

**Влияние экспериментальных условий хранения спор сальвинии плавающей
(*Salvinia natans* (L.) All., Salviniaceae Martinov)
на воспроизводство вида**

**Influence of experimental storage conditions of spores of Floating fern
(*Salvinia natans* (L.) All., Salviniaceae Martinov)
on the reproduction of the species**

Барабанщикова Н. С., Орлюк Ф. А.

Barabanshchikova N. S., Orlyuk F. A.

Московский педагогический государственный университет, г. Москва, Россия. E-mails: baraba@list.ru, drofa-fed@mail.ru
Moscow State Pedagogical University, Moscow, Russia

Реферат. *Salvinia natans* – разноспоровый однолетний водный папоротник из семейства Salviniaceae. Увеличение жизнеспособности спор путем моделирования условий хранения – основа для создания банков спор папоротников. В этом аспекте *S. natans* представляется не традиционным объектом. В период с октября по август 2019–2020 гг. нами был проведен эксперимент по хранению споровой продукции *S. natans* в течение 4 месяцев в 12 комбинациях абиотических факторов (освещение – обводненность – температура) и последующем проращивании спор в течение весны – лета в одинаковых условиях естественного температурного режима, естественного освещения и наличие воды. Жизнеспособность споровой продукции оценивали по времени прорастания мегаспорангиев и количеству новых особей в каждом варианте хранения. Установлено, что воспроизводство вида *S. natans* успешно происходит при естественном для него сочетании абиотических факторов среды – постепенно изменяющейся температуре с зимним промораживанием, природном освещении и нахождении спорангиев в воде. Прорастание мегаспорангиев началось со второй декады мая. Благоприятно сказывается хранение при стратификации (+5 °С, вода) и в комбинации факторов «естественная температура – темно – сухо». Раннее прорастание и появление максимального количества новых особей в этих трех вариантах зимовки говорит о наличии у *S. natans* адаптации к сезонному климату с низкими зимними температурами и теплым летом. Хранение в сухом состоянии задерживало прорастание мегаспорангиев на период от двух недель до месяца. Покой спор *S. natans* относится к вынужденному типу, так как содержание спорангиев в воде на свету и при комнатной температуре показало возможность появления новых особей в октябре-ноябре месяце.

Ключевые слова. Воспроизводство вида, жизнеспособность спор, мегаспорангии, спорофит, споры, стратификация, экспериментальные условия хранения, *Salvinia natans*.

Summary. *Salvinia natans* is a heterospore annual aquatic fern from the Salviniaceae family. Increasing the spores' viability by storage simulations is the basis for creating fern spore banks. In this aspect, *S. natans* appears to be an unconventional subject. Between October and August 2019–2020 we conducted an experiment on the storage of *S. natans* spore production for 4 months in 12 combinations of abiotic factors (lighting water content – temperature) and subsequent spores germination during the spring – summer under the same conditions of natural temperature regime, natural light and the presence of water. The spore production viability was assessed by the time of megasporangia germination and the number of new individuals in each storage option. We established that the of the *S. natans* reproduction occurs successfully with a natural combination of abiotic environmental factors – a gradually changing temperature with winter freezing, natural light, and the presence of sporangia in water. Storage has a beneficial effect during stratification (+ 5 °C, water) and in the combination of factors “natural temperature – dark – dry”. Early germination and the appearance of the maximum number of new individuals in these three wintering options indicate that *S. natans* adapts to the seasonal climate with low winter temperatures and warm summers. Dormancy of *S. natans* spores belongs to the forced type. Dry storage delayed germination of megasporangia for a period of two weeks to a month. The dormancy of *S. natans* spores belongs to the forced type, since the content of sporangia in water in the light and at room temperature showed the possibility of the appearance of new individuals in October-November.

Key words. Reproduction of the species, viability of spores, megasporangia, *Salvinia natans*, sporophyte, spores, stratification, experimental storage conditions.

Прорастание спор папоротников – сложный биологический процесс, на который оказывает влияние комплекс внешних факторов. Факторы, запускающие прорастание – это периодически действующие факторы окружающей среды, стимулирующие или ингибирующие прорастание. Наиболее важные среди них – влажность, температура, кислотность субстрата и концентрация в нем минеральных веществ, аэрация, свет. В птеридологии имеется немало исследований, посвященных экспериментальным аспектам прорастания спор папоротников (Dyer, 1979; Ranai, 1999). Однако не менее существенны условия хранения спор, определяющие в итоге их жизнеспособность. Известны случаи прорастания спор *Pellea* sp. после 50 лет хранения в гербарии (Windham, Haufler, 1986). Отмечена высокая жизнеспособность спор у таксонов, произрастающих в аридных областях, а также во влажных местах обитания (Fisher, 1910, цит. по: Арнаутова, 2008; Арнаутова, 1998). Увеличение жизнеспособности спор путем моделирования условий хранения – основа для создания банков спор разных видов папоротников. К сожалению, сведения о жизнеспособности спор обрывочные и известны лишь для немногих таксонов (Арнаутова, 2008). Продлить жизнеспособность спор равноспоровых папоротников, содержащих хлоропласты и быстро теряющих всхожесть, возможно в условиях низких температур и постоянной влажности (Lindsay et al., 1992). Также отмечена практически стопроцентная всхожесть в течение 1–2 месяцев при высушивании свежесобранных спор и их последующем хранении при температуре +3...+5 °С, а при криоконсервации в жидком азоте споры сохранялись до 75 месяцев (Pence, 2000).

В научной литературе недостаточно информации о влиянии условий хранения спорангиев (споры во время прорастания не покидают спорангиев) на их жизнеспособность у *S. natans*, зачастую эти данные противоречивы. По данным A. Gałka, J. Szmeja (2013), в Польше прорастание спорангиев начинается при температуре $12,4 \pm 0,2$ °С. Появление новых особей могло происходить с апреля по сентябрь (в эти сроки находили прорастающие мегаспорангии), так как при поднятии уровня воды попадают в воду мегаспорангии, зимовавшие на суше. Таким образом, развитие спорофитов теоретически может начаться в любой момент времени, так как спорангии прорастают в воде при подходящей температуре в независимости от времени года (Gałka, Szmeja, 2013). Однако A. Schwarzer (2005) считает, что для прорастания все спорангии должны быть подвержены зимовке, не важно в сухом или влажном состоянии.

Цель исследования – оценка воздействия экспериментальных условий хранения спор *S. natans* на их жизнеспособность.

Объект исследования. *S. natans* – это разноспоровый однолетний папоротник из семейства Salviniaceae, ведущий водный образ жизни. Вид голарктический, в России встречается в основном в степной зоне и зоне полупустынь, а также в южных районах лесной полосы, где является редким растением. *S. natans* живет в мелких пресных хорошо прогреваемых водоемах – материковых и пойменных озерах, затонах рек, откуда может выходить в реки, где встречается обычно в прибрежной зоне среди водных растений (Щербаков, 2008). Вид относится к экогруппе – гидрофиты, свободно плавающие на поверхности воды согласно классификации В. Г. Папченкова (2003).

В побеговой системе (корней растение не имеет вовсе) *S. natans* наблюдается гетерофиллия, в узлах листья располагаются мутовчато, два наводных цельных листа осуществляют фотосинтез, а подводный лист рассечен на сегменты и выполняет функцию корней и удержания равновесие плавающего побега. Сорусы прикреплены к основанию подводного листа. Они делятся на мега- и микросорусы, в которых формируются мега- и микроспорангии соответственно. В одном узле побега обычно содержится один – два мегасоруса с несколькими десятками мегаспорангиев и несколько микросорусов с несколькими сотнями микроспорангиев. Микроспорангий содержит 64 или 32 микроспоры. В мегаспорангии развивается одна мегаспора. На один метамер побеговой системы растения приходится спорангии разной степени зрелости. Спорангии в сорусах созревают к сентябрю, сорусы начинают распадаться в октябре, и тогда микро- и мегаспорангии плавают на поверхности воды, а при наступлении морозов вмерзают в лед. Они могут прикрепляться к любым поверхностям: к дереву, коре, листьям и камням. В этих условиях, сухих или влажных, они зимуют. В конце апреля – начале мая спорангии начинают прорастание на поверхности воды. Мужские гаметофиты пробивают стенку микроспорангия и выпускают в воду сперматозоиды, единственная мегаспора прорастает в женский гаметофит, не покидая мегаспорангия. Степень зрелости мегаспорангиев не влияет на возможность их

развития. Прорастание мегаспорангиев начинается в Астраханской области в начале мая, даты зависят от погодных условий конкретного года и сроков наступления половодья. В Московской области проростки спорофитов *S. natans* также были обнаружены нами в мае.

Методика исследования. В начале октября 2019 г. в Астраханской области на двух ериках собрали особи спорофитов *S. natans*. В лабораторных условиях в Москве растения поместили в пластиковые тазы с водой (объем 1000 мл, диаметром 17 см). Комбинировали особи таким образом, чтоб в каждом тазу находились растения с двух ериков, а сумма всех метамеров составила около 120. Всего в эксперименте участвовало 36 тазов с *S. natans*. Половина из них была высушена. В середине ноября сделали расстановку тазов на зимовку в четыре варианта температурных условий: -18°C (морозильная камера), $+5^{\circ}\text{C}$ (камера холодильника), комнатные (от $+13$ до $+23^{\circ}\text{C}$ в зависимости от отопления) и уличные (с естественным ходом сезонного изменения температуры воздуха). Каждый вариант температурного режима был представлен в сухом и водном состоянии. Для комнатных и уличных температур также создали два режима освещения: естественный свет и темнота. В итоге получилось 12 комбинаций факторов (освещение – обводненность – температура), в которые опытные тазы помещали в трехкратной повторности. Растения находились в условиях экспериментальной зимовки 4 месяца. С 11–13 апреля 2020 г. все тазы (по 12 тазов в день) разместили в одинаковые условия: естественный температурный режим и освещение, наличие воды. Наблюдения за сроками появления новых особей *S. natans* вели ежедневно до конца лета 2020 г. Сохранение жизнеспособности споровой продукции оценивали по времени прорастания мегаспорангиев и количеству женских гаметофитов (а позднее спорофитов) *S. natans* в каждом опытном тазу.

Результаты исследования и их обсуждение. Первые признаки прорастания мегаспорангиев *S. natans* и появления женских гаметофитов отмечены 11 мая, и уже с 16 мая началось активное развитие новых особей в тазах, хранившихся в воде: а) при температуре $+5^{\circ}\text{C}$ и б) при естественном изменении температуры. Из 9 тазов, соответствующих этим сочетаниям факторов, развитие растений обнаружено в 8 тазах. Из 6 тазов, зимовавших в условиях комнатной температуры в обводненном состоянии, прорастание мегаспорангиев состоялось в эти же даты только в одном тазу. Прорастание мегаспорангиев в тазах, хранившихся в высушенном состоянии (независимо от условий освещения и температуры), началось на 15–30 дней позже, то есть в период с 31 мая по 15 июня. В начале этого же периода (с 31 мая по 5 июня) отмечено появление женских гаметофитов в тазах, зимовавших при температуре -18°C в воде. На 30 дней позже установлено прорастание особей *S. natans* при комбинации «комнатная температура – вода».

Что касается количества выросших новых растений *S. natans* в каждом тазу, то наиболее успешными условиями зимнего хранения можно считать варианты «вода – свет – естественная температура» и «вода – $+5^{\circ}\text{C}$ », так как в пяти из шести тазов выросло по несколько сотен особей. Также благоприятным можно считать вариант «сухо – темно – естественная температура», где в трех тазах прорастание началось на две недели позднее, но тем не менее образовалось от 79 до 456 особей исследуемого вида. При -18°C удовлетворительным представляется хранение только в сухом состоянии, так как сроки прорастания в этом случае были раньше на 10 дней в сравнении с хранением в воде, а количество новых растений составило от 10 до 124 (в варианте с водой от 4 до 10).

Хранение спорангиев *S. natans* при комнатной температуре в условиях «свет – сухо» привело к лучшему прорастанию (суммарно 246 особей в трех тазах), чем при остальных сочетаниях факторов освещения и обводненности (50, 141 и 168 особей суммарно в трех тазах на каждую комбинацию факторов). Кроме того, нами обнаружено, что в условиях «комнатная температура – свет – вода» небольшая часть мегаспорангиев проросла еще осенью 2019 г., женские гаметофиты оплодотворились, началось развитие проростков спорофитов.

Суммарный анализ времени прорастания мегаспорангиев *Salvinia natans* и количества развивающихся из них новых особей показал, что хранение споровой продукции успешнее происходило в воде, чем в высушенном состоянии. На активизацию сухих спорангиев после их попадания в воду уходило от двух недель до месяца. Однозначного влияния хранения в условиях темноты или при естественном освещении не обнаружено. Из всех температурных режимов наиболее благоприятными оказались естественные температуры и стратификация при $+5^{\circ}\text{C}$. Долгое промораживание при -18°C в обводненном состоянии оказало негативное воздействие на воспроизводство вида, что, по-видимому, связано с нарушением жизнеспособности спорангиев при их резком замерзании без предварительного обезвоживания.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что воспроизводство вида *Salvinia natans* успешно происходит при естественном сочетании абиотических факторов среды – постепенно изменяющейся температуре с зимним промораживанием, природном освещении и нахождении спорангиев в воде. Сохранение спорангиев также благоприятно при стратификации в стабильно низких положительных температурах (+5 °C) в обводненном состоянии. Удовлетворительным вариантом хранения следует признать комбинацию «естественная температура – темно – сухо», хотя прорастание спорангиев было несколько отсрочено по сравнению с двумя предыдущими вариантами. Хранение при комнатной температуре и четырехмесячное промораживание при –18 °C можно рекомендовать в сухом состоянии, однако прорастание отсроченное и количество появившихся растений не велико. Условия «комнатная температура – свет – вода» нельзя признать удачными для сохранения споровой продукции из-за возможности развития новых растений без периода покоя.

Таким образом, споры *S. natans*, по-видимому, не нуждаются в периоде покоя, и развитие нового поколения из спор может происходить круглый год, однако в природных условиях этого обычно не наблюдается в связи с осенне-зимним похолоданием, и покой спор относится к вынужденному покою. Вместе с тем появление намного большего количества молодых особей после стратификации в воде при низких положительных температурах, а также после постепенного замораживания с последующим постепенным оттаиванием в естественных температурах в обводненном состоянии говорит о наличии адаптивного биоритма у изучаемого вида в сезонном климате с низкими зимними температурами и теплым летом. Следовательно, можно признать, что результаты А. Gałka, J. Szmeja, (2012) более достоверны, и для развития нового поколения *S. natans* зимовка не обязательна. Однако есть и подтверждение данным А. Schwarzer (2005), так как большинство спорангиев *S. natans* ожидает естественного сезонного охлаждения и (или) промораживания, не прорастая при благоприятных для этого положительных температурах в осенне-зимний период, что подстраивает ритм сезонного развития вида под годовой ритм изменения температуры окружающей среды в исследованных частях ареала.

Благодарности. Выражаем благодарности С. А. Барабанщикову за всестороннюю помощь в осуществлении этого исследования, доценту кафедры ботаники, биологии экосистем и природных ресурсов Астраханского государственного университета С. Р. Кособоковой за помощь в нахождении точек произрастания *Salvinia natans* в Астраханской области и приют во время экспедиций, д. б. н., профессору кафедры ботаники МПГУ Н. И. Шориной за бесконечную поддержку, научные консультации и советы.

ЛИТЕРАТУРА

- Арнаутова Е. М.** Развитие и строение гаметофитов *Coniogramme intermedia*, *Anogramma leptophylla* (Pteridaceae) // Бот. журн., 1998. – Т. 83, №12. – С. 71–76.
- Арнаутова Е. М.** Гаметофиты равноспоровых папоротников – СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2008. – 456 с.
- Папченков В. Г.** О классификации растений водоемов и водотоков // Гидрботаника: методология, методы. Материалы Школы по гидрботанике (п. Борок, 8–12 апреля 2003 г.). – Рыбинск, 2003. – С. 23–27.
- Щербаков А. В.** Сальвиния плавающая // Красная книга Московской области (издание второе, дополн. и перераб.). – М.: Тов.-во науч. изд. КМК, 2008. – 838 с.
- Dyer A. F.** The experimental biology of ferns. – London, Academic Press, 1979. – P. 253–305.
- Gałka A., Szmeja J.** Phenology of the aquatic fern *Salvinia natans* (L.) All. in the Vistula Delta in the context of climate warming // Limnologica, 2013. – Vol. 43. – P. 100–105. DOI: 10.1016/j.limno.2012.07.001
- Lindsay S., Williams N., Dyer A. F.** Wet storage of fern spores: unconventional but far more effective! // Fern horticulture: Past, present and future perspective. Proc. Intern. Symp. – London, 1992. – P. 285–294.
- Pence V. S.** Survival of chlorophyllous and non-chlorophyllous fern spores through exposure to liquid nitrogen // Amer. Fern Journ., 2000. – Vol. 90, № 4. – P. 119–126.
- Ranai M. A.** Effects of Temperature on Spore Germination in Some Fern Species from semideciduous Mesophytic Forest // Americ. Fern Journ., 1999. – Vol. 89 – P. 149–158.
- Schwarzer A.** Der Schwimmpfarn (*Salvinia natans*) in Altgewässern des rheinland-pfälzischen Oberrheingebietes // Unveröff. Gutachten im Auftrag des Ministeriums für Umwelt und Forsten Rheinland-Pfalz. – Mainz, 2005. – 79 S.
- Windham M. D., Haufler C. H.** Biosystematic Uses of Fern Gametophytes Derived from Herbarium Specimens // Amer. Fern Journ., 1986. – Vol. 76, № 3. – P. 114–128.