



МОРФОТИПЫ СЕЯНЦЕВ *DACTYLORHIZA INCARNATA* (L.) SOÓ (ORCHIDACEAE) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Андрей В. Сидоров * и Олег А. Маракаев

Аннотация. Для *Dactylorhiza incarnata* в культуре *in vitro* выделено несколько морфотипов сеянцев, установлены их линейные характеристики и морфологические особенности. Показана неравномерность роста и развития сеянцев, а также зависимость их параметров от расположения и степени контакта с питательной средой.

Ключевые слова: *Dactylorhiza incarnata*, морфотипы, сеянец, культура *in vitro*

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, ул. Советская, 14, Ярославль, 150000, Россия;

* sidan43@yandex.ru

Введение

Для оптимизации условий выращивания орхидных умеренных широт в культуре *in vitro* необходимы данные, характеризующие их морфофизиологические параметры. Особенно важно изучение ранних этапов онтогенеза орхидных, поскольку именно они определяют темпы роста, процессы гисто- и органогенеза, что в итоге сказывается на стратегии развития особи, ее состоянии во взрослом состоянии (мощности, степени развития, устойчивости и др.).

В настоящее время начальные этапы роста и развития орхидных умеренных широт в культуре *in vitro* исследованы недостаточно. В работах приводятся данные о специфике формирования их сеянцев на ранних этапах развития (Батыгина 1983; Андропова 1988; Яковсоне 2008), всхожести и прорастании семян на разных питательных средах (Куликов и Филиппов 1991; Девелжак *et al.* 2002), поливариантности стадий онтоморфогенеза *in vitro* (Широков *и др.* 2011). Однако, детальные сведения о морфофизиологических параметрах орхидных в культуре *in vitro* отсутствуют. Это во многом связано с методическими трудностями их культивирования, отсутствием методов исследования, адаптированных к нетрадиционному объекту, и т.п.

Целью работы была характеристика морфологических особенностей сеянцев одного из представителей семейства Orchidaceae – пальчатокоренника мясокрасного (*Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó) на начальном этапе культивирования *in vitro*. Этот вид является достаточно редким, его численность

в естественных местообитаниях сокращается, он включен во многие региональные Красные книги, требует охраны и может считаться перспективным для интродукции (Куликов и Филиппов 1991, 1996, 1998; Вахрамеева 2000). Использование *D. incarnata* в качестве модельного объекта для нашего исследования целесообразно, поскольку до настоящего времени сведения о его морфологических особенностях в культуре *in vitro* отсутствуют.

Материалы и методы исследований

Для посева использовали незрелые семена *D. incarnata*, которые собирали с разных экземпляров в 2009 и 2011 гг. Семена в коробочках слегка слипались друг с другом, имели белую окраску с бежевым оттенком. Посевы проводили в ламинарном боксе на питательную среду Кнудсона с активированным углем, гуматом натрия и микроэлементами (Черевченко и Кушнир 1986; Широков *и др.* 2005). Неповрежденные коробочки стерилизовали в течение 15 минут в 20% растворе хлорамина, с последующей четырехкратной промывкой в стерильной дистиллированной воде. Плоды раскрывали стерильными инструментами над питательной средой и равномерно распределяли семена по ее поверхности. Культивирование сеянцев проводили в темноте при температуре 22-24°C. Через 4-8 месяцев у них определяли форму, структурные особенности и линейные размеры. В таблицах приведены средние арифметические величины, ошибки средних и коэффициенты вариаций выявленных параметров. При оценке различий между

Табл. 1. Морфометрические параметры сеянцев *Dactylorhiza incarnata* в культуре *in vitro*.

Table 1. Morphometric parameters of *Dactylorhiza incarnata* seedlings *in vitro*.

Морфотип	Длина		Ширина	
	мм	Cv, %	мм	Cv, %
Каплевидный	2,6 ± 0,32	36	1,4 ± 0,21	27
Шаровидный	1,1 ± 0,17	27	0,5 ± 0,08	20

вариантами использовали критерий Стьюдента, считая достоверными различия при уровне доверительной вероятности 0,95.

Результаты и их обсуждение

Сеянцы *D. incarnata*, исследованные в работе, представляли собой бесхлорофильные образования различных форм. Их количество и соотношение в разных посевах было неодинаковым. В 2009 году среди сеянцев было выделено четыре морфологических типа – каплевидные, шаровидные, веретеновидные и эллипсовидные, соотношение которых составляло 3:2:2:1. В 2011 году были выявлены сеянцы каплевидного и шаровидного морфотипов (в соотношении 3:2), веретеновидные и эллипсовидные отсутствовали. Отмечено, что сеянцы каплевидной формы располагались одиночно и закреплялись в питательной среде всасывающими волосками. Шаровидные формировались в скученных группах, их всасывающие волоски часто не достигали поверхности среды.

Данные по морфометрическим параметрам сеянцев *D. incarnata* каплевидных и шаровидных морфотипов, преобладающих по количеству, представлены в Табл. 1. Наибольшие размеры свойственны для сеянцев каплевидной формы. Их длина превышает соответствующий показатель для шаровидных на 1,5 мм, а ширина – на 0,9 мм. Коэффициент вариации для длины сеянцев составляет 27-36% и является более варибельным признаком по сравнению с шириной. У каплевидных сеянцев коэффициент вариации морфометрических параметров выше по сравнению с шаровидными.

Установлено, что сеянцы *D. incarnata* независимо от принадлежности к морфотипу имеют всасывающие волоски. Они становятся хорошо различимы со 2-го месяца культивирования, когда количество

сеянцев с волосками может составлять около 10%. Эти результаты согласуются с работой Г. ЯКОВСОНЕ (2008), в которой показано появление всасывающих волосков у сеянцев *D. fuchsii* (Druce) Soó на третий месяц их выращивания. Характеристика всасывающих волосков *D. incarnata* приведена в Табл. 2. Их количество меняется от 8 до 14 и больше у сеянцев каплевидной формы. Для них же этот признак является наиболее варибельным. Длина всасывающих волосков у каплевидных сеянцев больше, чем у шаровидных. Их диаметр составляет 28-29 мкм и достоверно не различается у сеянцев разных морфотипов. Выявлено, что образование волосков у сеянцев, пересаженных на свежую питательную среду, происходит в среднем через 7-10 дней.

Для сеянцев *D. incarnata* каплевидной формы характерно наличие почки в виде бугорка на апикальной части, что одновременно с наибольшими размерами и преобладанием числа всасывающих волосков свидетельствует о более высоких темпах их роста и развития.

Выводы

Выявленные различия сеянцев *D. incarnata* по форме, линейным размерам и структурным параметрам могут быть связаны с генетической неоднородностью семян, собранных в разные сезоны. Эти особенности, по-видимому, определяют физиологические процессы, сказываются на формировании сеянцев и демонстрируют адаптационные способности вида. Дальнейшие исследования начальных этапов роста и развития орхидных в культуре *in vitro* должны способствовать разработке и оптимизации методов их сохранения.

Цитируемые источники

- Андропова Е.В. 1988. Эмбриогенез и постсеменное развитие орхидных (на примере *Dactylorhiza baltica*, *D. incarnata*, *Thunia marshalliana*, *Bletilla triata*). Автореф. дис. канд. биол. наук. Ленинград.
- Батыгина Т.Б. 1983. Развитие зародыша и проростка некоторых орхидных. *Охрана и культивирование орхидей* (Тез. докл. II всесоюз. совещ. Киев, май 1983 г.): 38–40.
- ВАХРАМЕЕВА М.Г. 2000. Род Пальчатокоренник. В: Павлов В.Н. (ред.). Биологическая флора Московской области 14: 55–86. Гриф и К, Москва.
- Куликов П.В. и Филиппов Е.Г. 1991. Прорастание семян и развитие проростков *in vitro* у некоторых орхидных умеренной зоны. В: Мамаев С.А. и Семкина Л.А. (ред.). Экология и интродукция растений на Урале: 39–43.

Табл. 2. Характеристика всасывающих волосков сеянцев *Dactylorhiza incarnata* в культуре *in vitro*.

Table 2. Characteristics of absorptive hairs of *Dactylorhiza incarnata* seedlings *in vitro*.

Морфотип	Количество		Длина		Диаметр	
	шт	Сv, %	мм	Сv, %	мкм	Сv, %
Каплевидный	14 ± 0,7	57	5,3 ± 1,14	32	27,9 ± 1,54	4
Шаровидный	8 ± 0,5	49	3,9 ± 0,93	25	28,5 ± 1,62	4

- Академия наук СССР, Уральское отд-ние, Екатеринбург.
- Куликов П.В. и Филиппов Е.Г. 1996.** Семенное и микрклональное размножение *in vitro* как метод сохранения генофонда орхидных умеренной зоны. *Консервация генетических ресурсов (Матер. XIV рабоч. совещ., Пуцино):* 137–139.
- Куликов П.В. и Филиппов Е.Г. 1998.** О методах размножения орхидных умеренной зоны в культуре *in vitro*. *Бюл. ГБС* 176:125–131.
- Черевченко Т.М. и Кушнир Г.П. 1986.** Орхидеи в культуре. Наук. думка, Киев.
- Широков А.И., Коломейцева Г.Л., Буров А.В., Каменева Е.В. 2005.** Культивирование орхидей европейской России. Центр реинтродукции редких видов и растительных сообществ, Нижний Новгород.
- Широков А.И., Крюков В.В., Сырова Г.Л., Коломейцева Г.Л. 2011.** Поливариантность начальных стадий онтоморфогенеза тубероидных орхидей *in vitro*. *Охрана и культивирование орхидей (Материалы IX Международной конференции):* 486–492.
- DEBELJAK N., REGVAR M., DIXON K.W., SIVASITHAMPARAM K. 2002.** Induction of tuberisation *in vitro* with jasmonic acid and sucrose in an Australian terrestrial orchid, *Pterostylis sanguinea*. *Plant Growth Regulation* 36: 253–260.
- ЯКОВСОНЕ G. 2008.** Morphogenesis of wild orchid *Dactylorhiza fuchsia* in tissue culture. *Acta Universitatis Latviensis* 745: 17–23.

MORPHOTYPES OF *DACTYLORHIZA INCARNATA* (L.) SOÓ (ORCHIDACEAE) SEEDLINGS *IN VITRO*

ANDREY V. SIDOROV * & OLEG A. MARAKAEV

Abstract. The morphotypes, linear parameters and morphological features for *Dactylorhiza incarnata* seedlings *in vitro* have been set. The uneven growth and development of seedlings in depending from the location and degree of contact with the medium have been identified.

Key words: *Dactylorhiza incarnata*, morphotypes, seedling, culture *in vitro*

Yaroslavl state university P.G. Demidova, Sovetskaya Str., 14, Yaroslavl, 150000, Russia; * sidan43@yandex.ru