

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.4=582.594.2
doi: 10.17581/bbgi1817

РАЗВИТИЕ ПРОТОКОРМА *OREORCHIS PATENS* (ORCHIDACEAE) *IN VITRO*

© Ю.Е. Сабуцкий^{1,2}, О.Д. Демина³, А.С. Бердасова¹, А.В. Салохин¹

¹Ботанический сад-институт ДВО РАН

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

³Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук

Аннотация: Изучена начальная стадия онтогенеза *Oreorchis patens*. Определены оптимальные условия для проращивания семян *in vitro*. Выявлены временные промежутки образования ортотропных побегов и образования коралловидной формы у протокормов.

Ключевые слова: Orchidaceae, *Oreorchis patens*, *in vitro*, семенное размножение

В настоящее время начальные этапы развития видов сем. *Orchidaceae* умеренных широт исследованы сравнительно слабо. Недостаточно данных о культивировании в условиях *in vitro*, о развитии протокорма, о морфофизиологических параметрах. 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.

Род *Oreorchis* Lindl. объединяет по разным источникам от 10 до 12 видов, распространенных в Азии, (Вышин, 1996; Xinqi, 2009; <http://www.orchidspecies.com/indexor.htm>, 2017). На Российском Дальнем Востоке род представлен только одним видом *Oreorchis patens* (Lindl.) Lindl., ареал которого приурочен к Восточноазиатской области Голарктического флористического царства и охватывает территории Японии, Китая и российского Дальнего Востока (Еврейская автономная область, юго-восток Амурской области и Сахалинская область (южные о-ва Курильской гряды), Хабаровский и Приморский края) (Вышин, 1996; Горовой и др., 2010). Вид занесен в региональные Красные книги (Красная книга Еврейской автономной области, 2006; Красная книга Хабаровского края, 2008; Красная книга Амурской области, 2009).

Онтогенез и ритмы сезонного развития *O. patens* были изучены непосредственно в природных популяциях. Протокормы обнаруживались разной формы. В природе развитие особи проходит в течение 20 лет. Цветение наступает на 10 год жизни. При этом, *O. patens* часто переходит в состояние вторичного покоя и находится в почве в виде отдельных клубнелуковиц с несколькими корнями. Семена *O. patens* мелкие, в одной коробочке их примерно 3–4 тысячи. Вегетативное размножение происходит с помощью образования боковых побегов из спящих почек на клубнелуковицах. Генеративные и взрослые вегетативные растения чаще размножаются вегетативно (Ракова, 1992; Татаренко, 1996; Варлыгина, 2014).

Для посева использовали зрелые семена *O. patens* (Приморский край, о. Русский, 14.09.2016, собрали Салохин А.В., Дудкин Р.В.). Перед стерилизацией семена вакуумировали в 0,1 % растворе Tween 80, с целью облегчения проникновения воды внутрь семян и стимуляции прорастания. Семена стерилизовали в течение 20 минут в 1 % растворе нитрата серебра с последующей промывкой 1 % раствором хлорида натрия. Посев семян проводили в стерильном ламинарном шкафу на стерилизованную в автоклаве среду BM2 (Van Waes & Deberg, дополненную 0,2 мг/л 6-бензил-аминопурина). Семена равномерно распределяли по поверхности среды, после чего колбы с посевами запечатывали фольгой. Культивирование сеянцев проводили в климатической камере KBF 720, в темноте при 17°C. Прорастание наблюдали спустя 3,5 месяца после посадки. Образовавшиеся протокормы переносили в чашку Петри с дистиллированной водой и фотографировали при помощи стереоскопа Stemi 2000C и программы AxioVision. Работа была выполнена на уникальной

научной установке «Коллекция живых растений *in vitro* Ботанического сада-института ДВО РАН» и в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Микротехническая лаборатория» Ботанического сада-института ДВО РАН.

Ранее были проведены исследования по изучению оптимальной среды (Harvais) для проращивания семян *O. patens* и адаптации при пересадке на нестерильный субстрат, также было изучено влияние гипохлорита натрия (NaOCl) и спектр света (светодиодных ламп LED) на набухание эмбриона и прорастание семян. Было обнаружено, что обработка NaOCl незрелых семян значительно увеличивает набухание эмбрионов и образования протокорма. Наиболее подходящим светом для прорастания семени и образование протокорма был красный свет (LED) (Коновалова и др., 2007; Bae et al., 2014). Нами впервые исследованы начальные этапы онтогенеза на стадии протокорма и образования ортотропного побега. Семена *O. patens* в культуре *in vitro* прорастали неравномерно. Первые сеянцы появились на 105 сутки культивирования. Начальные этапы роста и развития растений характеризовались высокой интенсивностью большинства физиологических процессов. Так, образование всасывающих волосков сопровождалось активным ростом сеянцев. Образовавшиеся протокормы представляли собой бесхлорофилльные структуры каплевидной формы. Сеянцы располагались одиночно и закреплялись в питательной среде всасывающими волосками. Дальнейшее развитие связано с образованием апикальной почки, ее формирование происходило на 120 сутки. Образование ортотропного побега отмечалось на 130 сутки. Размеры тела сеянцев с ортотропным побегом увеличивались в длину, на этой фазе развития у сеянцев уменьшалось количество всасывающих волосков. На 150 сутки протокормы приобрели коралловидную форму. В условиях без освещения образовывались коралловидные протокормы, которые аналогичны протокормам растений в природных условиях (Татаренко, 1996). При подобранных условиях каждый протокорм способен сформироваться за 5-месячный экспериментальный период.

Продолжение данного исследования должно способствовать оптимизации условий культивирования орхидных *in vitro*, для успешной интродукции и реинтродукции для сохранения уникального генофонда растений Восточной Азии и восстановления исчезающих популяций.

Литература

- Вышин И.Б. Сем Ятрышниковые, орхидные – Orchidaceae // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. – СПб.: Наука, 1996. Т. 8. – С. 301–339.
- Горовой П.Г., Салохин А.В., Дудкин Р.В., Гавриленко И.Г. Орхидные (Orchidaceae) Дальнего Востока: таксономия, химический состав, возможности охраны и использования (обзор) // Turczaninowia. 2010. – Т.13. – №4. – С. 32 – 44.
- Красная книга Еврейской автономной области. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных, растений и грибов. – Новосибирск: АРГА, 2006. – 248 с.
- Красная книга Хабаровского края. – Хабаровск: Приамурские ведомости, 2008. – 632 с.
- Красная книга Амурской области. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных, растений и грибов. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2009. – 446 с.
- Коновалова Т.Ю., Шевырева Н.А. Интродукция и асимбиотическое размножение *in vitro* кремастры изменчивой (*Cremastra variabilis*) и ореорхиса раскидистого (*Oreorchis patens*) // Вестник ТвГУ. Серия: Биология и экология. 2007. – Вып. 3. – С. 203–206.
- Ракова М.В. Биология редких видов растений заповедника «Кедровая падь». – Владивосток, 1992. – 175 с.
- Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. – М.: Аргус, 1996. – 206 с.
- Варлыгина Т.И., Вахрамеева М.Г., Татаренко И.В. Орхидные России (биологи, экология и охрана). – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 437 с.
- Kee Hwa Bae, Kyoung Hee Oh, Soo-Young Kim Sodium hypochlorite treatment and light-emitting diode (LED) irradiation effect on *in vitro* germination of *Oreorchis patens* (Lindl.) Lindl. // J Plant Biotechnol, 2014. – №41. – P. 44–49.
- Xinqi Ch., Cribb P.J., Gale S. W. *Oreorchis* Lindley // Flora of China / Eds. by Z.Y. Wu, P.H. Raven & D.Y. Hong. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2009. – Vol. 25. – P. 245–248.
- <http://www.orchidspecies.com/indexor.htm>, 2017

GROWTH OF PROTOCOM *OREORCHIS PATENS* (ORCHIDACEAE) *IN VITRO*

Yu.E. Sabutskiy^{1,2}, O.D. Demina³, A.S. Berdasova¹, A.V. Salokhin¹

¹Botanical garden–institute Vladivostok, Russia

²G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEBRAS

³Far Eastern Federal University

The initial stage of ontogenesis of *Oreorchis patens* was studied. Optimal conditions for seed germination *in vitro* were determined. The time intervals for the formation of orthotropic shoots and the formation of a coral shape of protocorms were revealed.

Key words: Orchidaceae, *Oreorchis patens*, *in vitro*, seed reproduction.

Bibl. 12