

Литература

1. Александрова, М.С. Рододендроны / М.С. Александрова. – М.: Фитон. – 192 с.
2. Кондратович, Р.Я. Рододендроны в Латвийской ССР / Р.Я. Кондратович. – Рига: Зинанте, 1981. – 332 с.
3. Ботяновский, И.Е. Культура рододендронов в Белоруссии / И.Е. Ботяновский. – Минск. Наука и техника, 1981. – 96 с.
4. Anderson, W.C. (1984) A revised tissue cultured medium for shoot multiplication of rhododendron. J Am Soc Hortic Sci 109:343-347.
5. Norton M.E., Norton C.R. (1986) Shoot proliferation in vitro in twenty Ericaceous plants. Plant Propagator 32(2): 2–5.
6. Стахеева, Т.С. Особенности микроклонального размножения малораспространенных ягодных культур семейства *Vacciniaceae* / Т.С. Стахеева, В.М. Митрошенкова, Ю.Н. Горбунов // Мат-лы междунар. науч.-метод. конф. – Мичуринск, 2003. – С. 76–80.
7. Высоцкий, В.А. Клональное микроразмножение растений / В.А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология. – М.: Наука, 1986. – С. 91–102.
8. Кутас, Е.Н. Научные основы клонального микроразмножения растений на примере интродуцированных сортов голубики высокой и брусники обыкновенной: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Е.Н. Кутас. – М., 1997. – 40 с.
9. Высоцкий, В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровительного посадочного материала и селекцию плодовых и ягодных растений: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук / В.А. Высоцкий. – М., 1997. – 44 с.



УДК 581.48:57.086.13

Н.М. Воронкова, А.Б. Холина

ХРАНЕНИЕ СЕМЯН: ПОПУЛЯЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ СЕМЯН НА ГЛУБОКОЕ ЗАМОРАЖИВАНИЕ

В работе изучена популяционная изменчивость ответной реакции семян некоторых представителей флоры п-ова Камчатка, Курильских о-вов, о-вов Сахалин и Монерон на криоконсервацию. Анализ жизнеспособности семян, оцененной по лабораторной всхожести, показал, что глубокое замораживание в жидком азоте (-196°C) не приводит к их гибели и может быть рекомендовано для семян изученных видов. Результаты по популяционной изменчивости необходимо учитывать при создании репрезентативной коллекции семян в геномном банке для сохранения богатства генофонда конкретных видов.

Одним из приоритетных направлений при изучении вопросов охраны ресурсов растительного покрова земли является создание банков семян. Проблема длительного хранения семян, как культурных, так и дикорастущих видов, в настоящее время решается путем замораживания их при сверхнизких температурах [1–2]. Замораживание семян в жидком азоте при температуре 196°C вызывает прекращение метаболизма, в результате семена остаются живыми в состоянии анабиоза. Отмечая перспективность данного метода, большинство исследователей считают, что перед проведением криоконсервации необходимо оценить влияние сверхнизкой температуры на жизнеспособность семян, и, прежде всего, на их прорастание, ход онтогенеза, развитие растений следующих поколений [3]. Контроль жизнеспособности семян во время хранения проводится по определению их всхожести.

В более ранней нашей работе по криоконсервации семян было показано, что семена даже систематически близких видов неодинаково реагируют на замораживание, т.е. их реакция на глубокое замораживание видоспецифична [4]. Однако толерантность семян при глубоком замораживании не только имеет видовую специфику, но и обладает популяционной изменчивостью.

Целью исследования является сравнительный анализ популяционной изменчивости ответной реакции семян некоторых представителей дальневосточной флоры на криоконсервацию. На данном этапе изучали влияние глубокого замораживания на жизнеспособность семян.

Объектами исследования служили семена 28 видов растений из 13 семейств. Виды, популяции и конкретные места сбора представлены в таблице. Для каждого вида представлены данные для 2–3 популяций, всего обследовано 60 популяций. Семена собирали в различных экотопах п-ова Камчатка (сокращенное обозначение в таблице: западная Камчатка – ЗК, юго-восточная – Ю-ВК, южная – ЮК, центральная – ЦК), Курильских о-вов (КО), о-вов Сахалин (С) и Монерон (М). В опытах использовали семена, хранившиеся в условиях лаборатории 3–7 месяцев.

Глубокое замораживание проводили путем прямого погружения завернутых в алюминиевую фольгу семян в жидкий азот (–196°С) на 1 месяц с последующим двухчасовым размораживанием при комнатной температуре.

Жизнеспособность семян оценивали по лабораторной всхожести. Проращивание семян проводили в чашках Петри в условиях естественного освещения (днем на свету, ночью в темноте) по 50 шт. в трехкратной повторности. В отличие от культурных растений проращивание семян дикорастущих растений имеет определенные трудности. Отсутствие сведений о покое и оптимальном режиме проращивания семян исследуемых видов вызвало необходимость последовать рекомендациям М.Г. Николаевой с соавторами [3] и первоначально проращивать семена всех видов при температуре не менее 18°С (в наших опытах 22–28°С). Если при таком режиме в течение месяца процент проросших семян не превышал 40, то оставшиеся непроросшими семена подвергали холодной стратификации при температуре 2°С в течение 1–4 месяцев с последующим проращиванием при температуре 22–24°С. Семена ряда видов сразу ставили на стратификацию при температуре 2°С, затем проращивали при температуре 22–24°С. Подсчет проросших семян вели ежедневно. Количество проросших семян (в %) рассчитывали от числа заложенных на проращивание. Достоверность различий полученных результатов между опытным и контрольным вариантом оценивали по критерию Стьюдента при $P = 0,95$.

В таблице представлены сравнительные данные по влиянию глубокого замораживания на лабораторную всхожесть семян при равновесной влажности.

Влияние глубокого замораживания семян (–196° С) на всхожесть

Семейство, вид	Место сбора семян (популяция)	Контроль, %	После замораживания, %	t
1	2	3	4	5
<i>Сем. Asteraceae</i>				
<i>Arnica unalaschcensis</i>	КО, о-в Уруп, бухта Алеутка	25±2	25±4	0,06
	КО, о-в Итуруп, п-ов Часовой, мыс Трехпалый, луг в устье р. Усач	22±2	38±4	3,87*
<i>Artemisia furcata</i>	ЦК, южные склоны вулкана Острый Толбачик, высота над ур. м. 1200 м	67±2	70±4	0,69
	ЗК, Усть-Большерецкий р-н, бассейн р. Кихчик, окрестности горы Аопча, высота над ур.м. 700 м	80±3	82±0	0,65
<i>Artemisia glomerata</i>	Ю-ВК, южный склон вулкана Авачинская сопка, Лавовая Падь	74±2	73±9	0,07
	ЮК, вулкан Козельский, шлаковое поле, высота над ур.м. около 1000 м	93±1	96±2	1,0
<i>Crepis chrysantha</i>	ЗК, Усть-Большерецкий р-н, бассейн р. Кихчик, окрестности горы Аопча, высота над ур.м. около 700 м	90±3	91±5	0,11
	ЦК, южные склоны вулкана Острый Толбачик, горная тундра	73±8	80±2	0,82
<i>Erigeron thunbergii</i>	ЮК, вулкан Козельский, шлаковое поле, высота над ур.м. около 1000 м	79±4	41±11	2,53
	ЦК, Усть-Камчатский р-н, вулканическая сопка Плоская	39±9	22±1	3,22*
<i>Picris japonica</i>	С, Тонино-Анивский п-ов, оз. Лебяжье, у мыса Менапуцы	99±1	97±2	2,0
	М, бухта Чупрова	84±2	81±5	0,8

Продолжение табл.

1	2	3	4	5
<i>Picris kamtschatica</i>	ЮК, Елизовский р-н, окрестности села Начики, у реки Плотникова	97±3	94±4	0,76
	ЦК, луга на верхней границе леса	88±4	85±6	0,74
<i>Eritrichium sericeum</i>	ЦК, Толбачинский дол (южнее вулкана Толбачик), высота над ур.м. 600 м	19±3	41±5	3,56*
	ЦК, Толбачинский дол, лава Клешня, высота над ур.м. около 800–890 м	93±2	97±2	1,26
<i>Сем. Brassicaceae</i>				
<i>Cardamine regeliana</i>	КО, о-в Брат Чирпоев, бухта Угловая, на осыпях по приморскому склону	88±4	93±3	1,08
	КО, о-в Харимкотан, приморский склон вблизи оз. Лазурное	87±5	97±1	1,81
<i>Ermania parryoides</i>	ЮК, вулкан Козельский, высота над ур.м. около 1040 м	63±1	61±4	0,65
	ЦК, Толбачинский дол в р-не горы Высокой, высота над ур.м. 550 м	64±3	70±7	1,04
<i>Erysimum pallasii</i>	С, п-ов Шмидта, залив Северный, р. Нала, на осыпях	98±2	96±2	0,58
	С, п-ов Шмидта, у р. Большая Лонгри, на склоне горы	85±6	88±2	0,46
<i>Сем. Ericaceae</i>				
<i>Rhododendron aureum</i>	ЦК, вулканическая сопка Плоская, высота над ур.м. 1460 м	77±4	85±7	0,83
	КО, о-в Уруп, бухта Тетяева	75±3	88±2	3,59*
<i>Сем. Fabaceae</i>				
<i>Oxytropis revoluta</i>	ЦК, Толбачинский дол в р-не горы Высокой, высота над ур.м. 550 м	42±2	85±7	7,49*
	ЦК, вулкан Ключевская сопка, р-н сопки Подкова, древняя лава, высота над ур.м. около 1000 м	49±5	81±3-	8,88*
<i>Сем. Hemerocallidaceae</i>				
<i>Hemerocallis esculenta</i>	М, юго-восточная часть, бухта Изо	87±4	87±4	0,5
	С, Тонино-Анивский п-ов, оз. Лебяжье, у мыса Менапуцы	82±6	73±8	0,78
	С, Невельский р-н, южнее поселка Шебунино, р. Китосия	98±1	93±1	7,0*
<i>Сем. Liliaceae</i>				
<i>Lloydia serotina</i>	ЦК, вулкан Ключевская сопка, р-н сопки Подкова, на шлаковых полях, высота над ур.м. 1080 м	94±4	90±3	0,62
	К, вулкан Толбачик, горная тундра	76±4	69±5	1,3
<i>Сем. Papaveraceae</i>				
<i>Papaver miyabeianum</i>	КО, о-ва Черные братья, о-в Брат Чирпоев, по приморскому склону	76±2	83±2	2,62
	КО, о-в Симушир, бухта Броутона, у поселка Кратерный	100	84±2	8,06*
<i>Сем. Plantaginaceae</i>				
<i>Plantago camtschatica</i>	КО, о-в Уруп, бухта Чернобурка	98±1	100	2,0
	С, Тонино-Анивский п-ов, оз. Лебяжье, у мыса Менапуцы	51±8	69±3	1,94
	ЮП, о-в Герасимова	99±1	99±1	0
<i>Сем. Primulaceae</i>				
<i>Primula cuneifolia</i>	КО, о-в Кетой, бухта Дианы	8±4	35±3	5,88*
	КО, о-в Шиашкотан, бухта Закатная	45±1	46±6	0,15

1	2	3	4	5
<i>Сем. Ranunculaceae</i>				
<i>Aquilegia flabellata</i>	М, северо-восточная часть, бухта Чупрова, каменная кладка у моря	87±6	92±3	0,71
	С, западное побережье, р. Августовка, галечники	95±4	87±5	1,26
<i>Сем. Rosaceae</i>				
<i>Dryas punctata</i>	ЦК, Усть-Камчатский р-н, горные тундры вулкана Толбачик	49±4	51±5	0,22
	ЦК, вулкан Ключевская сопка, р-н сопки Подкова, заросшая лава, высота над ур.м. 1080–1100 м	23±2	55±8	5,74*
<i>Potentilla fragiformis ssp. megalantha</i>	КО, о-в Уруп, бухта Чернобурка	90±5	94±4	0,65
	КО, о-в Шумшу, окрестности поселка Байково, приморский склон	87±3	88±3	0,44
<i>Potentilla vulcanicola</i>	ЦК, южные предгорья вулкана Острый Толбачик	39±2	36±2	0,71
	ЦК, вулканическая сопка Плоская, высота над ур.м. 1100–1460 м	52±8	42±6	0,78
<i>Сем. Saxifragaceae</i>				
<i>Saxifraga cherlerioides</i>	С, п-ов Шмидта, залив Северный, р. Напа, на осыпях	84±4	81±4	0,61
	ЦК, Толбачинский дол, на шлаковом поле, высота над ур.м. около 550 м	92±2	99±1	3,78*
	ЦК, вулкан Острый Толбачик	42±8	37±4	0,52
<i>Saxifraga funstonii</i>	ЦК, южные предгорья вулкана Острый Толбачик	81±9	80±6	0,06
	ЦК, Толбачинский дол, шлаковое поле, высота над ур.м. 500–550 м	84±3	91±1	1,98
<i>Saxifraga purpurascens</i>	ЦК, южные предгорья вулкана Острый Толбачик	8±1	11±1	2,0
	ЦК, вулканическая сопка Плоская	37±1	20±4	4,72*
<i>Сем. Scrophulariaceae</i>				
<i>Pedicularis schistostegia</i>	КО, о-в Уруп, бухта Чернобурка,	13±4	12±2	0,32
	М, северо-восточная часть, бухта Чупрова, приморский склон	80±10	87±8	0,76
<i>Pennellianthus frutescens</i>	Ю-ВК, южный склон вулкана Авачинская сопка, Лавовая Падь	78±5	92±4	1,96
	ЮК, вулкан Авачинская сопка	85±2	77±7	1,51
	ЮК, вулкан Козельский, шлаковое поле, высота над ур.м. около 1000 м	90±3	51±9	3,40*
<i>Veronica americana</i>	КО, о-в Уруп, бухта Тетяева	63±2	75±1	6,61*
	КО, о-в Кунашир, на песчаной отмели	25±1	33±3	3,23*

Примечание. *t* – критерий достоверности разницы (критерий Стьюдента) между контролем и опытом: при *n*=3 разница достоверна на 95%-м уровне при *t*≥2,78; * – разница достоверна.

Семена исследуемых видов ни в одной из популяций после действия жидкого азота не погибли. Даже у семян с низкой первоначальной всхожестью (8–25%) жизнеспособность семян после замораживания не снижалась: либо она оставалась на уровне контроля, либо повышалась. Статистически доказано, что у 15 видов во всех популяциях всхожесть семян оставалась на уровне контроля. У 13 видов отмечены популяции с различной реакцией на исследуемый фактор. В частности, для 8 видов отмечены популяции с повышением процента всхожести после замораживания. Понижение процента всхожести после замораживания наблюдали у 5 видов, для каждого вида – только в одной из исследуемых популяций. Снижение всхожести семян во всех популяциях одного вида не было отмечено.

Семена видов *Oxytropis revoluta* и *Veronica americana* во всех популяциях после замораживания имели повышенную всхожесть по сравнению с контролем. Предполагают, что при глубоком замораживании с последующим оттаиванием происходит увеличение проницаемости семенной кожуры, связанное, по мнению

одних авторов, с перестройками липидного комплекса [5], по мнению других – с механическими разрывами семенной кожуры [6]. Известно, что у всех дикорастущих видов сем. Fabaceae замораживание семян в жидком азоте ускоряет их прорастание и приводит к повышению всхожести [7–8]. Для ранее изученных дальневосточных видов этого семейства криоконсервация увеличивала всхожесть по сравнению с контролем в 4–15 раз [9]. Поэтому значительное увеличение процента всхожести *Oxytropis revoluta* также можно объяснить появлением микротрещин в плотной кожуре семян этого вида. В данном случае обработка жидким азотом заменяет предпосевную скарификацию семян, т.е. устраняет физический покой, определяющийся непроницаемостью семенной кожуры. Кроме того, в отношении стимулирующего эффекта высказывается мнение, что он связан с активизацией ферментного комплекса [10], отмеченной ранее для некоторых культурных видов [11].

Причины различной реакции семян близких видов, а также одного и того же вида из различных природных популяций почти не изучены. В наших исследованиях сравниваемые популяции отдельных видов находились в значительной географической и топографической изоляции. Исследуемые районы характеризуются множественными контрастными экологическими факторами: почвенными, климатическими и др. Реакция на замораживание варьирует на внутри- и межпопуляционном уровне; допустимо предположить, что это в значительной степени зависит от экологических условий местообитания растений, с которых собраны семена, и степени оптимальности этих условий для данного вида. Для ряда видов было показано [12], что семена, сформировавшиеся в условиях питомника, не оптимального для конкретного вида по экологическим требованиям, могут переносить замораживание значительно хуже, чем семена из природных популяций, или менять характер реакции, свойственной последним.

Вопрос о наличии межпопуляционной изменчивости криоустойчивости семян тесно связан с проблемой создания репрезентативной коллекции, основной задачей сохранения генофонда видов [13–14]. Если для редких видов, представленных в природе единичными популяциями с ограниченным числом особей, требуется привлечение семян из всех доступных местообитаний, то при создании коллекции семян широкоареального вида необходимо отразить его экотипическую изменчивость [14]. В этом случае должны быть представлены как популяции с большим количеством биотипов, существующие в оптимальных физико-географических условиях, так и популяции периферии ареала, где комплекс условий существования менее оптимальный. Также для максимально полной мобилизации геноресурсов вида рекомендуется оценка внутривидового разнообразия с использованием молекулярных маркеров [15]. Подобные исследования проведены нами к настоящему времени для *Oxytropis retusa* и *O. chankaensis* [16–17]. В трех популяциях эндемика Курильских островов *O. retusa* выявлен низкий уровень генетического разнообразия ($P = 0,14$, $H_e = 0,069$), отсутствие достоверных различий между популяциями по показателям полиморфизма и гетерозиготности [16], что допускает возможность использования растений из любой изученной популяции вида при создании банка семян. Иная ситуация с эндемом западного побережья оз. Ханка (Приморский край) *O. chankaensis*. Уровень изменчивости *O. chankaensis* весьма высок для редкого вида ($P = 0,42$, $H_e = 0,301$), при этом для 5 изученных популяций установлено наличие генетической гетерогенности. В каждой популяции обнаружены уникальные генотипы, которые могут иметь важное значение для сохранения аллельного и генотипического разнообразия, и, в конечном итоге, отражать адаптационное разнообразие вида. Принимая во внимание низкую численность существующих популяций *O. chankaensis*, необходима мобилизация генофонда каждой из них [17].

Таким образом, обработка воздушно-сухих семян сверхнизкими температурами не приводит к их гибели и может быть рекомендована для хранения семян исследуемых видов. При этом наблюдается межпопуляционная изменчивость ответной реакции семян на температурный фактор (-196°C), поэтому при создании банков семян растений горных и вулканических систем, характеризующихся большим разнообразием экологических ниш, следует сохранять не только видовой состав региональной флоры, но и богатство генофонда конкретных видов.

Литература

1. Roos, E.E. Long-term seed storage / E.E. Roos // The national plant germplasm system of the United States: Plant breeding reviews. – 1989. – V. 7. – P. 129–158.
2. Тихонова, В.Л. Долговременное хранение семян / В.Л. Тихонова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – № 3. – С. 467–476.
3. Николаева, М.Г. Долговременное хранение семян дикорастущих видов растений. Биологические свойства семян // Консервация генетических ресурсов: информ. мат-л / М.Г. Николаева, В.Л. Тихонова, Т.В. Далецкая. – Пушино: Изд-во Пушинского науч. центра РАН, 1992. – 36 с.

4. Воронкова, Н.М. Морфобиологическая характеристика и реакция на криоконсервацию семян некоторых видов флоры Курильских островов / Н.М. Воронкова, А.Б. Холина, Ю.Н. Журавлев // Раст. ресурсы. – 2000. – Т. 36. – Вып. 4. – С. 40–47.
5. Pritchard, H.W. Liquid Nitrogen Preservation of Terrestrial and Epiphytic Orchid Seed / H.W. Pritchard // Cryo-Lett. – 1984. – V. 5. – P. 295–300.
6. Тихонова, В.Л. Жизнеспособность семян некоторых видов дикорастущих лекарственных растений при глубоком и неглубоком замораживании / В.Л. Тихонова, Е.В. Шугаева, В.М. Фирсанова // Раст. ресурсы. – 1996. – Т. 32. – Вып. 3. – С. 43–50.
7. Молодкин, В.Ю. Влияние сверхнизкой температурной обработки на твердосемянность бобовых трав / В.Ю. Молодкин // Бюл. ВИР. – 1985. – № 152. – С. 60–64.
8. Effect of cryopreservation on seed germination of different Leguminosae species / E. Gonzales-Benito [and all] // Basic and Applied Aspects of Seed Biology. – Dordrecht, 1997. – P. 797–802.
9. Холина, А.Б. Влияние замораживания на прорастание семян некоторых видов сем. Fabaceae флоры Дальнего Востока России / А.Б. Холина, Н.М. Воронкова // Раст. ресурсы. – 2001. – Т. 37. – Вып. 2. – С. 39–42.
10. Тихонова, В.Л. Влияние замораживания на жизнеспособность семян дикорастущих растений / В.Л. Тихонова, Н.И. Лысых, В.М. Фирсанова // Бюл. Глав. бот. сада. – 1997. – Вып. 175. – С. 83–90.
11. Стрибуль, Т.Ф. Действие низких температур на интенсивность начального роста и продуктивные свойства семян кукурузы и овощных культур: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Т.Ф. Стрибуль. – Харьков, 1993.
12. Тихонова, В.Л. Изучение роста и развития дикорастущих травянистых растений, прошедших криоконсервацию / В.Л. Тихонова, С.Г. Яшина, Э.В. Шабаева // Биофизика живой клетки. – 1994. – Т. 6. – С. 86–90.
13. Мануильский, В.Д. Проблемы длительного хранения растительных объектов в условиях низкотемпературного криобанка / В.Д. Мануильский, А.Ю. Шалин // Генетические коллекции растений / отв. ред. С.Ф. Коваль. – Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1995. – Вып. 3. – С. 6–25.
14. Schoen, D.J. The conservation of wild plant species in seed banks / D.J. Schoen, A.H.D. Brown // BioScience. – 2001. – V. 51. – P. 960–966.
15. Rao, N.K. Plant genetic resources: Advances conservation and use through biotechnology / N.K. Rao // African J. Biotechnol. – 2004. – V. 3. – P. 136–145.
16. Kholina, A.B. Allozyme variation in *Oxytropis retusa* Matsum. from the Kurile Archipelago / A.B. Kholina, O.G. Koren, Yu.N. Zhuravlev // Natural History Res. – 2000. – № 7. – P. 15–20.
17. Холина, А.Б. Генетическое разнообразие и сохранение генофонда редкого эндемичного растения *Oxytropis chankaensis* Jurtz / А.Б. Холина // Цитология. – 2004. – Т. 46. – № 10. – С. 873–875.



УДК 635.21:631.52 (571.51)

А.Н. Халипский

РОЛЬ ЭКОТИПА СОРТА И УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ В ЭФФЕКТИВНОСТИ СОРТОСМЕНЫ КАРТОФЕЛЯ В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ

Статья посвящена изучению роли экотипа сорта и условий возделывания на формирование основных элементов структуры урожая и его качества у картофеля. Установлено, что смена экологических условий выращивания при перемещении картофеля с севера на юг повышает урожайность картофеля на 40–80 ц/га. В результате сортосмены картофеля достигнут определенный селекционный прогресс по урожайности, который составил 147 кг. Комплексная оценка основных показателей качества картофеля показала, что в условиях южной лесостепи Красноярского края больше всего накапливают крахмала сорта позднеспелой группы.

Рост урожайности сельскохозяйственных культур в интенсивном земледелии происходит как за счет улучшения условий возделывания культур, так и за счет использования новых, более продуктивных сортов с наилучшими их качествами. При этом часто роль сорта оказывается значительной.