



DOI 10.22363/2312-797X-2022-17-2-158-165

УДК 634.462:631.53.027

Научная статья / Research article

## Способы обработки, позволяющие нарушить органическую стабильность семян *Ceratonia siliqua* L. в лаборатории

Ф. Дукси 

Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

✉ [f.duksi@gmail.com](mailto:f.duksi@gmail.com)

**Аннотация.** Органический покой семян рожкового дерева — цератонии (*Ceratonia siliqua* L.) связан с их неспособностью впитывать воду, а это означает, что рожковое дерево испытывает затруднения в естественной регенерации. Семена перед посадкой необходимо обработать, чтобы нарушить механический покой. Проблема выживаемости усугубляется также антропогенным воздействием на природные экосистемы: увеличением площадей лесных пожаров, вырубкой деревьев для дальнейшего использования в качестве топлива для обогрева. Кроме того, всходы цератонии в природе очень редки из-за органического покоя, а распространение рожкового дерева происходит в основном с помощью семян. Цель исследования — оценка результатов нескольких экспериментов по нарушению покоя семян различными способами их обработки. В целом метод нарушения покоя семян предпосадочной обработкой приводит к улучшению прорастания семян и позволяет получить больше информации о семенной биологии рожкового дерева. Применяется метод, главным образом, в практике посадки. Исследование проведено на диком генотипе рожкового дерева, выращенном в Сирии. Всего было произведено четыре различных предпосевных обработки: замачивание в кипящей дистиллированной воде (70 °C) 10 мин; замачивание в кипящей дистиллированной воде (70 °C) 10 мин, а затем замачивание в дистиллированной воде в течение 24 ч; кислотная скарификация  $H_2SO_4$ ; кислотная скарификация серной кислотой  $H_2SO_4$ , а затем замачивание в дистиллированной воде на 24 ч. Мы предложили к применению и проверили эффективность стимуляции прорастания семян рожкового дерева обработкой серной кислотой и последующим замачиванием в дистиллированной воде в течение 24 ч. Этот способ оказался наиболее эффективным: всхожесть — 98 % по сравнению с необработанными семенами (5 %).

**Ключевые слова:** рожковое дерево, предпосевная обработка семян, семена покоя

**Заявление о конфликте интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**История статьи:** поступила в редакцию 5 апреля 2022 г., принята к публикации 12 мая 2022 г.

---

© Дукси Ф., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/1>

**Для цитирования:** Дукси Ф. Способы обработки, позволяющие нарушить органическую стабильность семян *Ceratonia siliqua* L. в лаборатории // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агронимия и животноводство. 2022. Т. 17. № 2. С. 158—165. doi: 10.22363/2312-797X-2022-17-2-158-165

## Effects of various pre-sowing treatments on *in vitro* seed germination of *Ceratonia siliqua* L.

Fatima Duksi 

RUDN University (Peoples' Friendship University of Russia), Moscow, Russian Federation  
✉ f.duksi@gmail.com

**Abstract.** The organic dormancy of *Ceratonia* seeds is associated with their water resistance, which means that Carob suffers from difficulty in natural regeneration. Before planting Carob seeds must be treated in order to disturb mechanical dormancy. The main reasons for the decline in genus *Ceratonia* L. are anthropogenic impact on natural ecosystems, as well as the uses of *Ceratonia* for many goals. This problem is aggravated by the fact that seedlings of *Ceratonia* in nature are very rare because of organic dormancy, and the distribution of carob occurs mainly with the help of seeds. The aim of this work was to study the methods of pre-sowing treatment of dormant Carob seeds. This study was conducted on a wild Carob genotype grown in Syria. Four different pre-sowing treatments were the following: soaking in boiling distilled water (70 °C) for 10 min; soaking in boiling distilled water (70 °C) for 10 min + soaking in distilled water for 24 h; acid scarification with sulphuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); acid scarification with sulphuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) + soaking in distilled water for 24 h. We applied and examined for their effectiveness stimulation of Carob seed germination. The results showed that seeds treated with sulphuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and then soaked in distilled water for 24 h was the most effective method increasing the germination percentage by 98 % compared to untreated seeds 5 %.

**Keywords:** *Ceratonia siliqua*, pre-sowing treatment, seeds dormancy

**Conflicts of interest.** The authors declared no conflicts of interest.

**Article history:** Received: 5 April 2022. Accepted: 12 May 2022

**For citation:** Duksi F. Effects of various pre-sowing treatments on *in vitro* seed germination of *Ceratonia siliqua* L. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2022;17(2):158—165. doi: 10.22363/2312-797X-2022-17-2-158-165

### Введение

Рожковое дерево или цератония (*Ceratonia siliqua* L.) относится к семейству Fabaceae (бобовые) [1], оно широко культивируется в районах Средиземноморья, одним из них является Сирия [2]. Цератония характеризуется высоким экологическим значением (обладает высокой степенью адаптации, выносит

относительно суровые условия обитания и характеризуется устойчивостью к вредителям и болезням, приспособляемостью к засухе, бедным и каменистым почвам), ее выращивание приносит экономическую выгоду (на национальном и региональном уровнях — в качестве стабильного источника дохода местного населения за счет получения продукции из плодов и семян) [3—5]. Семена бобов цератонии используются как промышленное сырье для производства ценного полисахарида, являющегося пищевой добавкой — камедь рожкового дерева (E-410), представляющей собой порошок измельченного эндосперма семени [6, 7]. Камедь E 410 используют для производства фармацевтических продуктов [8—10]. Цератония более огнестойка, чем хвойные, из-за отсутствия эфирного масла. Это качество объясняет, почему многие страны в засушливых регионах мира занимаются выращиванием цератонии [11]. В Сирии рожковое дерево не является чисто лесной агломерацией, так как оно встречается в остатках средиземноморских термальных лесов с оливковыми деревьями и др. [12—15]. Семена рожкового дерева необходимо обработать перед посадкой, чтобы нарушить механический покой, так как у них твердый слой кожуры, который препятствует поступлению воды или воздуха. Таким образом, мы можем сделать вывод, что органический покой семян цератонии связан с их водонепроницаемостью. Твердосемянность является видовой особенностью *Ceratonia silique*. Обычно покой семян из-за твердого слоя кожуры встречается у климатически адаптированных видов растений, произрастающих в сухих и влажных регионах [16, 17].

**Цель исследования** — изучить способы предпосевной обработки покоящихся семян рожкового дерева и определить наиболее эффективный. Предпосевная подготовка семян рожкового дерева, главным образом, решает задачу повышения полевой всхожести семян.

## Материалы и методы исследования

**Материалы:** десять зрелых стручков рожкового дерева, собранных в районе Алеппо в Сирии с разных экземпляров растений. Пять деревьев были выбраны случайным образом в течение 2019 г., идентификация проведена в дендрологической лаборатории на аграрном факультете Университета Алеппо в Сирии, оставшиеся пять — в аграрно-технологическом институте Российского университета дружбы народов (Москва). В этом исследовании стручки сушили в тени и хранили в бумажных мешках до использования, стручки разбивали на отдельные сегменты, а семена изолировали.

**Контроль патогенов:** техника асептики — это важный способ уменьшения заражения патогенными грибами, плесенью и бактериями, уничтожающий их либо убивающий и сводящий их присутствие к минимуму. Семена замачивали в 70 % этаноле в течение 1 мин, затем тщательно промывали 4—5 раз в стерилизованной дистиллированной воде с целью сведения к минимуму развития микроорганизмов на ранних стадиях прорастания.

*Тест на жизнеспособность семян:* семена были помещены в химический стакан, затем замачивались в воде; всплывающие семена выбраковали.

Мы применили четыре различные предпосевные обработки и проверили их эффективность для стимуляции прорастания семян рожкового дерева.

В лаборатории во всех опытах анализировали по 100 семян в каждом опыте. Постоянную температуру (25 °C) тестировали на прорастание в стеклянных чашках Петри с двумя фильтровальными бумагами для предотвращения пересыхания (предварительно наполненных на 4,5 мл дистиллированной водой). По мере необходимости фильтровальную бумагу смачивали дистиллированной водой, после чего подсчитывали число проросших семян.

Наше исследование проводилось в следующих вариантах:

1. Контроль (необработанные семена): семенам давали прорасти без какой-либо обработки.

2. Замачивание в горячей воде (70 °C) на 10 мин: семена погружали в горячую дистиллированную воду (3 объема воды на каждый объем семян), а затем оставляли для охлаждения при комнатной температуре (примерно 25 °C) в течение 10 мин.

3. Замачивание в горячей воде (70 °C) в течение 10 мин + замачивание в дистиллированной воде на 24 ч: семена погружали в горячую дистиллированную воду (3 объема воды на каждый объем семян), а затем оставляли для охлаждения при комнатной температуре (примерно 25 °C) в течение 24 ч.

4. Скарификация концентрированной серной кислотой  $H_2SO_4$ : 96 %  $H_2SO_4$  использовалась для замачивания семян в течение 30 мин (3 объема кислоты на каждый объем семян), затем семена промывали проточной водой в течение 1 ч с целью удаления всех следов кислоты перед проверкой на всхожесть.

5. Скарификация концентрированной серной кислотой  $H_2SO_4$  и замачивание в дистиллированной воде на 24 ч: 96 %  $H_2SO_4$  использовалась для замачивания семян в течение 30 мин (3 объема кислоты на каждый объем семян), затем семена промывали проточной водой с целью удаления всех следов кислоты перед проверкой на всхожесть, после чего семена замачивали в дистиллированной воде на 24 ч.

*Измерения:* всхожесть семян, или доля проросших семян (%) и среднее время прорастания (в днях) регистрировали для всех обработок. Всхожесть рассчитывали по следующей формуле [11]: всхожесть = количество проросших семян / общее количество семян  $\times 100$ .

## Результаты исследования и обсуждение

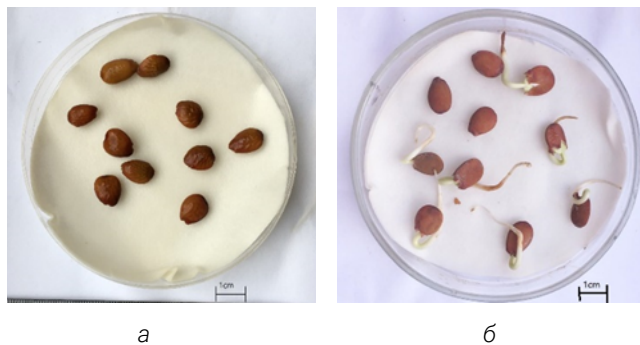
При обработке для нарушения фазы органического покоя инертных семян церагонии самая высокая скорость прорастания семян рожкового дерева наблюдалась после скарификации концентрированной серной кислотой  $H_2SO_4$  и замачивания в дистиллированной воде на 24 ч. Результаты обработок всеми способами приведены в таблице и на рис. 1—4.

**Влияние вида обработок на показатели всхожести семян**

Тип обработки	Всхожесть, %	День начала прорастания	Последний день прорастания	Период прорастания всех семян в пробе, дни
Контроль (необработанные семена)	5	10	56	46
Замачивание в горячей воде (70 °С) на 10 мин	84	7	16	9
Замачивание в горячей воде (70 °С) на 10 мин и замачивание в дистиллированной воде на 24 ч	89	6	11	5
Скарификация концентрированной серной кислотой H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> в течение 30 мин	91	4	8	4
Скарификация концентрированной серной кислотой H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> в течение 30 мин и замачивание в дистиллированной воде на 24 ч	98	3	7	4

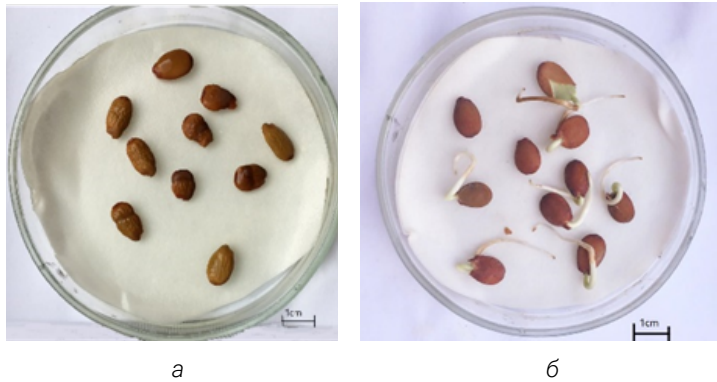
**Influence of treatments on seed germination**

Treatment	Seed germination, %	First germination day	Last germination day	Germination period for all seeds, days
Control (untreated seeds)	5	10	56	46
Soaking in hot water (70 °C) for 10 minutes	84	7	16	9
Soaking in hot water (70 °C) for 10 minutes + soaking in distilled water for 24 hours	89	6	11	5
Scarification with concentrated sulfuric acid H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> for 30 minutes	91	4	8	4
Scarification with concentrated sulfuric acid H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> for 30 minutes + soaking in distilled water for 24 hours	98	3	7	4



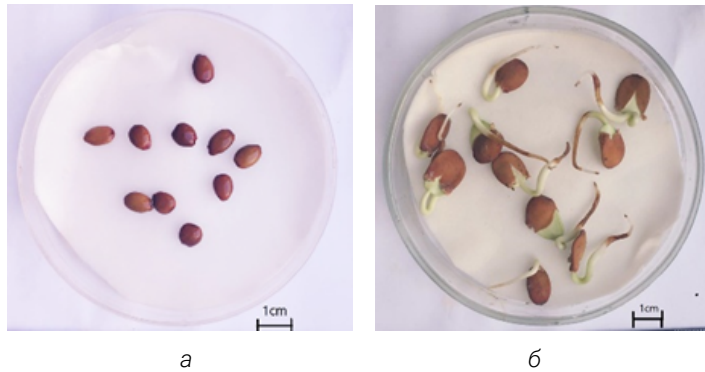
**Рис. 1.** Обработка семян замачиванием в горячей дистиллированной воде (70 °С) в течение 10 мин: а – сразу после обработки; б – девятый день после обработки

**Fig. 1.** Soaking seeds in hot distilled water (70 °C) for 10 minutes: а – immediately after treatment; б – nine days after treatment



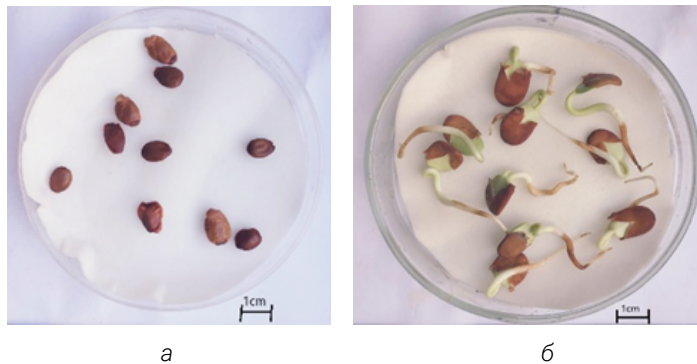
**Рис. 2.** Обработка семян замачиванием в горячей дистиллированной воде (70 °С) в течение 10 мин, а затем замачивание в дистиллированной воде в течение 24 ч: а – сразу после обработки; б – девятый день после обработки

**Fig. 2.** Soaking seeds in hot distilled water (70 °C) for 10 minutes + soaking in distilled water for 24 hours: а – immediately after treatment; б – nine days after treatment



**Рис. 3.** Обработка семян  $H_2SO_4$ : а – сразу после обработки; б – девятый день после обработки

**Fig. 3.** Scarification seeds with  $H_2SO_4$  for 30 minutes: а – immediately after treatment; б – nine days after treatment



**Рис. 4.** Обработка семян  $H_2SO_4$  и замачивание в дистиллированной воде в течение 24 ч: а – сразу после обработки; б – девятый день после обработки

**Fig. 4.** Scarification seeds with  $H_2SO_4$  for 30 minutes + soaking in distilled water for 24 hours: а – immediately after treatment; б – nine days after treatment

Полученные данные свидетельствуют о том, что, как при обработке семян горячей водой (70 °С), так и при скарификации серной кислотой, последующее замачивание в дистиллированной воде сокращает и сроки начала прорастания семян, и период их прорастания.

По результатам сравнения методик были сделаны выводы, что скорость прорастания семян рожкового дерева и их всхожесть лучше после обработки серной кислотой с последующим замачиванием в дистиллированной воде на 24 ч ввиду того, что, как правило, покой семян встречается у климатически адаптированных видов растений и обусловлен твердым слоем кожуры, который препятствует поступлению воды или воздуха.

### Заключение

Предложенный нами способ скарификации семян путем обработки их концентрированной серной кислотой с последующим 24-часовым замачиванием в дистиллированной воде позволяет значительно повысить выход всхожего семенного материала для последующей закладки питомников.

Кроме того, предложенная методика существенно сокращает время прорастания семян по сравнению с традиционно используемыми методами скарификации, что также ускоряет период высадки новых растений в питомники.

### References / Библиографический список

1. Eldeeb GSS, Mosilhey SH. Roasting temperature impact on bioactive compounds and PAHs in Carob powder (*Ceratonia siliqua* L.). *J Food Sci Technol*. 2022;59:105–113. doi: 10.1007/s13197-021-04989-7
2. Viruel J, Le Galliot N, Pironon S, Nieto Feliner G, Suc J, Lakhal-Mirleau F, Juin M, Selva M, Kharrat MBD, Ouahmane L, Malfa SL, Diadema K, Sanguin H, Médail F, Baumel A. A strong east—west Mediterranean divergence supports a new phylogeographic history of the carob tree (*Ceratonia siliqua*, Leguminosae) and multiple domestications from native populations. *Journal of Biogeography*. 2019;47(2):460–471. doi: 10.1111/jbi.13726
3. Gregoriou G, Neophytou CM, Vasincu A, Gregoriou Y, Hadjipakkou H, Pinakoulaki E, Christodoulou MC, Ioannou GD, Stavrou IJ, Christou A, Kapnissi-Christodoulou CP, Aigner S, Stuppner H, Kakas A, Constantinou AI. Anti-cancer activity and phenolic content of extracts derived from cypriot carob (*Ceratonia siliqua* L.) pods using different solvents. *Molecules*. 2021;26(16):5017. doi: 10.3390/molecules26165017
4. Pouresmaeil V, Haghghi S, Raeisalsadati AS, Neamati A, Homayouni-Tabrizi M. The anti-breast cancer effects of green-synthesized zinc oxide nanoparticles using carob extracts. *Current Medicinal Chemistry—Anti-Cancer Agents*. 2021;21(3):316–326. doi: 10.2174/1871520620666200721132522
5. Rtibi K, Marzouki K, Salhi A, Sebai H. Dietary supplementation of carob and whey modulates gut morphology, hemato-biochemical indices, and antioxidant biomarkers in rabbits. *Journal of Medicinal Food*. 2021;24(10):1124–1133. doi: 10.1089/jmf.2020.0185
6. Yuan, L, Wu Y, Qin Y, Yong H, Liu J. Recent advances in the preparation, characterization and applications of locust bean gum-based films. *Journal of Renewable Materials*. 2020;8(12):1565–1579. doi: 10.32604/jrm.2020.014562
7. Zannou O, Güclü G, Koca I, Selli S. Carob beans (*Ceratonia siliqua* L.): uses, health benefits, bioactive and aroma compounds. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 2019;12(1):26–34.
8. Tagnamas Z, Kouhila M, Bahammou Y, Lamsyehe H, Moussaoui H, Idlimam A, Lamharrar A. Drying kinetics and energy analysis of carob seeds (*Ceratonia siliqua* L.) convective solar drying. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2021;147(3):2281–2291. doi: 10.1007/s10973-021-10632-6
9. Othmen KB, Elfalleh W, Beltrán JMG, Esteban MÁ, Haddad M. An in vitro study of the effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocyte activities. Antioxidant, cytotoxic and bactericidal properties. *Fish & Shellfish Immunology*. 2020;99:35–43. doi: 10.1016/j.fsi.2020.02.005



10. Rashed K. Phytochemical and biological effects of *Ceratonia siliqua* L.: a review. *Journal of innovative pharmaceutical sciences and research*. 2021;9(6):1–8. doi: 10.21276/IJIPSR.2021.09.06.900
11. Aissa A, Chakroun I, Rejeb R, Ayed MH. Effect of partial dietary substitution of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) to barley grains on diet digestibility in growing rabbits. *Journal of New Sciences*. 2021;79(1):4580–4585.
12. Bazzato E, Lallai E, Serra E, Melis MT, Marignani M. Key role of small woodlots outside forest in a Mediterranean fragmented landscape. *Forest Ecology and Management*. 2021;496:119389. doi: 10.1016/j.foreco.2021.119389
13. Jadrane I, Alfeddy MN, Dounas H, Kouisni L, Aziz F, Ouahmane L. Inoculation with selected indigenous mycorrhizal complex improves *Ceratonia siliqua*'s growth and response to drought stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021;28(1):825–832. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.11.018
14. Paz-Kagan T, Chang JG, Shoshany M, Sternberg M, Karnieli A. Assessment of plant species distribution and diversity along a climatic gradient from Mediterranean woodlands to semi-arid shrublands. *GIScience & Remote Sensing*. 2021;58(6):929–953. doi: 10.1080/15481603.2021.1953770
15. Sara N, Addi M, Abid M, Belkoura I. Effect of pre-sowing treatments and basal media on in vitro carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germination. *Journal of Biotech Research*. 2021;12:74–82.
16. Yatim M, El Kahkahi R, Es-Sbata I, El-Askri T, ElOirdi S, Lakhlifi T, Belhaj A, Hafidi M, Zouhair R. Effects of pre-sowing treatments and abiotic stress on the germination of *Ceratonia siliqua* seeds of four Moroccan biomes. *Annual Research & Review in Biology*. 2020;35(12):11–31. doi: 10.9734/ARRB/2020/v35i1230307
17. Pérez-García F. Germination characteristics and intrapopulation variation in carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2020;7(2):398–406. doi: 10.5424/sjar/2009072-431

**Об авторе:**

Дукси Фатима — аспирант Аграрно-технологического института Российского университета дружбы народов, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-макляя, д. 6; e-mail: f.duksi@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-7353-7816

**About Author:**

Duksi Fatima — post-graduate student, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya st., Moscow, 117198, Russian Federation; e-mail: f.duksi@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-7353-7816