

**WPLYW KRÓTKOTERMINOWEGO PRZECHOWYWANIA  
NASION OSIEMNASTU GENOTYPÓW POMIDORA  
(*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) NA ICH KIELKOWANIE**

**EFFECT OF SHORT-TERM STORAGE OF SEEDS  
OF EIGHTEEN TOMATO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) GENOTYPES  
ON THEIR GERMINATION**

**Mariusz Chojnowski, Anna Wawrzyniak**

Instytut Ogrodnictwa – PIB

Zakład Odmianoznawstwa, Szkółkarstwa i Zasobów Genowych

ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: mariusz.chojnowski@inhort.pl

**Abstract**

The aim of the research was to determine the occurrence of primary dormancy in seeds of 18 tomato genotypes (*Solanum lycopersicum* L.) – 16 cultivars and two local genotypes – regenerated for the active collection of the National Institute for Horticultural Research. The plants were grown in the field in accordance with the adopted methodology of seed reproduction in the collection of genetic resources of vegetable plants. Tomato fruits were harvested twice a week from July 18 to September 26, 2019. Immediately after harvest, the seeds were extracted from the fruit, cleaned and dried according to FAO standards for gene banks. The seeds prepared in this way were stored for a period of sixty weeks at a temperature of  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  in airtight containers with the addition of silica gel. During this period, after twenty, forty and sixty weeks of storage, their germination was tested. The studied tomato genotypes differed significantly in terms of depth of primary dormancy and rate of releasing from dormancy. Two of the tested cultivars – ‘Parteno’ and ‘Reper’, were characterized by seed dormancy at the level of 44.5% and 35.5%, two genotypes – ‘Amber’ and the local genotype POLPOB17-27 were characterized by dormancy levels of 15% and 18%. Seeds of two of the genotypes studied that did not show primary dormancy twenty weeks after harvest – ‘Zealand’ and the local genotype POLPOB17-28 – after storage for sixty weeks showed a reduced germination rate and a longer mean germination time. It is concluded that the optimum time for testing the germination of tomato seeds stored after harvest at  $4^\circ\text{C}$  is forty weeks after harvest. The level of primary dormancy of the seeds is then the lowest, but the induction of secondary dormancy does not occur yet. When testing the seed germination in an earlier period, dormancy breaking procedures should be considered to obtain correct results.

**Key words:** tomato, genotypes, seed storage, germination, primary dormancy

## WSTĘP

Procedury stosowane w bankach genów powinny zapewnić optymalne warunki na każdym etapie tzw. regeneracji (reprodukcji) genotypów, czyli produkcji nasion, mającej na celu uzyskanie materiału odtwarzającego pulę genów danego genotypu. W gatunkach rozmnażanych generatywnie nośnikami genów, które będą przechowywane, są nasiona. Prawidłowo stosowane procedury regeneracji genotypów pozwalają na uzyskanie nasion o wysokiej zdolności przechowalniczej, które w warunkach zalecanych przez standardy FAO (2014), tj. temperaturze  $-18\pm 3^{\circ}\text{C}$ , mogą być przechowywane co najmniej przez 150 lat, zanim ich żywotność spadnie do 85% ich początkowej żywotności (Hay i Whitehouse 2017). Zachowanie właściwych procedur na każdym etapie przygotowania nasion jest kluczowym warunkiem uzyskania materiału odpowiedniej jakości. Bezpośrednio po wydobyciu z owoców nasiona powinny być oczyszczone, wysuszone i umieszczone w warunkach optymalnych do przechowywania długoterminowego (FAO 2014). Przed wprowadzeniem nasion do kolekcji przechowywanej długoterminowo konieczna jest ocena ich kiełkowania. Biorąc pod uwagę, że ocena ta powinna być przeprowadzona przed przyjęciem nasion do banku genów, najwcześniej jest to możliwe po dwóch–czterech miesiącach od zbiorów ze względu na konieczność wyczyszczenia i wysuszenia nasion.

Nasiona wielu gatunków roślin uprawnych, w tym pomidora, w tak krótkim czasie po zbiorze mogą wykazywać spoczynek pierwotny. Nasiona wykazujące ten rodzaj spoczynku wymagają tzw. dojrzenia posprzętnego w celu osiągnięcia maksymalnej zdolności kiełkowania (Foley 2001). W wypadku nasion pomidora prowadzone były badania nad mechanizmem spoczynku pierwotnego (Groot i Karssen 1987; de Castro i in. 2001), spoczynku wtórnego oraz tzw. termoinhibicji kiełkowania (Geshnizjani i in. 2018). Nie ma jednak jednoznacznych danych dotyczących okresu trwania tego spoczynku. Można przypuszczać, że uwarunkowania genetyczne mają wpływ na głębokość i długość spoczynku pierwotnego nasion, podobnie jak to ma miejsce w wypadku termoinhibicji oraz spoczynku wtórnego (Geshnizjani i in. 2018).

Celem podjętych badań było określenie występowania spoczynku pierwotnego w nasionach uzyskanych z reprodukowanych genotypów pomidora przeznaczonych do kolekcji aktywnej nasion zasobów genowych roślin ogrodniczych Instytutu Ogrodnictwa – PIB.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły nasiona zebrane podczas reprodukcji genotypów przeznaczonych do kolekcji aktywnej zasobów genowych roślin ogrodniczych w Instytucie Ogrodnictwa – Państwowym Instytucie Badawczym. Rośliny mateczne 16 odmian pomidora (*Solanum lycopersicum* L.) uzyskano z nasion zdeponowanych w przechowalni długoterminowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie. Zestawienie odmian i rok zdeponowania w IHAR–PIB podano w tabeli 1.

Tabela 1. Lista odmian użytych w doświadczeniu

Table 1. List of cultivars used in the experiment

Odmiana	Numer akcesyjny	Rok włączenia do kolekcji
‘Atma’	178718	1987
‘Brylant’	178741	1989
‘Bursztyn’	178978	1990
‘Gem’	178720	1981
‘Karzełek Chodakowski’	178873	1986
‘Kora’	178728	1983
‘Maria’	178874	1986
‘Mory33’	178896	1987
‘Najwcześniejszy’	178712	1982
‘New Yorker’	178709	1993
‘Opus’	178905	1987
‘Parteno’	178951	1988
‘Reper’	178733	1996
‘Salto’	178717	1982
‘Wega’	178999	1990
‘Zelandia’	178735	1983

Rośliny dwóch genotypów stanowiły odmiany lokalne pomidorów koktajlowych pozyskane podczas ekspedycji na terenie kraju w 2017 roku (tab. 2).

Tabela 2. Lista genotypów lokalnych użytych w doświadczeniu  
Table 2. List of local genotypes used in the experiment

<b>Genotyp</b>	<b>Rok zbioru</b>
POLPOB17-27	2017
POLPOB17-28	2017

### **Uprawa roślin**

W celu uzyskania roślin matecznych nasiona wysiano 8 kwietnia 2019 roku na szalki Petriego o średnicy 9 cm, wypełnione krążkami z bibuły o gramaturze  $300 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ , nawilżonej 5 ml wody destylowanej. W celu zapewnienia prawidłowego przebiegu kiełkowania, szalki umieszczono w inkubatorach o stałej temperaturze  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kiełkujące nasiona przenoszono do tac wielodoniczkowych o pojemności komórek  $95 \text{ cm}^3$ , wypełnionych przeznaczonym do siewu substratem torfowym „Kronen warzywa”, które następnie umieszczano w szklarni.

Do gruntu rozsadę sadzono po 15 maja w rozstawie  $90 \times 40 \text{ cm}$ . Zastosowano standardowe nawożenie dla tego gatunku oraz zabiegi ochrony roślin zgodne z aktualnym „Programem ochrony warzyw”.

### **Zbiór i czyszczenie nasion**

Dojrzewające owoce w okresie od 18 lipca do 25 września 2019 roku zbierano dwa razy w tygodniu. Bezpośrednio po zbiorze nasiona wydobywano z komór nasiennych i umieszczano w laboratorium na 24 godziny w pojemnikach z wodą, w temperaturze  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , aby resztki owoców uległy fermentacji. Następnie nasiona doczyszczano ręcznie na sitach i suszono przez tydzień w warunkach laboratoryjnych. Wstępnie podsuszane nasiona umieszczano w desykatorze z wysuszonym żelem krzemionkowym ze wskaźnikiem wilgotności (Orange Pearl, Roth). Po odbarwieniu żel wymieniano na suchy, czynność tę powtarzano do momentu ustabilizowania się wilgotności nasion na takim poziomie, że nie następowało już odbarwianie żelu.

Tak przygotowane nasiona umieszczano w szczelnych słojach z dodatkiem suchego żelu krzemionkowego i przechowywano w chłodni, w temperaturze  $4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , do czasu nastawienia do kiełkowania.

### **Kiełkowanie nasion**

Testy kiełkowania nasion przeprowadzano w trzech terminach: po dwudziestu, czterdziestu oraz po sześćdziesięciu tygodniach przechowywania od zakończenia zbiorów. Nasiona przeznaczone do kiełkowania po wyjęciu z pojemników były umieszczane na 72 godziny w laboratorium na szalkach, w pomieszczeniu o wilgotności ok 70% RH i temperaturze  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , w celu uzyskania wilgotności równoważnej i uniknięcia uszkodzeń po umieszczeniu ich na wilgotnej bibule. Następnie nasiona ( $3 \times 25$  dla każdej kombinacji) umieszczano na plastikowych szalkach Petriego o średnicy 9 cm z niebieską bibułą do kiełkowania (3,25' Blue Blotter Paper – Anchor Paper Company) o gramaturze  $300 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ , nawilżoną 5 ml wody destylowanej. W celu ograniczenia utraty wody szalki umieszczono w foliowych torebkach. Następnie pozostawiono do kiełkowania w inkubatorze o stałej temperaturze  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , w ciemności. Skiełkowane nasiona liczone w 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14, 21 i 28 dniu od nastawienia. Nasiona uznawano za kiełkujące po przebiciu okrywy nasiennej przez korzeń zarodkowy. W wynikach podano końcowy procent kiełkowania nasion (po 28 dniach od nastawienia na szalki) oraz średni czas kiełkowania nasion (MGT).

### **Obliczenia statystyczne**

Średni czas kiełkowania (MGT) wyrażony w dniach obliczono dla każdej partii zgodnie ze wzorem Ellisa i Robertsa (1980):  $\text{MGT} = \Sigma fx / \Sigma f$ , gdzie  $f$  to liczba nowo kiełkujących nasion,  $x$  to numer dnia doświadczalnego. Wyniki testów kiełkowania zostały przeanalizowane statystycznie z zastosowaniem dwuczynnikowej analizy wariancji przy użyciu oprogramowania STATISTICA 13.1 (Dell 2016). Dane procentowe kiełkowania przed poddaniem analizie statystycznej zostały transformowane według metody Bliss.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wskazują, że analizowane czynniki (genotyp i termin kiełkowania) wykazują wysoką istotność, zarówno efektów głównych, jak i efektu interakcji (tab. 3).

Tabela 3. Efekty główne oraz efekty interakcji dla analizowanych genotypów oraz okresów przechowywania

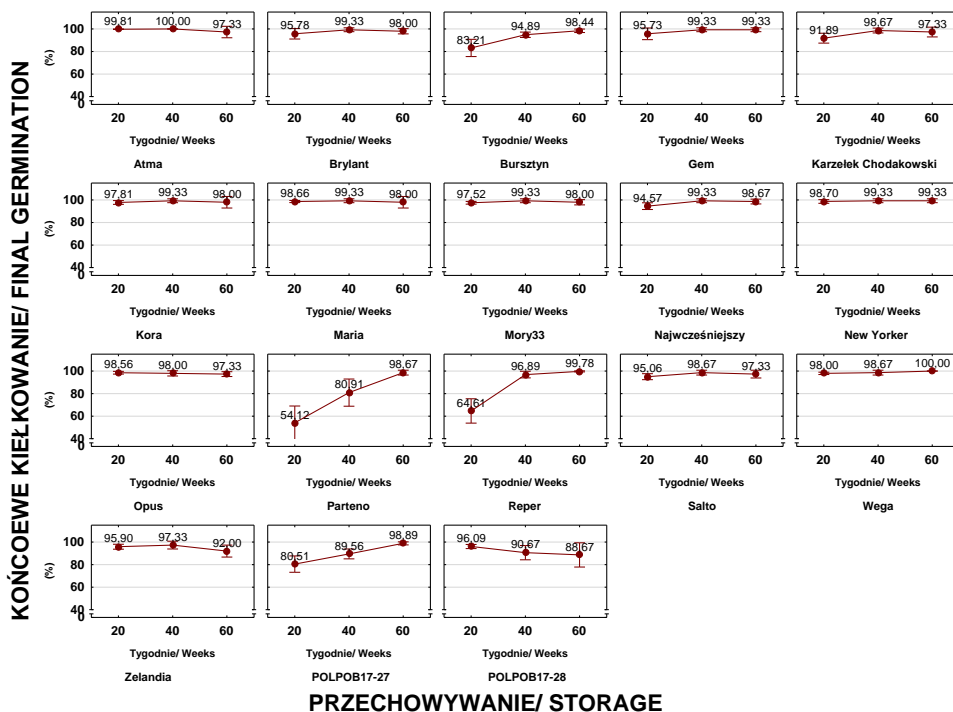
Table 3. Main effects and interaction effects for analyzed genotypes and storage periods

EFEKT	Liczba stopni swobody	Końcowy procent kiełkowania		Średni czas kiełkowania	
		F	p	F	p
Genotyp	17	6,85	0,000000	8,008	0,000000
Okres przechowywania	2	13,94	0,000001	53,203	0,000000
Genotyp * Okres przechowywania	34	4,86	0,000000	2,601	0,000002

Procent kiełkujących nasion w trzech terminach po zbiorze i w zależności od genotypu przedstawiono na rysunku 1. Najwyższym procentem kiełkujących nasion (powyżej 95%) po dwudziestu tygodniach od zakończenia zbiorów charakteryzowało się 11 odmian i jeden genotyp z ekspedycji. Były to odmiany: ‘Atma’, ‘Brylant’, ‘Gem’, ‘Kora’, ‘Maria’, ‘Mory33’, ‘New Yorker’, ‘Opus’, ‘Salto’, ‘Wega’, ‘Zelandia’ i genotyp lokalny POLPOB17-28 (rys. 1). Dwie odmiany – ‘Karzełek Chodakowski’ i ‘Najwcześniejszy’, kiełkowały odpowiednio w 91,89% i 94,57%. Nasiona odmiany ‘Bursztyn’ i genotypu lokalnego POLPOB17-27 kiełkowały odpowiednio w 83,21% i 80,51% (rys. 1). Nasiona dwóch odmian ‘Parteno’ i ‘Reper’ charakteryzowały się najniższym procentem kiełkowania spośród badanych odmian, odpowiednio 54,12% i 64,61% (rys. 1).

Kiełkowanie nasion większości odmian, których nasiona kiełkowały po 20 tygodniach powyżej 90%, pozostało po 60 tygodniach na niezmiennym poziomie lub było wyższe niż 95% (rys. 1). Wyjątkiem był genotyp lokalny POLPOB17-28, którego kiełkowanie było o 5,4% niższe niż w pierwszym terminie. Nasiona odmiany ‘Bursztyn’ i genotypu lokalnego POLPOB17-27 kiełkowały lepiej o 11,68% i 9,05% (rys. 1). Odmiany, których nasiona charakteryzowały się najniższym procentem kiełkowania po 20 tygodniach przechowywania, tj. ‘Parteno’ i ‘Reper’, wykazały również najwyższy wzrost procentu kiełkujących nasion po 40 tygodniach przechowywania. Wynosił on odpowiednio 26,79% i 32,28%.

Testy kiełkowania wykonane po 60 tygodniach przechowywania wykazały, że nasiona 15 odmian i jednego genotypu lokalnego kiełkowały powyżej 97% (rys. 1). Nasiona odmiany ‘Zelandia’ kiełkowały w 92%, gorzej o 5,33% niż po 40 tygodniach przechowywania, a nasiona genotypu POLPOB17-28 kiełkowały w 88,67%, gorzej o 2% niż po 40 tygodniach przechowywania i o 7,42% gorzej niż po 20 tygodniach przechowywania (rys. 1).



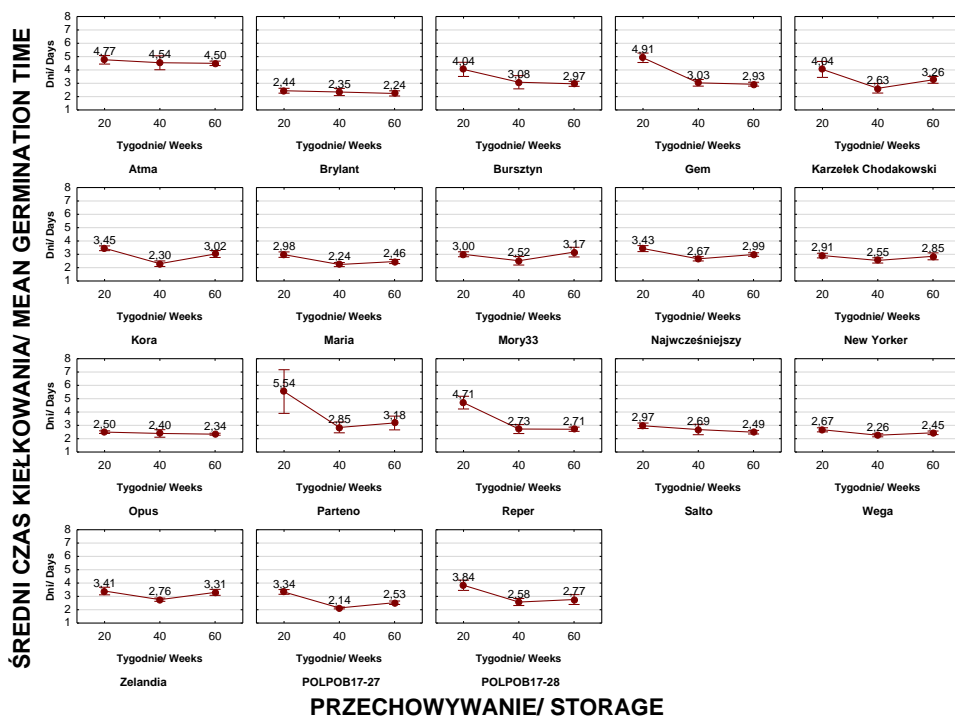
Rysunek 1. Końcowy procent kiełkowania nasion pomidora w zależności od genotypu i okresu przechowywania nasion po zbiorze. Kiełkowanie testowano po dwudziestu, czterdziestu i sześćdziesięciu tygodniach przechowywania nasion w temperaturze 4 °C. Pionowe słupki oznaczają 95% przedziały ufności dla średnich

Figure 1. The final percentage of germination of tomato seeds depending on the genotype and time storage period of the seeds after harvest. Germination was tested after twenty, forty and sixty weeks of seed storage at 4 °C. Vertical bars denote 95% confidence intervals for means

Nasiona testowane po 20 tygodniach przechowywania charakteryzowały się średnim czasem kiełkowania (MGT) w zakresie od 2,44 do 5,54 dnia (rys. 2). Najkrótszy średni czas kiełkowania miały nasiona odmian ‘Brylant’, ‘Opus’, ‘Wega’, ‘New Yorker’, ‘Salto’ i ‘Maria’, odpowiednio 2,44 dnia, 2,50 dnia, 2,67 dnia, 2,91 dnia, 2,97 i 2,98 dnia (rys. 2). Nasiona czterech odmian oraz obydwu genotypów lokalnych miały średni czas kiełkowania 3–4 dni, wynosił on odpowiednio – ‘Mory33’ – 3, ‘Zelandia’ – 3,41, ‘Najwcześniejszy’ – 3,43, ‘Kora’ – 3,45, POLPOB17-27 – 3,34 i POLPOB17-28 – 3,84 dnia (rys. 2). Średni czas kiełkowania nasion pięciu odmian zawierał się w przedziale 4–5 dni i wynosił dla odmian ‘Bursztyn’ i ‘Karzełek Chodakowski’ – 4,04, ‘Reper’ – 4,71, ‘Atma’ – 4,77 i ‘Gem’ – 4,91 dni. Nasiona odmiany ‘Parteno’ miały najdłuższy średni czas kiełkowania i wynosił on 5,54 dni.

Po 40 tygodniach przechowywania nasiona wszystkich genotypów miały krótszy średni czas kiełkowania niż po 20 tygodniach (rys. 2). Różnice te mieściły się w zakresie od 0,1 do 2,69 dni. W tym terminie nasiona trzynastu odmian i obydwu genotypów lokalnych charakteryzowały się średnim czasem kiełkowania poniżej trzech dni (rys. 2). Nasiona odmian ‘Gem’ i ‘Brylant’ miały średni czas kiełkowania odpowiednio 3,03 oraz 3,08 dni, a nasiona odmiany ‘Atma’ – 4,54 dni (rys. 2).

Po 60 tygodniach przechowywania nastąpiło dalsze bardzo nieznaczne skrócenie (od 0,02 do 0,1 dnia) średniego czasu kiełkowania u sześciu odmian. Były to ‘Atma’, ‘Brylant’, ‘Gem’, ‘Opus’, ‘Reper’ i ‘Salto’. Nasiona pozostałych dziesięciu odmian i obydwu genotypów lokalnych miały średni czas kiełkowania wyższy od tego uzyskanego po 40 dniach (rys. 2). Różnice te mieściły się w granicach od 0,19 do 0,72 dni.



Rysunek 2. Średni czas kiełkowania (MGT) nasion pomidora w zależności od genotypu i okresu przechowywania nasion po zbiorze. Kiełkowanie testowano po dwudziestu, czterdziestu i sześćdziesięciu tygodniach przechowywania nasion w temperaturze 4°C. Pionowe słupki oznaczają 95% przedziały ufności dla średnich

Figure 2. The mean germination time (MGT) of tomato seeds depending on the genotype and storage period of the seeds after harvest. Germination was tested after twenty, forty and sixty weeks of seed storage at 4°C. Vertical bars denote 95% confidence intervals for means



Uzyskane wyniki wskazują, że nasiona badanych genotypów pomidora charakteryzują się spoczynkiem pierwotnym ustępującym w okresie do 60 tygodni. Wskazują na duże zróżnicowanie pomiędzy badanymi genotypami, zarówno pod względem procentu kiełkujących nasion, jak i średniego czasu kiełkowania nasion. Biorąc pod uwagę procent kiełkowania można stwierdzić, że nasiona większości badanych genotypów testowane po 20 tygodniach przechowywania nie wykazywały spoczynku pierwotnego lub wykazywały go w bardzo niewielkim stopniu. Nasiona odmiany ‘Bursztyn’ i genotypu lokalnego POLPOB17-27 posiadały frakcję nasion znajdujących się w spoczynku – odpowiednio około 15% i 18%, natomiast nasiona odmian ‘Parteno’ i ‘Reper’ posiadały frakcje nasion spoczynkowych na poziomie ponad 44,5% i 35,5%. U wszystkich tych genotypów spoczynek nasion ustępował w trakcie dalszych czterdziestu tygodni przechowywania. Biorąc pod uwagę wyniki analizy średniego czasu kiełkowania (MGT), jako dodatkowego parametru charakteryzującego dynamikę kiełkowania, można wnioskować, że dynamika kiełkowania nasion wszystkich badanych genotypów była najwyższa po 40 tygodniach przechowywania. Zarówno procent kiełkujących nasion, jak i dynamika ich kiełkowania po tym czasie zaczęły się nieznacznie obniżać. Basbouss-Serhal i in. (2016) wykazali, że szybkość ustępowania spoczynku pierwotnego nasion *Arabidopsis thaliana* jest zależna zarówno od temperatury, jak i wilgotności w trakcie przechowywania. Należy się spodziewać, że dynamika ustępowania spoczynku nasion pomidora jest również uzależniona od temperatury przechowywania. Uzyskane wyniki wskazują, że różnice w poziomie i dynamice ustępowania spoczynku pierwotnego u pomidora zależą od genotypu (Geshnizjani i in. 2018), podobnie jak to ma miejsce w wypadku spoczynku wtórnego i termoinhibicji w nasionach pomidora. Na głębokość tego spoczynku mogą mieć wpływ warunki w okresie dojrzewania. Spoczynek pierwotny jest fazą rozwoju nasion mającą zapobiegać ich przedwczesnemu kiełkowaniu, kontrolowany jest przez czynniki wewnętrzne, przede wszystkim stężenie ABA, GA<sub>3</sub>, etylen i auksyny (Nonogaki 2017), oraz czynniki zewnętrzne, takie jak temperatura (Geshnizjani i in. 2018) i światło (Appenroth i in. 2006).

## WNIOSKI

1. Optymalnym terminem oceny kiełkowania nasion pomidorów przechowywanych w temperaturze 4°C jest okres 40 tygodni po zbiorze. Poziom spoczynku pierwotnego nasion jest wówczas najniższy, natomiast nie następuje jeszcze indukcja spoczynku wtórnego.
2. Przy przeprowadzaniu oceny kiełkowania nasion w okresie wcześniejszym należy uwzględnić procedury przełamывania spoczynku, aby uzyskać prawidłowe rezultaty.

### Literatura

- Appenroth K.-J., Lenk G., Goldau L., Sharma R. 2006. Tomato seed germination: regulation of different response modes by phytochrome B2 and phytochrome A. *Plant, Cell and Environment* 29(4): 701–709. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01455.x.
- Basbouss-Serhal I., Leymarie J., Bailly C. 2016. Fluctuation of *Arabidopsis* seed dormancy with relative humidity and temperature during dry storage. *Journal of Experimental Botany* 67(1): 119–130. DOI: 10.1093/jxb/erv439.
- de Castro R.D., Bino R.J., Jing H.-C., Kieft H., Hilhorst H.W.M. 2001. Depth of dormancy in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds is related to the progression of the cell cycle prior to the induction of dormancy. *Seed Science Research* 11: 45–54. DOI: 10.1079/ssr200059.
- Dell 2016. Dell Statistica (data analysis software system), version 13.
- Ellis R.H., Roberts E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45(1): 13–30. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085797.
- FAO 2014. Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, revised edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Foley M.E. 2001. Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Science* 49: 305–317. DOI: 10.1614/0043-1745(2001)049[0305:sdauot]2.0.co;2.
- Geshnizjani N., Ghaderi-Far F., Willems L.A.J., Hilhorst H.W.M., Ligterink W. 2018. Characterization of and genetic variation for tomato seed thermo-inhibition and thermo-dormancy. *BMC Plant Biology* 18(1): 229; 12 p. DOI: 10.1186/s12870-018-1455-6.
- Groot S.P.C., Karssen C.M. 1987. Gibberellins regulate seed germination in tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants. *Planta* 171: 525–531. DOI: 10.1007/bf00392302.
- Hay F.R., Whitehouse K.J. 2017. Rethinking the approach to viability monitoring in seed genebanks. *Conservation Physiology* 5(1); 13 p. DOI: 10.1093/conphys/cox009.
- Nonogaki H. 2017. Seed biology updates – highlights and new discoveries in seed dormancy and germination research. *Frontiers in Plant Science* 8; 524; 16 p. DOI: 10.3389/fpls.2017.00524.

Praca została wykonana w ramach programu wieloletniego IHAR-IO (2015–2020), zadanie 1.3 „Gromadzenie, zachowanie w kolekcjach ex situ, kriokonserwacja oraz charakterystyka, ocena, dokumentacja i udostępnianie zasobów genowych i informacji w zakresie roślin warzywnych, sadowniczych, ozdobnych i miododajnych oraz spokrewnionych dzikich gatunków”, finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.