

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ВИДОВ СЕКЦИИ *MIRABILES* РОДА *VIOLA* (*VIOLACEAE*).

I. СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ И БИОЛОГИЯ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН

Т.В. Елисафенко

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, e-mail: tveli@ngs.ru

Разработана методика изучения особенностей латентного периода для видов рода *Viola*. Для видов секции *Mirabiles* (*V. mirabilis* и *V. subglabra*) определены семенная продуктивность, грунтовая и лабораторная всхожесть. Выявлены условия прорастания семян и динамика их прорастания. Установлены всхожесть, энергия прорастания и интенсивность энергии прорастания семян в зависимости от срока хранения, а также продолжительность сохранения жизнеспособности семян.

Ключевые слова: *Violaceae*, *Viola*, семенная продуктивность, прорастание семян, продолжительность сохранения жизнеспособности семян.

INVESTIGATIONS OF FEATURES OF THE LATENT PERIOD OF PLANT BY THE EXAMPLE OF SECTION *MIRABILES* OF THE GENUS *VIOLA* (*VIOLACEAE*).

I. THE SEED PRODUCTION AND THE BIOLOGY OF SEED GERMINATION

T.V. Elisafenko

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskya str., 101, e-mail: tveli@ngs.ru

The method of studying of characteristics of the latent period for the species of the genus *Viola* was developed. The seed production, ground and laboratory germination, conditions for seed germination and dynamics of its germination were defined for species of section *Mirabiles* (*V. mirabilis* and *V. subglabra*). The dependence of the germination, the energy of germination and the intensity of energy of germination were identified. The duration of preservation of seed viability were found.

Key words: *Violaceae*, *Viola*, seed production, seed germination, preservation of seed viability.

Настоящее исследование – это часть разработки комплекса методов изучения редких и исчезающих видов растений. С 1979 г. на территории ЦСБС СО РАН интродуцируются виды рода *Viola* методом родовых комплексов. На данном этапе в коллекции представлены 90 популяций 47 видов, из них 37 видов произрастают на территории Сибири, из которых почти половина включена в региональные

Красные книги. Из-за короткого прегенеративного периода в условиях интродукции род *Viola* выбран модельным для разработки методов исследования редких и исчезающих видов растений Сибири.

Цель настоящей работы – изучить особенности латентного периода – начального этапа онтогенеза у видов секции *Mirabiles*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В роде *Viola* выделяют четыре подрода – *Nominium*, *Dischidium*, *Chamaemelanium* и *Melanium* (Конспект..., 2005). Секция *Mirabiles* принадлежит самому крупному подроду – *Nominium*. С.В. Юзепчук (1949) для флоры СССР выделил в секции *Mirabiles* два вида: *V. mirabilis* L. и *V. brachysepala* Maxim. Во Флоре Сибири В.В. Зуев (1996) последний вид описывает как подвид *V. mirabilis* subsp. *subglabra* (Ledeb.) Zuev comb. nov., указывая на то, что у этой восточной расы есть

единственный достоверный диагностический признак – голые черешки и стебли. В Конспекте флоры Сибири (2005) этому подвиду придается статус вида. В коллекции “*Violaceae*” Центрального сибирского ботанического сада (г. Новосибирск) произрастают оба вида: *V. mirabilis* представлен пятью популяциями из Алтайского края, Новосибирской области (НСО) и Республики Алтай, *V. subglabra* – одной популяцией из Республики Алтай. Данная секция интересна не

только малочисленностью видов, но и возможностью, по мнению В.В. Никитина (2007), гибридогенного происхождения *V. mirabilis*.

Основные классические методики по семеноведению разработаны для растений сельскохозяйственной, декоративной и лекарственной целей (Методические указания..., 1980; Флоря, 1987; Ишмуратова, Ткаченко, 2009). Наши объекты часто не имеют экономического значения, и как многие редкие и исчезающие виды недостаточно изучены, их популяции представлены малым количеством семян. Данные по их семеноведению в литературе отсутствуют. В связи с этим необходимо было для изучаемых объектов уточнить классические методы исследования. Далее предлагается принятая нами схема изучения латентного периода видов рода *Viola*.

Исследование латентного периода включает: семенную продуктивность, биологию прорастания и морфологию семян (масса семян, макроморфология, ультраскульптура поверхности семян) (рис. 1). Изучение биологии прорастания семян подразумевает определение условий и динамику прорастания семян, продолжительность сохранения их жизнеспособности, изучение периода покоя.

Реальную и потенциальную семенную продуктивность (РСП и ПСП) определяем по методу И.В. Вайнагий (1974), процент семенификации рассчитываем как отношение этих показателей, выраженное в процентах: $(РСП/ПСП) \cdot 100$. Плодоношение и диссеминация большинства видов рода *Viola* происходит длительно, в условиях культуры – в течение всего вегетационного сезона. Установить семенную

продуктивность на особь достаточно трудно как в природе, так и в культуре. Поэтому для видов рода *Viola* мы считаем семенную продуктивность на плод. Большинство видов рода *Viola* – баллисты и мирмекохоры (Beattie, 1975), за исключением видов секции *Hypocarpea* из подрода *Nominium*, которые являются исключительно мирмекохорами. У баллистов при высыхании створки плода схлопываются с разбрасыванием семян до 5 м. В связи с этим семенная продуктивность чаще изучается у свежесобранных плодов. У баллистов (большинство видов рода *Viola*) плод считается зрелым, когда он принимает вертикальное положение относительно плодоножки, часто это сопровождается изменением окраски плода (он становится более светлым). У видов секции *Hypocarpea* (мирмекохоров) плод не меняет своего положения. Его зрелость характеризуется размерами (наиболее крупный), плотностью (тактильно), окраской и растрескиванием створок. Хранение плодов при отсрочке изучения семенной продуктивности осуществляется двумя способами. Если семена необходимы для размножения, то плоды собираются в индивидуальные пакеты (с предварительными замерами плода). В дальнейшем подсчет высыпаемых семян из коробочки выражает реальную семенную продуктивность, а для установления числа семязачатков, не завязавших семена, следует высушить плод запарить кипятком. В раскрытых створках под лупой определяем данный показатель. Второй способ – хранение плодов во влажном состоянии до исследования в фиксаторе или в холодильнике. В последнем случае плоды помещаем во влажном фильтре в бьюкс или пакет.

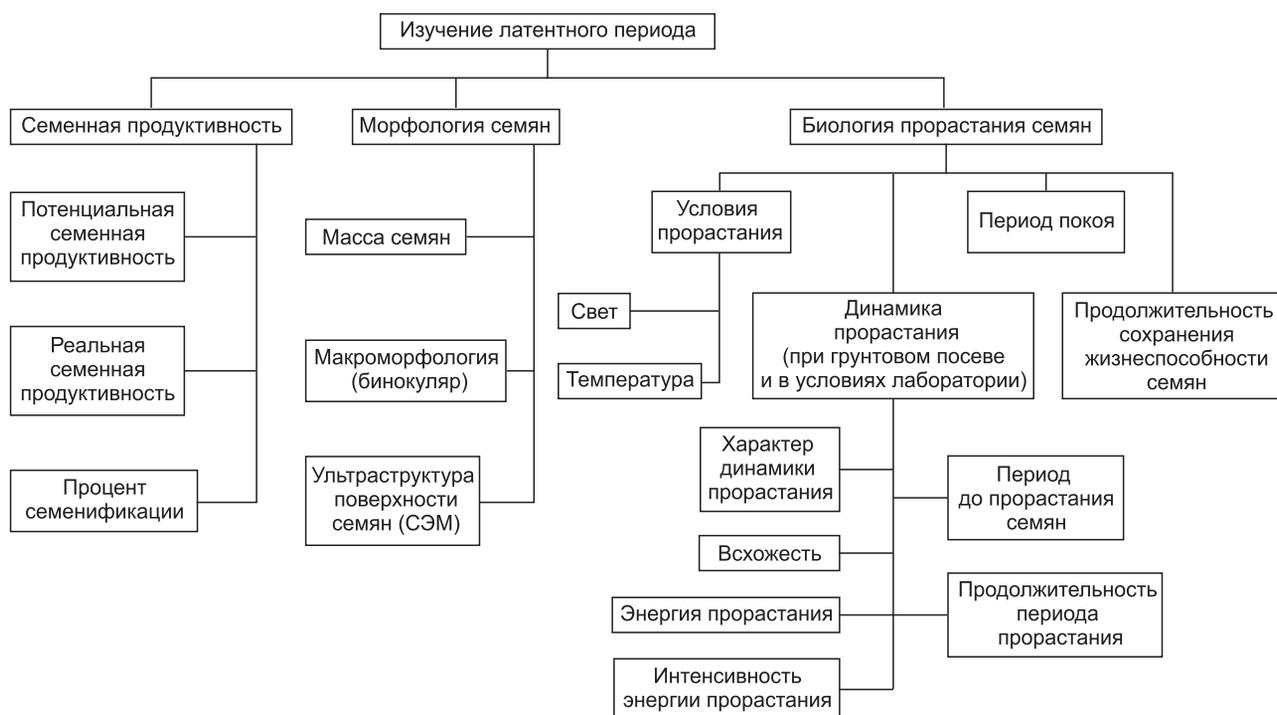


Рис. 1. Схема исследования латентного периода.

Таблица 1

Условия опыта

Температура, °С	Свет	
	Наличие	Отсутствие
+25	Климокамера (продолжительность фотопериода 16.5 ч)	Термостат
+18	Комната	Шкаф
+3...+5	–	Холодильник

При изучении биологии прорастания семян конкретного вида необходимо конкретизировать режим опыта (лабораторный и полевой), ложе для семян, начало, конец и продолжительность этапов опыта. Полевой опыт проводят в три срока: весенний, летний, осенний, в четырехкратной повторности по 100 семян. Это позволяет выявить необходимость тепловой и холодной стратификации. Для лабораторных исследований режимы устанавливаются сочетанием двух важных факторов – света и температуры. Нами выбраны три варианта температуры и два света (табл. 1). В результате выделены шесть режимов: одноэтапный, двухэтапный (холодная (ХС) и тепловая (ТС) стратификация) и трехэтапный (открывается и заканчивается тепловой стратификацией). При одноэтапном режиме опыт начинается в марте. При двухэтапном опыте семена для первого этапа (ХС) закладываются в феврале. Первый этап длится 1 месяц. При трехэтапном режиме первый этап (ТС) начинается в ноябре и длится 2–4 недели. Второй этап (ХС) продолжается до марта. Если по предварительным опытам установлена необходимая длительность 2-го этапа – 2–4 недели, тогда первый этап трехэтапного опыта следует начинать в январе. Для определения покоя семян опыт проводят в нескольких повторностях, начиная со свежесобранных семян и повторяя через 1–2 месяца. Продолжительность одноэтапного и последнего этапа двух- и трехэтапного опыта – 30–60 дней от начала прорастания семян при растянутом прорастании. При активном прорастании опыт заканчиваем, если в течение 7 дней семена не прорастают. В каждом режиме – опыт в 4-кратной повторности по 100 семян. Если материал представлен малым числом семян, то уменьшаем повторность опыта до 2–3 или

число семян в повторности. Семена проращиваем в стеклянных или пластиковых чашках Петри среднего размера (9 см диаметра) на комбинированном ложе. Использование такого типа ложа (на дне – прокаленный кварцевый песок, на поверхности – один слой бумажного фильтра) позволяет удерживать влагу, и на поверхности фильтра хорошо видны мелкие семена фиалок. Чашки подписываем маркером и закрепляем скотчем, что позволяет длительно сохранять надпись (не выцветает и не смывается). Семена увлажняем через день. Семя считаем проросшим при формировании корешка размером с семя. Подсчет проросших семян проводим от начала прорастания ежедневно в течение недели, после – через день. При сильном поражении семян плесенью, их промываем в 50%-м растворе спирта и помещаем на чистое ложе.

Результаты опыта включают продолжительность периода до прорастания семян и периода их прорастания, всхожесть (%), энергию прорастания (%). Энергия прорастания – процент семян, проросших в первые 5 дней от начала прорастания (Флоря, 1987). Мы определяем дополнительный признак – интенсивность энергии прорастания как отношение всхожести и энергии прорастания семян (%). Этот признак показывает процент проросших семян в течение 5 суток от начала прорастания.

Данные по семенной продуктивности и морфологии плодов обрабатываются методом математической статистики. Определяем M – среднее арифметическое, m – его ошибка, V – коэффициент вариации, t_{05} – критерий Стьюдента при 95%-м уровне вероятности (Лакин, 1973). Представление результатов по прорастанию семян в методических указаниях предполагает статистическую обработку данных (Международные правила..., 1969; Методические указания..., 1980). В связи с небольшой повторностью опыта мы считаем, что целесообразнее указывать диапазон результатов и максимальную всхожесть семян. Графически представляем динамику прорастания семян в течение всего опыта (от начала до конца) и, если опыт состоит из нескольких этапов, отдельно отображаем основной этап прорастания. Для построения графика мы используем данные варианта с максимальной всхожестью семян.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для видов секции *Mirabeles* характерно наличие двух типов цветков – хазмо- и клейстогамных. Хазмогамное цветение наблюдается в мае–июне и вторичное – в августе, а клейстогамное – с мая по сентябрь. Нами изучалась семенная продуктивность двух видов у плодов от клейстогамных цветков. Для *V. mirabilis* данные представлены для образцов из интродукционной и природной популяций (табл. 2). Диапазон значений у всех популяций по числу семян, числу семязачатков, не завязавших семян, и по проценту семенификации – значителен. Этим объясняются очень

высокие коэффициенты вариации по данным признакам. Общее число семязачатков изменяется меньше (коэффициент вариации – 14–35 %) и составляет более 20 шт. в условиях культуры. Для природной популяции характерен более высокий коэффициент вариации (35–52 %) по всем элементам семенной продуктивности, чем для интродукционных популяций. Средние значения процента семенификации у всех популяций составляют более 50 %, причем у образцов из интродукционных популяций этот показатель более 70 %. Между двумя видами выявлены достовер-

Семенная продуктивность на плод видов секции *Mirabilis*

Вид; популяция; дата сбора	Показатель	Число, шт.			Процент семенификации
		семян	семязачтков, не завязавших семена	семязачтков	
<i>V. subglabra</i> ; культура; 14.06.2011	$M \pm m$	21.32 ± 1.99	9.36 ± 2.20	30.68 ± 0.92	70.57 ± 6.37
	V,%	43.87	110.57	14.13	42.37
	Диапазон значений	3–34	0–37	23–40	7.5–100
<i>V. mirabilis</i> ; Республика Алтай, культура; 14.06.2011	$M \pm m$	18.75 ± 2.29	7.25 ± 4.01	26 ± 1.87	74.69 ± 12.42
	V,%	24.39	110.56	14.39	33.27
	Диапазон значений	12–22	1–19	22–31	38.71–95.45
<i>V. mirabilis</i> ; Республика Алтай, природа; 14.06.2011	$M \pm m$	15.53 ± 1.91	14.71 ± 3.63	30.24 ± 2.58	56.62 ± 7.14
	V,%	50.76	101.74	35.19	52.02
	Диапазон значений	2–27	2–63	17–66	4.55–92.31
$t_{st} V. subglabra - V. mirabilis$		0.85	0.46	2.24	0.30
$t_{st} V. mirabilis$ природа–культура		1.08	1.38	1.33	1.26

Примечание. Данные достоверно различаются при $t_{05} = 2.03$ при 95%-м уровне вероятности ($n = 35$).

ные отличия только по числу семязачтков, наибольшее число у *V. subglabra* (30.68 ± 0.92). Остальные показатели достоверно не отличаются как между видами, так и между интродукционной и природной популяциями.

В конце мая–начале июня в коллекции у всех популяций отмечен массовый самосев. В течение вегетационного сезона, несмотря на постоянную диссеминацию с июня по сентябрь, проростки не появляются. Следовательно, для прорастания семян необходим этап с холодной стратификацией. Однако показатели грунтовой всхожести были невысокие (табл. 3). Причем у семян *V. mirabilis* (НСО) при летнем посеве наблюдались единичные всходы в этом же году, но массовое прорастание – весной следующего года. Для этой же популяции отмечено, что у позднесен-

них посевов всхожесть была в 2–3 раза ниже, чем у более раннего срока посева. У другой популяции этого вида (*V. mirabilis* – Алтай) установлена низкая грунтовая всхожесть при всех вариантах опыта. Максимальные значения выявлены у летних посевов, семена которых прошли ТС и ХС (см. табл. 3), а их всходы наблюдались в мае следующего года.

Для прорастания семян видов секции *Mirabilis* в лабораторных условиях необходим комбинированный режим проращивания, состоящий из трех этапов: ТС, длительная ХС (от 2 месяцев), тепловая стратификация. При таком режиме была достигнута всхожесть свыше 60 %. Наличие света увеличивает всхожесть в 10 раз, исключение составил один вариант из 3-кратной повторности. Опыт продолжался 226 дней (табл. 4). Во время ХС лопнула кожура у се-

Таблица 3

Грунтовая всхожесть видов секции *Mirabilis* в разные сроки посева

Вид	Популяция	Дата посева	Дата появления всходов	Всхожесть, %
<i>V. mirabilis</i>	Республика Алтай	27.07.2001	23.05.2002	2–10
		9.10.2001	–	0
		16.06.2005	23.05.2006	2
	Новосибирская обл.	3.10.2005	26.05.2006	2
		16.06.2005	5.07.2005 (единичные)	20–51
			18.05.2006 (массовые)	
		23.10.2005	19.05.2006	5–8
	3.10.2005	18.05.2006	13–29	
<i>V. subglabra</i>	Республика Алтай	16.06.2005	18.05.2006	14–31
		3.10.2005	26.05.2006	3–6

Таблица 4

Лабораторная всхожесть *V. mirabilis* в разных режимах (9.09.2010–23.04.2011)

Режим	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %	Период до прорастания, дни	Период прорастания, дни
40 дней термостат – 123 дня холод–термостат	0	–	–	–
	66	2	167	25
	6	–	193	1
	6	–	198	3
163 дня холод–термостат	0	–	–	–
	0	–	–	–
163 дня холод–камера	0	–	–	–
	0	–	–	–
40 дней комната – 123 дня холод–камера	29	10	167	46
	36	2	170	43
	36	4	167	27
	39	2	167	34

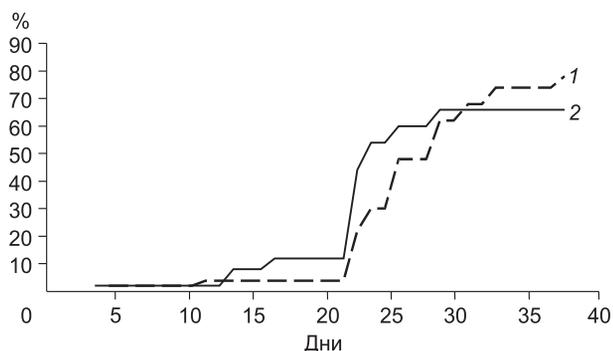


Рис. 2. Динамика прорастания семян *V. mirabilis* в течение 3-го этапа (тепловая стратификация):

1 – 40 дней комната – 123 дня холод–камера; 2 – 40 дней термостат – 123 дня холод–термостат.

мян (более 50 %), у которых первый этап – тепловая стратификация. Семена начали прорасти в обоих режимах (климокамера и термостат) через 4 дня после начала третьего этапа (ТС), но максимальная всхожесть установлена у семян в климатической камере (рис. 2). Прорастание было растянутое, энергия прорастания оказалась низкой (2–10 %).

Весной 2011 г. нами начаты исследования по определению продолжительности сохранения жизнеспособности семян у видов рода *Viola*. Семена *V. subglabra* и *V. mirabilis*, собранные в 2003–2010 гг., были заложены на проращивание в июле–августе

2011 г. Также в опыт были включены свежесобранные семена. С учетом предварительных исследований был выбран 3-этапный режим опыта: 1 этап – 30–55 дней ТС, 2 этап – 120 дней ХС и 3 этап – 30 дней ТС. Продолжительность опыта составила 180–204 дня (табл. 5). При первом этапе ТС через месяц проросли 0–1 % семян *V. subglabra*, 0–3 % *V. mirabilis* (НСО) – во всех случаях семена двухлетнего хранения. Семена *V. subglabra* сбора 2004 и 2005 гг. (7 и 6 лет хранения соответственно) сгнили в течение месяца. Через 1 месяц после начала 2 этапа (ХС) наблюдалась лопнувшая семенная кожура у семян двух-трехлетнего хранения *V. mirabilis* (НСО), а у *V. subglabra* семена пяти-шестилетнего хранения покрылись плесенью. Через 2 месяца у семян всех популяций четырехлетнего хранения и меньше лопнула семенная кожура. Таким образом, к началу третьего этапа наблюдались единично проросшие семена и от 1 до 97 % семян с лопнувшей семенной кожурой, причем с увеличением срока хранения доля таких семян уменьшается.

В результате исследования выявлено, что не все лопнувшие семена прорастают в течение третьего этапа, и наблюдается прорастание незначительного числа нелопнувших семян. Анализ данных по энергии прорастания и всхожести показал, что интенсивность энергии прорастания варьировала от 25 до 100 % среди семян урожая 2007–2011 гг. Причем у образцов ал-

Таблица 5

Жизнеспособность семян видов секции *Mirabiles* (интродукционные популяции)

Вид	Срок хранения семян, лет	Период до прорастания, дни	Период прорастания, дни	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Процент семян	
						сгнившие за 1-й этап	с лопнувшей семенной кожурой за 2-й этап
<i>V. subglabra</i>	7	–	–	–	–	100	–
	6	–	–	–	–	97–100	–
	4	177–178	1–22	1–4	1–6	0–81	1–19
	3	35–178	6–150	7–37	8–40	0–10	1–42
	2	177	2–12	57–76	57–77	1–23	63–80
	1	30–177	12–155	49–54	0–55	0–2	50–55
	0	177	2–12	80–85	80–85	0–1	80–86
<i>V. mirabilis</i> , Республика Алтай	6	–	–	–	0	9–25	–
	4	151–152	1–3	2–4	2–4	2–6	0–4
	3	148–151	3–27	6–35	6–39	2–4	2–4
	2	151	2–6	11–30	12–30	2–14	2–14
	0	133–151	5–23	34–70	44–71	2–5	0–72
<i>V. mirabilis</i> , Новосибирская обл.	8	–	–	–	0	0–3	–
	7	–	–	–	0	1–19	–
	6	–	–	–	0	0–50	–
	4	151–154	24–26	1–22	17–30	0–59	33–73
	3	31–166	9–126	2–33	8–37	0–3	15–39
	2	30–152	9–144	22–32	35–64	0–1	35–63
	1	151–152	19–26	19–61	31–64	1–5	43–64
0	10–151	8–124	34–90	86–96	0–1	89–97	

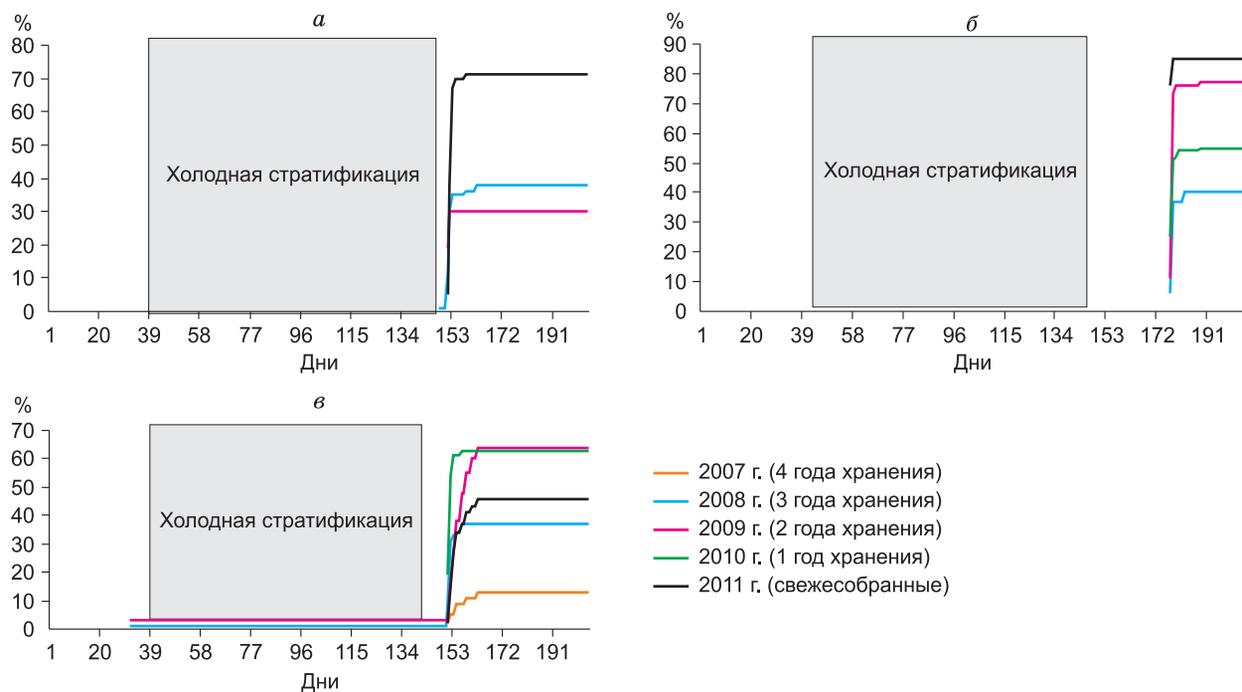


Рис. 3. Динамика прорастания семян видов секции *Mirabiles* разного срока хранения: а – *V. subglabra*; б – *V. mirabilis*, Республика Алтай; в – *V. mirabilis*, Новосибирская область.

тайских популяций (*V. subglabra* и *V. mirabilis*) этот показатель составил 94.10 ± 2.64 и 96.39 ± 1.58 % соответственно, для *V. mirabilis* (НСО) значение было ниже – 58.20 ± 7.02 %, а для секции в целом – 81.71 ± 3.63 %. Установлено, что интенсивность энергии прорастания не зависит от срока хранения семян, однако коэффициент изменчивости этого признака для первых двух популяций был 12.24 и 6.57 % соответственно. Для образцов новосибирской популяции выявлено сильное варьирование интенсивности энергии прорастания – 53 %, для секции этот показатель составил 33 %.

На всхожесть семян, по-видимому, оказывают влияние погодные условия, так для семян однолетне-

го срока хранения (сбор 2010 г.) отмечается пониженная всхожесть, чем для двухлетнего. Выявлено, что продолжительность сохранения жизнеспособности семян для всех популяций составляет 4 года, причем максимальная всхожесть наблюдается у “свежесобранных” семян, через 3 года хранения происходит снижение всхожести на 50 % от значения, характерного для свежесобранных семян (рис. 3). Отмечено, что доля нежизнеспособных, сгнивших семян за 1 этап значительно увеличивается с 4 лет хранения. Для секции в целом (2007–2011 гг.) всхожесть составила 33.31 ± 3.79 %, что в 2.5 раза ниже энергии прорастания, а коэффициент изменчивости, наоборот, выше в 2.5 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для изучения латентного периода на примере видов секции *Mirabiles* разработана методика, включающая исследования по семенной продуктивности, биологии прорастания семян. Уточнены методические приемы для определения семенной продуктивности и биологических особенностей прорастания семян для видов рода *Viola*. Определены основные признаки семенной продуктивности для видов секции *Mirabiles*. Отмечен высокий уровень изменчивости по числу семян и проценту семенификации. Последний признак в среднем составил более 50 % для всех изученных видов. Посев семян в грунт целесообразно проводить ранней осенью (грунтовая всхожесть – до 50 %). Для прорастания семян видов секции *Mirabiles* в

лабораторных условиях необходим 3-этапный режим с длительной холодной стратификацией во втором этапе и тепловой стратификацией на свету (всхожесть – до 96 %). Прорастание семян активное, энергия прорастания достигает 90 %. Интенсивность энергии прорастания составила от 58 % (новосибирская популяция) до 94–96 % (алтайские популяции) и не зависела от срока хранения семян. Максимальная всхожесть наблюдается у свежесобранных семян, на 3 год хранения происходит резкое снижение всхожести.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта № 30 по Программе Президиума РАН “Биологическое разнообразие”.

ЛИТЕРАТУРА

- Вайнагий И.В.** О методике изучения семенной продуктивности растений // Бот. журн. 1974. Т. 59, № 6. С. 826–831.
- Зуев В.В.** Семейство *Violaceae* // Флора Сибири. Новосибирск, 1996. С. 82–99.
- Ишмуратова М.М., Ткаченко К.Г.** Семена травянистых растений: особенности латентного периода, использование в интродукции и размножении *in vitro*. Уфа, 2009. 116 с.
- Конспект флоры Сибири.** Сосудистые растения. Новосибирск, 2005. 362 с.
- Лакин Г.Ф.** Биометрия. М., 1973. 342 с.
- Международные правила** определения качества семян. М., 1969. 182 с.
- Методические указания** по семеноведению интродуцентов. М., 1980. 64 с.
- Никитин В.В.** Гибридизация в роде *Viola* (*Violaceae*) // Бот. журн. 2007. Т. 92, № 2. С. 212–227.
- Флоря В.Н.** Интродукция и акклиматизация растений в Молдавии (лекарственные, витаминоносные, медоносные). Кишинев, 1987. 296 с.
- Юзепчук С.В.** Семейство *Violaceae* // Флора СССР. М.; Л., 1949. Т. 15. С. 350–451.
- Beattie A.J., Lyons N.** Seed dispersal in *Viola* (*Violaceae*) adaptations and strategies // Amer. J. Bot. 1975. V. 62, No. 7. P. 714–722.