

## БИОЛОГИЯ СЕМЯН НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *VALERIANA* И ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ ИХ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

© 2017 Н.И. Барышникова<sup>1</sup>, М.М. Ишмуратова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова

<sup>2</sup> Башкирский государственный университет, Уфа

Статья поступила в редакцию 24.05.2017

При разработке технологий выращивания видов (интродукция, культура *in vitro*, плантационное возделывание) и создании банков семян важно знать особенности типов покоя семян выращиваемых видов, способы выведения их из состояния покоя, сроки жизнеспособности семян. Для оценки жизнеспособности семян видов рода *Valeriana* ряда *Officinales* изучены лабораторная и полевая всхожесть, характеристики биологии семян при хранении и особенности введения их в культуру *in vitro*. Семена разных видов рода *Valeriana* имеют разную жизнеспособность в культуре и при нахождении в естественных почвенных условиях. Семена *V. alternifolia* сохраняют жизнеспособность более 3-х лет. Максимальная энергия прорастания семян в первый год. Для *V. alternifolia* характерна затухающая волнообразная кривая годовой всхожести семян с пиками в весенний период. *Valeriana alternifolia* можно отнести к группе мезобиотиков, вид способен образовывать кратковременный почвенный банк. Свежесобранные семена *V. wolgensis* обладают высокой всхожестью и прорастают сразу после диссеминации. При хранении в почве естественных местообитаний семена этого вида сохраняют свою жизнеспособность в течение двух лет, однако этот показатель закономерно снижается с увеличением срока их хранения. По показателям жизнеспособности семян, *V. wolgensis* можно отнести к группе мезобиотиков, вид не способен образовывать почвенный банк. Семена *V. dubia*, *V. officinalis*, *V. tuberosa* после 5-6 лет хранения в комнатных условиях теряют жизнеспособность. В условиях культуры жизнеспособность семян и репродуктивные характеристики увеличиваются, изменяются темпы роста и развития растений, сокращается длительность онтогенеза, растения из многолетней жизненной формы переходят в двулетнюю без вегетативного размножения, изменяются стратегии жизни видов. Установлено, что оптимальным для введения в культуру *in vitro* является использование свежесобранных семян исследованных видов.

**Ключевые слова:** *Valeriana*, жизнеспособность семян, лабораторная всхожесть, полевая всхожесть, сезонные ритмы прорастания семян, введение семян в культуру *in vitro*.

При разработке видовых стратегий охраны редких видов растений, разработке способов воспроизводства ресурсных видов растений в условиях *ex situ* и *in situ*, создании банков семян остро встает вопрос об изучении особенностей биологии семян редких и ресурсных видов.

*Valeriana officinalis* L. является главным источником сырья в производстве лекарственных препаратов, воздействующих на сердечно-сосудистую систему [6]. Многие виды рода *Valeriana* секция *Rhizophorae* Grub. ряда *Officinales* (*V. alternifolia* Ledeb., *V. dubia* Bunge, *V. wolgensis* Kasak. и др.) широко используются в качестве дополнительного источника сырья *V. officinalis*, к которому они близки по компонентному составу действующих веществ [1; 3; 15-18; 20]. В ряде субъектов Российской Федерации виды валерианы включены в региональные Красные Книги.

*Барышникова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, заведующая кафедрой стандартизации, сертифицикации и технологии продуктов питания.*

*E-mail: barunyu@mai.ru*

*Ишмуратова Майя Мунировна, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и ботаники.*

*E-mail: ishmuratova@mai.ru*

Ранее, при разработке видовых стратегий охраны видов рода *Valeriana* на территории Республики Башкортостан (РБ), нами были проведены работы по интродукции [22; 23] и введению в культуру *in vitro* [7; 8] некоторых видов рода *Valeriana*.

Имеющиеся в литературе сведения о биологии семян видов рода *Valeriana* отрывочны и противоречивы. Известно [2; 4; 9-11; 13; 14; 16; 19], что особенностью семян представителей рода *Valeriana* является высокая энергия прорастания свежесобранных семян и сравнительно быстрая потеря их всхожести при хранении. Показано [8; 22; 24], что семена видов рода *Valeriana* обладают низкой жизнеспособностью и характеризуются различными типами покоя, нуждаются в различных методах предпосевной обработки. Следует отметить, что в большинстве публикаций, посвященных изучению биологии семян видов рода *Valeriana*, таксономические границы вида понимаются широко - *Valeriana officinalis* s. l.

В связи с этим представляет интерес изучение особенностей биологии семян некоторых видов рода *Valeriana* ряда *Officinales*, связанных с их экологией и стратегиями.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Для сравнительного анализа использованы семена некоторых видов рода *Valeriana* ряда *Officinales* - *V. alternifolia*, *V. dubia*, *V. officinalis*, *V. wolgensis*, а также семена *V. tuberosa* L. секции *Tuberosae* (Ноек) Grub., собранные нами с растений в естественных местах обитания в районах РБ (2008-2013 годы сборов) и в районах Центральной Якутии (2007 и 2015 годы сборов).

Семена *V. wolgensis* собирали с растений в естественных местах обитания (Бурзянский р-н РБ) и при выращивании в условиях культуры (Баймакский р-н РБ).

В лабораторных и полевых условиях для определения жизнеспособности семян использован показатель всхожести (%). Лабораторную всхожесть семян определяли в соответствии с имеющимися методиками [21].

Семена исследуемых видов хранили в лабораторных условиях в бумажных пакетиках при комнатной температуре +20 -24 °С. В эксперименте использовали только зрелые и выполненные семена.

Сезонные ритмы прорастания семян *V. alternifolia* определяли по имеющимся методикам [8]. Число семян в опыте варьировало от 50 до 200 шт. Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге на свету при комнатной температуре +20 -24 °С. Семена *V. alternifolia*, собранные в июле 2007 г., проращивали в 2008 – 2011 годах, в разное время года: осенью - в сентябре и ноябре; зимой – в декабре, январе, феврале; весной – в марте и апреле; летом – в июне.

Для выяснения жизнеспособности семян *V. wolgensis* нами был заложен опыт с погребенными семенами по методике Т.А. Работнова [12]. Семена *V. wolgensis* были собраны нами в Баймакском и Бурзянском (на территории Башгосзаповедника) р-нах РБ в 2008 и в 2013 годах соответственно. Закладку свежесобранных семян для хранения в естественных условиях проводили в местах их сбора. Погребенные семена изымали из земли и проращивали, соответственно, в 2009-2011 и 2014-2016 годах. Свежесобранные семена *V. wolgensis* по 100 шт. закладывали в марлевые пакетики (в трехкратной повторности на каждый год исследования), затем их помещали в прикрытые сверху контейнеры. Контейнеры заполняли почвой с горизонтов той же глубины, на которую их закапывали. Для придания естественности, контейнеры наполняли почвой до краев, чтобы между поверхностью почвы в контейнерах и крышкой не было незаполненного почвой пространства. Для погребения изучаемых образцов семян в почву, выкапывали яму глубиной 10 см, после размещения контейнеров с образцами, пустоты заполняли почвой. Места погребения образцов семян отмечали путем

установки специальных колышков. Весной следующего года (около одного года в условиях погребения) и весной последующих лет (после 2-х и 3-х лет погребения) образцы изымали и подсчитывали число проросших семян в каждом из марлевых пакетиков. Не проросшие семена ставили на дальнейшее проращивание в чашках Петри. Опыты выполняли в трехкратной повторности, данные усредняли.

Эксплантами для введения в культуру *in vitro* служили семена. В качестве питательной среды использовали модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга [25] с гормональными добавками 6-бензиламинопурина (6 - БАП), индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в различных концентрациях, рН 5,5-5,8.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Семена видов рода *Valeriana* ряда *Officinales* мелкие.

Семена *V. alternifolia*, собранные в 2007 г., сохраняют лабораторную всхожесть до 2011 г. (рис.1). После трех лет хранения в комнатных условиях всхожесть снижается. Относительно низкая полевая всхожесть (1-5 %) семян этого вида сохраняется более 5 лет.

Семена *V. alternifolia* характеризуются вынужденным типом покоя и не нуждаются в привлечении методов стратификации и скарификации. Энергия прорастания семян низкая, максимальная – приходится на 10 день после замачивания.

Максимальные пики прорастания семян *V. alternifolia* отмечаются в весенний период (2009 г. - 82,5 %; 2010 г. - 27,0 %; 2011 г. - 12,0 %). В последующие сезоны показатель всхожести снижается, что свидетельствует о постепенной потере жизнеспособности семян после трех лет хранения. Для *V. alternifolia* также характерна затухающая волнообразная кривая всхожести семян с пиками в весенний период.

В работе В.В. Семеновой и П.С. Егоровой [19] отмечается, что свежесобранные семена *V. alternifolia* имеют высокую лабораторную всхожесть 38,50 - 77,25 %, но быстро снижают ее. Полевая всхожесть семян через год полностью теряется. Однако по результатам наших исследований по показателям жизнеспособности семян, *V. alternifolia* может быть отнесена к группе мезобиотиков - растения, семена которых сохраняют жизнеспособность более 3-х лет. *Valeriana alternifolia* относится к видам, способным образовывать кратковременный почвенный банк.

Свежесобранные семена *V. wolgensis* обладают высокой всхожестью и прорастают сразу после диссеминации. Доля проросших свежесобранных семян *V. wolgensis* составила в вариантах опыта 45,0-88,0 %, в среднем – 62,0 %. Кос-

венным показателем прорастания семян сразу после диссеминации является высокая доля прегенеративных особей в возрастных спектрах вида. К примеру, по результатам популяционных исследований с видами рода *Valeriana*, проведенных нами в Государственном природном биосферном заповеднике «Шульган-Таш», показано, что доля ювенильных особей в возрастных спектрах ценопопуляций *V. wolgensis* составляет 33,0-83,0 %, в среднем – 64,0 %.

Жизнеспособность семян *V. wolgensis*, погребенных в почве в естественных местах обитания и в условиях культуры представлена в табл. 1. Общая доля жизнеспособных и проросших семян *V. wolgensis* в первый год после закладки опыта составила 18-93 %. Высокие показатели жизнеспособности семян наблюдали при погребении их в естественных местах обитания.

При этом доля проросших семян, хранившихся в марлевых пакетиках в почве, составила в среднем по 8 % для семян, собранных с растений в естественных условиях обитания и в условиях культуры. Основная масса семян после погребения проросла в лабораторных условиях в чашках Петри.

Во второй год после закладки опыта общая доля жизнеспособных и проросших семян *V. wolgensis* составила лишь 4-6 % в естественных условиях и в условиях культуры. Это семена, изъятые из почвы и проросшие в лабораторных условиях в чашках Петри. В марлевых пакетиках в почве семена не проросли.

На третий год после закладки опыта проросли лишь семена, собранные с растений, выросших в условиях культуры. Однако доля их была очень низкой (1 %).

Из вышесказанного следует, что семена *V. wolgensis* характеризуются высокой всхожестью и способны сохранять свою жизнеспособность в течение двух лет при хранении в почве в естественных местах произрастания. При погребении семян *V. wolgensis* в почве в естественных местах обитания с увеличением срока хранения наблюдается потеря их жизнеспособности. При выращивании в условиях культуры незначительная часть семян сохраняет свою жизнеспособность в течение трех лет, однако, в целом доля жизнеспособных семян в условиях культуры низкая (1-18 %).

Нами показано [3; 22-24 и др.], что выращивание в условиях культуры видов рода *Valeriana*

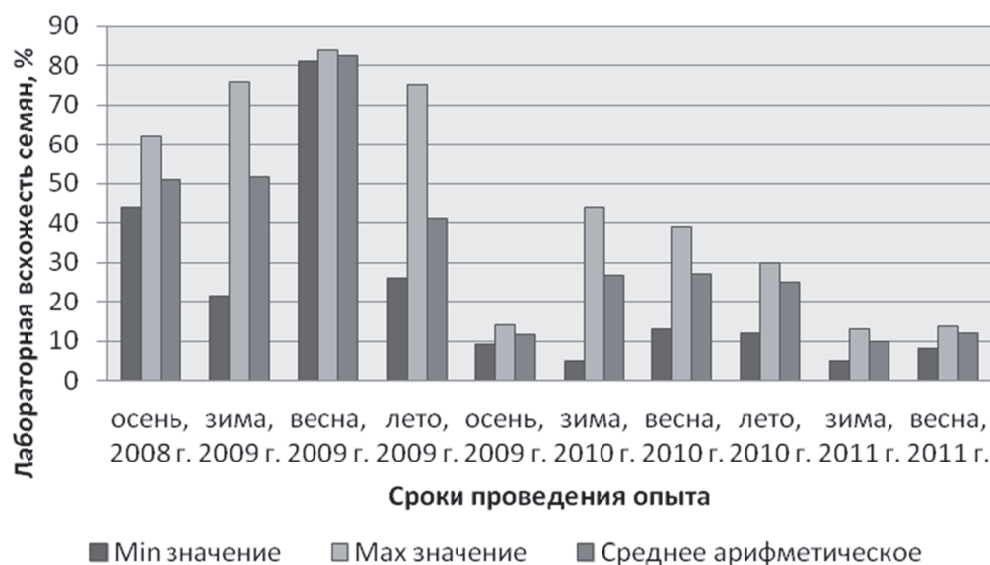


Рис. 1. Сезонные ритмы прорастания семян *Valeriana alternifolia* (2008-2011 гг.)

Таблица 1. Жизнеспособность семян *Valeriana wolgensis*, погребенных в почве в естественных местах обитания и в условиях культуры

Условия проведения опыта	Доля проросших семян (%)								
	1 год хранения			2 года хранения			3 года хранения		
	А	В	С	А	В	С	А	В	С
естественные условия	7,8 ± 4,5	85,0 ± 6,5	92,8	0	6,0 ± 2,1	6,0	0	0	0
условия культуры	8,0 ± 2,5	10,0 ± 4,1	18,0	0	4,0 ± 1,1	4,0	0	1,0 ± 0,2	1,0

Примечание: А - в пакетике в почве; В - всхожесть оставшихся семян в ч. Петри; С - общая всхожесть семян

приводит к изменению, в сравнении с естественными условиями, темпов роста и развития растений и их репродуктивных характеристик. Для ряда видов в условиях культуры сокращается длительность онтогенеза, растения из многолетней жизненной формы, а по В.Н. Ворошилову [4] «двулетней замещающейся жизненной формы» с вегетативным размножением, переходят в двулетнюю жизненную форму без вегетативного размножения. Стратегии жизни видов меняются из С-стратегов в R-стратегов. Семенная продуктивность *V. wolgensis* увеличивается, изменяется качество семян, возрастает их жизнеспособность.

Таким образом, в ходе проведенных исследований с погребенными семенами установлено, что семена *V. wolgensis* теряют жизнеспособность и всхожесть в течение года-двух и не способны образовывать длительный почвенный банк семян. По этим показателям *V. wolgensis* можно отнести к группе микробиотиков.

Разработка видовых стратегий охраны редких и ресурсных видов растений включает и разработку способов воспроизводства растений в условиях *ex situ*, в т. ч. и создание технологий клонального микроразмножения в условиях *in vitro*. При клональном микроразмножении валериан эксплантами могут служить семена [7], поэтому к качеству семян и их жизнеспособности предъявляются особые требования.

В лабораторных экспериментах 2016 г. при проращивании семян в условиях *in vitro* использовали семена, хранившиеся в комнатных условиях. В эксперименте использовали семена различного времени сбора – *V. alternifolia* 2007, 2015 г., *V. dubia* 2010 г., *V. officinalis* 2011 г., *V. tuberosa* 2010 г., *V. wolgensis* 2011 г. Семена не подвергались предпосевной обработке. При хранении в комнатных условиях семена всех видов, кроме семян *V. alternifolia* 2015 года сбора, были нежизнеспособными. Высокий показатель всхожести (69,0-71,0 %, в среднем 70,8 %) продемонстрировали лишь семена *V. alternifolia* 2015 года сбора. Ранее нами показано [7], что оптимальным для введения в культуру *in vitro* является использование свежесобранных семян или семян, хранившихся в комнатных условиях в течение одного-двух лет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Виды рода *Valeriana* являются главным источником сырья в производстве лекарственных препаратов, воздействующих на сердечно-сосудистую систему. При разработке технологий выращивания видов (интродукция, культура *in vitro*, плантационное возделывание) и создании банков семян важно знать особенности типов покоя семян выращиваемых видов, способы выведения их из состояния покоя, сроки жизнеспособности семян. К настоящему време-

ни известно, что представители рода *Valeriana* характеризуются различными типами покоя и различной жизнеспособностью семян, однако сведения, имеющиеся в литературе обрывочны и противоречивы. Важным является и изучение условий хранения семян. В связи с этим представляет интерес дальнейшее изучение биологии семян видов рода *Valeriana*.

По показателям жизнеспособности семян *V. alternifolia* можно отнести к группе мезобиотиков (семена сохраняют жизнеспособность при хранении в комнатных условиях более 3-х лет), вид способен образовывать кратковременный почвенный банк.

При хранении в погребенных условиях семена *V. wolgensis* теряют жизнеспособность в течение года-двух и не способны образовывать длительный почвенный банк семян. Семена, погребенные в почву в естественных условиях обитания характеризуются высокой жизнеспособностью. По показателям жизнеспособности семян, *V. wolgensis* можно отнести к группе микробиотиков.

Семена *V. dubia*, *V. officinalis*, *V. tuberosa* после 5-6 лет хранения в комнатных условиях теряют жизнеспособность.

Установлено, что оптимальным для введения в культуру *in vitro* является использование свежесобранных семян исследованных видов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас лекарственных растений Якутии. Т. 1. Якутск: ЯФ Изд-ва СО РАН, 2003. 194 с.
2. Баранова А.Е., Тихонова В.Л. Возраст семян и их реакция на замораживание // Биологическое разнообразие. Интродукция растений: Материалы Третьей международной конференции. СПб, 2003. С. 365-366.
3. Барышникова Н.И. Эколого-фитоценологическая характеристика, ценопопуляционный анализ и опыт введения в культуру *Valeriana tuberosa* L. и *Valeriana dubia* Bunge в степном Зауралье Республики Башкортостан: автореф. ... канд. биол. наук. Уфа. 2005. 24 с.
4. Ворошилов В.Н. Лекарственная валериана. М.: Изд-во АН СССР, 1959. 160 с.
5. Горбунов Ю.Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств: Морфология, систематика, перспективы использования. М.: Наука, 2002. 207 с.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. Ч. 1. 704 с.
7. Ишмуратова М.М. Размножение видов рода *Valeriana* в культуре *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биологического разнообразия растительного мира: Материалы II всерос. науч.-практ. конф. (Волгоград, 19-21 августа 2008 г.). Белгород: Изд-во БелГУ, 2008. С. 56-59.
8. Ишмуратова М.М., Ткаченко К.Г. Семена травянистых растений: особенности латентного периода, использование в интродукции и размножении *in vitro*. Уфа: Гилем, 2009. 115 с.
9. Конон Н.Т. Селекция и семеноводство валерианы лекарственной // Лекарственное растениеводство. 1988. Вып. 3. С. 32-36.



10. Николаева М.Г., Лянгузова И.В., Поздова Л.М. Биология семян. СПб., 1999. 233 с.
11. Нухимовский Е.Л. Основы биоморфологии семенных растений: Т. 1. Теория организации биоморф. М.: Недра, 1997. 630 с.
12. Полевая геоботаника. М., Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1960. С. 33-34.
13. Семенихин И.Д. Рекомендации по возделыванию валерианы лекарственной в условиях центрально-черноземных областей и северной части Украины // Лекарственное растениеводство в условиях Украины: Сборник научных трудов. М.: ВИЛР, 1985. С. 27-40.
14. Семенихин И.Д., Коломиец Н.И., Конон Н.Т. Валериана лекарственная // Возделывание лекарственных растений: Сборник научных трудов. М.: ВИЛР, 1987. Ч.1. С. 10-22.
15. Семенова В. В., Данилова Н. С., Андросова Д. Н. Лекарственные растения сердечно-сосудистого действия в природных сообществах и коллекциях Якутского ботанического сада // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2014. № 98. С. 233-243.
16. Семенова В.В. Особенности структуры природных ценопопуляций и поливариантность онтогенеза *Valeriana alternifolia* Ledeb. в Якутии: Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Якутск, 2006. 22 с.
17. Семенова В.В., Егорова П.С. Возрастная структура ценопопуляций *Valeriana alternifolia* (Valerianaceae) в Западной Якутии // Раст. ресурсы. 2005. Вып. 1. С. 35-39.
18. Семенова В.В., Егорова П.С. Динамика онтогенетической структуры и оценка жизнеспособности ценопопуляций *Valeriana alternifolia* (Valerianaceae) в Западной Якутии // Раст. ресурсы. 2008. Вып. 1. С. 60-65.
19. Семенова В.В., Егорова П.С. Поливариантность онтогенеза *Valeriana alternifolia* Ledeb. и структура ее природных ценопопуляций в Якутии. Новосибирск: Наука, 2013. 111 с.
20. Сулейманова Э.Н. Биология, эколого-фитоценологические и популяционные характеристики *Valeriana wolgensis* Kazak. на Южном Урале (Южно-Уральский государственный природный заповедник): Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Уфа, 2013. 22 с.
21. Фирсова М.К. Методы исследования и оценки качества семян. М. 1955. 375 с.
22. Харрасова Г.В. Интродукция некоторых видов рода *Valeriana* ряда *Officinales* в условиях культуры в степной зоне Башкирского Зауралья: автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Уфа. 2012. 22 с.
23. Харрасова Г.В., Барышникова Н.И., Ишмуратова М.М. 2011. Интродукция видов рода *Valeriana* в Башкирском Зауралье // Известия Самарского научного центра РАН. Т.13. №5(3). С.116-119.
24. Харрасова Г.В., Ишмуратова М.М., Барышникова Н.И. 2013. Репродуктивные характеристики видов рода *Valeriana* в естественных местах обитания и в условиях культуры // Растительные ресурсы. Т.49. № 4. С. 473 – 481.
25. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, N 13. P. 473 – 497.

## BIOLOGY OF SEEDS OF SOME SPECIES OF THE GENUS VALERIANA AND FEATURES OF THEIR INTRODUCTION INTO CULTURE *IN VITRO*

© 2017 N.I. Baryshnikova<sup>1</sup>, M.M. Ishmuratova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Nosov Magnitogorsk State Technical University

<sup>2</sup> Bashkir State University, Ufa

When developing technologies for growing species (introduction, *in vitro* culture, plantation cultivation) and the creation of seed banks, it is important to know the particularities of the types of dormancy of seeds of cultivated species, the ways of removing them from the rest state, the timing of the viability of the seeds. To measure the viability of the seeds of the *Valeriana* species of the *Officinales* series, laboratory and field germination, the characteristics of the biology of seeds during storage, and the features of their introduction *in vitro* have been studied. Seeds of different species of the genus *Valeriana* have different viability in culture and in natural soil conditions. Seeds of *V. alternifolia* retain viability for more than 3 years and have a maximum energy of seed germination in the first year. *V. alternifolia* is characterized by a damped wave-like curve of annual germination of seeds with peaks in the spring period. *Valeriana alternifolia* can be attributed to the group of mesobiotics, the species are able to form a short-term soil seed bank. Freshly harvested *V. wolgensis* seeds are highly germinated and could germinate immediately after dissemination. When stored in the natural habitat soil, the seeds of this species retain their viability for two years, but this index naturally decreases by storage time. According to the indicators of viability of seeds, *V. wolgensis* can be attributed to a group of microbionics, the species are not able to form a soil seeds bank. Seeds of *V. dubia*, *V. officinalis*, *V. tuberosa* after 5-6 years of storage in room conditions lose their vitality. In the conditions of culture, the viability of seeds and reproductive characteristics increase, the rate of growth and development of plants changes, the duration of ontogeny decreases, plants from a long-term life form pass into a biennial without vegetative propagation, the life strategies of species changes. It was found that the use of freshly harvested seeds of the examined species is optimal for introduction *in vitro*.

*Key words:* Valeriana, viability of seeds, laboratory germination, field germination, seasonal rhythms of germination of seeds, introduction of seeds *in vitro*.

*Nadezhda Baryshnikova, Candidate of Biology, Head at the Standardization, Certification and Food Technology Department. E-mail: barunya@mai.ru*

*Maya Ishmuratova, Doctor of of Biology, Professor at the Ecology and Botany Department E-mail: ishmuratova@mai.ru*