

Е.А.Гаврилькова, А.Ш.Додонова

*Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букетова  
(E-mail: elena\_2809@mail.ru)*

## **Биология прорастания семенного материала *Rhaponticum carthamoides* после криоконсервации**

В статье изучена и описана биология прорастания семян *Rhaponticum carthamoides* на свету в норме и после криоконсервации. В результате проведенных исследований установлено, что прорастание у семени надземное. Отмечены основные фазы прорастания: наклевание семени, выход зародышевого корня, выход и удлинение гипокотила, вынос и разворачивание семядольных листьев, появление первой пары настоящих листьев и их раскрытие. Авторами отмечено, что замораживание в жидком азоте не привело к изменению фаз биологии прорастания семени левзеи сафлоровидной. Проростки, развивающиеся из семян, подвергшихся криоконсервации, оказались более жизнеспособными и крепкими.

*Ключевые слова:* *Rhaponticum carthamoides*, семенной материал, морфология семян, биология прорастания, фазы роста, криоконсервация.

### *Актуальность*

Изучение биологии прорастания эндемичных видов с лекарственным значением в настоящее время имеет важное практическое значение для сохранения и восстановления естественных популяций, а также обеспечения запасами растительного сырья фармацевтической промышленности Казахстана. Сохранение семенного материала лекарственных растений, особенно тех видов, которые являются эндемиками, представляется важной задачей. Следует отметить, что хранение семян при комнатной температуре приводит к снижению их всхожести из-за накопления мутаций и повреждения зародыша. В настоящее время перспективным методом хранения геномов растений считается глубокое замораживание семян (до температуры жидкого азота), что теоретически позволяет сохранять всхожесть и генетическую полноценность семян неограниченное время. Рассмотрение влияния экстремально низких температур на биологию прорастания семян является, на наш взгляд, актуальной задачей, тем более, что практически отсутствуют исследования по биологии прорастания семенного материала левзеи сафлоровидной в норме и после криоконсервации.

Левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* Willd, сем. *Asteraceae*) — многолетнее травянистое растение, произрастающее на горных и высокогорных лугах Алтая, Тарбагатая, Джунгарского Алатау. Левзея — эндемичное растение, занесенное в Красную книгу Казахстана. Является ценным лекарственным растением, так как в корневищах содержатся органические кислоты, протеины, полисахариды, фитостеролы, биофлавоноиды, воск, смолы, эфирные масла, дубильные и красящие вещества, алкалоиды, экидистероиды и экидистен, соли фосфорной кислоты, камедь, а также витамины С и А. В современных литературных источниках [1] описаны следующие фармакологические свойства: тонизирующие, общеукрепляющие, адаптогенные. Препараты левзеи показаны в составе комбинированной терапии при астении, физическом и умственном переутомлении, при депрессиях и стрессах, снижении потенции, в период реконвалесценции, хроническом алкоголизме, регулируют кровяное давление, снижают уровень сахара в крови, используют при переломах, заболеваниях половой и мочевыводящей системы, для регенерации кожных тканей. Левзея сафлоровидная (маралий корень) входит в рецептуру тонизирующих напитков «Саяны» и «Байкал».

### *Объекты и методика исследований*

Объектом исследования являлся семенной материал левзеи сафлоровидной. Исследование всхожести и энергии прорастания семян осуществляли по методическим указаниям М.С.Зориной и С.П.Кабанова [2], М.В.Мальцевой [3].

При изучении прорастания семян учитывались следующие фазы: наклевание семени, появление зародышевого корешка, выход и удлинение гипокотила, вынос семядольных листьев и их разворачивание, появление первой пары настоящих листьев и их раскрытие.

В лабораторных условиях семена проращивали в чашках Петри в 4-кратной повторности на 2-х слоях фильтровальной бумаги, смоченной дистиллированной водой. Семена предварительно дезинфицировали 0,5 %  $\text{KMnO}_4$ . Чашки Петри с семенным материалом помещали в климатическую камеру при температуре +24 °С. Для экспериментов специально семена не отбирали, отбраковывали только поврежденные, с измененной окраской или пустые. Семена очищали от плодной шелухи.

Описание семенного материала и проростков осуществляли согласно публикациям В.Н.Вехова, Л.И.Лотовой, В.Р.Филина [4], З.Т.Артюшенко [5]. Статистическую обработку результатов вели по методике Н.Л.Удольской [6].

Замораживание семян проводили в конвертах из алюминиевой фольги путем погружения в жидкий азот на 30 минут. Размораживание осуществляли тремя способами: на воздухе при комнатной температуре, на водяной бане 90 °С, а также с трехдневной отсрочкой посева после замораживания [7, 8].

### Результаты и их обсуждение

Исследование особенностей биологии прорастания семенного материала *Rhaponticum carthamoides* — Левзеи сафлоровидной из сем. *Asteraceae* — Астровые проводили на семенах, собранных в 2013 г.

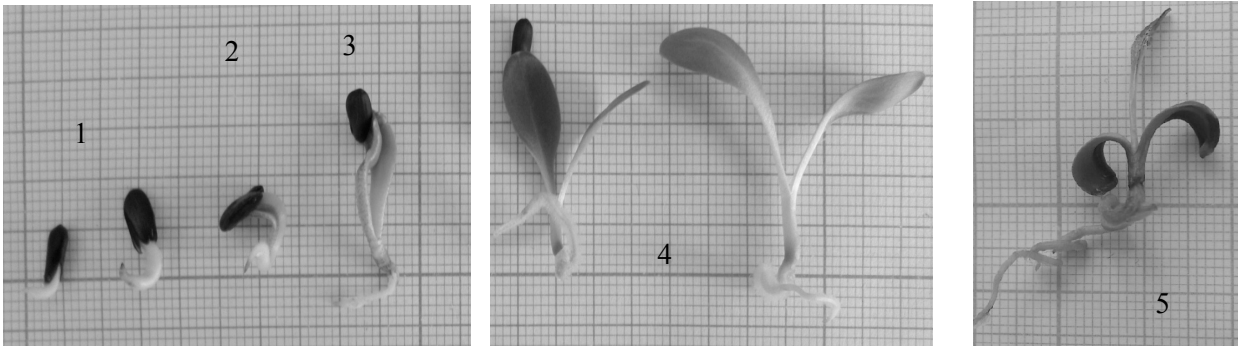
У свежесобранных семян всхожесть составила  $10 \pm 0,2$  %. Для увеличения всхожести провели холодную стратификацию семян, поместив их на 1 и 3 суток в холодильную камеру с температурой –20 °С. Стратификация в течение одних суток привела к повышению всхожести до  $40 \pm 0,3$  %. Более длительная (в течение 3-х суток) стратификация не изменяла уровень всхожести семян левзеи сафлоровидной по сравнению с контрольной.

Всхожесть исследуемого семенного материала после криоконсервации с трехдневной отсрочкой посева после замораживания составила  $25 \pm 0,8$  %, при оттаивании на водяной бане —  $16 \pm 0,8$  %, медленно оттаивающие при комнатной температуре семена после криообработки не проросли.

У семян, хранившихся в течение года в бумажной таре при температуре +22 °С, всхожесть составила  $53,7 \pm 0,5$  %, энергия прорастания  $57,1 \pm 0,4$  %. Всхожесть семенного материала, подвергнутого криоконсервации, составила  $50,4 \pm 0,8$  %, энергия прорастания —  $55 \pm 0,8$  %.

Такое повышение показателей всхожести и энергии прорастания семян после года хранения объясняются, возможно, процессами физиологического дозревания семенного материала левзеи сафлоровидной.

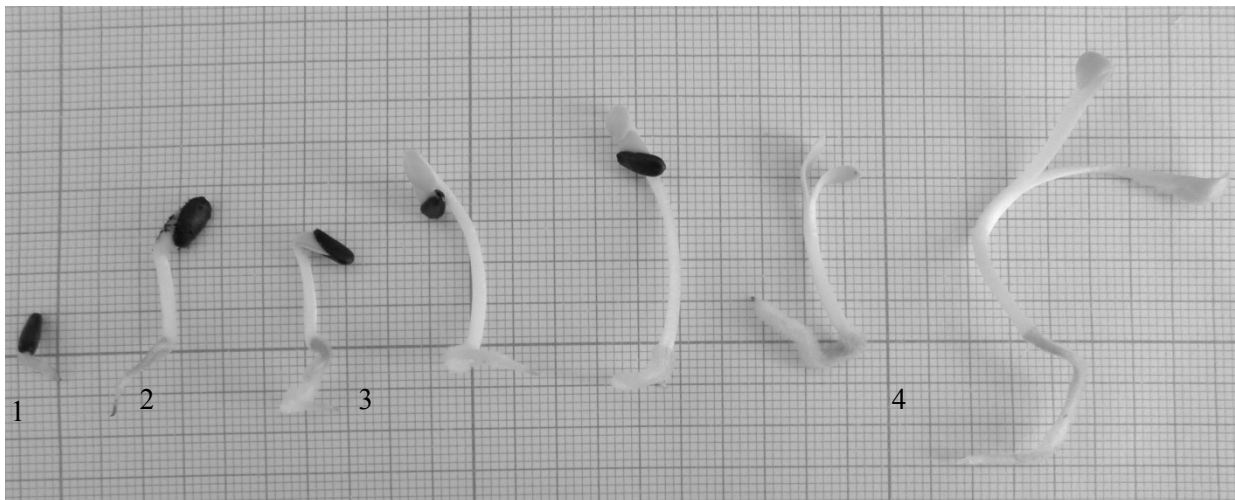
Нами была изучена контрольная биология прорастания семенного материала *Rhaponticum carthamoides* на свету. Наклеивание семян наблюдалось на 5-е сутки, на 6-е сутки на суженной части появляется белый зародышевый корешок длиной 4,5–5 мм и шириной 1 мм с хорошо выраженным корневым чехликом. Выход гипокотила белого цвета наблюдался на 7-й день, к этому времени длина корешка составляла 5,5–6 мм, ширина — 1–1,5 мм. На 8–9-е сутки происходил вынос вместе сложенных семядольных листьев, гипокотиль светло-зеленого цвета слегка удлинялся — до 3 мм длиной и шириной до 2 мм, длина корешка составляла 8 мм, ширина — 1,5 мм, хорошо развиты корневые волоски. Раскрытие семядольных листьев происходило на 10–11-е сутки. К этому времени длина корня увеличивалась до 16–17 мм, ширина — до 1 мм, длина гипокотила составляла 3 мм, до 2 мм в диаметре. Семядольные листья эллиптической формы, зеленого цвета, гладкие, цельнокрайние, длиной до 13 мм, шириной до 8 мм, длина черешка составляла 4 мм, в центральной части хорошо выражена центральная жилка. Зачатки настоящих листьев появлялись на 13-е сутки, раскрытие происходило на 16-е сутки. Цвет гипокотила изменялся с зеленого на красноватый, и корешок также приобретал красноватый оттенок, хорошо были развиты придаточные корни. Причем сначала появляется один настоящий лист, за ним второй. При раскрытии настоящие листья имели простую, яйцевидную форму, цельнокрайние, зеленого цвета, с выраженной центральной жилкой. Но по мере развития и роста проростка настоящие листья приобретали перисто-раздельную форму. К 18-му дню прорастания проросток имел следующие параметры: длина проростка 47,5 мм, длина корешка 18,4 мм, диаметр корешка до 1 мм, диаметр корневой шейки 2 мм, длина гипокотила 10,3 мм, диаметр гипокотила до 2,5 мм, длина семядольных листьев 13,2 мм, ширина семядольного листа 8,2 мм, длина черешка семядольных листьев составляла 8 мм, длина настоящих листьев 10 мм, ширина 6 мм, длина черешка настоящих листьев 7 мм (рис. 1).



1 — появление зародышевого корня; 2 — выход гипокотилия; 3 — удлинение гипокотилия и вынос наружу семядольных листьев; 4 — раскрытие семядольных листьев; 5 — появление первой пары настоящих листьев

Рисунок 1. Биология прорастания *Rhaponticum carthamoides* на свету

Также для сравнения нами была изучена биология прорастания *Rhaponticum carthamoides* в темноте. Наклевывание семян наблюдалось на 5–6-е сутки. На 7–8-е сутки на суженной части появляется белый зародышевый корешок длиной 4,8–5 мм, шириной до 1 мм, с хорошо выраженным корневым чехликом. Выход гипокотилия наблюдался на 9-е сутки, к этому времени длина корешка белого цвета составила 12 мм, ширина — 1 мм. На 13-е сутки гипокотиль светло-желтого цвета удлиняется до 22 мм, слегка делает изгиб и выносит семядольные листья, длина корешка составляет 13 мм, ширина — до 1 мм. Семядольные листья сложенные вместе, раскрытие их происходит на 15–16-е сутки. Семядольные листья этиолированные, эллиптические, светло-желтого цвета, гладкие, цельнокрайние, длиной до 8 мм, шириной до 4 мм, в центральной части листовой пластинки выражена центральная жилка. Морфометрические параметры проростка к 14-му дню прорастания следующие: длина проростка 64,5 мм, диаметр — до 1 мм, длина корешка белого цвета составляет 22,2 мм, диаметр — до 1 мм, длина гипокотилия белого цвета составила 22 мм, диаметр — до 2 мм, длина семядольных листьев желтого цвета составляет до 8 мм, ширина — 4 мм, длина черешка семядольных листьев составляла до 15 мм (рис. 2).



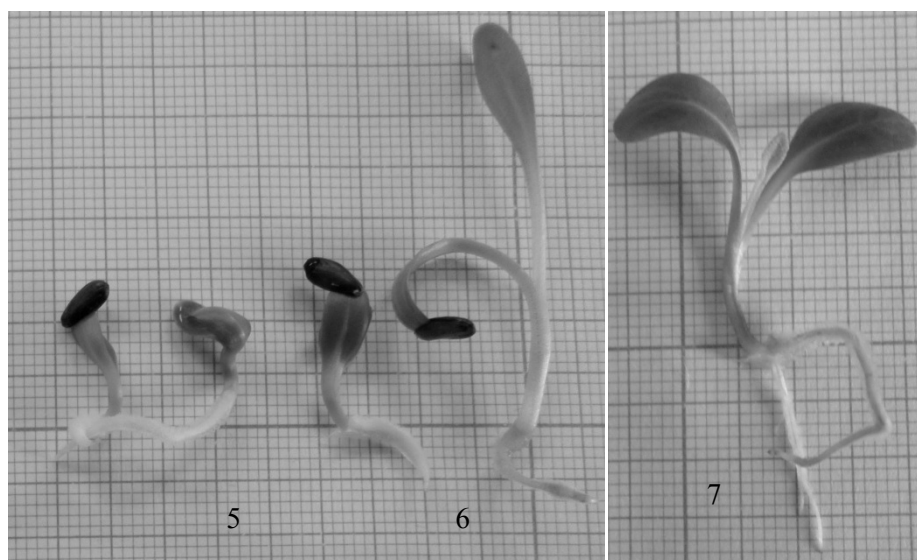
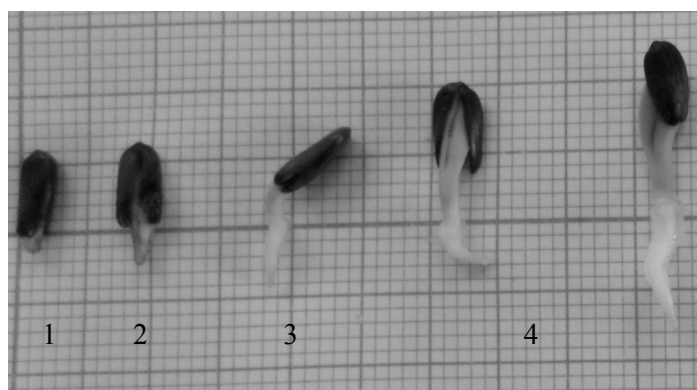
1 — появление зародышевого корня; 2 — удлинение гипокотилия; 3 — вынос наружу семядольных листьев; 4 — развертывание семядольных листьев

Рисунок 2. Биология прорастания *Rhaponticum carthamoides* в темноте

Всхожесть свежесобранного исследуемого семенного материала в темноте составила  $10 \pm 0,5$  %, энергия прорастания —  $11,8 \pm 0,4$  %. Семена, хранившиеся в течение года в бумажной таре при комнатной температуре, показали всхожесть  $35 \pm 0,8$  %, энергия прорастания составила  $26,7 \pm 0,7$  %.

Также нами была изучена биология прорастания семенного материала *Rhaponticum carthamoides* после криоконсервации на свету. Наклевывание семян наблюдалось на 4-е сутки, на 5-е сутки на су-

женной части появлялся белый зародышевый корешок длиной 2 мм и шириной 1 мм, с хорошо выраженным корневым чехликом. Выход гипокотилия белого цвета наблюдался на 6-й день, к этому времени длина корешка составляла 4 мм, ширина — 1,5 мм. На 7–8-е сутки наблюдался вынос вместе сложенных семядольных листьев, гипокотиль светло-зеленого цвета слегка удлинялся, до 3 мм длиной и шириной до 2 мм, длина корешка составляла 8 мм, ширина — 2 мм, с хорошо развитыми корневыми волосками. Раскрытие семядольных листьев происходило на 9–10-е сутки, длина корня увеличивалась до 15 мм, ширина — до 2 мм, длина гипокотилия зеленого цвета составляла 12 мм, до 2 мм в диаметре. Семядольные листья эллиптической формы, зеленого цвета, гладкие, цельнокрайние, длиной до 12 мм, шириной до 7 мм, длина черешка составляла 6 мм, в центральной части листовой пластинки хорошо выражена центральная жилка. Зачатки настоящих листьев появлялись на 12-е сутки, раскрытие происходило на 16-е сутки. Происходило изменение цвета гипокотилия с зеленого на красноватый, и весь корешок также приобретал красноватый оттенок, с хорошо развитыми придаточными корнями. Сначала раскрывался один настоящий лист, следом за ним — второй. При раскрытии настоящие листья простые, яйцевидной формы, цельнокрайние, зеленого цвета, с ярко выраженной центральной жилкой. Но по мере развития и роста проростка настоящие листья приобретали перисто-раздельную форму. К 18-му дню прорастания проросток имел следующие параметры: длина проростка 47,5 мм, длина корешка 25 мм, диаметром до 1 мм, диаметр корневой шейки 2 мм, длина гипокотилия 12,4 мм, диаметром до 2 мм, длина семядольных листьев 12 мм, ширина 8 мм, длина черешка семядольных листьев составила 6 мм, длина настоящих листьев — 10 мм, ширина — 6 мм, длина черешка настоящих листьев — 5 мм (рис. 3).



1 — наклеивание семени; 2 — появление зародышевого корня; 3 — выход гипокотилия;  
 4 — удлинение гипокотилия; 5 — вынос наружу семядольных листьев;  
 6 — разворачивание семядольных листьев; 7 — разворачивание первой пары настоящих листьев

Рисунок 3. Биология прорастания *Rhaponticum carthamoides* после замораживания в жидком азоте

### Заклучение

Таким образом, изучены особенности прорастания и всхожести семян левзеи сафлоровидной в контроле и после криоконсервации. Определено, что для семян *Rhaponticum carthamoides* необходимо время на так называемое дозревание, так как всхожесть семян, сохраняющихся в течение года, выше, чем у свежесобранных. Для увеличения количества проросшего свежесобранного семенного материала следует проводить холодную стратификацию. Однако следует отметить, что дозревшие семена левзеи сафлоровидной имеют более высокий процент прорастания по сравнению со свежими стратифицированными семенами. Существенных различий в биологии прорастания не обнаружено. Проросток проходит все фазы развития, размеры основных частей побега значительных отличий не имеют. После замораживания в жидком азоте прохождение проростком фаз развития происходит чуть быстрее, в среднем на одни сутки, кроме того, проросток оказался более жизнеспособным и крепким. Все это свидетельствует о безопасности криоконсервации для зародыша семени и позволяет использовать данный метод сохранения семенного материала при создании коллекции семян эндемичных растений. При проращивании семенного материала на свету развивающиеся проростки зеленого цвета, главный корень с придаточными корешками, тогда как в темноте проростки этиолированные, длинные, без придаточных корешков. Контрольная всхожесть семенного материала на свету составила  $53,7 \pm 0,7\%$ , тогда как после криоконсервации —  $50,4 \pm 0,8\%$ . Подобная незначительная потеря всхожести не существенна, при условии, что метод криохранения практически не имеет ограничений во времени. При проращивании семян без доступа света контрольная всхожесть составила  $35 \pm 0,8\%$ , что свидетельствует о надземном прорастании семени левзеи сафлоровидной.

### Список литературы

- 1 Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей. — М.: Медицинское информационное агентство, 2000. — 976 с.
- 2 Зорина М.С., Кабанов С.П. Определение семенной продуктивности и качества семян интродуцентов // Методики интродукционных исследований в Казахстане: Сб. науч. тр. — Алма-Ата: Наука, 1976. — С. 75–85.
- 3 Мальцева М.В. Пособие по определению посевных качеств семян лекарственных растений. — М., 1950. — 56 с.
- 4 Вехов В.Н., Лотова Л.И., Филин В.Р. Практикум по анатомии и морфологии высших растений. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. — 196 с.
- 5 Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений: Семя. — Л.: Наука, 1990. — 204 с.
- 6 Удольская Н.Л. Методика биометрических расчетов. — Алма-Ата: Наука, 1976. — 45 с.
- 7 Нестерова С.В. Криоконсервация семян дикорастущих растений Приморского края: Дис. ... канд. биол. наук: 03.00.32. — Владивосток, 2004. — 150 с. — РГБ ОД, 61:04–3/1495.
- 8 Сафина Г.Ф., Бурмистров Л.А. Низкотемпературное и криогенное хранение семян груши *Pyrus L.* // Цитология. — 2004. — № 46 (10). — С. 851.

Е.А.Гаврилькова, А.Ш.Додонова

### Криоконсервациядан кейінгі *Rhaponticum carthamoides* тұқымдарының өсу қарқындылығының биологиясы

Мақалада криоконсервациядан кейінгі және қалыпты жағдайда жарықтағы *Rhaponticum carthamoides* тұқымдарының өсу қарқындылығын зерттеу және сипаттау баяндалған. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде тұқымдардың өсу қарқындылығы жер үстілік екендігі анықталды. Өсу қарқындылығының негізгі фазалары анықталды: тұқымдардың ісінуі, ұрықтық тамыршаның шығуы, гипокотильдің шығуы және ұзаруы, тұқымжарнақтық жапырақшалардың ширатылуы және ашылуы, алғашқы нағыз жапырақшалардың пайда болуы мен олардың ашылуы. Авторлар сұйық азотта *Rhaponticum carthamoides* мұздату тұқымдардың өсу қарқындылығы биологиясының фазаларының өзгеруіне әкелмейді деген қорытындыға келген. Криоконсервацияға ұшыраған тұқымдардан дамыған өскіншелер біршама тіршілікке қабілетті және мықты болады.

E.A.Gavril'kova, A.Sh.Dodonova

## **Biology seed germination *Rhaponticum carthamoides* after cryopreservation**

Examination of the biology of seed germination of *Rhaponticum carthamoides* to light in normal conditions and after cryopreservation is described in this article. The studies detected that there are overhead germination of the seed. The basis of the germination phase marked: seed initial germination of embryonic root formation, hypocotyl formation and elongation, formation and deployment of cotyledons, the appearance of the first pair of real leaves, and disclosure. Freezing in liquid nitrogen did not change the phase of seed germination biology *Rhaponticum carthamoides*. The seedlings developing from the seeds subjected to cryoconservation, proved to be more viable and strong.

### References

- 1 Sokolov S.Ya. *Phytotherapy and phytopharmacology: A Guide for Physicians*, Moscow: Medical Information Agency, 2000, 976 p.
- 2 Zorina M.S., Kabanov S.P. *Methods of introduction research in Kazakhstan*, Alma-Ata, Nauka, 1976, p. 75–85.
- 3 Maltseva M.V. *Manual for the definition of sowing qualities of seeds of medicinal plants*, Moscow, 1950, 56 p.
- 4 Vekhov V.N., Lotova L.I., Filin V.R. *Workshop on the anatomy and morphology of higher plants*, Moscow: Moscow University Publ., 1980, 196 p.
- 5 Artyushenko Z.T. *Atlas on descriptive morphology of higher plants: Seed*, Leningrad: Nauka, 1990, 204 p.
- 6 Udolskaya N.L. *The technique of biometric calculations*, Alma-Ata: Nauka, 1976, 45 p.
- 7 Nesterova S.V. *Cryoconservation of seeds of wild plants of Primorye Territory*: Dis. ... Cand. biol. sciences: 03.00.32, Vladivostok, 2004, 150 p., RSL OD, 61: 04–3 / 1495.
- 8 Safina G.F., Burmistrov L.A. *Cytology*, 2004, 46(10), p. 851.