

17. Сезонная изменчивость фотосинтетической активности и зеленых пигментов у ели сибирской / Л.С. Янькова, Л.Д. Копытова, А.К. Филиппова [и др.] // Природная и антропогенная динамика наземных экосистем: мат-лы Всерос. конф. – Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2005. – С. 55–58.
18. Regulation of branch-level gas exchange of boreal trees: roles of shoot water potential and vapor pressure difference / Q.-K. Dang, H.A. Margolis, M.R. Coyle [et al.] // Tree Physiol. – 1997. – Vol. 17. – P. 521–535.
19. Eastman P.A.K., Camm E.L. Regulation of photosynthesis in interior spruce during water stress: changes in gas exchange and chlorophyll fluorescence // Tree Physiol. – 1995. – Vol. 15. – P. 229–235.
20. Characterizing the frost sensitivity of black spruce photosynthesis during cold acclimation / D. Gaumont-Guay, H.A. Margolis, F.J. Bigras [et al.] // Tree Physiol. – 2003. – Vol. 23. – P. 301–311.
21. Rosenthal S.I., Camm E.L. Photosynthetic decline and pigment loss during autumn foliar senescence in western larch (*Larix occidentalis*) // Tree Physiol. – 1997. – Vol. 17. – P. 767–775.
22. Schwars P.A., Fahey T.J., Dawson T.E. Seasonal air and soil temperature on photosynthesis in red spruce (*Picea rubens*) saplings // Tree Physiol. – 1997. – Vol. 17. – P. 187–194.
23. Seiler J.L., Gazell B.N. Influence of water stress on the physiology of growth of red spruce seedlings // Tree Physiol. – 1990. – Vol. 6. – P. 69–77.
24. Stewart J.T., El Abidine A.Z., Bernier P.Y. Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in black spruce seedlings during multiple cycles of drought // Tree Physiol. – 1994. – Vol. 15. – P. 57–64.
25. Westin J., Sundblad L.-G., Hallgren J.-E. Seasonal variation in photochemical activity and hardiness in clones of Norway spruce (*Picea abies*) // Tree Physiol. – 1995. – Vol. 15. – P. 685–689.



УДК 581.142

Н.М. Воронкова, А.Б. Холина

#### МОРФОЛОГИЯ, БИОЛОГИЯ ПРОРАСТАНИЯ И КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ СЕМЯН ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФЛОРЫ ОСТРОВА САХАЛИН

Авторами статьи изучены морфометрические признаки, режимы прорастания и ответная реакция на замораживание в жидком азоте ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) восемнадцати видов семян дикорастущей флоры острова Сахалин. Анализ жизнеспособности семян, оцененный по лабораторной всхожести, показал, что глубокое замораживание не приводит к их гибели и почти у 90% видов не снижает всхожести. Полученные результаты необходимы при создании банка семян, при интродукции и реинтродукции видов в природные места обитания.

**Ключевые слова:** морфология семян, прорастание, криоконсервация, остров Сахалин.

N.M. Voronkova, A.B. Kholina

#### MORPHOLOGY, GERMINATION BIOLOGY AND CRYOTOLERANCE OF THE SEEDS THAT ARE THE REPRESENTATIVES OF THE SAKHALIN ISLAND FLORA

Morphometric features, germination modes and response to freezing in liquid nitrogen ( $-196^{\circ}\text{S}$ ) of eighteen seed species of the Sakhalin island wild-growing flora are researched by the authors of the article. The analysis of seeds viability, estimated on laboratory germinating ability, showed that deep freezing does not lead to their destruction and does not reduce germinating ability of almost 90 % of species. The received results are necessary for the seeds bank creation, species introduction and reintroduction in the natural habitats.

**Key words:** seed morphology, germination, cryopreservation, Sakhalin Island.

---

Богатая и своеобразная растительность острова Сахалин сложилась под влиянием глобального изменения климата, специфического воздействия океана, морских трансгрессий и регрессий, благодаря чему неоднократно происходило перераспределение суши и моря [1]. Во флоре острова присутствуют лекарственные, декоративные, а также оригинальные виды, не встречающиеся на материковой части Дальнего Востока России, которые представляют ценный, но мало изученный материал для выяснения их интродукционных возможностей [2]. Среди начальных этапов работ в этом направлении считают изучение морфологии и анатомии плодов и семян, их качества в связи с условиями формирования, биологии прорастания и хранения [3]. Особую значимость представляет создание резервного фонда семян. Общепринятый режим хранения семян ( $+5^{\circ}\text{C}$ ) не является надежным, поскольку низкие положительные температуры замедляют потерю

жизнеспособности, но не обеспечивают долговременного хранения. Наиболее приемлемым считается замораживание семян в жидком азоте, способствующем практически полной остановке метаболизма. При этом перед глубоким замораживанием необходимо выяснить видоспецифичность ответной реакции с изучением морфологии, анатомии и биологии прорастания семян. Согласно данным, представленным Г.Е. Левицкой [4], в настоящее время экспериментальную криоконсервацию прошли семена около 400 дикорастущих видов флоры России. Наши исследования направлены на расширение круга объектов экспериментального замораживания. Они являются продолжением более ранних собственных исследований по криоконсервации семян дальневосточной флоры [5–9].

**Цель исследований** – изучение биоморфологии, режимов проращивания, жизнеспособности семян и определение видоспецифической ответной реакции на действие сверхглубокого замораживания семян – представителей флоры острова Сахалин. В данной статье представлена морфологическая характеристика семян, их размеры, масса 1000 семян, условия прорастания, их лабораторная всхожесть и реакция на сверхглубокое замораживание до  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Объекты и методы исследований.** Семена 18 видов были собраны в природных местах обитания на острове Сахалин в 2001, 2003 и 2004 гг. (односемянные плоды, как посевная единица, в дальнейшем для удобства изложения материала условно будут именоваться семенами). Семена двух видов собраны в двух популяциях. До начала опытов их хранили в бумажных пакетах в комнатных условиях при температуре  $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Морфологическая характеристика составлена по результатам оптико-визуального обследования воздушно-сухих семян с использованием микроскопа с измерительной шкалой на окуляре. При описании семян руководствовались классификацией З.Т. Артюшенко [10]. Массу семян определяли путем взвешивания 3-х проб по 100 шт., размеры – измерением 25 штук в каждом образце.

В опытах использованы только ортодоксальные семена с равновесной влажностью в пределах 5–10%. Глубокое замораживание семян проводили путем прямого погружения завернутых в алюминиевую фольгу семян в жидкий азот на 1–2 мес. с последующим размораживанием в комнатных условиях в течение 2 ч, затем семена проращивали.

Проращивание семян проводили в лабораторных условиях в чашках Петри в условиях естественного освещения (днем на свету, ночью в темноте) по 50 семян в трех повторностях на влажной фильтровальной бумаге с подстилкой из ваты для предотвращения быстрого пересыхания. Субстрат увлажняли водопроводной водой. Поскольку температурные режимы проращивания для большинства видов были неизвестны, вначале все семена проращивали без стратификации в тепле при температуре не менее  $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Затем непрорастающие или плохо прорастающие семена отдельных видов были подвергнуты холодной стратификации при температуре  $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$  с последующим проращиванием при более высокой температуре не менее  $18\text{ }^{\circ}\text{C}$  (тепло-холод-тепло). Появление проросших семян и температуру регистрировали ежедневно. Всхожесть оценивали по отношению количества проросших семян к количеству заложенных на проращивание, выраженному в процентах.

Все полученные цифровые данные обработаны статистически с помощью программы Microsoft Excel. Определены средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий результатов между контролем и опытами по криоконсервации оценивали по критерию Стьюдента ( $t$ ) при уровне значимости  $P = 0,05$ . При  $n = 3$  разница достоверна при  $t \geq 2,78$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** Морфометрическое описание семян и места их сбора представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Место сбора семян и их морфометрическая характеристика**

Вид (семейство)	Место сбора плодов и семян	Длина, ширина, мм	Масса 1000 семян, г	Морфологическая характеристика семян (односемянных плодов)
1	2	3	4	5
<i>Anemonastrum sachalinensis</i> (Juz) Starodub. (Ranunculaceae)	П-ов Шмидта, р. Талики, на луговинах по склону горы	7,14±0,14 4,75±0,09	5,31±0,08	Орешки эллипсоидальные, плоские, с крючковатым носиком, голые, от серых до коричневых, слабоморщинистые, точно-бугорчатые

1	2	3	4	5
<i>Aquilegia flabellata</i> Siebold et Zucc. (Ranunculaceae)	Западное побережье, р. Августовка, галечники	2,03±0,03 0,88±0,02	0,94±0,02	Семена продолговато-овальные, с тремя продольными ребрами, без опушения, черные, шероховатые
<i>Arabis stelleri</i> DC. S.I. (Brassicaceae)	Тонино-Анивский п-ов, окрестности озера Лебяжье, у мыса Менапуцы	1,28±0,02 0,77±0,01	0,16±0,001	Семена более или менее овальные, слегка сплюснутые, голые, коричневые, слабоморщинистые
<i>Erysimum pallasii</i> (Pursh) Fern -1 (Brassicaceae)	П-ов Шмидта, залив Северный, р. Нала, на осыпях	2,97±0,02 1,21±0,02	1,43±0,03	Семена продолговатые, неясно гранистые, с выступающим зародышем, голые, темно-желтые, продольно-точечно-бугорчатые
<i>Erysimum pallasii</i> (Pursh) Fern -2 (Brassicaceae)	П-ов Шмидта, р. Большая Лонгри, на склоне горы	2,45±0,04 1,08±0,01	0,96±0,03	Семена продолговатые, с выступающим зародышем, голые, желтые или зеленовато-желтые, точечно-бугорчатые или продольно-точечно-бугорчатые
<i>Hedysarum austrokurilense</i> (Fabaceae)	Грязевый вулкан Магунтан, по краю лиственничника	2,84±0,05 2,09±0,04	4,71±0,11	Семена полупочковидные, выпуклые, без опушения, матовые, иногда со слабо-выраженной пигментацией: от зеленовато-бурых до коричневых
<i>Hedysarum sachalinense</i> (Fabaceae)	Устье реки Тихая, на каменистых осыпях по склону сопки	4,46±0,1 3,16±0,09	9,29±0,06	Семена полупочковидные, сплюснутые, без опушения, коричневые, гладкие или слегка точечно-бугорчатые
<i>Hemerocallis esculenta</i> Koidz.-1 (Hemerocallidaceae)	Тонино-Анивский п-ов, окр. оз. Лебяжье, у мыса Менапуцы, на разнотравном лугу	4,72±0,1 3,47±0,08	15,68±0,45	Семена угловатые, голые, блестящие, черные, складчатые
<i>Hemerocallis esculenta</i> Koidz. -2 (Hemerocallidaceae)	Невельский р-н, южнее пос. Шebuнино, р. Китосия, разнотравный приморский склон	5,12±0,08 3,59±0,08	17,04±0,1	То же
<i>Patrinia sibirica</i> (L) Yuss. (Valerianacea)	П-ов Шмидта, р. Большая Лонгри, на склоне горы	5,62±0,09 5,28±0,08	3,72±0,005	Семянки гранистые, с крыловидными прицветничками, от светло- до темно-коричневых, морщинисто-бугорчатые, с ярко выраженным жилкованием на крыловидных прицветничках. Жилки более темного цвета

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
<i>Picris japonica</i> Thunb. (Asteraceae)	Тонино-Анивский п-ов, окрестности озера Лебяжье, у мыса Менапуцы, на приморском лугу	3,59±0,05 0,6±0,01	0,73±0,01	Семянки веретеновидные, слегка изогнутые, голые, коричневые, продольно ребристые и поперечно-морщинистые, со светлым хохолком, превышающим длину семянки
<i>Plantago camtschatica</i> Link (Plantaginaceae)	Там же	1,62±0,02 0,87±0,009	0,42±0,02	Семена ладьевидные, голые, темно-коричневые, точечно-бугорчатые
<i>Plantago lanceolata</i> (Plantaginaceae)	Холмский р-н, р. Подгорная, у дороги	2,74±0,04 1,15±0,03	1,85±0,02	Семена ладьевидные, голые, коричневые, точечно-бугорчатые
<i>Potentilla egedii</i> Wormsk. (Rosaceae)	Восточное побережье, южная оконечность зал. Пильтун, на заболоченном берегу	1,75±0,03 1,23±0,02	0,88±0,03	Орешки слабопочковидные, голые, коричневые, иногда с зеленым оттенком, мелкобугорчато-ямчатые
<i>Potentilla nivea</i> L. (Rosaceae)	П-ов Шмидта, р. Большая Лонгри, на склоне горы	1,35±0,02 0,86±0,01	0,53±0,01	Орешки слабопочковидные, голые, коричневые с зеленым оттенком, морщинистые, более крупные морщинки расходятся веерообразно
<i>Potentilla stolonifera</i> Lehm.ex Ledeb. (Rosaceae)	Севернее зал. Помрь, окр. бывш. пос. Музьма	1,34±0,02 0,99±0,01	0,7±0,03	Орешки слабопочковидные, голые, коричневые, с зеленым оттенком, бугорчато-морщинистые
<i>Rubus chamaemorus</i> L. (Rosaceae)	Там же, на болоте	3,76±0,06 2,14±0,03	6,13±0,03	Косточки слабопочковидные, с одного конца слегка сужены, голые, кремовые или желтоватые, поверхность жилковатая
<i>Saxifraga cherlerioides</i> D. Don (Saxifragaceae)	П-ов Шмидта, зал. Северный, р. Нала, на осыпях	0,65±0,01 0,3±0,008	0,04±0,004	Семена продолговато-овальные, неравнобокие, голые, темно-коричневые, мелкобугорчатые, иногда продольно-мелкобугорчатые
<i>Tephrosia kawakamii</i> (Makino) Holub (Asteraceae)	П-ов Шмидта, р. Талики, луговины по склону горы	3,00±0,07 0,66±0,02	0,88±0,04	Семянки удлинено-цилиндрические, некоторые слегка изогнутые, продольно-ребристые, с редким опушением короткими толстоватыми волосками, коричневые, с белым хохолком, превышающим длину семянки
<i>Trollius riederianus</i> Fisch. et Mey .S.l. (Ranunculaceae)	П-ов Шмидта, р. Большая Лонгри, на лужайке у ручья	1,53±0,02 0,81±0,02	0,75±0,01	Семена продолговатые, с крупными, редкими складками, голые, черные, мелкобугорчатые

Относительно морфометрической характеристики видов в литературе встречаются фрагментарные данные без указания принадлежности к островной территории [11]. В то же время семена растений, приуроченные к горным, равнинным и прибрежным островным территориям, характеризуются высокой степенью морфологической изменчивости в зависимости от почвенных и микроклиматических вариаций [2], что в результате может оказать влияние на глубину физиологического покоя. Известно, что семена одного и того же вида из разных экологических и фитоценологических условий могут иметь не только разную всхожесть, но и разный период покоя, разную степень твердосемянности и т.д. [12]. Поэтому при мониторинге лабораторной всхожести во время хранения каждая партия семян должна иметь биоморфологическую характеристику. Все признаки исследованных семян видоспецифичны. Длина семян исследованных видов находится в пределах 0,65–7,14 мм, ширина 0,3–5,28 мм, масса 1000 семян 0,04–17,04 г. Метрические характеристики одинаковых видов из разных популяций различны. Выполненность семян из двух популяций по массе (наиболее характерный признак) различается достоверно для *Erysimum pallasii* ( $t = 11,01$ ), собранных практически одновременно, и для *Hemerocallis esculenta* ( $t = 3,00$ ), собранных в разные годы.

Температурные условия и доля проросших семян представлены в табл. 2.

Таблица 2

Режимы проращивания семян и лабораторная всхожесть

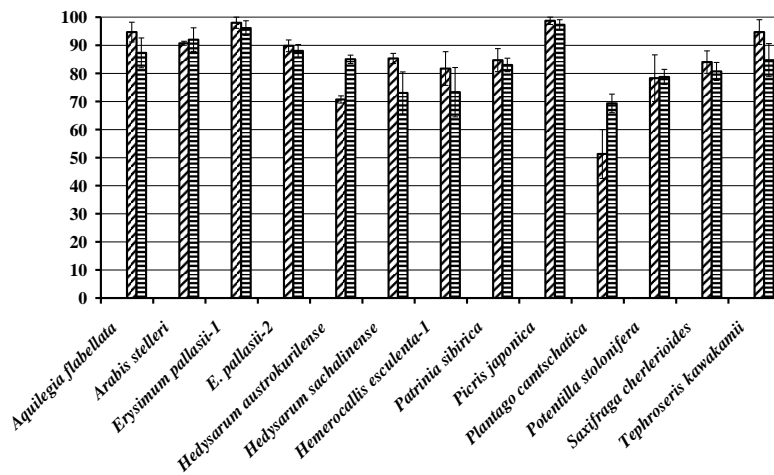
Вид	Дата сбора	Срок хранения в условиях лаборатории, мес.	Температурный режим проращивания, °С	Период прорастания, сут.	Всхожесть, %
<i>Anemonastrum sachalinensis</i>	14.08.2001	3	(20–28)+(2)+(24–27)	62+135+31	6,2±0,9
<i>Aquilegia flabellata</i>	25.09.2003	4	22–27	22	94,7±3,5
<i>Arabis stelleri</i>	21.08.2001	3,5	20–23	37	90,7±0,7
<i>Erysimum pallasii</i> -1	07.08.2001	3,5	22–28	7	98,0±2,0
<i>Erysimum pallasii</i> -2	16.08.2001	3,5	22–28	47	89,8±2,1
<i>Hedysarum austro-kurilense</i>	12.09.2003	33	23–28	133	70,7±1,3
<i>Hedysarum sachalinense</i>	20.08.2003	33,5	23–28	11	85,3±1,8
<i>Hemerocallis esculenta</i> -1	21.09.2001	3	22–26	49	81,7±6,0
<i>Hemerocallis esculenta</i> -2	05.08.2004	3,5	(22–26)+(2)+(22–26)	31+41+14	98,0±1,2
<i>Patrinia sibirica</i>	16.08.2001	4	20–25	58	84,7±4,1
<i>Picris japonica</i>	21.08.2001	3,5	20–23	37	98,7±1,3
<i>Plantago camtschatica</i>	21.08.2001	3	23–28	7	51,3±8,7
<i>Plantago lanceolata</i>	07.08.2004	3,5	(22–26)+(2)+(22–26)	30+174+8	90,7±1,3
<i>Potentilla egedii</i>	18.08.2001	3,5	(20–23)+(2)+(20–23)	30+54+41	17,7±5,8
<i>Potentilla nivea</i>	16.08.2001	3,5	(2)+(23–26)	109+14	58,0±11,1
<i>Potentilla stolonifera</i>	10.08.2001	3,5	20–26	51	78,3±8,3
<i>Rubus chamaemorus</i>	10.08.2001	4	(23–26)+(2)+(23–26)	30+144+46	45,3±2,9
<i>Saxifraga cherlerioides</i>	07.08.2001	3	20–23	48	84,0±4,0
<i>Tephrosia kawakamii</i>	14.08.2001	3	24–28	23	94,7±4,4
<i>Trollius riederianus</i>	16.08.2001	3,5	(20–23)+(2)+(20–23)	30+54+49	34,0±5,8

Проращивание семян в пределах экспериментальных режимов показало, что у семян 12 видов из 18 изученных при температуре 20–28°C была высокая всхожесть (51–99%), что указывает на наличие у них неглубокого покоя. Семена *Hemerocallis esculenta* хорошо проросли в тепле, однако же стимуляция холодом увеличила число прорастающих семян почти до 100%. Остальным видам требовалась холодная стратифи-

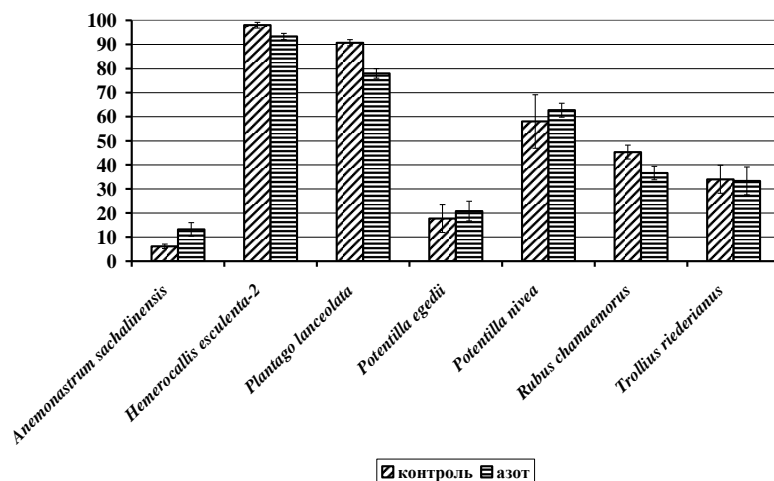
кация. Достаточно высокую всхожесть семян (более 50%) после стратификации имели виды *Plantago lanceolata*, *Potentilla nivea*, среднюю (в пределах 50–30%) – *Rubus chamaemorus*, *Trollius riederianus*, низкую (ниже 20%) – *Potentilla egedii*, *Anemonastrum sachalinensis*. Самая низкая всхожесть отмечена у эндема *Anemonastrum sachalinensis* из сем. Ranunculaceae. В условиях опыта “тепло-холод-тепло” при довольно большом сроке стратификации всхожесть его семян составляла всего 6,2%. Причин низкой всхожести семян может быть несколько. Возможно низкий процент всхожести связан с более глубоким покоем этих видов, с низкой выполненностью семян, с неоптимальными сроками сбора, со сроками хранения в неконтролируемых температурных условиях и др. Все эти причины требуют дальнейшего выяснения.

На рисунке представлены сравнительные данные по влиянию сверхглубокого замораживания на лабораторную всхожесть семян при равновесной влажности в пределах 5–10%. Семена, не теряющие всхожесть при подсушивании, относятся к ортодоксальному типу. Ортодоксальные семена по сравнению с рекальцитрантными более благополучно переносят замораживание [13]. В наших опытах на данном этапе исследований использованы только ортодоксальные семена. При проращивании деконсервированных семян оказалось, что семена большинства видов проросли на уровне контрольного варианта. Часть видов имела всхожесть выше, чем в контроле. Этот результат получен для всех видов, семена которых не требуют стратификации (рис., а) и большинства стратифицированных видов, подвергавшихся воздействию низкой положительной температуры (рис., б). После стратификации в варианте с воздействием сверхглубокого замораживания 2 вида имели статистически доказанное снижение всхожести семян – *Hemerocallis esculenta-2* ( $t = 7,0$ ), *Plantago lanceolata* ( $t = 7,18$ ), которая, однако, оставалась достаточно высокой (около 80–90%). Незначительное снижение всхожести для *Hedysarum sachalinense* и *Rubus chamaemorus* статистически не подтверждено ( $t = 1,34$  и  $1,52$  соответственно).

а)



б)



Влияние сверхглубокого замораживания на лабораторную всхожесть семян

В результате проведенных исследований получена морфометрическая характеристика семян 18 видов дикорастущей флоры острова Сахалин, разработаны режимы их проращивания. Большинство исследованных видов не обладают глубоким покоем и имеют незатрудненное прорастание. После глубокого замораживания все виды сохранили способность к прорастанию. При этом около 90% видов семян после криоконсервации не снижали своей всхожести. Сравнительные данные указывают на видоспецифичную ответную реакцию семян на сверхглубокое замораживание. Полученные результаты необходимы при создании банка семян, а также будут полезны при интродукции и реинтродукции видов в природные места обитания.

### Литература

1. *Плетнев С.П.* Историко-геологическое развитие острова Сахалин // Растительный и животный мир острова Сахалин: мат-лы Междунар. сахалинского проекта. – Владивосток: Дальнаука, 2004. – Ч. 1. – С. 11–22.
2. *Егорова Е.М.* Дикорастущие декоративные растения Сахалина и Курильских островов. – М.: Наука, 1977. – 254 с.
3. *Некрасов В.И.* Перспективы развития исследований в области семеноведения и семеноводства интродуцентов // Биологические основы семеноведения и семеноводства интродуцентов. – Новосибирск: Наука, 1974. – С. 5–6.
4. *Левецкая Г.Е.* Биологические характеристики семян представителей флоры южного Подмосковья и их реакция на криоконсервацию // Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45. – Вып. 3. – С. 9–30.
5. *Воронкова Н.М.* Влияние криоконсервации на жизнеспособность семян некоторых видов флоры острова Монерон (Сахалинская область) // Растительные ресурсы. – 2007. – Т. 43. – Вып. 3. – С. 34–41.
6. *Воронкова Н.М., Холина А.Б., Якубов В.В.* Прорастание семян растений полуострова Камчатка и их реакция на глубокое замораживание // Вестн. КрасГАУ. – 2009. – Вып. 1. – С. 62–68.
7. *Воронкова Н.М., Холина А.Б., Журавлев Ю.Н.* Морфобиологическая характеристика и реакция на криоконсервацию семян некоторых видов флоры Курильских островов // Растительные ресурсы. – 2000. – Т. 36. – Вып. 4. – С. 40–47.
8. *Воронкова Н.М., Холина А.Б., Верхолат В.П.* Биоморфология растений и прорастание семян пионерных видов вулканов Камчатки // Изв. РАН. Сер. биол. – 2008. – Т. 35. – № 6. – С. 696–702.
9. *Холина А.Б., Воронкова Н.М.* Сохранение генофонда дальневосточных растений методом криоконсервации семян // Изв. РАН. Сер. биол. – 2008. – Т. 35. – № 3. – С. 304–312.
10. *Артюшенко З.Т.* Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя. – Л., 1990. – 204 с.
11. *Сосудистые растения советского Дальнего Востока.* – СПб.: Наука, 1985–1996.
12. *Тихонова В.Л.* Стратегия мобилизации и сохранения генофонда редких и исчезающих видов растений // Консервация генетических ресурсов. – Пушино, 1985. – 34 с.
13. *Тихонова В.Л.* Долговременное хранение семян // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – № 3. – С. 467–476.

