

## ВЛИЯНИЕ ХОЛОДА НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН *CARDIOCRINUM CORDATUM* VAR. *GLEHNII* (LILIACEAE)

© 2023 г. О. Г. Бутузова<sup>1,\*</sup>, А. А. Ковалева<sup>1,\*\*</sup>, Е. В. Андропова<sup>1,\*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН  
ул. Профессора Попова, 2, Санкт-Петербург, 197022, Россия

\*e-mail: OButuzova@binran.ru

\*\*e-mail: bzu@narod.ru

\*\*\*e-mail: elena\_andronova@binran.ru

Поступила в редакцию 02.11.2023 г.

После доработки 07.11.2023 г.

Принята к публикации 07.11.2023 г.

В статье изложены результаты опыта по длительному влиянию холода (0–2°C) на процесс прорастания семян *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) со сложным морфофизиологическим типом покоя. Подтверждено, что теплая стратификация (9–20°C) для осуществления доразвития зародыша и холодная стратификация (0–2°C) для роста зародышевого корня являются ключевыми факторами, влияющими на прорастание семян этого вида. Установлено, что холодная стратификация в начале опыта не запускает и не ускоряет рост зародыша при его доразвитии, а температурный режим теплой стратификации при доразвитии зародыша не оказывает влияние на последующий рост зародышевого корня и прорастание семян. Выявлена прямая зависимость протяженности воздействия холодом на энергию и скорость прорастания семян, а также на длительность этого процесса. При более продолжительном воздействии низкими температурами существенно увеличивались темпы прорастания. Сухое хранение семян в течение 6 месяцев при температуре 0–2°C также способствовало более быстрому прорастанию семян. Различия по продолжительности и периоду (до или после доразвития зародыша) воздействия холода не влияли на окончательный процент проросших семян, он был высоким во всех вариантах опыта (86–100%). Это указывает на то, что процесс прорастания семян *C. cordatum* var. *glehnii* в лабораторных условиях может осуществляться при разных температурных режимах, что, вероятно, обеспечивает пластичность возобновления данного вида и в природных условиях.

**Ключевые слова:** покой семян, морфофизиологический тип покоя, доразвитие зародыша, прорастание семян, теплая и холодная стратификация, *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*, Liliaceae

**DOI:** 10.31857/S0006813623120037, **EDN:** DCJPGJ

*Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (F. Schmidt) N. Naga (Liliaceae) – монокарпическое растение, являющееся эндемиком Сахалинской области. Семена отличаются затрудненным прорастанием, обусловленным наличием морфофизиологического типа покоя (МФП) (Kondo et al., 2006). По классификации типов покоя Баскиных (Baskin, Baskin, 2004) покой у этого вида определен как простой МФП. Однако в этой классификации не учитывается действие механизма торможения доразвития зародыша. В наших исследованиях было показано присутствие в семенах *C. cordatum* var. *glehnii* трех механизмов: механизма торможения доразвития зародыша и два механизма торможения прорастания, один из которых действует в зародыше, другой – в окружающих структурах семени (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019). Поэтому в соответствии с класси-

фикацией М.Г. Николаевой (Nikolaeva, 1983), его следует относить к сложному МФП (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019).

При проращивании семян без покоя холодная стратификация, как правило, не проводится, т.к. может иметь место негативная реакция на холод. Проращивание семян с затрудненным прорастанием, особенно со сложным морфофизиологическим типом покоя, связано с необходимостью проведения холодной стратификации для развития корня.

Прорастание семян *C. cordatum* var. *glehnii* в лабораторных условиях при понижении температур (с учетом смены температур в режиме день/ночь): 60 дней – 25/15°C, 60 дней – 15/5°C, 120 дней – 0°C, с дальнейшим проращиванием при 15/5°C, происходило через 9 месяцев (Kondo et al., 2006). Авторы показали, что температура воздействия на рост и выход корня из семени должна быть не

выше 5°C; при 0°C прорастало 92.5%, а при 5°C – 85.8%. Кроме того, в данной работе для эксперимента использовали только переменные температуры, чтобы смоделировать природные условия (день/ночь), и не применяли длительные воздействия холодом при постоянных температурах, а также не были учтены такие показатели прорастания, как длительность, скорость и энергия прорастания.

В наших ранних работах по выявлению особенностей покоя семян у *C. cordatum* var. *glehnii* в опыте по проращиванию были использованы режимы переменных температур при 0–2°C, 9–10°C и 18–20°C с преобладанием периодов воздействия положительными температурами (9–10°C и 18–20°C). Периоды холода при 0–2°C были непродолжительными: 1.5–2 мес. при однократной обработке, или суммарно 3.5 мес. при двукратном и 4.5 мес. при трехкратном применении (Butuzova et al., 2019). Влияние длительных непрерывных периодов холода (от 3 мес. и более) на процесс прорастания семян *C. cordatum* var. *glehnii* ранее не исследовалось.

Настоящая статья продолжает серию публикаций по исследованию особенностей прорастания семян *C. cordatum* var. *glehnii*. В ней обсуждаются результаты по влиянию холода на темпы прорастания семян и длительность этого процесса.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Семена *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (кардиокринум Глена, лилия Глена) были собраны в октябре 2021 года в местах естественного произрастания вида – о. Сахалин. Опыт был заложен в ноябре, в нем использовали свежесобранные семена. Семена предварительно замачивали 2 суток в воде при комнатной температуре 20°C для набухания, после чего выставляли на соответствующую температуру.

В опыте по прорастанию было заложено 8 вариантов (табл. 1), каждый в 2-кратной повторности (по 2 чашки Петри по 20 семян в каждой). Условия холодной стратификации различались у всех 8 вариантов. Однако температурные режимы, необходимые для доразвития зародыша, в некоторых вариантах совпадали. Поэтому в тексте и на рисунках такие варианты объединены и обозначены как 1\_3 (вариант 1 и 3), 2\_4 (вариант 2 и 4), 7\_8 (вариант 7 и 8).

В вариантах 1–6 использовались свежесобранные семена (через 1 месяц после сбора), семена вариантов 7 и 8 хранились 6 месяцев в холодильнике при температуре 0–2°C.

Проращивание семян проводили на воде. Эксперимент начинался со стратификации (теплой или холодной). Теплую стратификацию при 9–10°C и 18–20°C проводили в термостате, холодную при 0–2°C – в холодильнике.

Доразвитие зародыша оценивали по изменению его размеров, а прорастание – после выхода зародышевого корня из семени.

Измерения длины зародыша в процессе его роста внутри семени (при доразвитии) производили без извлечения его из семени с использованием стереоскопического микроскопа Stemy 2000 C (Carl Zeiss), цифровой камеры и программного пакета Image-Pro Insight 8.0. Статистический анализ данных: среднее, попарные сравнения дисперсий выборок на основании двухвыборочного F-теста, сравнение средних на основании двухвыборочных t-тестов для одинаковых или для разных дисперсий, построение box-plots проводили в приложении Microsoft Office Excel 2016.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Доразвитие зародыша*

Поскольку для кардиокринума характерен морфофизиологический тип покоя семян, связанный с недоразвитием в них зародыша на момент диссеминации, на начальном этапе эксперимента необходимо было снять механизм торможения доразвития зародыша и запустить процесс его дальнейшего роста и дифференциации органов.

Эксперимент по проращиванию семян начинался со стратификации: теплой (варианты 1\_3, 2\_4 и 7\_8) или холодной (варианты 5, 6).

Во всех вариантах опыта доразвитие зародыша начиналось не сразу, а спустя не менее 3 мес. или более с момента замачивания семян (рис. 1). В условиях длительной теплой стратификации при 18–20°C (вариант 1\_3) отмечали незначительное изменение размеров зародышей через 3 мес. от начала опыта, и только при переносе на 9–10°C доразвитие зародышей существенно ускорялось.

При постоянной температуре 9–10°C (вариант 2\_4) рост зародышей начинался только спустя 4.5 мес., однако, доразвитие протекало быстрыми темпами. Ход процесса доразвития в вариантах 1\_3 и 2\_4 был практически одинаков (рис. 1а).

В варианте 7\_8 после переноса с 18–20°C на 9–10°C доразвитие зародыша начиналось практически сразу и осуществлялось быстрыми темпами.

В вариантах 5 и 6, которые начинались с длительной холодной стратификации (3 и 4 мес. соответственно), доразвитие зародыша начиналось только после переноса в тепло. После холодной стратификации использовался комбинированный температурный режим: сначала 18–20°C в течение 1.5–3 мес., потом 9–10°C. При 18–20°C изменений длины зародыша не наблюдалось. Доразвитие начиналось практически сразу после переноса на 9–10°C (рис. 1б).

Таким образом, снятие механизма торможения (МТ) роста зародыша происходило только

**Таблица 1.** Условия проращивания семян в разных вариантах опыта  
**Table 1.** Conditions of seed germination in different variants of the experiment

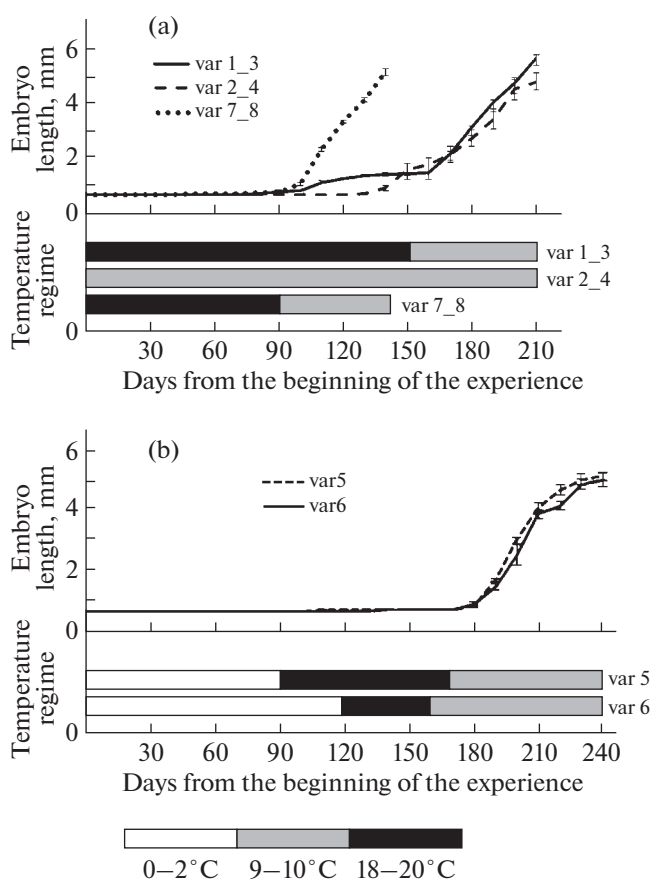
| Этапы опыта, условия<br>Stages of experiment,<br>conditions  | Вариант, №/Variant, №  |                       |                        |                       |                        |                        |                        |                        |
|--|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|  | 1                      | 2                     | 3                      | 4                     | 5                      | 6                      | 7                      | 8                      |
| Хранение семян до начала опыта (при 0–2°C), мес.<br>Storage of seeds before the start of the experiment (at 0–2°C), months                             | 1                      | 1                     | 1                      | 1                     | 1                      | 1                      | 6                      | 6                      |
| Холодная стратификация семян в начале опыта, мес.<br>Cold stratification of seeds at the beginning of the experiment, months                           | 0                      | 0                     | 0                      | 0                     | 3                      | 4                      | 0                      | 0                      |
| Теплая стратификация семян для доразвития зародыша, температурный режим<br>Warm stratification of seeds for embryo postdevelopment, temperature regime | 18–20°C<br>↓<br>9–10°C | 9–10°C                | 18–20°C<br>↓<br>9–10°C | 9–10°C                | 18–20°C<br>↓<br>9–10°C | 18–20°C<br>↓<br>9–10°C | 18–20°C<br>↓<br>9–10°C | 18–20°C<br>↓<br>9–10°C |
| Длительность теплой стратификации, мес. (при 18–20°C + при 9–10°C)<br>Duration of warm stratification, months (at 18–20°C + at 9–10°C)                 | 6.5<br>(5+1.5)         | 6.5                   | 6.5<br>(5+1.5)         | 6.5                   | 5 (3+2)                | 4<br>(1.5+2.5)         | 4.5<br>(3+1.5)         | 4.5 (3+1.5)            |
| Холодная стратификация после доразвития зародыша, мес.<br>Cold stratification after embryo postdevelopment, months                                     | 3.5                    | 3.5                   | 4                      | 4                     | 4                      | 4                      | 4                      | 4                      |
| Режим прорастания: температура, свет<br>Conditions of germination: temperature, light  | 18–20°C<br>свет/light  | 18–20°C<br>свет/light | 18–20°C<br>свет/light  | 18–20°C<br>свет/light | 18–20°C<br>свет/light  | 18–20°C<br>свет/light  | 18–20°C<br>свет/light  | 0–2°C<br>темно/dark    |

после длительного периода теплой стратификации. Холодная стратификация в начале опыта по проращиванию семян кардиокринума не снимала МТ доразвития и не стимулировала более раннее начало роста зародыша.

Доразвитие начиналось быстрее в вариантах опыта, где сначала воздействовали температурой 18–20°C, а потом 9–10°C (вар. 1\_3, 5, 6, 7\_8). При этом выдерживание при 18–20°C в течение 1.5 мес. для хранившихся в течение 6 мес. семян, вероятно, является достаточным, чтобы после переноса на 9–10°C процесс доразвития зародыша начинался практически сразу во всех семенах и

ростовые изменения происходили с одинаково высокой скоростью.

К моменту окончания доразвития и переходу к этапу прорастания, требующего переноса семян в условия холодной стратификации на 0–2°C, длина зародыша во всех вариантах опыта составляла в среднем около 5 мм. Наиболее крупные зародыши отмечены в варианте 1\_3. Их длина имела достоверно большее значение по сравнению с зародышами в остальных вариантах. Варьирование зародышей по длине в варианте 1\_3 было незначительным, что свидетельствует о большей однородности выборки, которая сформировалась при длительном (5 мес.) выдерживании при 18–20°C в



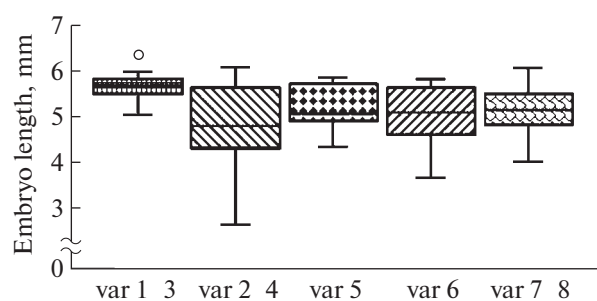
**Рис. 1.** Доразвитие зародыша *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* при разных температурных режимах проращивания семян: при отсутствии (а) или наличии (б) длительной холодной стратификации в начале опыта.

**Fig. 1.** Embryo postdevelopment in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* under different temperature conditions of seed germination: without (a) or in the presence (b) of prolonged cold stratification at the beginning of the experiment.

начале опыта (рис. 2). В варианте 2\_4 размеры зародышей варьировали в широком диапазоне. Эта выборка формировалась при постоянной температуре 9–10°C без периода воздействия 18–20°C и характеризовалась наибольшей гетерогенностью (рис. 2). При сокращении периода теплой стратификации при 18–20°C до 3 мес. в вариантах 5 и 7\_8, гетерогенность выборки по размерам зародыша была больше, чем в варианте 1\_3, но меньше, чем в варианте 2\_4. При сокращении этого периода до 1.5 мес. в варианте 6 гетерогенность повышается по сравнению с вариантами 5 и 7\_8 (рис. 2).

### Прорастание семян

В вариантах 1–6 опыта после окончания доразвития зародыша и дальнейшей холодной стратификации разной продолжительности семена были перенесены в тепло (20°C) и на свет. Вари-



**Рис. 2.** Гетерогенность выборок по длине зародышей в семенах после доразвития при разных температурных режимах на начало холодной стратификации.

**Fig. 2.** Heterogeneity of samples by the embryo length in the seeds after their postdevelopment at different temperature conditions, at the beginning of cold stratification.

анты 7 и 8 оставались в холодильнике при 0–2°C до начала прорастания. После вариант 7 был перенесен на свет и в тепло, вариант 8 оставлен в темноте на 0–2°C.

Скорость прорастания семян в вариантах опыта различалась (рис. 3). В вариантах 1 и 2, в которых холодная стратификация длилась 3.5 мес., семена прорастали неодновременно, и процесс занял более длительный период времени по сравнению с остальными вариантами опыта, в которых холодная стратификация длилась 4 мес. (варианты 3, 4, 7 и 8) или 7–8 мес. суммарно до и после доразвития (варианты 5 и 6).

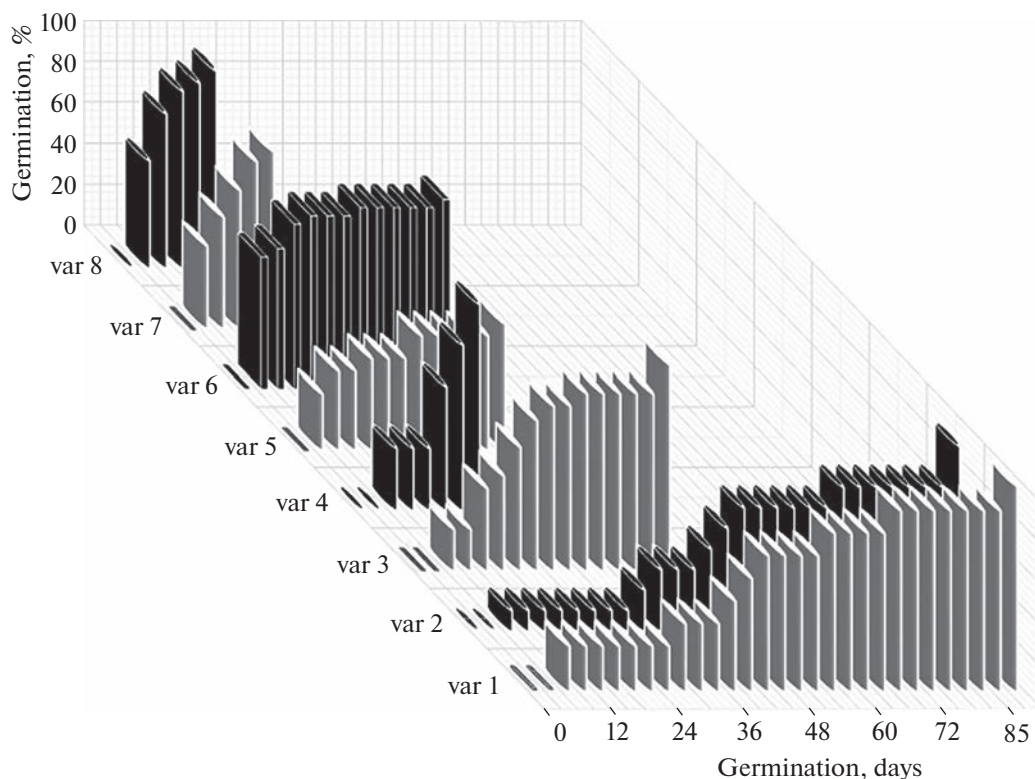
В вариантах 1 и 2 прорастание длилось 88 дней, в варианте 3 – 45 дней, в варианте 4 – 21 день, в вариантах 5 и 6 – 36 дней, в вариантах 7 и 8 – 15 дней. В вариантах 1–4 первые проростки появлялись на 5-й день, а в вариантах 5–8 на 3 сутки или без переноса с холода и темноты, или после переноса с холода на свет и 20°C.

Окончательный процент проросших семян был высоким практически во всех вариантах – от 86% до 100%. Низкий процент проросших семян наблюдался только в варианте 5 (61%), что можно объяснить большой долей подгнивших семян в процессе длительных обработок.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования подтвердили, что не только холодная стратификация для снятия ФМТ прорастания, как считали некоторые авторы (Kondo et al., 2006), но и теплая стратификация, необходимая для снятия ФМТ и осуществления доразвития зародыша, являются ключевыми факторами, влияющими на прорастание семян *C. cordatum* var. *glehnii* (Andronova et al., 2019; Butuzova et al., 2019).

В естественных условиях произрастания прорастание семян *C. cordatum* var. *glehnii* занимает



**Рис. 3.** Прорастание свежесобранных и после 6-месячного хранения семян *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* при разной длительности холодной стратификации. Нулевая точка – перенос с холода на 18–20°C (варианты 1–6) или начало прорастания во время холодной стратификации (варианты 7 и 8).

**Fig. 3.** Germination of freshly harvested seeds of *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* and after 6 months of storage, with different duration of cold stratification. Zero point – transfer from cold to 18–20°C (variants 1–6), or the beginning of germination during cold stratification (variants 7 and 8).

18–19 месяцев (Kondo et al., 2006; Klitin, Prokof'ev, 2010; Takuma et al., 2019) и протекает при последовательно меняющихся естественным образом в течение сезона температурах. Как показало настоящее исследование, в лабораторных условиях прорастание свежесобранных семян этого вида возможно за 7–8 месяцев, учитывая, что для доразвития зародыша требуется почти 4 месяца теплой стратификации, а для снятия МТ прорастания – 3.5–4 месяца холодной стратификации.

В нашем опыте холодная стратификация семян в период до доразвития зародыша не влияла на начало и темпы протекания этого процесса. Наоборот, собственно прорастание семян (т.е. выход зародышевого корня из семени) осуществлялось только после холодной стратификации. Более того, энергия и скорость прорастания семян существенным образом зависели от продолжительности холодной стратификации, и чем длительнее было воздействие холода, тем быстрее прорастали семена. При этом не только длительность холодной стратификации семян на воде, но и сухое хранение семян *C. cordatum* var. *glehnii* в холоде при 0–2°C в течение 6 месяцев, влияло на процесс

прорастания семян. Семена после такого хранения проросли за более короткий период времени по сравнению с другими вариантами опыта, где использовались свежесобранные семена.

Вероятно, температурный режим при доразвитии зародыша не оказывает влияние на последующий рост зародышевого корня и прорастание семян. Так, в вариантах 1 и 2, различающихся температурными режимами при доразвитии зародыша: в варианте 1 использовался комбинированный режим – сначала 18–20°C, а затем 9–10°C, а в варианте 2 постоянная температура 9–10°C, семена прорастали одинаково долго (88 дней). На момент окончания тепловой стратификации зародыши в варианте 1 были наиболее крупными и статистически значимо различающимися по длине от зародышей варианта 2. Кроме того, зародыши в варианте 1 практически не различались по размерам, т.е. выборка была наиболее однородной по длине зародыша, тогда как зародыши в варианте 2 различались по длине, и выборка была самой гетерогенной. Возможно, именно эта разница обеспечила более высокие темпы прорастания семян в варианте 1 в первые 6 дней опыта, т.к.

процент проросших семян за этот период достиг 30%, по сравнению с вариантом 2, где он составил всего 10% (рис. 3). В последующие дни темпы прорастания в вариантах 1 и 2 выравнивались. Весь процесс занял 88 дней.

Длительность теплой стратификации в период доразвития зародыша также не оказывала влияние на темпы прорастания. Наиболее длительной — 6,5 месяца она была в вариантах 1\_3 и 2\_4, при этом прорастание в вариантах 1 и 2 протекало за 88 дней, в варианте 3 — за 45 дней, в варианте 4 — за 21 день. Очевидно, что ускорение процесса прорастания (примерно в 2 раза) связано с увеличением периода холодной стратификации с 3,5 мес. (варианты 1 и 2) до 4 мес. (варианты 3 и 4).

Однако продолжительность воздействия холода не отражалась на окончательном проценте проросших семян. Практически во всех вариантах всхожесть была высокой (86–100%). Это указывает на то, что семена, собранные в природе и использованные в настоящем исследовании, являлись жизнеспособными, а процесс прорастания может осуществляться при разных температурных режимах, обеспечивая пластичность возобновления данного вида в природных условиях.

Полученные нами результаты по влиянию низких температур на прорастание семян *C. cordatum* var. *glehnii* согласуются с данными по другим видам, семена которых обладают покоем. На примере *Spartina alterniflora* Loisel, произрастающего в Китае на разных широтах, было обнаружено, что более длительная холодная стратификация изменяла показатели всхожести семян, повышала скорость прорастания и укорачивала период прорастания (Cheng et al., 2022). У разных видов альпийских широт, где климат наиболее переменчив при большом диапазоне суточных температур, всхожесть семян значительно увеличивается с увеличением периода холодной стратификации (Bernareggi et al., 2016). Тем не менее, более высокая всхожесть не обязательно благотворно сказывается на альпийских растениях, так как летом во время засухи снижается вероятность выживания проростков.

Показано, что краткосрочные тепловые воздействия могут повлиять на сроки прорастания и способствовать прорастанию семян до наступления зимнего сезона (Orsenigo et al., 2015). То, что семена прорастают сразу после диссеминации, всегда считалось невыгодным для возобновления растений из-за уязвимости проростков перед суровыми зимними условиями. Однако недавнее исследование произрастающих на леднике видов показало, что высокий процент (приблизительно 60 и 75%) появившихся осенью сеянцев выживают в течение всей зимы (Mondoni et al., 2015).

Использование разных стратегий для возобновления характерно и для монокарпических од-

нолетних видов. Для растения, которое вкладывает все ресурсы в размножение только один раз в жизни стратегически важно производить больше семян, чем поликарпическим видам, и обеспечить максимальную всхожесть и приживаемость проростков (Sera, Sery, 2004).

В нашем опыте выявлена разная реакция семян *C. cordate* var. *glehnii* не только на различные температурные режимы, но и на длительность и периоды (до или после доразвития зародыша) их воздействия. Все репродуктивные усилия растения направлены на успешную семенную продуктивность. Весьма вероятно, что семена данного вида способны прорасти в природе при разных сезонных условиях, т.е. при разных по продолжительности холодных и теплых периодах. Это предположение согласуется с мнением некоторых авторов, которые отмечают высокую пластичность развития репродуктивной сферы и степень адаптации этого вида к условиям среды (Nishizawa, Ohara, 2018; Takuma et al., 2019).

Интересно, что другой вид рода *Cardiocrinum* (*C. giganteum* var. *yunnanense*) отличается от исследуемого *C. cordatum* var. *glehnii* по фенологии прорастания семян, а также по глубине и степени покоя (Li et al., 2020). Семенам *C. giganteum* var. *yunnanense*, произрастающего в юго-западных районах Китая, т.е. намного южнее ареала кардиокринума Глена, не требуется воздействие низких температур (0–2°C) для прорастания, достаточно лишь 5°C, чтобы сразу после окончания доразвития зародыша начал расти корень и формировался проросток (Phartyal et al., 2012). Это может служить подтверждением более тесной связи степени покоя семян с условиями среды, нежели с генетическими особенностями таксона.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Семена *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* характеризуются сложным морфофизиологическим типом покоя, при котором снятие механизмов торможения доразвития зародыша и прорастания семени осуществляется при разных температурных режимах. Для снятия механизма торможения роста зародыша в свежесобранных семенах и запуска процесса доразвития требуется длительный период (3 мес.) теплой стратификации (9–20°C). Чтобы снять действие механизма торможения прорастания семени необходима такая же длительная (4 мес.) холодная стратификация (0–2°C).

По окончании доразвития зародыши в разных вариантах опыта могли существенно различаться по длине. В варианте, где теплая стратификация при 18–20°C была наиболее длительной, наблюдались более крупные зародыши, а выборка семян была гомогенной по данному показателю. Однако степень гетерогенности выборки по дли-

не зародыша не влияла на скорость прорастания и окончательный процент проросших семян.

Температурный режим при доразвитии зародыша не оказывал влияние на последующий рост зародышевого корня и прорастание семян, также как и холодная стратификация в начале опыта не стимулировала начало роста зародыша.

Выявлена прямая зависимость продолжительности воздействия холода на скорость прорастания семян. При более продолжительном воздействии низких температур увеличивались темпы прорастания. Сухое хранение семян при температуре 0–2°C также способствовало более быстрому прорастанию.

Различия по продолжительности и периоду (до или после доразвития, а также и до, и после доразвития зародыша) воздействия холода не оказывали влияния на окончательный процент проросших семян, который был высоким во всех вариантах опыта (86–100%). Это указывает на то, что процесс прорастания семян *C. cordatum* var. *glehnii* может осуществляться при разных температурных режимах, что обеспечивает пластичность возобновления данного вида в природных условиях.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят доктора биологических наук ведущего научного сотрудника Ботанического сада БИН РАН О.Г. Баранову за предоставленные для исследования семена.

Работа выполнена в рамках госзадания “Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, естественные и искусственные модели их реализации” (2019–2023 гг.) № 122011900036-5.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Andronova E.V., Butuzova O., Torshilova A.A. 2019. Mechanisms of seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae). – *Botanica Pacifica*. 8 (2): 19–24.  
<https://doi.org/10.17581/bp.2019.08206>
- Baskin J.M., Baskin C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. – *Seed Science Research*. 14: 1–16.  
<https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Bernareggi G., Carbognani M., Mondoni A., Petraglia A. 2016. Seed dormancy and germination changes of snowbed species under climate warming: the role of pre- and post-dispersal temperatures. – *Ann. Bot.* 118: 529–539.  
<https://doi.org/10.1093/aob/mcw125>
- Butuzova O., Torshilova A., Andronova E. 2019. Seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) and ways of its overcoming. – *Int. J. Plant Repr. Biol.* 11 (1): 51–57.  
<https://doi.org/10.14787/ijprb.2019.11.1>
- Cheng J., Huang H., Liu W., Zhou Y., Han W., Wang X., Zhang Y. 2022. Unraveling the Effects of Cold Stratification and Temperature on the Seed Germination of Invasive *Spartina alterniflora* Across Latitude. – *Front. Plant Sci.* 13: 911804.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.911804>
- [Klitin, Prokof'ev] Клитин А.К., Прокофьев М.М. 2010. Распространение и некоторые особенности морфологии Кардиокринума Глена (*Cardiocrinum glehnii*) (Liliaceae) на Сахалине. – *Вестник Сахалинского музея*. 17: 327–337.
- Kondo T., Sato C., Baskin J.M., Baskin C.C. 2006. Post-dispersal embryo development, germination phenology, and seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae s.str.), a perennial herb of the broad-leaved deciduous forest in Japan. – *Am. J. Bot.* 93: 849–859.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.93.6.849>
- Li Y.-F., Song J., Guan W.-L., Li F.-R. 2020. Seed dormancy and germination in *Cardiocrinum giganteum* var. *yunnanense*, a perennial herb in China with postdispersal embryo growth. – *Seed Science and Technology*. 48 (2): 303–314.  
<https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.2.17>
- Mondoni A., Pedrini S., Bernareggi G., et al. 2015. Climate warming could increase recruitment success in glacier foreland plants. – *Ann. Bot.* 116: 907–916.
- [Nikolaeva] Николаева М.Г. 1983. Покой семян и способы его преодоления. – *Онтогенез*. 24 (4): 79–86.
- Nishizawa M., Ohara M. 2018. The role of sexual and vegetative reproduction in the population maintenance of a monocarpic perennial herb, *Cardiocrinum cordatum* var. *ghlenii*. – *Plant Species Biology*. 33: 289–304.  
<https://doi.org/10.1111/1442-1984.12223>
- Orsenigo S., Abeli T., Rossi G., Bonasoni P., Pasquaretta C., Gandini M., Mondoni A. 2015. Effects of autumn and spring heat waves on seed germination of high mountain plants. – *PLoS One*. 10: e0133626.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133626>
- Phartyal S.S., Kondo T., Baskin J.M., Baskin C.C. 2009. Temperature requirements differ for the two stages of seed dormancy break in *Aegopodium podagraria* (Apiaceae), a species with deep complex morphophysiological dormancy. – *Am. J. Bot.* 96: 1086–1095.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.0800379>
- Sera B., Sery M. 2004. Number and weight of seeds and reproductive strategies of herbaceous plants. – *Folia Geobotanica*. 39 (1): 27–40.
- Takuma H., Utech F.H., Ohara M. 2019. Inter-population variation, but no annual variation within population's, is terms of reproductive size and genetic structure in a monocarpic perennial herb, *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*. – *Plant Species Biology*. 34 (1): 27–30.

## THE EFFECT OF COLD TREATMENT ON THE GERMINATION OF *CARDIOCRINUM CORDATUM* VAR. *GLEHNII* (LILIACEAE) SEEDS

O. G. Butuzova<sup>a,#</sup>, A. A. Kovaleva<sup>a,##</sup>, and E. V. Andronova<sup>a,###</sup>

<sup>a</sup>Komarov Botanical Institute RAS Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197022, Russia

<sup>#</sup>e-mail: OButuzova@binran.ru

<sup>##</sup>e-mail: bzu@narod.ru

<sup>###</sup>e-mail: elena\_andronova@binran.ru

The seeds of *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* are characterized by a complex morphophysiological type of dormancy. There are three mechanisms of germination inhibition: two of them are localized in the embryo and one in the surrounding structures of the seed. To overcome these mechanisms, different temperature regimes for seed stratification are required.

It was revealed that the mechanism of inhibition of embryo postdevelopment is removed at higher temperatures of 18–20°C for 1.5 months for stored seeds or 2 months for fresh ones. Optimal rates of embryo development were observed at 9–10°C. At the end of postdevelopment, the embryos in different experimental variants could significantly differ in length. However, the degree of heterogeneity of the sample by embryo length did not affect the germination rate and the final percentage of germinated seeds. The temperature regime during embryo postdevelopment did not affect the subsequent growth of the embryonic root and seed germination, as well as cold stratification at the beginning of the experiment did not stimulate embryo growth.

The development of embryo root was possible only after exposure to cold (0–2°C). It was demonstrated that the energy of seed germination and the germination rate significantly depend on the duration of cold stratification, regardless of the moment of exposure to cold. The longer the cold treatment was, the faster the seed germination. At the same time, not only cold stratification on water, but also dry storage of seeds at 0–2°C accelerated their germination.

Under natural conditions, seed germination of *C. cordatum* var. *glehnii* occurs in 18–19 months after dissemination. In laboratory experiment, freshly harvested seeds of this species could be germinated in 7–8 months, taking into account that approximately 4 months of warm stratification are required for the further development of the embryo, and 3.5–4 months of cold stratification are required to remove the mechanism of germination inhibition.

Differences in the duration and period of exposure to cold, however, did not affect the final percentage of germinated seeds. In almost all variants, the final percentage of germination was high (from 86 to 100%).

The results of the experiment indicate that the process of seed germination of *C. cordatum* var. *glehnii* is realized in nature under the effect of different durations of temperature influences, which ensures the plasticity in the reproduction of this species in natural conditions.

**Keywords:** seed dormancy, morphophysiological type of dormancy, embryo postdevelopment, seed germination, warm and cold stratification, *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*, Liliaceae

### REFERENCES

- Andronova E.V., Butuzova O.G., Torshilova A.A. 2019. Mechanisms of seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae). — *Botanica Pacifica*. 8 (2): 19–24.  
<https://doi.org/10.17581/bp.2019.08206>
- Baskin J.M., Baskin C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. — *Seed Science Research*. 14: 1–16.  
<https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Bernareggi G., Carbognani M., Mondoni A., Petraglia A. 2016. Seed dormancy and germination changes of snowbed species under climate warming: the role of pre- and post-dispersal temperatures. — *Ann. Bot.* 118: 529–539.  
<https://doi.org/10.1093/aob/mcw125>
- Butuzova O., Torshilova A., Andronova E. 2019. Seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae) and ways of its overcoming. — *Int. J. Plant Repr. Biol.* 11 (1): 51–57.  
<https://doi.org/10.14787/ijprb.2019.11.1>
- Cheng J., Huang H., Liu W., Zhou Y., Han W., Wang X., Zhang Y. 2022. Unraveling the Effects of Cold Stratification and Temperature on the Seed Germination of Invasive *Spartina alterniflora* Across Latitude. — *Front. Plant Sci.* 13: 911804.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.911804>
- Klitin A.K., Prokof'ev M.M. 2010. Distribution and some peculiarities of morphology of *Cardiocrinum glennii* (Liliaceae) in Sakhalin. — *Vestnik of Sakhalin museum*. 17: 327–337 (In Russ.).
- Kondo T., Sato C., Baskin J.M., Baskin C.C. 2006. Post-dispersal embryo development, germination phenology, and seed dormancy in *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae s.str.), a perennial herb of the broad-leaved deciduous forest in Japan. — *Am. J. Bot.* 93: 849–859.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.93.6.849>



- Li Y.-F., Song J., Guan W.-L., Li F.-R. 2020. Seed dormancy and germination in *Cardiocrinum giganteum* var. *yunnanense*, a perennial herb in China with postdispersal embryo growth. — *Seed Science and Technology*. 48 (2): 303–314.  
<https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.2.17>
- Mondoni A., Pedrini S., Bernareggi G., et al. 2015. Climate warming could increase recruitment success in glacier foreland plants. — *Ann. Bot.* 116: 907–916.
- Nikolaeva M.G. 1983. Seed dormancy and methods of its breaking. — *Russ. J. Dev. Biol.* 24 (4): 79–86 (In Russ.).
- Nishizawa M., Ohara M. 2018. The role of sexual and vegetative reproduction in the population maintenance of a monocarpic perennial herb, *Cardiocrinum cordatum* var. *ghlenii*. — *Plant Species Biology*. 33: 289–304.  
<https://doi.org/10.1111/1442-1984.12223>
- Orsenigo S., Abeli T., Rossi G., Bonasoni P., Pasquaretta C., Gandini M., Mondoni A. 2015. Effects of autumn and spring heat waves on seed germination of high mountain plants. — *PLoS One*. 10: e0133626.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133626>
- Phartyal S.S., Kondo T., Baskin J.M., Baskin C.C. 2009. Temperature requirements differ for the two stages of seed dormancy break in *Aegopodium podagraria* (Apiaceae), a species with deep complex morphophysiological dormancy. — *Am. J. Bot.* 96: 1086–1095.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.0800379>
- Sera B., Sery M. 2004. Number and weight of seeds and reproductive strategies of herbaceous plants. — *Folia Geobotanica*. 39 (1): 27–40.
- Takuma H., Utech F.H., Ohara M. 2019. Inter-population variation, but no annual variation within population's, in terms of reproductive size and genetic structure in a monocarpic perennial herb, *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii*. — *Plant Species Biology*. 34 (1): 27–30.