

NĀTRIJA ALGINĀTĀ IEKAPSULĒTU DIĻĻU SĒKLU SĒJA SOWING OF CAPSULATED DILL SEEDS

Ieva Mežaka¹, Noriko Mizobata¹, Arta Kronberga²

¹Vides risinājumu institūts, ² SIA "Field and Forest"

ieva.mezaka@videsinstituts.lv

Abstract. Encapsulation of seeds in a sodium alginate capsule makes it possible to sow pre-germinated seeds thus protecting seeds from a mechanical damage. The effect of encapsulation on germination of the dill seeds was determined. Two encapsulation methods were tested: the formation of a capsule from inside out and from outside in. Germination was higher when the capsule was formed outside in. The effect of concentration of sodium alginate and calcium chloride on germination of seeds was tested. The concentration of the two substances did not significantly affect germination. However, encapsulation delayed germination compared to the control. Therefore, further experiments were conducted: pre-germinated seeds were encapsulated, and untreated seeds were encapsulated and pre-germinated in the capsule. The time of longer pre-germination (72 h) increased final germination and decreased the time to the emergence of cotyledons by four days compared to the control.

Key words: seed pre-treatment, medicinal and aromatic plants, alginate beads

Ievads

Dilles (*Anethum graveolens* L.) ir viengadīgs *Apiaceae* dzimtas augs, kas izsenis tiek kultivēts kā dārzeņis, garšaugu un ārstniecības augs. Latvijā tas ir viens no biežāk audzētajiem garšaugiem. Diļļu sēklas ir mazas, ar nelielām barības rezervēm, tās ir īpaši jutīgas pret stresu, līdz ar to dīgšana var būt lēna un nevienmērīga (Grīnvalds, Lepse, 2014; Espanany, Fallah, 2016).

Lielākajai daļai garšaugu aromātisko un ārstniecības augu sadīgšana lauka apstākļos ir zemāka un nevienmērīgāka nekā dīgspējas pārbaudes testos laboratorijā, ko var skaidrot ar nelabvēlīgiem vides faktoriem un patogēnu klātbūtni augsnē (Tu et al., 2016). Daļu no nelabvēlīgo apstākļu ietekmes var novērst, veicot sēklu papildu apstrādi pirms sējas (Currah et al., 1974). Tai var būt dažādi mērķi, piemēram, atvieglot sēklu iesēšanu, veicināt ātrāku un vienmērīgāku sadīgšanu. Viens no biežāk lietotajiem sēklu priekšapstrādes veidiem ir sēklu iediedzēšana, tiek izmantota arī sēklu dražēšana, slīpēšana. Bioloģiskajā lauksaimniecībā arvien populārāka kļūst sēklu apstrāde ar biostimulantiem (Majkowska – Gadowska et al., 2017).

Iekapsulēšana ir plaši izmantota organismu un šūnu pasargāšanai no ārējās vides kaitīgās ietekmes, kā arī ķīmisku vielu, enzīmu nogādāšanai organismiem vai šūnām. Iekapsulēšanai tiek izmantots ūdenī šķīstošs polimērs, visbiežāk algināts (Berninger et al., 2016). Algināta kapsulā pievienotās barības vielas veicina augšanu, bet kapsula nodrošina mehānisku aizsardzību (Dupuis et al., 1994). Iekapsulēšanu varētu izmantot arī sēklu pirmssējas sagatavošanai, iekapsulējot iediedzētas sēklas, tādējādi aizsargājot sēklas, pārtrūkot to sadīgšanu augsnē un nodrošināt labāku sadīgšanas vienmērību. Sēklu iekapsulēšana alginātā ir pārbaudīta uz kviešu, kāpostu, bazilika un redīsu sēklām (Sarrocchio et al., 2004).

Pētījuma mērķis bija noskaidrot iediedzētu diļļu sēklu iekapsulēšanas ar nātrija alginātu un kalcija hlorīdu ietekmi uz diļļu sēklu sadīgšanas ātrumu un vienmērību.

Materiāli un metodes

Tika veikti izmēģinājumi, lai iekapsulētu sēklas ar dažādām metodēm un lai izvērtētu iekapsulēšanas ietekmi uz diļļu sēklu sadīgšanu. Pētījumā tika izmantotas diļļu šķirnes 'Szmargd' (Polija) sēklas. Kapsulu veidošanai tika izmantots nātrija algināts (Fisher Scientific, Beļģija) un kalcija hlorīda dihidrāts (Fluka, Vācija).

Pētījumā tika pārbaudītas divas algināta kapsulu izveidošanas metodes – kapsulu veidojot "no iekšpusē uz āru" (vispirms sēklas apstrādājot ar kalcija hlorīda dihidrātu un tad ievietojot alginātā) un "no ārpusē uz iekšu" (sēklas kopā ar alginātu pilinot kalcija hlorīda dihidrāta šķīdumā).

Kapsulas veidojot "no iekšpusē uz āru", pirmajā solī sēklas 20 minūtes tika izturētas kalcija hlorīda šķīdumā, tad žāvētas žāvēskapī 30 °C temperatūrā 24 h. Algināta šķīdumu maisot ar magnētisko maisītāju (400 rpm), tajā pa vienai tika pievienotas sagatavotās sēklas un 5 minūtes tajā noturētas, kamēr apkārt

sēklai izveidojās 2–4 mm bieza algināta kapsula. Kapsulas skaloja destilētā ūdenī. Tika pārbaudītas četras algināta koncentrācijas (1, 2, 3 un 4%), kā arī septiņas kalcija hlorīda koncentrācijas (25, 50, 75, 100 mM un 0.5, 1, 2 M).

Kapsulas veidojot "no ārpus uz iekšu", sēklas tika ievietotas algināta šķīdumā un kopā ar šķīdumu ievilkas šļircē. Tad sēklas ar alginātu pa vienai tika iepilinātas kalcija hlorīda šķīdumā un tajā noturētas 10 minūtes. Tika pārbaudītas četras kalcija hlorīda koncentrācijas (25 mM, 50 mM, 75 mM un 100 mM) un četras algināta koncentrācijas (1, 2, 3 un 4%).

Sagatavotās kapsulas pa 20 katram variantam trīs atkārtojumos tika ievietotas Petrī platēs starp diviem mitriem filtrpapīra slāņiem un tika diedzētas 20 °C temperatūrā. Kā kontrole tika izmantotas neapstrādātas sēklas.

Nākamajos pētījuma soļos sēklas tika kapsulētas "no ārpus uz iekšu", izmantojot 2% alginātu un 50 mM kalcija hlorīdu. Tika veikts izmēģinājums, lai noskaidrotu iediedzēšanas ilguma (24, 48 un 72 h), kā arī iediedzēšanas vides (ūdens vai algināts) ietekmi uz sēklu sadīgšanu augsnē. Pirmajā variantā sēklas tika iediedzētas ūdenī 24, 48 un 72 h un tad iekapsulētas, savukārt otrajā variantā sausas sēklas tika iekapsulētas alginātā, un kapsulas tika iediedzētas 24, 48 vai 72 h ūdenī, kas tika aerēts. Pēc tam abu variantu kapsulas tika diedzētas augsnē 0.5 cm dziļumā 20 ± 2 °C temperatūrā. Kā kontrole tika izmantotas neiediedzētas sēklas. Reizi 24 h tika noteikts sadīgušo sēklu daudzums – par sadīgušām tika uzskatītas sēklas, kurām virs augsnes parādījās dīglapas.

Datu apstrāde tika veikta ar R versiju 4.0.3., veicot divu faktoru dispersijas analīzi.

Rezultāti un diskusijas

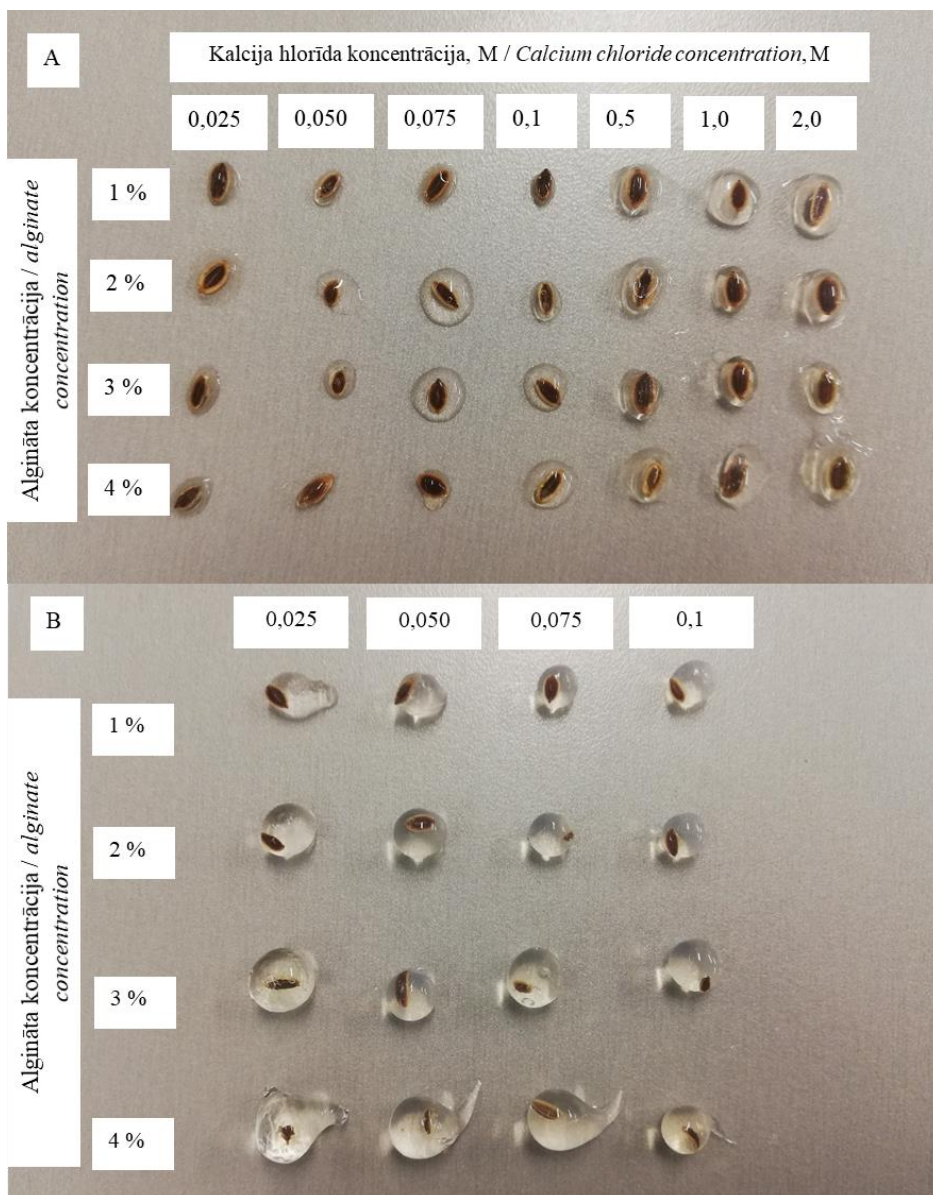
Nātrija algināta kapsulas var veidot divos veidos – kalcija hlorīdu uzklājot uz sēklas un ievietojot alginātā "no iekšpuses uz āru" vai arī sēklas kopā ar alginātu pilinot kalcija hlorīdā "no ārpus uz iekšu". Pirmajā pētījuma solī tika novērtēta algināta lodīšu forma un izmērs, kombinējot dažādas abu vielu koncentrācijas (skat. 1. att.). Kapsulu veidojot "no iekšpuses uz āru", par piemērotām turpmākiem pētījumiem tika atzītas visas testētās algināta koncentrācijas un trīs kalcija hlorīda koncentrācijas – 0.5, 1, 2 M, kuras veidoja simetriskas, 2–3 mm biezas, stabilas kapsulas (skat. 1. att.). Kapsulas, kas tika veidotas ar mazāku kalcija hlorīda šķīduma koncentrāciju, radīja 1–2 mm biezu, nestabilu algināta slāni. Variantā, kurā kapsula veidojās no "ārpus uz iekšu", visām pārbaudītajām algināta (1, 2, 3 un 4%) un kalcija hlorīda (25, 50, 75, 100 mM) koncentrācijām veidojās stingras un noturīgas kapsulas. Kapsulu izturība pieauga, palielinoties algināta koncentrācijai. Kapsulām no 1 un 4% algināta tika konstatētas novirzes no lodes formas (skat. 1. att.).

Testējot četras algināta un trīs kalcija hlorīda koncentrācijas, diļļu sēklas iekapsulējot "**no iekšpuses uz āru**", tika novērots, ka kalcija hlorīdam bija būtiska negatīva ($p < 0.05$) ietekme uz sēklu dīgtspēju, salīdzinot ar neapstrādātu sēklu dīgtspēju (kas vidēji bija 95%). Sadīgušo sēklu daudzums samazinājās, palielinoties kalcija hlorīda koncentrācijai (skat. 2. att.). Izmantojot 0.5 M kalcija hlorīda šķīdumu, sadīgušo sēklu daudzums 10. dienā pie dažādām algināta koncentrācijām bija 82–93%, izmantojot 1 M kalcija hlorīda šķīdumu 72–83%, bet 2 M kalcija hlorīda šķīdumu – 60–78%.

Izmēģinot četras algināta un četras kalcija hlorīda koncentrācijas, kapsulējot diļļu sēklas "**no ārpus uz iekšu**", tika konstatēts, ka vidēji vislielākais sadīgušo sēklu daudzums tika iegūts, iekapsulēšanai izmantojot 50 mM kalcija hlorīda šķīdumu un 2% algināta šķīdumu (skat. 3. att.), tādēļ šī kombinācija tika izmantota turpmākos izmēģinājumos, sējot augsnē. Algināta un kalcija hlorīda koncentrācijai nebija būtiskas ietekmes uz kopējo sadīgušo sēklu daudzumu ($p > 0.05$), tomēr neapstrādātām sēklām sadīgušo sēklu daudzums bija būtiski lielāks 3. un 4. diedzēšanas dienā. No 6. dienas sadīgušo sēklu daudzums izlīdzinājās, un, lai gan visos variantos kontrolei sadīgšana bija augstāka, šī atšķirība nebija būtiska ($p > 0.05$).

Neapstrādātas sēklas (kontrole) augsnē sāka dīgt 9. dienā, bet alginātā iekapsulētas, neiediedzētas sēklas – 8. dienā pēc sējas (skat. 4. att.). Visi pārbaudītie sēklu apstrādes varianti, kuros tika kombinēta sēklu iediedzēšana un iekapsulēšana, veicināja ātrāku sēklu sadīgšanu, turklāt lielāka ietekme bija sēklu iediedzēšanas ilgumam ūdenī. Variantos, kur sēklas tika iediedzētas vienu un divas dienas, tās sadīga 6.–8. dienā pēc sējas neatkarīgi no kapsulēšanas veida. Visātrāk (5. dienā pēc sējas) sadīga sēklas, kas tika iediedzētas 3 dienas (gan kapsulējot pirms, gan pēc iediedzēšanas).

Visaugstākais kopējais sadīgušo sēklu daudzums 15. dienā pēc sējas bija ūdenī 3 dienas iediedzētām un tad iekapsulētām sēklām – $81 \pm 3\%$. Sēklas iediedzējot pirms sējas, tām sāk attīstīties dīgļītis, kas sējot var tikt mehāniski bojāts, tāpēc sēklu kapsulēšana tika pētīta kā metode, kas pasargā dīgļi no bojājumiem sējas laikā un nodrošina ar stabilu un pietiekamu mitruma daudzumu dīgstot. Lai gan 3 dienas iediedzētas sēklas tika iekapsulētas jau baltā dīgļa stadijā, arī sēklu apstrāde nav sabojājusi dīgļi, bet lauka apstākļos nodrošinājusi augstāku sadīgšanu, gan salīdzinot ar citiem eksperimentālajiem variantiem (43–77%), gan kontroli ($53 \pm 7\%$).

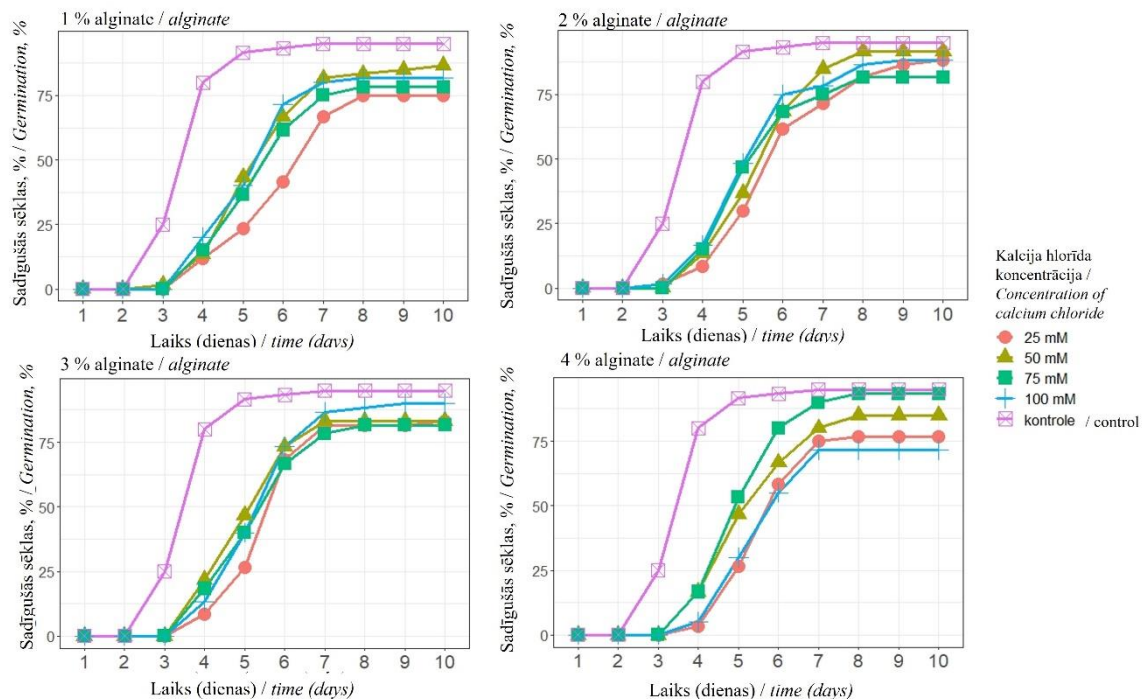


1. att. Kalcija hlorīda un algināta koncentrācijas ietekme uz algināta lodīšu izveidošanos, kapsulas veidojot “no iekšpusēs uz āru” (A) un “no ārpusēs un iekšu” (B).

Fig. 1. Effect of concentration of sodium alginate and calcium chloride dihydrate on the formation of capsules around seeds from inside out (A) and outside in (B).

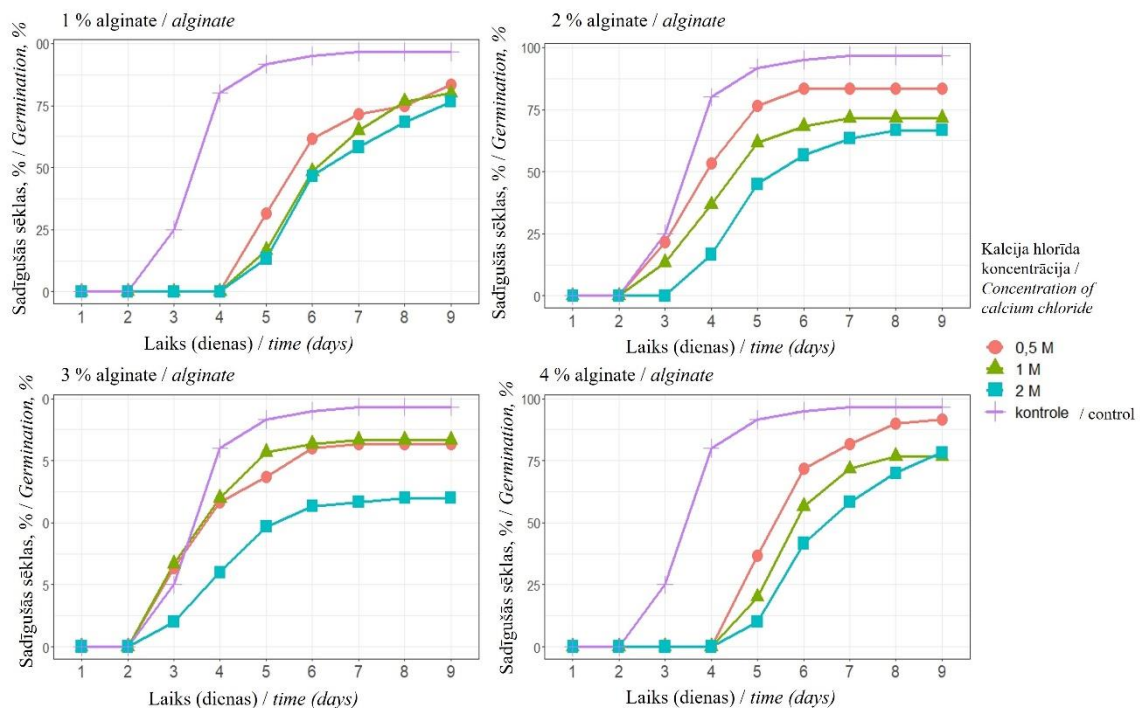
Lai gan laboratorijas testos sēklu iekapsulēšana alginātā sēklu sadīgšanu, salīdzinot ar kontroli, samazināja, sējot augsnē trīs dienas iediedzētas un iekapsulētas sēklas, tās sadīga ātrāk un tika panākta augstāka sadīgšana nekā, sējot neapstrādātas diļļu sēklas.

Mūsu pētījumi liecina, ka sēklu iediedzēšana un iekapsulēšana paātrina diļļu sēklu sadīgšanu un sadīgušo sēklu skaitu, salīdzinot ar nepastrādātu diļļu sēklu sēju. Turpmākos pētījumos būtu nepieciešams izpētīt tehnoloģijas ietekmi uz diļļu ražu un kvalitāti, lai aprēķinātu metodes ekonomisko lietderību, kā arī attīstīt tehnoloģijas iekapsulētu sēklu izsējai.



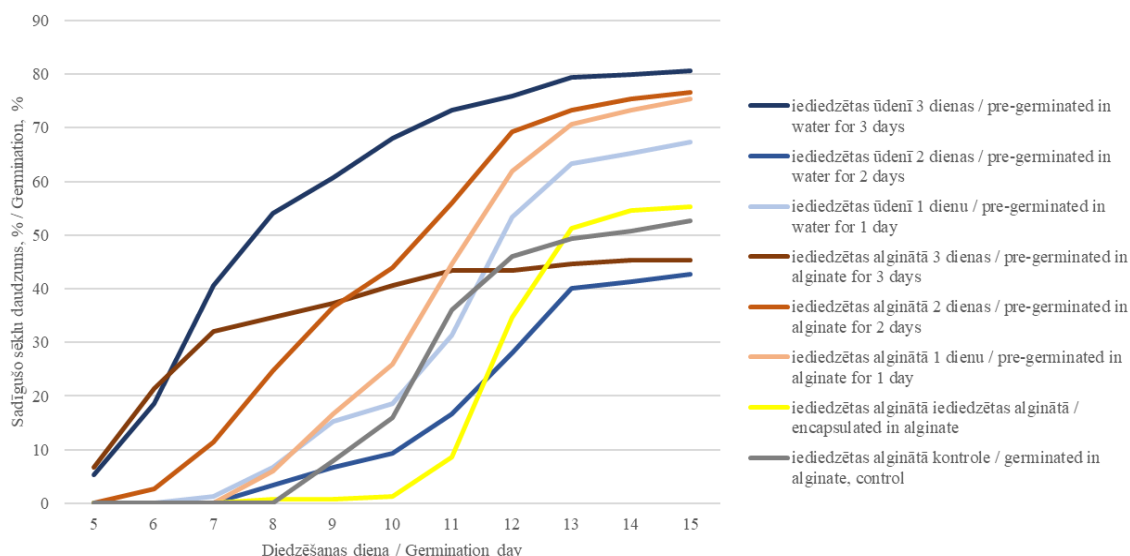
2. att. Kalcija hlorīda un algināta koncentrācijas ietekme uz diļļu sēklu dīgšanu, kapsulējot “no iekšpuses uz āru”.

Fig. 2. Effect of concentration of sodium alginate and calcium chloride dihydrate on germination of dill seeds during capsulation from inside out.



3. att. Kalcija hlorīda un algināta koncentrācijas ietekme uz diļļu sēklu dīgšanu, kapsulējot “no ārpuses uz iekšu”.

Fig. 3. Effect of concentration of sodium alginate and calcium chloride dihydrate on germination of dill seeds during capsulation from outside in.



4. att. Iekapsulētu sēkļu sadīgšana augsnē atkarībā no iedīdēšanas ilguma pirms iekapsulēšanas.
Fig. 4. Effect of pretreatment on germination of encapsulated seeds in soil.

Secinājumi

Trīs dienas iedīdētas un tad alginātā iekapsulētas sēklas augsnē sadīga četras dienas ātrāk nekā neapstrādātas sēklas un uzrādīja būtiski augstāku (81%) sadīgšanu, gan salīdzinot ar citiem eksperimentālajiem variantiem (43–77%), gan kontroli (53%). Tādējādi šo metodi varētu izmantot diļļu audzēšanā, lai uzlabotu sēkļu sadīgšanu augsnē un saīsinātu dīgšanas laiku.

Pateicības

Pētījums tapis, pateicoties projekta Nr. 18-00-A01620-000051 "Jaunas tehnoloģijas sēkļu pirmssējas sagatavošanai un sējai" finansiālam atbalstam.

Izmantotā literatūra

- Berninger T., Mitter B., Preininger C. (2016). The smaller, the better? The size effect of alginate beads carrying plant growth-promoting bacteria for seed coating. *Journal of Microencapsulation*, Vol. 33 (2), p. 127–136.
- Currah I. E., Gray D., Thomas T. H. (1974). The sowing of germinating vegetable seeds using a fluid drill. *Annals of Applied Biology*, Vol 76, p. 311–318.
- Dupuis J. M., Roffat C., DeRose R. T., Molle F. (1994). Pharmaceutical capsules as a coating system for artificial seeds. *Biotechnology*, Vol. 12, p. 385–389.
- Espanany A., Fallah S. (2016). Seed germination of dill (*Anethum graveolens* L.) in response to salicyl acid and halopriming under cadmium stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, Vol. 6 (3), p. 1701–1713.
- Grīnvalds M., Lepse L. (2014). Jaunā diļļu šķīne 'Kurland'. **No:** *Līdzsvarota lauksaimniecība*, zinātniski praktiskās konferences raksti, (2014. gada 20.–22. februāris). LLU: Jelgava, 228–229. lpp.
- Majkowska – Gadomska J., Francke A., Dobrowolski A., Mikulewicz E. (2017). The effect of selected biostimulants on seed germination of four plant species. *Acta agrophysica*, Vol. 24 (4), p. 591–599.
- Sarrocchio S., Raeta R., Vannacci G. (2004). Seeds encapsulation in calcium alginate pellets. *Seed Science and Technology*, Vol. 32 (3), p. 649–661.
- Tu L., He Y., Shan C., Wu Z. (2016). Preparation of microencapsulated *Bacillus subtilis* SL-13 seed coating agents and their effects on the growth of cotton seedlings. *BioMed Research International*, p. 1–7.