary. Genebanks are the facilities used for long-term storage of genetic resources (mainly seeds) precious or rare species and varieties of crop important for food and agriculture. Objects are stored at low temperatures and in airtight containers. According to genebank standards viability monitoring test intervals should be set at one-third of the objects are stored in them to be carried out after, but no longer than 40 years. This time can be determined from the Ellis–Roberts equation, which result is an estimation based on the results of viability tests of seed subjected to accelerated ageing under different conditions. Even slight rounding of the equation input parameters (round-off error equal to 0.01) gives the difference in life expectancy reaching even more than 70 years. Its overestimation and, in consequently, not noticing the falling of seeds' viability can lead to irretrievable loss of precious germplasm. Thus, the results of multiyear observation of seeds stored under constant conditions in the gene bank are indispensable. The aim of the study is to determine the effect of long-term storage on viability buckwheat expressed as seeds germination capacity. Currently, in the genebank of the National Centre for Plant Genetic Resources IHAR-PIB there are 209 objects of genera *Fagopyrum* Mill., including 195 objects of buckwheat *Fagopyrum esculentum* Moench. To compare the viability of buckwheat seeds 25 varieties stored since 1991 in refrigeration (about 1°C) were selected. Before being placed in the genebank buckwheat seeds were subjected to drying to equilibrium, i.e. to 6–8% water content and were closed at vacuum in jars with twist-off lids. In the same year they determined the initial viability in accordance with the ISTA. Subsequent tests were performed in 1997, 2002 and 2012 (i.e. after 6, 11 and 21 years), however in 2012 a simplified method of testing were used: decreased number of seeds to 75 and the medium was changed to cosmetic pads. Other parameters, i.e. temperature and duration of incubation and control days, remained unchanged. Reducing number of seeds resulted from the need to preserve as many objects stored in genebank as possible, in accordance with international genebank standards while changing the medium was dictated by streamlining testing facilities. The percentage of germinated seeds was counted. Buckwheat seeds stored for 21 years in the genebank conditions do not manifest a significant change in viability. Testing of buckwheat seed viability does not need to be performed for the first time earlier than after 20 years (provided that the seeds were of good quality, dried to 6–8% of water and stored in airtight containers at about 1°C).

Key words: *Fagopyrum esculentum*, buckwheat, genebank, long-term storage