

ИНТРОДУКЦИЯ РЕСУРСНЫХ ВИДОВ

СЕМЕННОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ *LABURNUM ANAGYROIDES* (LEGUMINOSAE) ПРИ ИНТРОДУКЦИИ В НИЖНЕМ ПОВОЛЖЬЕ

© 2020 г. С. Н. Тимофеева¹, О. И. Юдакова^{1,*}, А. И. Харитонов², Л. А. Эльконин³

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет
им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия

²Саратовский национальный исследовательский государственный университет
им. Н.Г. Чернышевского, Ботанический сад, г. Саратов, Россия

³Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока,
г. Саратов, Россия

*e-mail: yudakovaio66@gmail.com

Поступила в редакцию 25.04.2019 г.

После доработки 05.07.2019 г.

Принята к публикации 12.12.2019 г.

Laburnum anagyroides Medik. (Leguminosae) — перспективное декоративное древесное растение родом из Средиземноморья. При интродукции в Нижнем Поволжье характеризуется следующими показателями семенного размножения: потенциальная семенная продуктивность — 5.24 ± 0.08 семян-зачатков на 1 завязь, реальная семенная продуктивность — 1.53 ± 0.05 семян на 1 плод, коэффициент эффективности репродукции — 29.2%. Семена быстро переходят в состояние глубокого физического покоя, из которого не могут самостоятельно выйти весной. Всхожесть интактных семян, как свежесобранных, так и длительно хранящихся, не превышает 10%, что является одной из причин отсутствия самосева. Для увеличения лабораторной всхожести семян были апробированы различные варианты их температурной обработки с последующим проращиванием на разных субстратах. Максимальное количество жизнеспособных проростков получено после воздействия на семена горячей водой (90 °C) в течение 15 мин с последующим проращиванием в условиях *in vitro* на питательной среде MS. Лимитирующими факторами семенного размножения *L. anagyroides* при его интродукции в Нижнем Поволжье являются высокая температура воздуха в августе, способствующая быстрому переходу семян в состояние глубокого физического покоя, и высокая влажность почв весной, вызывающая гибель проростков, чувствительных к переувлажнению.

Ключевые слова: *Laburnum anagyroides*, семенная продуктивность, физический покой семян, предобработка семян, проращивание семян

DOI: 10.31857/S0033994620010070

Бобовник анагировидный, или Золотой дождь *Laburnum anagyroides* Medik. (= *L. vulgare* Griseb., *Cytisus laburnum* Linn., Leguminosae) — небольшое маловетвистое дерево, чаще растущее крупным кустом, относится к длительно вегетирующим листопадным растениям с периодом зимнего покоя. В благоприятных условиях его высота может достигать 9 м, а ширина кроны — 3–4 м. Крупные тройчатые листья в начале вегетации изумрудно-зеленые, летом верхняя сторона листьев темно-зеленая, нижняя — серовато-зеленая, бархатистая. Молодые побеги, листья, почки, цветоножки серебристо опушены. *L. anagyroides* ценится за декоративность во время цветения. Его многочисленные соцветия-кисти длиной до 30 см, состоящие из слабо ароматных золотисто-желтых цветков, как бы струятся среди зеленой листвы, за что он получил свое второе название “Золотой дождь” (табл. I, I). Цветение

приходится на май–июнь и продолжается от 20 до 60 сут. Кроме внешней привлекательности обладает рядом характеристик, востребованных в озеленении и садово-парковом строительстве: быстро растет, рано вступает в пору цветения и плодоношения [1–3], преуспевает на любых почвах, хорошо переносит пересадку во взрослом состоянии [4].

L. anagyroides является источником лекарственных веществ. Все части растения, и особенно плоды и семена, содержат алкалоиды и биофлавоны (до 5%) [5–7]. Среди алкалоидов широко применяется цитизин, на основе которого создан лекарственный препарат цититон (0.15% водный раствор) — стимулятор дыхательной и сердечнососудистой систем [5]. Являясь никотиновым рецептором, цитизин также входит в состав лекарственного средства для преодоления никотиновой зависимости Tabex® [8, 9].

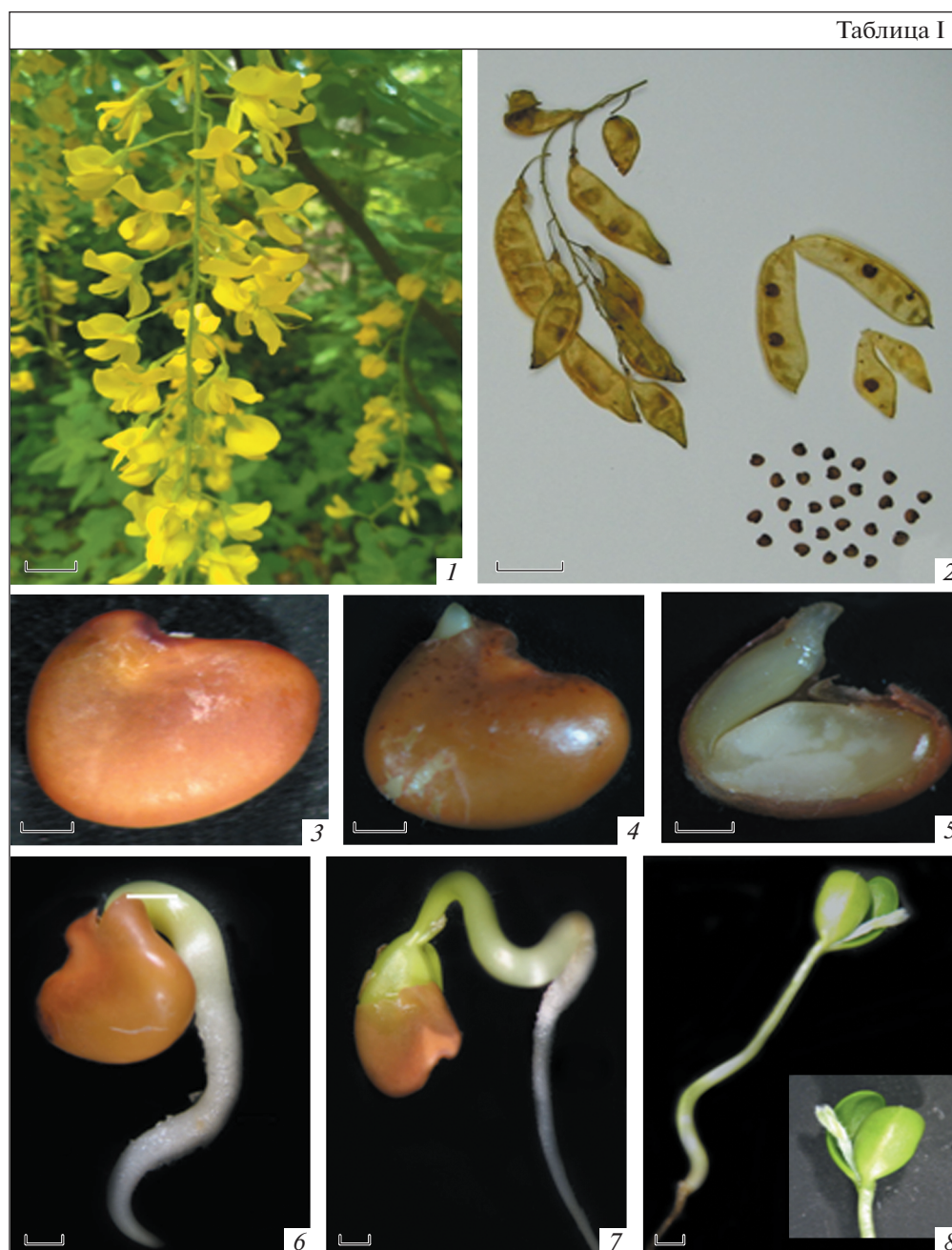


Таблица I. *L. anagyroides*. 1 – соцветие, 2 – зрелые плоды и семена, 3 – intactное семя, 4 – появление зародышевого корешка на 9-е сут после замачивания семян, 5 – латеральный срез семени на 9-е сут замачивания семян, 6 – появление hypocotila на 2-е сут прорастания, 7 – изгиб hypocotila и вынос семядольных листьев на 5-е сут прорастания, 8 – раскрытие семядольных листьев и появление первого настоящего листа на 8-е сут прорастания. Масштабная линейка: 1, 2 – 10 мм, 3–8 – 1 мм.

Table I. *L. anagyroides*. 1 – inflorescence, 2 – fruits and seeds, 3 – intact seed, 4 – radicle emergence on the 9th day after seed soaking, 5 – lateral cut of the seed on the 9th day after soaking, 6 – hypocotyl emergence on the 2nd day of germination, 7 – bend of hypocotyl and removal of cotyledon leaves on the 5th day of germination, 8 – disclosure of cotyledon leaves and appearance of the first true leaf on the 8th day of germination. Scale bar: 1, 2 – 10 mm, 3–8 – 1 mm.

Родина бобовника анагировидного – Средиземноморье, юго-западная часть и некоторые районы Центральной Европы [2, 10]. Растет на бедных, каменистых и известковых почвах склонов гор и скал, предпочитая хорошо освещенные

места. Впервые он был интродуцирован в Англию в середине XI в. К настоящему времени получил распространение во многих странах субтропического и умеренного климата, где используется во всех видах парковых насаждений в качестве соли-

теров, в рыхлых группах и в аллеях [11–13]. В Россию был завезен еще в XIX в., но, несмотря на то, что выдерживает морозы до -20°C , выращивается лишь в Крыму и на Кавказе, где успешно размножается самосевом [14]. В других районах у него практически полностью отсутствует самосев, не образуется корневая поросль, а искусственное вегетативное размножение малоэффективно [15]. Для более широкого использования *L. anagyroides* в качестве декоративного и лекарственного растения необходимо решить проблему семенного размножения его в регионах, которые существенно отличаются по эколого-климатическим характеристикам от естественного ареала этого вида.

Цель проведенного исследования – разработка эффективной методики получения жизнеспособных семян *L. anagyroides* в условиях Нижнего Поволжья. Задачи исследования: 1) оценка семенной продуктивности и качества семян; 2) тестирование различных способов выведения семян из состояния покоя; 3) изучение прорастания семян и первых этапов онтогенеза в лабораторных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В дендрарии Ботанического сада Саратовского государственного университета ($51^{\circ}32'$ с. ш., $46^{\circ}00'$ в. д.) произрастают растения *L. anagyroides*, выращенные из семян, полученных из г. Кишинева в 1974 г., и экземпляры собственной репродукции. Материалом исследования послужили семена, собранные в 2011, 2014 и 2016 гг. с растения, которое регулярно цветет и плодоносит с 1981 г.

Семенную продуктивность анализировали по общепринятым рекомендациям [16, 17]. Эффективность репродукции определяли по соотношению количества вызревших семян к количеству семязачатков [18–20]. Зрелые семена оценивали визуально, делили их на выполненные (нормально развитые) и дефектные (щуплые, инфицированные) [21]. Качество семян определяли по массе, энергии прорастания, лабораторной всхожести и срокам хранения. Проращивание семян проводили по общепринятой методике [22] в ростовой комнате при температуре $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ при 14 ч фотопериоде, используя Osram Fluora лампы (3 klux). В чашки Петри помещали по 15 семян, каждый вариант анализировали в трехкратной повторности. Эксперименты по проращиванию свежесобранных семян закладывали 2, 5 и 7 сентября 2016 г., интактных и предобработанных семян – 8, 13 и 19 февраля 2017 г. Для изучения влияния сроков хранения на прорастание семян использовали семена урожая 2011, 2014 и 2016 гг., которые хранили в бумажных пакетах в комнатных условиях. Мониторинг прорастания семян осуществляли через каждые 3 сут на протяжении 1 мес. от начала эксперимента. Для морфометри-

ческого анализа было использовано 200 плодов и 300 полноценных семян, для изучения прорастания семян в контролируемых условиях – около 1500 семян. Энергию прорастания учитывали через 2 нед., лабораторную всхожесть – через 4 нед. от начала проращивания. Во всех вариантах проросшими считали семена, у которых корешок прорвал семенную кожуру.

С целью выведения семян из состояния покоя было протестировано три режима температурной предобработки:

1) высокотемпературная (90°C) – семена заливали горячей водой на 15 мин;

2) низкотемпературная (-18°C) – семена помещали в морозильную камеру на 4 нед.;

3) переменное температурное воздействие ($-18^{\circ}\text{C}/90^{\circ}\text{C}$) – семена выдерживали 4 нед. при температуре -18°C в условиях морозильной камеры, затем заливали горячей водой на 15 мин.

Для выявления оптимальной длительности высокотемпературной обработки сухие семена однократно заливали горячей водой (90°C) и выдерживали 5, 15 и 25 мин.

Для проращивания семян использовали следующие субстраты:

1) фильтровальную бумагу; в чашку Петри помещали 2 диска фильтровальной бумаги, добавляли около 5 мл дистиллированной воды, раскладывали семена, прикрывали их 1 диском фильтровальной бумаги, сверху – стеклянной крышкой;

2) кокосовое волокно “Cocoland universal”, (“ООО ПО Сады Аурики”, Россия); пластиковые стаканы объемом 100 мл заполняли подготовленным увлажненным субстратом, семена заглубляли на 0.5 см, сверху общую емкость со стаканами накрывали прозрачной крышкой для поддержания влажности;

3) питательную среду MS [23], содержащую 20 г/л сахарозы, смесь витаминов по прописи среды MS, 7 г/л агара (Panreac, Испания), 0.5 мг/л 6-бензиламинопурина, БАП (Sigma, Германия); рН среды доводили до 5.8–6.0 до автоклавирования; среду автоклавировали 20 мин при 120°C , охлаждали до 40°C и разливали в стерильные чашки Петри по 25 мл. Интактные (контроль) и предобработанные семена стерилизовали 15 мин в 0.1%-ном растворе сулемы, затем трижды промывали стерильной дистиллированной водой и помещали на поверхность питательной среды.

Через 4 нед. от начала проращивания развившиеся проростки индивидуально высаживали в стаканы объемом 100 мл, заполненные почвенной смесью (листовой перегной, кокосовое волокно и песок в соотношении по объему 3 : 2 : 1), помещали в условия ростовой комнаты, где выращивали 6 мес до достижения ювенильной фазы развития.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ AGROS. Вычисляли среднюю арифметическую и стандартную ошибку ($M \pm m$). Влияние температурной предобработки семян и субстрата для проращивания на частоту прорастания семян оценивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа, влияние длительности температурной предобработки — однофакторного дисперсионного анализа.

Фотографирование осуществляли с использованием программы визуализации изображения Zoombrowser и стереомикроскопа Stemi 2000 (C. Zeiss, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Плодоношение и качество семян

В условиях Нижнего Поволжья в завязях *L. anagyroides* закладывалось от 3 до 8 семязачатков. Только 37.7% из них развивались в семена. 78.5% семян были выполненными. Потенциальная семенная продуктивность составила 5.24 ± 0.08 семязачатков на завязь, реальная — 1.53 ± 0.05 семян на плод, эффективность репродукции — 29.2%.

Зрелые плоды *L. anagyroides* — сухие голые бобы, утолщенные по швам, светло-коричневого цвета 3.28 ± 0.04 см длиной и 1.01 ± 0.01 см шириной (табл. I, 2). Бобы созревают в конце августа — начале сентября, до наступления следующей весны остаются на дереве, не растрескиваются.

Выполненные семена плоские, неправильной формы, длиной 3.32 ± 0.03 мм и шириной 3.07 ± 0.01 мм (табл. I, 3). Семенная оболочка твердая, блестящая, ее окраска варьирует от светло-желтой до светло-коричневой. Семена безбелковые, основное хранилище запасных веществ — крупные семядоли. *V*-образно изогнутый зародыш занимает почти весь объем семени. Зародыш нормально развитый, дифференцированный, состоит из радикулы, гипокотилия, двух семядолей и почечки. Вес 1000 семян — 16.44 ± 0.2 г, средний вес 100 семян — 1.65 ± 0.02 г.

Прорастание интактных семян

Свежесобранные интактные семена характеризовались низкой энергией прорастания (на 15 сут прорастали единичные семена) и низкой всхожестью (через 1 мес количество проросших семян составило 8.2%). Прорастание семян начиналось с поглощения воды и набухания. Наклеивание единичных семян происходило на 9-е сут проращивания, когда в области микропиле появлялся белый зародышевый корешок длиной 1–2 мм (табл. I, 4, 5). Через 1–2-е сут от начала прорастания корешок удлинялся до 5–12 мм. В это же время появлялся этиолированный гипокотиль длиной 3–4 мм (табл. I, 6). На 4–5-е сут гипокотиль увеличивался до 15–25 мм (табл. I, 7). Динамика ростовых

процессов указывает на эпигеальный тип прорастания семян, что подтвердилось позже при проращивании их в почвенном субстрате. Семядольные листья проростков эллипсовидной формы, ярко-зеленые, гладкие, цельнокрайние, длиной 5–7 мм, шириной 3–4 мм, раскрывались на 6–8-е сут от начала прорастания. На 7–9 сут у проростков появлялся первый настоящий лист (табл. I, 8).

*Преодоление покоя семян *L. anagyroides**

Для выведения семян *L. anagyroides* из состояния покоя были протестированы различные варианты их температурной предобработки (табл. 1). Промораживание семян повысило частоту прорастания лишь до 9.9%, тогда как воздействие высокими или переменными температурами увеличило количество проросших семян до 82.2% ($F^{***} 290.1$, $P \leq 0.01$). Под действием горячей воды в области семенного рубчика и микропиле происходил разрыв полисадного слоя (макросклереидов) семенной кожуры, что обеспечивало поступление в семена воды, необходимой для активации ростовых процессов.

Влияние длительности высокотемпературной предобработки на прорастание семян

Для исключения негативного влияния высоких температур на жизнеспособность зародыша было проанализировано влияние длительности высокотемпературной предобработки на процесс прорастания семян. Семена заливали горячей водой (90 °C) и выдерживали 5, 15 и 25 мин. Достоверных различий по частоте прорастания не выявлено (75.5, 84.5, 80.0% соответственно) (рис. 1). Однако после пятиминутной обработки семенная кожура в большинстве случаев (71.4%) сохраняла свою жесткость, что препятствовало разворачиванию семядольных листьев, осложняло нормальное развитие проростков и в дальнейшем приводило к их гибели. Увеличение длительности предобработки до 15 или 25 мин достоверно ($F 100.1^*$, $P \leq 0.5$) повышало частоту нормально развитых проростков до 65.6 и 75.1% соответственно.

После высокотемпературной предобработки, как и в контроле, единичные проростки появлялись на 9-е сут проращивания. Массовое прорастание семян происходило с 15 по 24 сут. Проростки проходили все основные фазы своего развития, их морфометрические параметры не отличались от контрольных показателей. Это свидетельствует об отсутствии негативного влияния высокотемпературной обработки семян на рост и развитие зародыша.

Влияние сроков хранения на прорастание семян

Проращивание на фильтровальной бумаге предобработанных семян урожая 2011, 2014 и

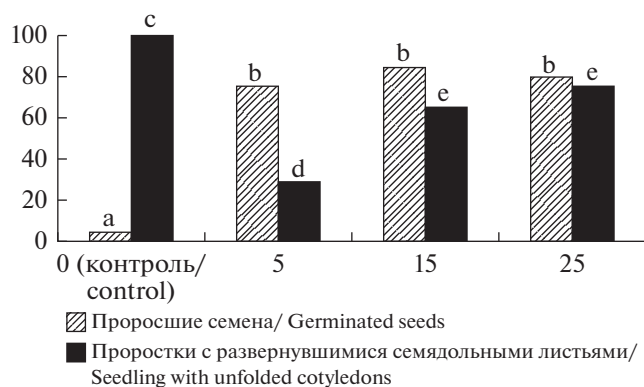


Рис. 1. Влияние длительности высокотемпературной обработки (90 °C) на прорастание семян *L. anagyroides* в лабораторных условиях (одинаковыми буквами обозначены недостоверные различия между вариантами по критерию Дункана, разными — достоверные, $F_{52.2}^*$, $P \leq 0.5$).

По горизонтали — длительность предобработки, мин; по вертикали — количество семян/проростков, %.

Fig. 1. Effect of the duration of hot-water (90 °C) pretreatment on seed germination under laboratory conditions in *L. anagyroides* (same letters indicate insignificant difference between the variants according to Duncan failure criterion, different letters indicate significant difference, $F_{52.2}^*$, $P \leq 0.5$).

X-axis — duration of pretreatment, min; y-axis — quantity of seeds/seedlings, %.

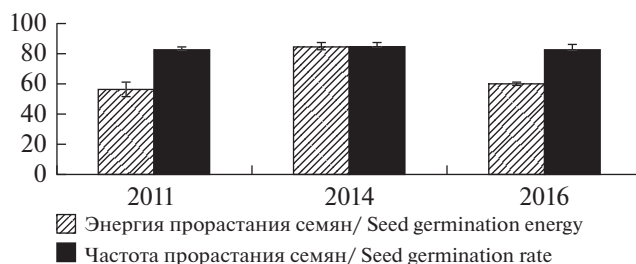


Рис. 2. Влияние различного срока хранения на прорастание предобработанных (горячая вода 90 °C, 15 мин) семян *L. anagyroides* в лабораторных условиях. По горизонтали — год сбора семян; по вертикали — количество проросших семян, %.

Fig. 2. Effect of different storage time on germination of pretreated seeds (hot water 90 °C, 15 min) under laboratory conditions in *L. anagyroides*.

X-axis — year of seed harvest; y-axis — quantity of germinated seeds, %.

2016 гг. не выявило достоверных различий по их всхожести (рис. 2). Зарегистрировано различие по энергии прорастания семян, что можно объяснить разными погодными условиями в период их созревания. Лето (июнь—август) 2014 г. было менее жаркое и более влажное (среднемесячная температура 21.5 °C, количество осадков 115.1 мм), по

Таблица 1. Влияние температурной предобработки на прорастание семян *L. anagyroides* на различных субстратах
Table 1. Effect of temperature pretreatments on seed germination on various substrates in *L. anagyroides*

Субстрат для проращивания (фактор A) Substrates for seed germination (factor A)	Количество проросших семян, % (фактор B) Quantity of germinated seeds, % (factor B)				Средние значения (фактор A) Mean (factor A)
	без обработки (контроль) without pretreatment (control)	после температурной обработки after temperature pretreatments			
		−18 °C	90 °C	−18 °C/90 °C	
Фильтровальная бумага Filter paper	4.8 a	9.9 a	82.2 defg	82.2 efg	44.8 b
Кокосовый субстрат Coconut substrate	6.7 a	13.3 a	51.8 b	80.2 cdefg	38.0 a
MS + 0.5 мг/л БАП MS medium + 0.5 mg/l BAP	7.8 a	11.9 a	82.3 fg	86.1 g	47.0 b
Средние значения (фактор B) Mean (factor B)	6.4 a	11.7 a	71.1 b	82.9 c	—

$F_{(A)} 5.4^*$

$F_{(B)} 290.1^{***}$

$F_{(A \times B)} 4.8^*$

Примечание. Варианты, сопровождаемые разными латинскими буквами, значимо различаются $*P \leq 0.5$,

$*** P \leq 0.01$ по критерию Дункана.

Note. Data followed by different subscript letters are significantly different at $*P \leq 0.05$, $*** P \leq 0.0105$ (one-way ANOVA, Duncan's Multiple Range Test).

Субстрат Substrate	Проростки <i>Laburnum anagyroides</i> , развившиеся на разных субстратах Seedlings of <i>Laburnum anagyroides</i> derived on different substrates			
	без обработки (контроль) without pretreatment (control)	после температурной предобработки сухих семян after temperature pretreatment of dry seeds		
		–18 °C	90 °C	–18 °C/90 °C
Фильтр бумага Filter paper				
Кокосовый субстрат Coconut substrate				
Питательная среда MS MS medium				

Таблица II. Проростки *L. anagyroides*, развившиеся из интактных и предобработанных семян на разных субстратах через 3 недели проращивания.

Table II. Seedlings of *L. anagyroides*, derived from intact and pre-treated seeds on different substrates after 3 weeks of germination.



Таблица III. Проростки *L. anagyroides*. 1, 2 – через 3 нед. от начала проращивания; 3 – через 1 мес. (слева) и через 3 мес. (справа) выращивания в почве; 4 – через 6 мес. выращивания в почве.

Table III. Seedlings of *L. anagyroides*. 1, 2 – after 3 weeks from the beginning of germination; 3 – after 1 month (left) and after 3 months (right) of cultivation in soil; 4 – after 6 months of cultivation in soil.

сравнению с 2011 и 2016 гг. (22.3 °C, 85.3 мм и 23.2 °C, 43.2 мм соответственно), что способствовало развитию более крупных семян с большим запасом питательных веществ.

Влияние субстрата на прораствание семян *L. anagyroides*

Проращивание семян на разных субстратах не изменяло их реакцию на предобработку. Во всех вариантах высокотемпературное воздействие оказалось эффективнее замораживания семян (табл. I, табл. I, 2). Достоверное снижение средней частоты прорастания наблюдалось на кокосовом субстрате. На фильтровальной бумаге раз-

вивались длинные изогнутые витрифицированные проростки, на кокосовом субстрате – нормальные проростки, а на питательной среде MS – укороченные с утолщенным гипокотилем и небольшим недоразвитым корешком (табл. II). Однако именно последние после высадки в почву приживались с высокой частотой (95–98%).

Первые этапы онтогенеза *L. anagyroides*

Через 4 нед. от начала проращивания проростки (табл. III, 1, 2) были высажены в стаканы с почвенной смесью. Через 1.5 мес. выращивания средняя длина побега достигла 30.50 ± 1.56 мм, вклю-

чая эпикотиль длиной 6.40 ± 1.36 мм. Каждый проросток имел семядольные листья 11.12 ± 0.29 мм длиной и 6.25 ± 0.16 мм шириной и по 2–3 настоящих тройчатосложных листа 14.65 ± 0.74 мм длиной и 7.90 ± 0.38 мм шириной (табл. III, 3). В среднем через 2.5 мес. выращивания семядольные листья желтели и опадали. Проросток переходил к автотрофному питанию, что приводило к активации его роста. Через 4 мес. побег удлинялся до 50.12 ± 5.49 мм. Длина эпикотиля увеличивалась до 11.62 ± 1.12 мм, размеры листьев — до 18.98 ± 0.64 мм в длину и 10.21 ± 0.32 мм в ширину. Затем ростовая активность снижалась, нижние листья сеянцев желтели и поочередно опадали, ткани побега одревесневали на $2/3$ его высоты. Сеянцы вступали в покой и в таком состоянии уходили на перезимовку. Как правило, высота сеянцев 1-го года жизни не превышала 50–55 мм, диаметр побега — 3–4 мм. Стержневая корневая система состояла из главного корня длиной 50–60 мм с несколькими боковыми корешками длиной 5–20 мм (табл. III, 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Регионы естественного произрастания *L. anagyroides* характеризуются средиземноморским климатом с умеренной температурой и относительно небольшой разницей между зимним температурным минимумом и летним максимумом. Среднегодовое количество осадков 700–800 мм. Как правило, почти все количество осадков выпадает зимой. Летом осадки могут отсутствовать от 2 до 5 мес. Климат Нижнего Поволжья умеренно континентальный, с годовой амплитудой температуры воздуха в 30°C . Зима холодная, с неоднократными резкими перепадами температур от 0 до -20°C , лето продолжительное и засушливое. Среднегодовое количество осадков 420–460 мм, из них около 35% выпадает зимой.

В условиях Нижнего Поволжья *L. anagyroides* растет в виде крупных (до 3.5 м) кустарников, проходит весь цикл сезонного развития. В отдельные годы однолетние побеги обмерзают, но в процессе последующей вегетации быстро восстанавливаются. Растения вступают в генеративную фазу развития на 6–7 год вегетации, цветут и завязывают семена, эффективность репродукции составляет 29.2%. Скорее всего, низкое значение соотношения количества развившихся семян к количеству семязачатков не связано с неэффективностью интродукции *L. anagyroides* в условиях Нижнего Поволжья, поскольку древесные многолетние перекрестноопыляемые растения в целом характеризуются невысокими значениями коэффициента репродукции (около 32.7%). Это обусловлено целым комплексом причин, например, недостатком ресурсов для развития всех заложившихся семязачатков, осложнением опыле-

ния погодными условиями, экологическими стрессами и др. [17, 20]. Даже при невысоких значениях коэффициента эффективности репродукции большое количество соцветий и цветков в них позволяют растениям *L. anagyroides* в генеративной фазе развития ежегодно производить до 5000 полноценных семян. В условиях Нижнего Поволжья за последние 20 лет случаи самосева были единичными. Установлено, что семена могут находиться в почве в виде криптопопуляции, сохраняя свою жизнеспособность несколько лет. Они могут прорасти в благоприятные годы, но подавляющее большинство всходов погибает в первый год, а единичные уцелевшие растут очень медленно. Рост заметно увеличивается после 4–5 лет вследствие развития у растений корневой системы.

Низкая всхожесть выполненных семян *L. anagyroides* в лабораторных условиях (8.2%) указывает на то, что они находятся в состоянии органического покоя. Как правило, такие семена не способны самостоятельно прорасти даже в благоприятных условиях [24]. М.Н. Николаева и др. [25] относят покой семян *L. anagyroides* к типу экзогенного, к группе физического ($A_{\text{ф}}$). В отличие от других типов покоя при твердосемянности, или физическом покое, происходит полное прекращение поступления воды в семя и остановка ростовых процессов. У бобовых твердосемянность обусловлена особым строением семенной кожуры, которая состоит из палисадной эпидермы (макросклеридов), паренхимы и у некоторых видов из слоя остеосклеридов [26–29]. Герметичность кожуры обеспечивают воскодержащая кутикула с водоотталкивающими свойствами и сильно развитая палисадная эпидерма, состоящая из длинных, узких, плотно прилегающих друг к другу вертикальных клеток, пропитанных фенолом и суберином [26, 29]. С одной стороны, твердосемянность осложняет процессы естественного прорастания семян, а с другой стороны, способствует длительному сохранению их жизнеспособности. Как показали проведенные эксперименты, семена *L. anagyroides* не теряют всхожести после 6 лет сухого хранения.

У семян бобовых с непроницаемой семенной кожурой имеются специальные структуры (омфалодии), которые регулируют потерю воды или ее адсорбцию при прорастании. Это могут быть крышечка набухания, способная приподниматься или отбрасываться в определенных условиях, или расщелина в хилуме, действующая как гигроскопический клапан [26]. Она открывается при низкой влажности воздуха, что приводит к потере воды семенем, и закрывается при высокой влажности, препятствуя обезвоживанию семян [17, 25].

Состояние твердосемянности развивается на завершающих стадиях созревания семян или постепенно, во время их хранения после отделения

от материнского растения. Обнаруженная низкая лабораторная всхожесть свежесобранных семян *L. anagyroides* свидетельствует о том, что уже в начале сентября они находятся в состоянии органического покоя. В Нижнем Поволжье период созревания семян (июль-август), как правило, самый жаркий и засушливый. Высокие температуры и низкая влажность окружающей среды ускоряют процессы обезвоживания семян и стимулируют их быстрый переход в состояние органического покоя. Низкая влажность и отрицательные температуры зимнего периода еще более усиливают глубину покоя, из которого семена уже не могут выйти самостоятельно.

Выход семян из состояния физического покоя в естественных условиях обеспечивается либо биотическими факторами после прохождения их через желудочно-кишечный тракт животных, либо абиотическими, такими как высокие летние температуры почвы, зимние циклы замораживания и оттаивания, пожары [30–32].

Для стимуляции прорастания семян *L. anagyroides* рекомендуют обработку их концентрированной H_2SO_4 в течение 0.5–1 ч, которая имитирует биотические факторы преодоления твердосемянности [13, 25]. Однако, в естественных условиях у бобовника, скорее всего, именно абиотические факторы являются триггерами, выводящими семена из состояния физического покоя. В пользу данного предположения свидетельствует высокое содержание в семенах алкалоидов, что делает их мало пригодными для пищи, и наличие гигроскопического клапана в хилуме, действие которого регулируется температурой и влажностью. В связи с этим температурное воздействие на семена бобовника может оказаться более эффективным, по сравнению с обработкой их кислотами. Из протестированных нами вариантов наиболее эффективным оказалось высокотемпературное воздействие. Предобработка семян горячей водой в течение 15 или 25 мин нарушала целостность семенной кожуры, при этом не оказывала негативного влияния на жизнеспособность зародыша и достоверно увеличивала частоту прорастания семян до 84.5 и 80.0%, соответственно. Следует отметить, что некоторые оставшиеся непроросшими семена прорастали спустя 2–4 мес. Варьирование длительности прорастания семян можно объяснить их физиологической разнокачественностью по глубине покоя. Например, у травянистых бобовых на растениях одновременно могут присутствовать как твердые (не набухающие), так и мягкие (легко набухающие и прорастающие) семена, причем внешних различий между ними не наблюдается [33]. Причинами этого могут быть разновременность цветения и созревания семян на разных уровнях соцветия [34].

Качество субстрата оказывало существенное влияние на рост и развитие проростков. При проращивании на фильтровальной бумаге проростки развивались исключительно за счет собственных питательных веществ, содержащихся в семядолях. Недостаток экзогенных питательных веществ и избыток воды, образующийся в чашке Петри за счет процессов метаболизма проростков, стимулировали активный рост клеток растяжением, вследствие чего развивались длинные витрифицированные нежизнеспособные проростки, которые массово погибли после их высадки в почву.

Кокосовый субстрат по своим характеристикам соответствует листовой подстилке, в которой семена *L. anagyroides* прорастают в естественных условиях. Его рыхлая волокнистая структура обеспечивает хороший режим аэрации корневой системы проростков. Он содержит большое количество питательных веществ не идентифицированного состава, характеризуется отсутствием патогенной микрофлоры. Однако при проращивании предобработанных высокими температурами семян количество полученных проростков оказалось достоверно ниже в кокосовом субстрате (51.8%), чем на фильтровальной бумаге (82.2%) и среде MS (82.3%). Это было обусловлено гибелью проростков вследствие грибного поражения, которое начиналось с семенной кожуры и быстро распространялось на ткани проростков. Можно предположить, что высокотемпературная обработка не достаточно эффективно элиминирует споры грибов на семенной кожуре, а присутствующие в кокосовом субстрате питательные вещества активизируют их развитие. *L. anagyroides* особо восприимчив к медовому грибу [4], а при интродукции в новые эколого-климатические условия растение дополнительно может поражаться местной патогенной микрофлорой [6]. Проростки также оказались очень чувствительны к степени увлажнения кокосового субстрата. Массовую гибель проростков вызывало даже однократное переувлажнение субстрата. Развитие витрифицированных проростков на фильтровальной бумаге и их гибель на переувлажненном кокосовом субстрате указывают на то, что одной из причин отсутствия самосева при выращивании *L. anagyroides* в Нижнем Поволжье может быть избыток влаги в почве из-за таяния снега и обильных дождей в весенние месяцы (апрель–май).

Проблемы переувлажнения субстрата не возникало при проращивании семян на искусственной питательной среде. Только на среде MS, дополненной 0.5 мг/л БАП, из температурно предобработанных семян развивались жизнеспособные стерильные проростки, которые после высадки в почву выживали с высокой частотой (95–98%).

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют констатировать, что ли-

митирующими факторами для реализации семенного размножения у *L. anagyroides* в условиях Нижнего Поволжья являются: 1) высокая температура воздуха и низкая влажность в период созревания семян (июль, август), способствующие их быстрому переходу в состояние глубокого физического покоя, из которого более 90% семян не могут выйти самостоятельно; 2) высокая влажность почвы весной (апрель, май) из-за таяния снега и обильных дождей, приводящая к гибели единичных развивающихся проростков. Получить посадочный материал *L. anagyroides* можно только в лабораторных и тепличных условиях соблюдая следующую последовательность технологических процессов: 1) предобработка семян в течение 15–25 мин горячей водой (90 °C); 2) проращивание предобработанных семян в течение 4 нед. в условиях *in vitro* на искусственной питательной среде MS, дополненной 0.5 мг/л БАП; 3) выращивание полученных проростков в почвенной смеси в условиях теплицы не менее 1 года, исключая переувлажнение субстрата.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность репродукции *L. anagyroides* при его интродукции в Нижнем Поволжье составляет 29.2%, что в целом характерно для аллогамных древесных растений.

2. Трудности естественного семенного размножения *L. anagyroides* в Нижнем Поволжье обусловлены глубоким физическим покоем семян, из которого подавляющее большинство из них (более 90%) не могут выйти самостоятельно в новых условиях выращивания, и гибелью проростков на первых этапах онтогенеза из-за избыточного увлажнения почвы весной.

3. Для искусственного выведения семян из состояния покоя необходима высокотемпературная предобработка горячей водой длительностью 15–25 мин.

4. Оптимальным способом получения жизнеспособных сеянцев *L. anagyroides* является проращивание предобработанных семян в условиях *in vitro* на питательной среде MS, дополненной 0.5 мг/л БАП.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 6.8789.2017/8.9.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галактионов И.И., Ву А.В., Осин В.А. 1967. Декоративная дендрология. М. 320 с.

2. Колесников А.И. 1974. Декоративная дендрология. М. 704 с.
3. Деревья и кустарники, культивируемые в Украинской ССР. Покрытосеменные. 1986. Киев. 720 с.
4. Huxley A. 1999. The New RHS Dictionary of Gardening. London. 3000 p.
5. Волынский Б.Г., Бендер К.И., Фрейдман С.Л., Богословская С.И., Глазырина Г.А., Капрелова Т.С., Колоскова И.Г., Кузнецова С.Г., Мартынов Л.А., Хлебников А.Н., Хохлова Д.С. 1983. Растения в медицине. Саратов. 440 с.
6. Szentesi A., Wink M. 1991. Fate of quinolizidine alkaloids through three trophic levels: *Laburnum anagyroides* (Leguminosae) and associated organisms. — J. Chem. Ecol. 17(8): 1557–1573. <https://doi.org/10.1007/BF00984688>
7. Sato H., Tahara S., Ingham J.L., Dziedzic S.Z. 1995. Isoflavones from pods of *Laburnum anagyroides*. — Phytochemistry. 39(3): 673–676. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00029-7](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00029-7)
8. Tutka P., Zatoński W. 2006. Cytisine for the treatment of nicotine addiction: from a molecule to therapeutic efficacy. — Pharmacol. Rep. 58(6): 777–798.
9. Tzancova V., Danchev N. 2007. Cytisine — from ethnomedical use to the development as a natural alternative for smoking cessation. — Pharm. Biotechnol. 21(2): 151–160. <https://doi.org/10.1080/13102818.2007.10817436>
10. Кречетович В.И. 1945. Бобовник — *Laburnum Medik.* — В кн.: Флора СССР. М. Т. 11. С. 69–70.
11. Hewood V.H. 1993. Flowering plants of the world. Batsford. 336 p. <https://doi.org/10.2307/1222907>
12. Azimova S.S., Glushenkova A.I. 2012. *Cytisus laburnum* L. (= *Laburnum anagyroides* Medik.). — In: Lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources. London. P. 570–570. <https://doi.org/10.1007/978-0-85729-323-7>
13. Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R. 2010. Plant propagation: principles and practices. Verlag. 864 p.
14. Соколов С.Я., Шипчинский Н.В. 1958. Род 24. Бобовник — *Laburnum Medik.* — В кн.: Деревья и кустарники СССР. Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. М.; Л. Т. 4. С. 106–110.
15. Балабушка В.К. 1990. Результаты испытания регуляторов роста при размножении древесных интродуцентов летними черенками. — Бюлл. ГБС. 156: 65–67.
16. Вайнагий И.В. 1974. О методике изучения семенной продуктивности растений. — Бот. журн. 59(6): 826–831.
17. Терехин Э.С. 1996. Семя и семенное размножение. СПб. 377 с.
18. Urbanska K. 1989. Reproductive effort or reproductive offer? A revised approach to reproductive strategies of flowering plants. — Bot. Helv. 99(1): 49–63.
19. Злобин Ю.А. 2000. Репродуктивный успех. — В кн.: Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. СПб. Т. 3. С. 251–258.
20. Шамров И.И. 2008. Семязачаток цветковых растений: строение, функции, происхождение. М. 350 с.

21. Левина Р.Е. 1981. Репродуктивная биология семенных растений. Обзор проблемы. М. 96 с.
22. Фирсова М.К. 1959. Методы определения качества семян. М. 351 с.
23. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. — *Physiol. Plant.* 15: 473–497.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
24. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. 2002. Размножение растений. СПб. 232 с.
25. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. 1985. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л. 245 с.
26. Schmidt L.H. 2007. *Tropical Forest Seed*. Berlin. 408 p.
<https://doi.org/10.1007/978-3-540-68864-8>
27. Corner E.J.H. 1951. The leguminous seed — *Phytomorph.* 1: 117–150.
28. Ozbek F., Buyukkarta H.N., Ekici M., Ozbek M.J. 2016. Seed coat ultrastructure of the genus *Astragalus* L. section *Uliginosi* Gray (Fabaceae) — *Gazi University Journal of Science*. 29(2): 279–283.
29. Smykal P., Vernoud V., Blair M.W., Soukup A., Thompson R.D. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed — *Frontiers in Plant Science*. 17: 1 – 19.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00351>
30. Безевинкель Ф.Д., Боумен Ф. 1990. Структура семени. — В кн.: Эмбриология растений. М. Т. 2. С. 150–198.
31. Moreno-Casasola P., Grime J.P., Martinez L.A. 1994. Comparative study of the effects of fluctuations in temperature and moisture supply on hard coat dormancy in seeds of coastal tropical legumes in Mexico — *J. Trop. Ecol.* 10: 67–86.
<https://doi.org/10.1017/S0266467400007720>
32. Van Assche J.A., Debucquoy K.L.A., Rommens W.A.F. 2003. Seasonal cycles in the germination capacity of buried seeds of some Leguminosae (Fabaceae). — *New Phytologist*. 158: 315–323.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00744.x>
33. Ракова М.В. 1974. О твердосемянности в популяции дикорастущих бобовых. — В сб.: Вопросы биологии семенного размножения. Ульяновск. С. 158–166.
34. Николаева М.Г., Лянгузова И.В., Поздова Л.М. 1999. Биология семян. СПб. 231 с.

Seed Reproduction of *Laburnum anagyroides* (Leguminosae) Introduced in the Lower Volga Region

S. N. Timofeeva^a, O. I. Yudakova^{a,*}, A. I. Kharitonov^b, L. A. Elkonin^c

^aSaratov State University, Saratov, Russia

^bBotanical Garden of the Saratov State University, Saratov, Russia

^cAgricultural Research Institute of South-East Region, Saratov, Russia

*e-mail: yudakovaoi66@gmail.com

Abstract—*Laburnum anagyroides* Medik. (Leguminosae) is a promising ornamental woody plant, which is native to the Mediterranean. Being introduced to the Lower Volga region, it is characterized by the following seed reproduction indices: potential seed productivity is 5.24 ± 0.08 ovules per ovary, real seed productivity — 1.53 ± 0.05 seeds per fruit, coefficient of reproduction efficiency — 29.2%. Seeds quickly enter deep physical dormancy, which cannot be broken without treatment. Germination of both freshly harvested and long-stored intact seeds does not exceed 10%. This is one of the reasons for the lack of self-seeding. In order to increase laboratory germination, various seed pretreatment temperatures and subsequent germination on different substrates were tested. The maximum of viable seedlings were obtained after 15-minute seed hot water (90 °C) treatment followed up by *in vitro* germination in MS medium. The limiting factors for introduced *L. anagyroides* seed reproduction in the Lower Volga region are the high air temperature in the end of summer, which contributes to the rapid transition of seeds to physical dormancy and high soil moisture in spring, which causes the death of seedlings that are sensitive excessive soil water.

Keywords: *Laburnum anagyroides*, seed productivity, seed dormancy, pretreatment of seeds, germination of seeds

ACKNOWLEDGMENTS

The present study was carried out within the framework of the institutional research project № 6.8789.2017/8.9.

REFERENCES

1. Galaktionov I.I., Vu A.V., Osin V.A. 1967. *Dekorativnaya dendrologiya* [Decorative dendrology]. Moscow. 320 p. (In Russian)
2. Kolesnikov A.I. 1974. *Dekorativnaya dendrologiya* [Decorative dendrology]. Moscow. 704 p. (In Russian)
3. Dereviya i kustarniki, kultiviruemye v Ukrainskoi SSR. Pokrytosemennye. 1986. [Trees and shrubs cultivated in the Ukrainian SSR. Angiosperms]. Kiev. 720 p. (In Russian)
4. Huxley A. 1999. *The New RHS Dictionary of Gardening*. London. 3000 p.
5. Volynsky B.G., Bender K.I., Freydmann S.L., Bogoslovskaya S.I., Glazyrin G.A., Kaprelova T.S., Koslovskaya I.G., Kuznetsova S.G., Martynov L.A., Khleb-

- nikov A.N., Khokhlova D.S.* 1983. Rasteniya v meditsine [Plants in Medicine]. Saratov. 440 p. (In Russian)
6. *Szentesi A., Wink M.* 1991. Fate of quinolizidine alkaloids through three trophic levels: *Laburnum anagyroides* (Leguminosae) and associated organisms. — J. Chem. Ecol. 17(8): 1557–1573.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00984688>
7. *Sato H., Tahara S., Ingham J.L., Dziedzic S.Z.* 1995. Isoflavones from pods of *Laburnum anagyroides*. — Phytochemistry. 39(3): 673–676.
[http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00029-7](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(95)00029-7)
8. *Tutka P., Zatoński W.* 2006. Cytisine for the treatment of nicotine addiction: from a molecule to therapeutic efficacy. — Pharmacol. Rep. 58(6): 777–798.
9. *Tzancova V., Danchev N.* 2007. Cytisine — from ethnomedicinal use to the development as a natural alternative for smoking cessation. — Pharm. Biotechnol. 21(2): 151–160.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2007.10817436>
10. *Krechetovich V.I.* 1945. Bobovnik — *Laburnum Medik.* [Bobovnik — *Laburnum Medik.*] — In: Flora of the USSR. Moscow. Vol. 11. P. 69–70. (In Russian)
11. *Hewood V.H.* 1993. Flowering plants of the world. Batsford. 336 p.
<https://doi.org/10.2307/1222907>
12. *Azimova S.S., Glushenkova A.I.* 2012. *Cytisus laburnum* L. (= *Laburnum anagyroides* Medic). — In: Lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources. London. P. 570–570.
<http://dx.doi.org/10.1007/978-0-85729-323-7>
13. *Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R.* 2010. Plant propagation: principles and practices. Verlag. 864 p.
14. *Sokolov S.Ya., Shipchinsky N.V.* 1958. Genus 24. Bobovnik — *Laburnum Medik.* [Bobovnik — *Laburnum Medik.*] — In: Dereviya i kustarniki SSSR. Dikorastushchii, kultiviruemye i perspektivnye dlya introduktsii [Trees and shrubs of the USSR. Wild, cultivated and promising for introduction]. Moscow; Leningrad. Vol. 4. P. 106–110. (In Russian)
15. *Balabushka V.K.* 1990. Resultaty ispytaniya regulatorov rosta pri razmnozhenii drevesnykh introdutsentov letnimi cherenkami [Results of growth regulators tested during reproduction of tree introductions by summer cuttings]. — Byulleten GBS. 156: 65–67. (In Russian)
16. *Vainagiy I.V.* 1974. O metodike izucheniya semennoi produktivnosti rastenii [About the method of studying the seed productivity of plants]. — Bot. zhurnal. 59(6): 826–831. (In Russian)
17. *Terekhin E.S.* 1996. Semya i semennoe razmnozhenie [Seed and seed reproduction]. St. Petersburg. 377 p. (In Russian)
18. *Urbanska K.* 1989. Reproductive effort or reproductive offer? A revised approach to reproductive strategies of flowering plants. — Bot. Helv. 99(1): 49–63.
19. *Zlobin Yu.A.* 2000. Reproduktivnyi uspekhi [Reproductive success] — In: Embriologiya tsvetkovykh rastenii. Terminologiya i kontseptii [Embryology of flowering plants. Terminology and concepts]. St. Petersburg. V. 3. P. 251–258. (In Russian)
20. *Shamrov I.I.* 2008. Semyazachatok tsvetkovykh rastenii: stroenie, funktsii, proiskhozhdenie [The ovule of flowering plants: structure, function, origin]. Moscow. 350 p. (In Russian)
21. *Levina R.E.* 1981. Reprodukivnaya biologiya semennykh rastenii. Obzor problemy [Reproductive biology of seed plants. Review the problem]. Moscow. 96 p. (In Russian)
22. *Firsova M.K.* 1959. Metody opredeleniya kachestva semyan [Methods for determining the quality of seeds]. Moscow. 351 p. (In Russian)
23. *Murashige T., Skoog F.* 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. — Physiol. Plant. 15: 473–497.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
24. *Batygina T.B., Vasilyeva V.E.* 2002. Razmnozhenie rastenii [Plant Reproduction]. St. Petersburg. 232 p. (In Russian)
25. *Nikolaeva M.G., Razumova M.V., Gladkova V.N.* 1985. Spravochnik po prorashchivaniyu pokoyashchikhsya semyan [Reference book on germination of dormant seeds]. Leningrad. 245 p. (In Russian)
26. *Schmidt L.H.* 2007. Tropical Forest Seed. Berlin. 408 p.
<https://doi.org/10.1007/978-3-540-68864-8>
27. *Corner E.J.H.* 1951. The leguminous seed — Phytomorph. 1: 117–150.
28. *Ozbek F., Buyukkarta H.N., Ekici M., Ozbek M.J.* 2016. Seed coat ultrastructure of the genus *Astragalus* L. section *Uliginosi* Gray (Fabaceae) — Gazi University Journal of Science. 29(2): 279–283.
29. *Smykal P., Vernoud V., Blair M.W., Soukup A., Thompson R.D.* 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed — Frontiers in Plant Science. 17: 1–19.
<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2014.00351>
30. *Bezewinkel F.D., Bowman F.* 1990. Struktura semyan [Seed structure]. — In: Embriologiya rastenii [Plant embryology]. Moscow. Vol. 2. P. 150–198. (In Russian)
31. *Moreno-Casasola P., Grime J.P., Martinez L.A.* 1994. Comparative study of the effects of fluctuations in temperature and moisture supply on hard coat dormancy in seeds of coastal tropical legumes in Mexico — J. Trop. Ecol. 10: 67–86.
<http://dx.doi.org/10.1017/S0266467400007720>
32. *Van Assche J.A., Debucquoy K.L.A., Rommens W.A.F.* 2003. Seasonal cycles in the germination capacity of buried seeds of some Leguminosae (Fabaceae). — New Phytologist. 158: 315–323.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00744.x>
33. *Rakova M.V.* 1974. O tverdosemyannosti v populyatsii dikorastushchikh bobovykh [About hardness in the population of wild-growing legumes]. — In: Voprosy biologii semennogo razmnozheniya [Questions of biology of seed reproduction]. Ulyanovsk. P. 158–166. (In Russian)
34. *Nikolaeva M.G., Lyanguzova I.V., Pozdova L.M.* 1999. Biologiya semyan [Biology of Seeds]. St. Petersburg. 231 p. (In Russian)