

Е. А. Шейко<sup>1</sup>, к.б.н., доцент

Д. М. Сытник<sup>2</sup>, к.б.н., старший научный сотрудник

<sup>1</sup>Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии,

бул. Ленина, 5/7, Симферополь, 295051, Республика Крым

<sup>2</sup>Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, Биотехнологический научно-учебный центр,

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, sytnikov@list.ru

### ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕТЕРОСПЕРМИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ

Представлены результаты сравнительного исследования особенностей строения семян орхидей (семейство *Orchidaceae*) отечественной флоры: *Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch., *Epipactis palustris* (L.) Crantz, *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo. s.l., *Anacamptis coriophora* (L.) R. M. Bateman. Выявлена значительная гетерогенность семян изученных видов. Морфологический анализ установил, что на момент диссеминации большая часть изученных семян орхидей была нежизнеспособной. Виды орхидей с наибольшей долей жизнеспособных семян с крупными зародышами (*D. incarnata* и *C. longifolia*) рассматриваются как перспективные реинтродукторы. Результаты исследований могут послужить вкладом в научно-практические разработки, направленные на создание резервных генетических коллекций в ботанических садах и на заповедных территориях, а также на восстановление численности естественных популяций редких и исчезающих видов.

**Ключевые слова:** *Orchidaceae*; гетероспермия; семенное размножение; жизнеспособность семян; реинтродукция.

Семейство Орхидные или Ятрышниковые (*Orchidaceae* Juss.) является одной из крупнейших групп однодольных растений на Земле. Его представители распространены на всех континентах, за исключением Антарктики [6; 27]. Наибольшее разнообразие орхидных представлено в тропической и субтропической зонах Восточной Азии, а также Центральной и Южной Америки. Именно эти регионы по праву считаются родиной большинства видов орхидей [9]. Представители семейства *Orchidaceae* включены в Красную книгу Украины (68 видов из 29 родов) [17] и Крыма (45 видов из 20 родов) [13].

Семейство *Orchidaceae* имеет множество особенностей, отличающих его от других групп покрытосеменных. Одной из них является способность к образованию большого количества мелких семян с редуцированным зародышем [7; 20]. Типичное семя орхидных состоит из яйцевидного или эллипсоидно-

го зародыша, окруженного плёнчатой, зачастую почти прозрачной, семенной оболочкой или тестой, образуемой тонкостенными клетками эпидермы [5; 6; 23–26]. Наиболее обстоятельное исследование структуры семенной оболочки орхидных было предпринято немецким ботаником В. Ziegler в конце 70-х – в начале 80-х годов XX века, однако результаты диссертационных исследований этого учёного остались неопубликованными. R. Dressler в своей работе «Phylogeny and classification of the orchid family» [27], обобщив данные исследований В. Ziegler и W. Barthlott [21; 22], предложил выделить 21 тип и 3 варианта семян орхидных. При этом в основу определения типов были положены размер семени, его окраска, форма клеток и характер их расположения, наличие утолщений на периклинальных и антиклинальных стенках [4; 5].

Целью настоящей работы явилось сравнительно-морфологическое исследование особенностей строения семян отдельных видов *Orchidaceae* из различных подсемейств, произрастающих на территории материковой Украины и Крыма.

Особенности строения семенной оболочки, как и поверхность любого органа, который непосредственно контактирует с окружающей средой, может содержать информацию о характере морфологической адаптации вида к конкретным условиям. В свою очередь, это может непосредственно свидетельствовать об экологических особенностях мест естественного произрастания того или иного вида орхидных и о его принадлежности к определенному экологическому типу [4; 19; 28].

Существующая классификация типов семян орхидей (Dressler, 1993) не всегда дает возможность однозначно отнести семена к конкретному типу, что свидетельствует о необходимости дальнейшего исследования микроморфологических особенностей семенной оболочки, а также их критического анализа. Данное направление исследований также важно для создания резервных генетических коллекций в ботанических садах, на заповедных территориях и для восстановления численности естественных популяций редких или исчезающих видов.

#### **Материалы и методы исследования**

Исследовали следующие виды семейства *Orchidaceae*: короткокорневищные – *Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch., *Epipactis palustris* (L.) Crantz, вегетативные однолетники с пальчато-раздельным стеблекорневым тубероидом – *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo. s.l., и сферическим стеблекорневым тубероидом на укороченном столоне – *Anacamptis coriophora* (L.) R.M. Bateman (рис. 1) [13; 17].

*Anacamptis coriophora* (L.) R.M. Bateman (ятрышник клопоносный) – геофит. Многолетнее травянистое растение высотой 15–35 см. Клубни шарообразные или продолговатые. Стебель цилиндрический или несколько гранёный, покрыт листьями почти до соцветия. Листья линейные или линейно-ланцетные, за-

стрённые, направлены вверх. Соцветия колосообразные, многоцветные, достаточно густые. Цветки мелкие, коричневато-пурпурные, с неприятным запахом клопов. Губа трехлопастная, средняя лопасть вытянута, боковые – закруглены. Цветение в мае–июле, плодоношение – в июле–августе. Размножается семенами. Степень естественного возобновления неизвестна.



Рис. 1. Внешний вид орхидей: А – *Anacamptis coriophora*; Б – *Cephalanthera longifolia*; В – *Dactylorhiza incarnata*; Г – *Epipactis palustris*

Нуждается в режиме абсолютной заповедности и заказности. Внесён в перечень CITES. Охраняется в Карпатском и Черноморском биосферных заповедниках, Днепровско-Орельском, Каневском и Ялтинском горно-лесном природных заповедниках, а также в природном заповеднике «Мыс Мартьян» и в национальном природном парке «Святые горы». Запрещена заготовка растений и нарушение условий мест их произрастания [15–17].

*Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch. (пыльцеголовник длиннолистный) – ге-офит. Многолетнее травянистое растение высотой 15–60 см. Корневище короткое. Стебель прямой или несколько извитой. Листья линейно-ланцетные, заостренные, длиной 7–16 см. Соцветия не густые, из 3–10 (20) крупных белых цветков. Прицветники короткие, нижние из которых длиннее завязи. Внешние листки околоцветника ланцетовидные (12–16 мм), внутренние – продольно-эллиптические, короче внешних. Губа почти вдвое короче внешних листков околоцветника. Завязь скрученная, сидячая, длиной до 1 см. Цветение в мае–июне, плодоношение – в июле–августе. Размножается семенами и вегетативно. Охраняется в Карпатском биосферном заповеднике; Каневском, Карадагском, Крымском, Ровненском и Ялтинском горно-лесном природных заповедниках, а также в природных заповедниках «Мыс Мартьян» и «Расточье». Кроме того, охраняется в Выжницком, Карпатском, Ужанском, Шацком и Яворовском национальных природных парках, а также в аналогичных природных парках – «Подольские Товтры», «Святые горы», «Синеvir» и «Сколеvские Бескиды».

Контроль по состоянию популяций. Запрещена заготовка растений и сплошная рубка лесов [15–17].

*Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo. s.l. (пальчатокоренник мясо-красный) – геофит. Многолетнее травянистое растение, 20–60 см высотой. Клубни 2–4-раздельные. Стебель толстый, покрытый листьями до соцветия. Листья (4–6) ланцетные, длиной 15–20 см. Соцветие – густой колос. Прицветники ланцетные, пурпурные. Цветки сиренево-розовые или красные (реже – почти белые), листочки околоцветника яйцевидно-удлиненные, 5–8 мм; средний листочек внешнего круга с капюшоновидно-изогнутой верхушкой. Губа ромбообразная, неотчётливо трилопастная с пурпурно-фиолетовым рисунком, по краям мелкозубчатая. Цветение в мае–июле, плодоношение – в августе–октябре. Размножается семенами или ризореституционным путём. Внесён в Приложение II СИТЕС. Охраняется в Дунайском и Карпатском биосферных заповедниках; Крымском, Ровненском, Черемском и Ялтинском горно-лесном природных заповедниках, а также в природных заповедниках «Мыс Мартьян» и «Расточье». Кроме того, охраняется в Деснянско-Старогутском, Карпатском, Мезинском и Шацком национальных природных парках, а также в аналогичных природных парках – «Гомольшанские леса», «Подольские Товтры», «Синевир» и «Сколевские Бескиды». Контроль по состоянию популяций. Запрещены мелиоративные работы, выпас скота и заготовка растений [15–17].

*Epipactis palustris* (L.) Crantz (дремлик болотный) – гемикриптофит. Многолетнее травянистое растение, высота от 30 см до одного метра. Корневище короткое. Листья (4–10) от яйцевидных до ланцетовидных. Цветки (12–50) зеленовато-пурпурные, в густой кисти. Прицветники ланцетовидные. Внешние листочки околоцветника яйцевидно-ланцетовидные, 10–13 мм, внутренние – короче и шире. Губа короче других листочков околоцветника. Завязь слабо опушена. Цветение в июне–сентябре. Плодоношение – июль–октябрь. Размножается семенами и корневищем. Внесён в Приложение II СИТЕС. Охраняется в Карпатском биосферном заповеднике; Каневском, Карадагском, Крымском, Полесском, Ровненском, Черемском и Ялтинском горно-лесном природных заповедниках, а также в природных заповедниках – «Медоборы», «Мыс Мартьян» и «Расточье». Кроме того, охраняется в Вижницком, Деснянско-Старогутском, Карпатском, Мезинском, Ужанском и Шацком национальных природных парках, а также в аналогичных природных парках – «Гомольшанские леса», «Подольские Товтры», «Святые горы», «Синевир», «Сколевские Бескиды» и на других природно-заповедных территориях. Ведётся контроль за популяциями. Запрещена заготовка растений и нарушение экотипов [15–17].

Исследования проводились в популяциях *Anacamptis coriophora*, *Epipactis palustris* в предгорной части лесного пояса Карпат, а также в популяциях *Dactylorhiza incarnata*, *Cephalanthera longifolia* в предгорной лесостепи Крыма. Коробочки собирали из средней части соцветия до вскрытия, чтобы избежать потерь семян. Исследования проводили на пяти–десяти коробочках,

изолированных из средней части соцветия, семи–десяти отдельных растений в пределах популяции каждого из исследуемых видов. Материал хранили в бумажных пакетах в течение одного месяца при температуре +5 °С.

Для проведения *морфологического анализа* семена при помощи двусторонней клейкой ленты размещали на металлических предметных столиках, затем покрывали слоем золота в ионном напылителе ION Sputer JFC-1100 (JEOL, Япония) для придания образцам проводимости и изучали на сканирующем электронном микроскопе JSM-6060 LA (JEOL, Япония).

*Размеры структур* на полученных микрофотографиях определяли с помощью программы UTHSCSA Image Tool 3.0, используя заданную прибором на изображении линейку-шкалу. В выборке каждого образца исследовали 50–200 семян.

*Морфометрические параметры* семян определяли в соответствии со среднестатистическими размерами жизнеспособных семян для определенного вида орхидей. Анализировали длину и ширину семян и зародышей, соотношение длины и ширины семян и зародышей (*индекс семян* – ИС и *индекс зародыша* – ИЗ), а также *относительный размер зародыша* (ОРЗ), определяемый путём деления длины семян на длину зародыша.

В понятие гетерогенности семян включали следующие параметры: тип семян (по размеру и форме семян, по форме клеток и характеру их расположения, по наличию утолщений на периклиналильных и антиклиналильных стенках); индекс семян; индекс зародыша; относительный размер зародыша; количество семян с зародышем от общего числа семян.

*Статистическую обработку* проводили при помощи программ Excel пакета Microsoft Office 2007 и Statistica 7. Достоверность разницы размера зародышей и семян оценивали по критерию Стьюдента, используя 5 % уровень значимости ( $P \leq 0,05$ ).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Во всех исследованных популяциях орхидей отмечена высокая степень варьирования показателей репродуктивных органов (табл. 1). Так, у *D. incarnata* соцветие в среднем состоит из 25 цветков, тогда как у *C. longifolia* – из 9. Известно, что представителей семейства *Orchidaceae* Juss. отличает большое разнообразие строения генеративных органов. По мнению многих исследователей, орхидные находятся на стадии активной эволюции [8; 12; 18]. В основном это касается генеративной сферы растений. Вариации в строении генеративных органов часто наблюдаются даже среди особей одного вида и рода. Вегетативные же органы отличаются большей стабильностью, сложившейся генетически в процессе эволюции.

Интенсивность плодообразования у исследованных видов орхидей неодинакова и зависит от климатических условий в период цветения, численности насекомых-опылителей и т.д. Эффективность плодообразования у всех видов

орхидных достаточно высока, особенно у видов, способных к самоопылению, а также у высокоспециализированных энтомофилов. Аллогамная система скрещивания и обманная аттракция опылителей обуславливают зависимость успешной репродукции от многих факторов, которые влияют на активность опылителей (погодные условия, наличие поблизости популяции орхидеи кормового растения и т.д.) и от степени морфологического соответствия опылителей цветку [10; 11].

Таблица 1

**Количество цветков и процент плодообразования у некоторых представителей орхидных**

Вид	Год изучения	Среднее количество цветков	Среднее количество плодов	Средний процент завязывания плодов
<i>Anacamptis coriophora</i>	2014	20,76±2,00	9,45±0,03	45,52±2,23
	2015	18,00±1,39	10,94±0,07*	60,78±1,09*
	2016	23,41±1,09	15,39±1,12*	65,74±2,20*
<i>Cephalanthera longifolia</i>	2014	9,22±0,06	4,78±0,01	51,84±1,57
	2015	8,48±1,01	5,67±0,08*	66,86±4,12*
	2016	10,12±0,09*	7,22±0,01*	71,34±3,78*
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	2014	27,13±1,67	12,00±0,07	44,23±2,94
	2015	19,74±2,39*	16,58±1,10*	83,99±3,93*
	2016	28,11±1,38	18,93±1,42*	67,34±3,10*
<i>Epipactis palustris</i>	2014	30,44±2,55	18,65±1,99	61,27±3,22
	2015	22,39±1,99*	10,11±2,2*	45,15±4,00*
	2016	24,61±0,98*	13,99±0,06*	56,85±1,95

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  – отличия достоверны в сравнении с данными за 2014 год изучения.

Более активно посещаются орхидеи, у которых соцветие сформировалось до момента появления компетентных опылителей, что подтверждается наличием большего количества плодов в нижней части соцветия. Растения с более поздними сроками цветения посещаются реже, поэтому коэффициент плодообразования (отношение количества плодов к количеству цветков растения) в популяциях варьирует от 54,4 % (*E. palustris*) до 65,2 % (*D. incarnata*).

Анализ коэффициентов плодообразования в различные годы исследования (2014–2016 гг.) демонстрирует зависимость значений этого показателя от погодных условий. Минимальное количество плодов сформировалось в 2015 году, что в значительной степени обусловлено неблагоприятными усло-

виями для опылителей в период цветения исследуемых видов. Общие показатели плодообразования для всех видов в 2014 и в 2016 гг. почти не отличались, что, вероятно, связано с высокой чувствительностью насекомых-опылителей к неблагоприятным климатическим условиям, которые сложились во время цветения растений. Виды орхидей *C. longifolia* и *A. coriophora* характеризовались незначительным варьированием коэффициента плодообразования на протяжении всех трёх лет.

Микрофотографии семян и отдельных клеток семенной оболочки представлены на рис. 2–5. Морфологические исследования показали, что форма семян исследуемых видов орхидей преимущественно веретенообразная. Клетки семенной оболочки в значительной степени вытянуты, своими длинными краями они почти смыкаются. Периклиальные утолщения у клеточных стенок отсутствуют. Антиклиальные клеточные стенки толстые, плотные и гладкие, с утолщениями в местах смыкания клеток. Семенная оболочка бесцветна или с коричневым оттенком различной интенсивности. Зародыш бурого или коричневого цвета. Установлено [27], что ультраструктура семян орхидных является чрезвычайно разнообразной, вследствие чего их относят к трём типам по классификации типов семян: *Limodorum*, *Orchis* (с *Dactylorhiza*- и *Habenaria*-вариантами) и *Epidendrum* (рис. 2–5).

#### **I. *Limodorum*-тип.**

Данный тип семян характерен для изученного нами вида орхидеи *E. palustris* (рис. 2). Семена имеют веретенообразную или почти цилиндрическую форму, как правило, бесцветные или светло-коричневые. Длина семян варьирует в достаточно значительных пределах – от 400 до 1750 мкм. Продольные антиклиальные стенки прямые и высокие. Эпикуткулярные отложения на периклиальных стенках отсутствуют. Клетки спермодермы в средней части семени вытянуты, на концах они значительно короче. Количество клеток вдоль длинной оси значительно варьирует.

#### **II. *Orchis*-тип.**

Семена имеют веретенообразную форму; окраска – от светло- до тёмно-коричневого, клетки средней части семенной оболочки вытянуты, на микропиллярном и халазальном концах они короче. Особенностью этого типа семян является наличие параллельных или сетчатых утолщений на антиклиальных стенках.

1. *Dactylorhiza*-вариант *Orchis*-типа. Без утолщений на стенках; клетки тесты мелкие. К этому варианту *Orchis*-типа можно отнести семена *D. incarnata* (рис. 3).

2. *Habenaria*-вариант *Orchis*-типа. Строение семян схоже с *Orchis*-типом. *Habenaria*-вариант *Orchis*-типа семян был выявлен нами у вида *A. coriophora* (рис. 4).

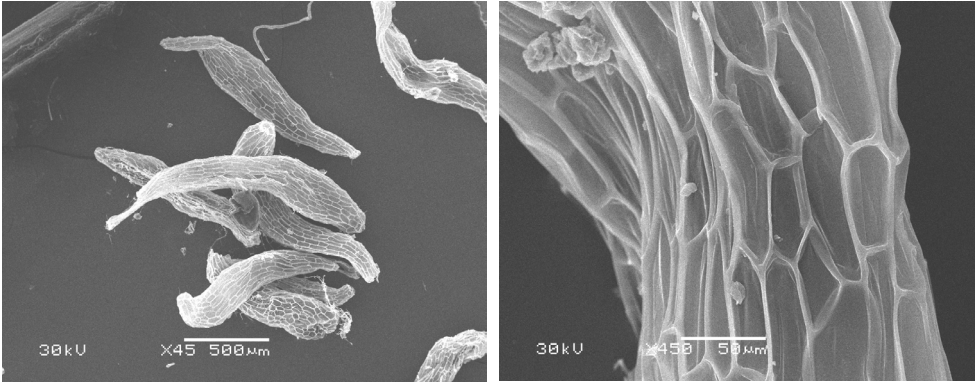


Рис. 2. Микрофотографії семян *Eriactis palustris*: А – общий вид семян; Б – отдельные клетки семенной оболочки

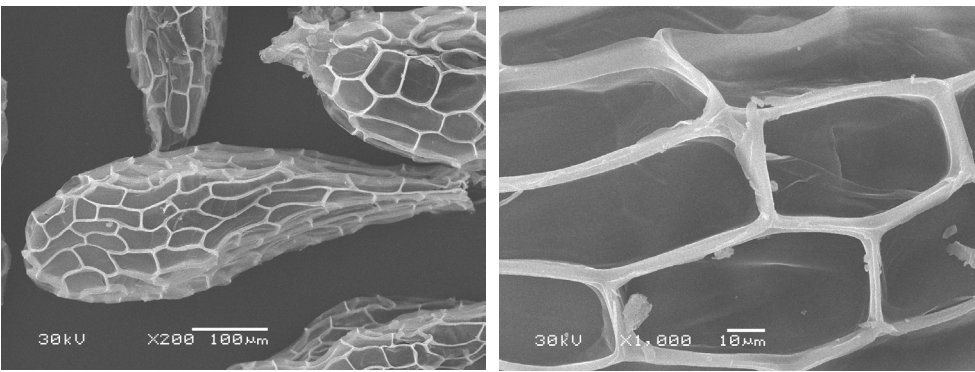


Рис. 3. Микрофотографії семян *Dactylorhiza incarnata*: А – общий вид семян; Б – отдельные клетки семенной оболочки

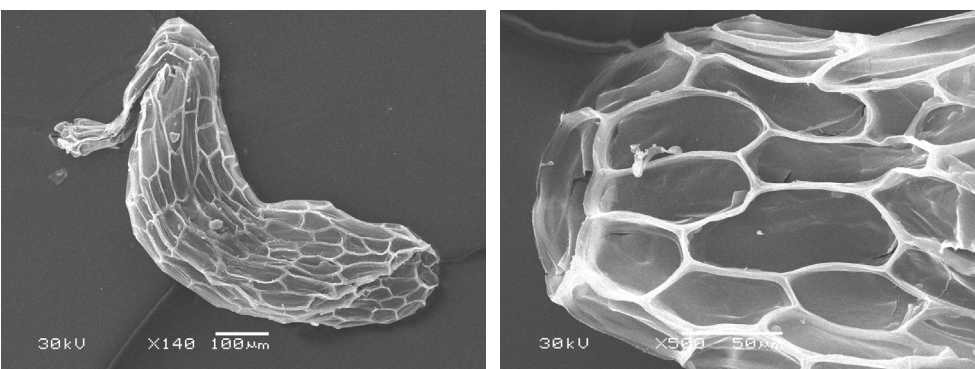


Рис. 4. Микрофотографії семян *Anacamptis coriophora*: А – общий вид семени; Б – отдельные клетки семенной оболочки



### III. Epidendrum-тип.

У *C. longifolia* были выявлены семена, относящиеся к *Epidendrum*-типу (рис. 5). Семена имеют вытянутую форму и золотисто-коричневую окраску; их длина – 500–600 мкм. Наиболее характерным признаком этого типа семян является наличие дугообразно выгнутых поперечных антиклинальных стенок семенной оболочки.

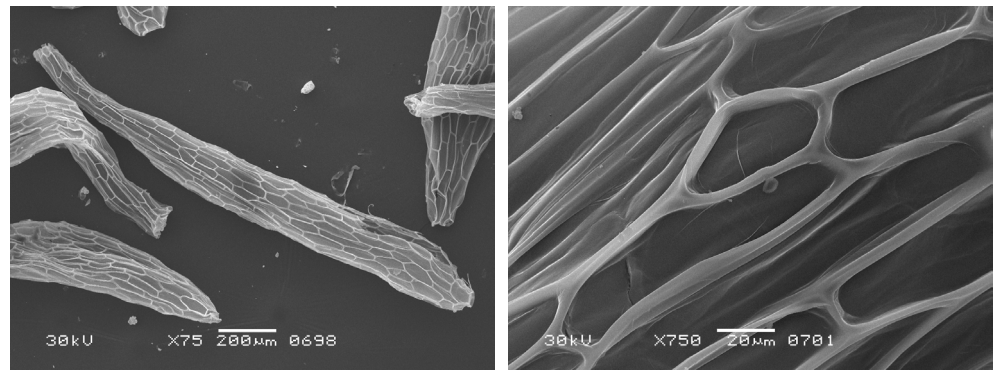


Рис. 5. Микрофотографии семян *Cephalanthera longifolia*: А – общий вид семян; Б – отдельные клетки семенной оболочки

Семена всех исследуемых видов орхидей очень мелкие, однако, морфометрические параметры семян различных видов варьируют в довольно широких пределах (табл. 2).

Таблица 2

Морфометрические параметры семян отдельных видов орхидных (2016 г.)

Вид	Размер семян				
	с зародышами		Доля семян с зародышем от общего числа семян в коробочке, %	без зародышей	
	Длина, мкм	Ширина, мкм		Длина, мкм	Ширина, мкм
<i>Epipactis palustris</i>	1328,51±4,77	231,98±4,67	65,34	1233,27±2,55*	200,63±3,47*
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	512,75±4,62	199,29±3,81	39,29	501,30±4,32*	180,15±3,61*
<i>Anacamptis coriophora</i>	933,59±3,17	218,33±2,63	51,09	885,24±2,01*	203,13±1,99*
<i>Cephalanthera longifolia</i>	936,77±8,53	188,06±4,19	49,02	906,12±3,43*	168,94±3,88*

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  – отличия достоверны в сравнении с данными размера семян с зародышами.

Наиболее мелкие семена у *D. incarnata* (длина семени –  $512,7 \pm 4,6$  мкм, ширина –  $199,3 \pm 3,8$  мкм), наиболее крупные – у *E. palustris* (длина семени –  $1328,5 \pm 4,8$  мкм, ширина –  $232,0 \pm 4,7$  мкм). У короткокорневищных видов семена обычно крупнее, чем у видов со стеблекорневыми тубероидами. Исключение составляет вид *A. coriophora*, семена которого имеют относительно большой размер – с длиной  $933,6 \pm 3,2$  мкм и шириной  $218,3 \pm 2,6$  мкм. Форма семян орхидей вытянутая, а значения индекса семян варьируют от  $2,6 \pm 0,1$  у *D. incarnata* до  $5,7 \pm 0,3$  у *E. palustris* (рис. 6).

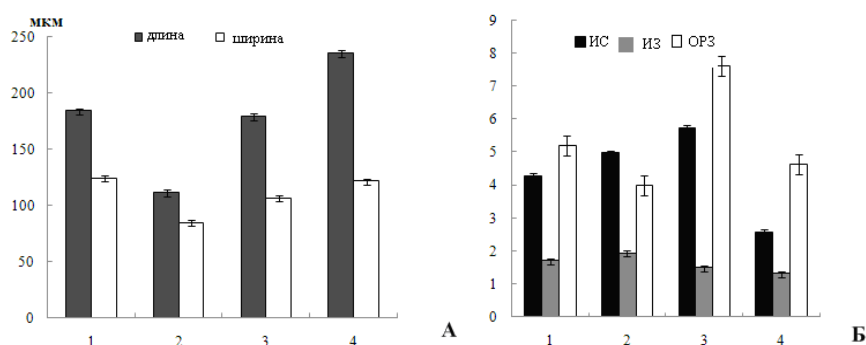


Рис. 6. Параметры зародышей (А) и индексы семян и зародышей (Б) отдельных видов орхидей: 1 – *Anacamptis coriophora*; 2 – *Cephalanthera longifolia*; 3 – *Epipactis palustris*; 4 – *Dactylorhiza incarnata*.

ИС – индекс семени (длина семени/ширина семени), ИЗ – индекс зародыша (длина зародыша/ширина зародыша), ОРЗ – относительный размер зародыша (длина семени/длина зародыша).

Таким образом, орхидные со стеблекорневыми тубероидами характеризуются более низкими значениями индекса семян ( $2,6 \pm 0,1$ ), тогда как семена у короткокорневищных орхидей имеют более вытянутую форму, а величина индекса семян составляет до  $5,7 \pm 0,3$  у *E. palustris*. Относительный размер зародыша семян стеблекорневых орхидей достоверно ниже общего размера зародыша короткокорневищных орхидных.

Зародыши исследуемых видов орхидей имеют округлую или вытянутую форму (рис. 7), значение индекса зародыша варьирует от  $1,3 \pm 0,1$  у *D. incarnata* до  $1,9 \pm 0,01$  у *C. longifolia*. Форма у зародышей стеблекорневой орхидеи *D. incarnata* менее вытянутая. Все виды характеризуются высокими показателями относительного размера зародыша, которые составляют от  $4,0 \pm 0,1$  у *C. longifolia* до  $7,2 \pm 0,1$  у *E. palustris*. Относительно крупными зародышами характеризовались семена *C. longifolia*, далее следовали семена *E. palustris* и *A. coriophora* (рис. 6). Виды орхидей с крупными семенами являются наиболее успешными для семенного размножения в культуре *ex situ* с дальнейшей их реинтродукцией в естественные условия произрастания [11; 27; 29]. Самые мелкие зародыши были выявлены у семян *D. incarnata*.

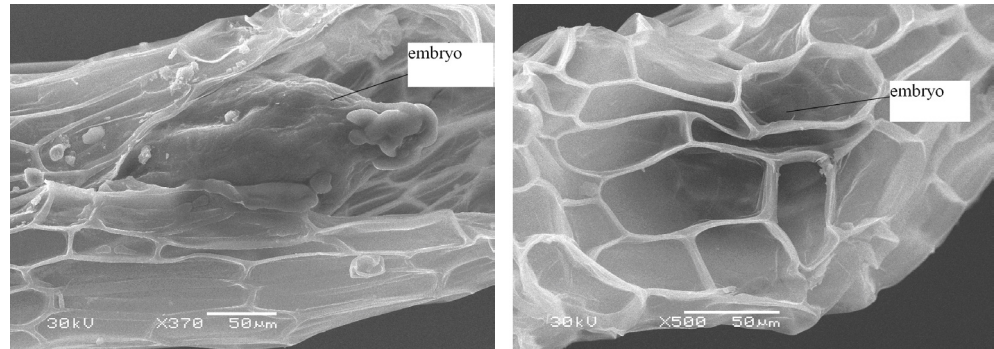


Рис. 7. Зародки семян *Anacamptis coriophora* и *Dactylorhiza incarnata*

Морфологический анализ показал, что на момент диссеминации от 34,7 % до 60,7 % семян исследуемых видов орхидей не имели зародыша. Признаки неоднородности семян по наличию зародыша и морфологическим параметрам были выявлены в пределах одного плода, одной особи и различных особей в популяции. Чаще всего качество семян определяют по разнице размеров (длина, ширина) и по структурным особенностям (варьирование размеров зародышей), а также по наличию или отсутствию зародыша [3; 26]. У исследуемых видов орхидей была установлена значительная гетерогенность семян в пределах одного плода.

Принято считать, что мелкие семена являются недоразвитыми и нежизнеспособными [1–3; 14; 29–32]. У орхидеи *D. incarnata* нами были выявлены мелкие семена, имеющие зародыши нормальных размеров. При этом, доля таких семян не превышала 5 %. Мелкие семена с зародышем были также обнаружены и у орхидеи *E. palustris*. Морфологический анализ семян одной из особей *E. palustris*, отобранные в разные годы из плодов в момент диссеминации, показал, что показатель соотношения количества крупных и мелких семян не является постоянным. Так, в 2014 г. он составлял 5:3, в 2015 г. – 3:6, а в 2016 г. – 4:2. Таким образом, в разные годы соотношение между количеством крупных и мелких семян варьировало, при этом преобладали либо мелкие фракции семян, либо фракции семян нормального размера. Величина средней доли семян с зародышем также варьировала в различные годы исследований. В 2014 г. она была самой низкой и составляла от 8 % у *E. palustris* до 18 % у *D. incarnata*. В 2015 г. все семена мелкой фракции орхидей *E. palustris* и *C. longifolia* были без зародышей, а у орхидей *A. coriophora* и *D. incarnata* количество таких семян не превышало 3 %. В 2016 г. доля мелких семян с зародышем составляла у *A. coriophora* – 2 %, у *C. longifolia* – 4 %, у *D. incarnata* – 5 % и у *E. palustris* – 3 %.

Орхидеи реализуют вегетативный и семенной способы размножения, в связи с чем нами была предпринята попытка установить зависимость между морфологией, морфометрическими показателями диаспор, а также их жизненными формами, способом размножения и таксономическим статусом.

В результате проведённых исследований была установлена значительная внутривидовая гетерогенность семян изученных орхидей – *A. coriophora*, *C. longifolia*, *D. incarnata*, *E. palustris*. Определены морфометрические показатели семян короткокорневищных и стеблекорневых видов, при этом показано, что короткокорневищные виды обладают семенами относительно крупного размера с маленькими зародышами, в то время как у стеблекорневых видов, наоборот, семена относительно мелкие с крупными зародышами. Морфологический анализ семян обнаружил, что у исследуемых видов орхидей на момент диссеминации большая часть семян была нежизнеспособной. Признаки гетероспермии установлены в пределах одного плода, одной особи, а также различных особей в популяции. Данные, полученные в ходе экологических исследований популяций орхидей, в частности об особенностях строения их семян, позволяют предположить, что наиболее успешными видами в реинтродукции могут стать *D. incarnata* (стеблекорневой вид) и *C. longifolia* (короткокорневищный вид), поскольку именно они характеризовались наиболее высокой долей жизнеспособных семян с относительно большими размерами зародышей

#### Выводы

1. Признаки гетероспермии установлены в пределах одного плода, одной особи, а также различных особей в популяции орхидей – *Anacamptis coriophora*, *Cephalanthera longifolia*, *Epipactis palustris* и *Dactylorhiza incarnata*.

2. Выявлено, что изученные короткокорневищные виды орхидей обладают семенами относительно крупного размера с маленькими зародышами, в то время как у изученных стеблекорневых видов, наоборот, семена относительно мелкие, но с крупными зародышами.

3. Полученные результаты позволяют предположить, что среди изученных видов орхидей в качестве перспективных реинтродуцентов можно рассматривать *D. incarnata* и *C. longifolia*.

Стаття надійшла до редакції 2018

#### Список использованной литературы

1. Андропова Е. В. Гетерогенность семян и семенного потомства у некоторых видов орхидных в экспериментах *in vitro* и в природных условиях / Е. В. Андропова // Фундаментальні та прикладні аспекти сучасної орхідології. – 2014. – Вип. 1. – С. 9–19.
2. Андропова Е. В. К вопросу о причинах формирования некачественных семян у некоторых орхидных умеренных широт / Е. В. Андропова // Материалы IX Междунар. конференции «Охрана и культивирование орхидей» (26–30 сентября 2011 г., С.-Петербург). – 2011. – С. 16–26.
3. Андропова Е. В. Жизнеспособность и темпы развития сеянцев *Dactylorhiza maculata* L. в культуре *in vitro* / Е. В. Андропова, Ж. В. Ивасенко, Н. А. Федорова // Бот. журн. – 2007. – Т. 92, № 7. – С. 1035–1048.
4. Буюн Л. И. Морфометрия семян некоторых видов рода *Cattleya* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) /

- Л. И. Буюн, И. В. Гурненко // Биол. вест. Харьков. нац. ун-та. – 2004. – 8, № 1. – С. 25–27.
5. Буюн Л. И. Особливості будови насінної оболонки тропічних орхідних (*Orchidaceae* Juss.) / Л. И. Буюн // Інтродукція рослин. – 2009. – № 2. – С. 40–49.
  6. Буюн Л. И. Особливості будови насінної оболонки видів *Calanthe* R. Вг. (*Orchidaceae* Juss.) / Л. И. Буюн, І. В. Гурненко // Інтродукція рослин. – 2006. – № 3. – С. 53–59.
  7. Буюн Л. И. Морфометрія насіння *Cattleya vestita* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) / Л. И. Буюн, Л. А. Ковальська // Науковий Вісник Чернівецького ун-у. Серія Біологія. – 2002. – Вип. 144. – С. 38–42.
  8. Вахрамеева М. Г. Основные направления изучения дикорастущих орхидных (*Orchidaceae* Juss.) на территории России и сопредельных государств / М. Г. Вахрамеева, И. В. Татаренко, Т. И. Варлыгина // Бюл. МОИП. Отд. Биол. – 2004. – Т. 109, Вып. 2. – С. 37–56.
  9. Горовой П. Г. Орхидные (*Orchidaceae*) Дальнего Востока: таксономия, химический состав, возможности охраны и использования / П. Г. Горовой, А. В. Салохин, Р. В. Дудкин // Turcaninowia. – 2010. – Т. 13, № 4. – С. 32–44.
  10. Ефимов П. Г. Сохранение орхидных (*Orchidaceae* Juss.) как одна из задач охраны биоразнообразия / П. Г. Ефимов // Биосфера. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 50–58.
  11. Иванов С. П. Орхидеи Крыма: состав опылителей, разнообразие систем и способов опыления и их эффективность / С. П. Иванов, В. В. Холодов, А. В. Фатерыга // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22 (61), № 1. – С. 24–34.
  12. Коломийцева Г. Л. Особенности диаспорологии орхидей / Г. Л. Коломийцева // Фундаментальні та прикладні аспекти сучасної орхідології. – 2014. – Вып. 1. – С. 101–109.
  13. Красная книга Республики Крым. Растения, водоросли и грибы / Отв. ред. А. В. Ена, А. В. Фатерыга. – Симферополь: ООО «ИТ «АРИАЛ», 2015. – 480 с.
  14. Культивирование орхидей европейской России / А. И. Широков, Г. Л. Коломийцева, А. В. Буров [и др.]. – Н. Новгород: Нижегородский ун-т, 2005. – 64 с.
  15. Маракаев О. А. Эколого-физиологические исследования орхидных умеренного климата северного полушария / О. А. Маракаев // Фундаментальні та прикладні аспекти сучасної орхідології. – 2014. – Вып. 1. – С. 111–117.
  16. Татаренко И. В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны / И. В. Татаренко. – Москва, 1996. – 207 с.
  17. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я. П. Дідуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
  18. Шейко О. А. Оцінка властивостей особин рослин як основа прогнозування стану популяцій рідкісних та зникаючих видів / О. А. Шейко, Л. І. Мусатенко // Доповіді Національної академії наук України. – 2011. – № 8. – С. 150–154.
  19. Шейко О. А. Особливості морфології насіння орхідних України / О. А. Шейко, М. М. Щербатюк // Збірка тез доповідей VI відкритого з'їзду фітобіологів Причорномор'я (19 травня 2015 р., Херсон–Лазурне). – 2015. – С. 110–113.
  20. Arditti J. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications / J. Arditti, A. K. A. Ghani // New Phytology. – 2000. – 145. – P. 367–421.
  21. Barthlott W. Epidermal and seed surface characters of plant: systematic applicability and some evolutionary aspects / W. Barthlott // Nordic J. Bot. – 1981. – Vol. 1, N 3. – P. 345–355.
  22. Barthlott W. Uber ausziehbar helicale Zellwandverdickungen als HaftApparat der Samenschalen von *Chiloschista lunifera* (*Orchidaceae*) / W. Barthlott, B. Ziegler // Ber. Deutsch. Bot. Ges. – 1980. – V. 93. – P. 391–403.
  23. Cameron K. V. Seed morphology of Vanilloid Orchids (*Vanilloideae: Orchidaceae*) / K. V. Cameron, M. W. Chase // Lindleyana. – 1998. – Vol. 13, N 3. – P. 148–169.
  24. Chase M. W. Seed morphology and phylogeny in subtribe *Catasetinae* (*Orchidaceae*) / M. W. Chase, J. S. Pippen // Lindleyana. – 1990. – 5, N 2. – P. 126–133.
  25. Chase M. W. Seed morphology in the *Oncidiinae* and related subtribes (*Orchidaceae*) /

- M. W. Chase, J. S. Pippen // Syst. Bot. – 1988. – 13, N 3. – P. 313–323.
26. Clifford H. T. Seed morphology and classification of *Orchidaceae* / H. T. Clifford, W. K. Smith // Phytomorphology. – 1969. – 19, N 1. – P. 133–139.
  27. Dressler R. L. Phylogeny and classification of the orchid family / R. L. Dressler. – Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1993. – 278 p.
  28. Seed micromorphology in the genus *Neotinea* Rchb.f. (*Orchidaceae*, *Orchidinae*) / R. Gamarra, E. Dorda, A. Scrugli [et al.] // Bot. J. Lin. Society. – 2007. – 153. – P. 133–140.
  29. Prutsch J. Adaptations of an orchid seed to water uptake and storage / J. Prutsch, A. Schardt, R. Schill // Plant Systematics and Evolution. – 2005. – Vol. 220, N 1–2. – P. 69–75.
  30. Studies on seed morphometry of epiphytes orchids from Western Ghats of Karnataka / Swamy K. Krishna, H. N. Kumar, T.M. Ramakrishna [et al.] // Taiwan. – 2004. – 49, N 2. – P. 124–140.
  31. Thompson D. E. In vitro germination of several South African summer rainfall Disa (*Orchidaceae*) species: is seed testa structure a function of habitat and a determinant of germinability? / D. E. Thompson, T. J. Edwards, J. van Staden // Syst. Geogr. – 2001. – N. 71. – P. 597–606.
  32. Toscano de Brito A. L.V. Seed morphology of subtribes *Ornithocephalinae* and *Telepogoninae* (*Maxillarieae: Orchidaceae*) / A. L. V. Toscano de Brito // Lindleyana. – 1999. – Vol. 14, N 1. – P. 27–37.

**О. А. Шейко<sup>1</sup>, Д. М. Ситніков<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Медична академія імені С. І. Георгієвського, кафедра мікробіології, вірусології і імунології,

вул. Леніна, 5/7, Сімферополь, 295051, Республіка Крим

<sup>2</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Біотехнологічний науково-навчальний центр,

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, sytnikov@list.ru

## **ВНУТРІШНЬОПОПУЛЯЦІЙНА ГЕТЕРОСПЕРМІЯ ОКРЕМИХ ВИДІВ ОРХІДНИХ**

### **Резюме**

**Метою** даної роботи стало порівняльно-морфологічне дослідження особливостей будови насіння окремих видів *Orchidaceae* з різних підродин, що зустрічаються на території материкової України та Криму.

**Методика.** Для проведення *морфологічного аналізу* насіння вивчали на сканувальному електронному мікроскопі JSM-6060 LA (JEOL, Японія). *Розміри структур* на отриманих мікрофотографіях визначали за допомогою програми UTHSCSA Image Tool 3.0. *Морфометричні параметри* насіння визначали у відповідності до середньостатистичних розмірів життєздатного насіння для конкретного виду орхідей. Аналізували *індекс насіння*, *індекс зародка*, а також *відносний розмір зародка*.

**Результати.** У роботі наведено результати порівняльного вивчення особливостей будови насіння орхідей (родина *Orchidaceae*) вітчизняної флори: *Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch., *Epipactis palustris* (L.) Crantz, *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo. s.l., *Anacamptis coriophora* (L.) R.M. Bateman. Виявлено значну гетерогенність насіння досліджених видів. За результатами морфологічного аналізу встановлено, що на момент дисемінації більша частина дослідженого насіння орхі-

дей була нежиттєздатною. Види орхідей з найбільшою часткою життєздатного насіння з крупними зародками (*D. incarnata* и *C. longifolia*) розглядаються як перспективні реінтродуценти.

**Висновки.** Результати досліджень можуть сприяти науково-практичним розробкам, що спрямовані на створення резервних генетичних колекцій у ботанічних садах і на заповідних територіях, а також на відтворення чисельності природних популяцій рідкісних та зникаючих видів.

**Ключові слова:** *Orchidaceae*; гетероспермія; насіннєве розмноження; життєздатність насіння; реінтродукція.

**E. A. Sheyko<sup>1</sup>, D. M. Sytnikov<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>S. I. Georgievskiy Medical Academy, Department of Microbiology, Virology and Immunology,

Lenin bul., 5/7, Simferopol, 295051, Republic of Crimea

<sup>2</sup>Odesa I. I. Mechnykov National University, Biotechnological scientific and educational center

Dvoryanska Str., 2, Odesa, 65082, Ukraine, sytnikov@list.ru

## THE INTRAPOPULATION HETEROSPERMIA OF SOME ORCHID SPECIES

### Abstract

The **aim** of the work was a comparative morphological study of the peculiarities of the structure of seeds of certain *Orchidaceae* species from various subfamilies growing on the territory of the mainland Ukraine and Crimea.

**Methods.** In order to carry out the *morphological analysis*, the seeds were examined on a scanning electron microscope JSM-6060 LA (JEOL, Japan). The *size of the structures* on the obtained microphotographs was determined using the UTHSCSA Image Tool 3.0 program. The *morphometric parameters* of the seeds were determined in accordance with the average size of viable seeds for a particular species of orchids. The *seed index*, the *embryo index* and the *relative size of the embryo* were analyzed.

**The results** of the comparative study of features of the structure of seeds of orchids (*Orchidaceae* family) of domestic flora: (*Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch., *Epipactis palustris* (L.) Crantz, *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo. s.l., *Anacamptis coriophora* (L.) R.M. Bateman) are presented. The significant heterogeneity of seeds of the studied species is revealed. The morphological analysis established that at the time of dissemination the major part of the studied seeds of orchids were nonviable. Species of orchids with the greatest part of viable seeds with large embryos (*D. incarnata* and *C. longifolia*) are considered as perspective reintroducers.

**Conclusion.** The results of the research can contribute to the scientific and practical developments aimed at creation of reserve genetic collections in botanical gardens and in reserved areas and also at restitution of a number of natural populations of rare and endangered species.

**Keywords:** *Orchidaceae*; heterospermia; seed multiplication; viability of seeds; reintroduction.

## References

1. Andronova E. V. (2014) "Heterogeneity of seeds and seed progeny in some orchid species in experiments *in vitro* and in natural conditions" ["'Geterogenost' semyan i semennogo potomstva u nekotorykh vidov orkhidnykh v eksperimentakh *in vitro* i v prirodnykh usloviyakh"], *Fundamentalni ta prykladni aspekty suchasnoyi orkhidologiyi*, No 1, pp. 9–19.
2. Andronova E. V. (2011) "On the causes of the formation of substandard seeds in some orchid temperate latitudes", Protection and cultivation of orchid, Abstracts of IX International conference [«K voprosu o prichinakh formirovaniya nekachestvennykh semyan u nekotorykh orkhidnykh umerennykh shyrot»], 26–30 September 2011: proc. of conf., S.-Petersburg, pp. 16–26.
3. Andronova E. V. (2007) "Viability and rate of development of seedlings of *Dactylorhiza maculata* L. in culture *in vitro*" ["'Zhyznesposobnost' i tempy razvitiya seyantsev *Dactylorhiza maculata* L. v kulture *in vitro*"], *Bot. zhurn.*, V. 92, No 7, pp. 1035–1048.
4. Buyun L. I. (2004) «Morphometry of seeds of some species of the genus *Cattleya* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.)» [«Morfometriya semyan nekotorykh vidov roda *Cattleya* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.)»], *Biol. vest. Khar'kov. nats. un-ta.*, V. 8, No 1, pp. 25–27.
5. Buyun L. I. (2009) «Features of the structure of the tropical orchid seed shell (*Orchidaceae* Juss.)» [«Osoblyvosti struktury nasinnoyi obolonky tropichnykh orkhidej»], *Introduktsiya roslyn*, No 2, pp. 40–49.
6. Buyun L. I., Gurnenko I.V. (2006) «Features of the seed shell structure of the species *Calanthe* R. Br. (*Orchidaceae* Juss.)» [«Osoblyvosti budovy nasinnoyi obolonky vydiv *Calanthe* R. Br. (*Orchidaceae* Juss.)»], *Introduktsiya roslyn*, No 3, pp. 53–59.
7. Buyun L. I., Koval's'ka L. A. (2002) «Morphometry of seeds of *Cattleya vestita* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.)» [«Morfometriya nasinnyia *Cattleya vestita* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.)»], *Naukovyj Visnyk Chernivets'kogo un-tu. Seriya Biologiya*, No 144, pp. 38–42.
8. Vakhrameeva M. G., Tatarenko I. V., Varlygina T. I. (2004) «The main directions of studying wild orchids (*Orchidaceae* Juss.) in the territory of Russia and neighboring countries» [«Osnovnye napravleniya izucheniya dikorastushikh orkhidnykh (*Orchidaceae* Juss.) na territorii Rossii i sopredelnykh gosudarstv»], *Byul. MOIP. Otd. Biol.*, V. 109, No. 2, pp. 37–56.
9. Gorovoj P. G., Salokhin A. V., Dudkin R. V. (2010) «Orchids (*Orchidaceae*) of the Far East: taxonomy, chemical composition, protection and use» [«Orkhidnye (*Orchidaceae*) Dal'nego Vostoka: taksonomiya, khimicheskij sostav, vozmozhnosti okhrany i ispol'zovaniya»], *Turcaninowia*. V. 13, No 4, pp. 32–44.
10. Efimov P. G. (2010) «Preservation of orchids (*Orchidaceae* Juss.) as one of the tasks of biodiversity conservation» [«Sokhranenie orkhidnykh (*Orchidaceae* Juss.) kak odna iz zadach okhrany bioraznoobraziya»], *Biosfera*, V. 2, No 1, pp. 50–58.
11. Ivanov S. P., Kholodov V. V., Fateryga A. V. (2009) «Orchids of Crimea: the composition of pollinators, the variety of systems and methods of pollination and their effectiveness» [«Orkhidei Kryma: sostav opyliteley, raznobrazie sistem i sposobov opyleniya i ikh effektivnost'»], *Uchyonye zapiski Tavricheskogo natsyonal'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, khimiya»*, V. 22 (61), No 1, pp. 24–34.
12. Kolomijtseva G. L. (2014) «Features of orchids diasparology» [«Osobnosti diasparalogii orkhidej»], *Fundamental'ni ta prykladni aspekty suchasnoyi orkhidologiyi*, No 1, pp. 101–109.
13. Red Book of the Republic of Crimea. Plants, algae and fungus (2015). In editors: Ena A.V., Fateryga A.V. [«Krasnaya kniga Respubliki Krym. Rasteniya, vodorosli, griby»], Simferopol: OOO «IT «ARIAL», 480 p.
14. Shyrov A. I., Kolomijtseva G. L., Burov A. V. (2005) «Cultivation of orchids of European Russia» [«Kul'tivirovanie orkhidej evropejskoj Rossii»], N. Novgorod: Nizhegorodskij un-t, 64 p.
15. Marakaev O. A. (2014) «Ecological and physiological studies of temperate orchids in the northern hemisphere» [«Ekologo-fiziologicheskie issledovaniya orkhidnykh umerenogo klimata severnogo polushariya»], *Fundamentalni ta prykladni aspekty suchasnoyi orkhidologiyi*, No 1, pp. 111–117.
16. Tatarenko I. V. (1996) «Orchids of Russia: life forms, biology, protection issues» [«Orkhidnye Rossii: zhyznenne formy, biologiya, voprosy okhrany»], Moskva, 207 p.



17. Red Book of Ukraine. Plant world (2009) In editor: Didukh Ya. P. [«Chervona knyga Ukrayiny. Roslynnij svit»], Kiev: Globalkonsalting, 900 p.
18. Shejko E. A., Musatenko L. I. (2011) «Estimation of the properties of plant species as the basis for forecasting the state of the populations of rare and endangered species» [«Otsinka vlastyvostej osobyn roslyn yak osnova prognozuvannya stanu populyatsiy ridkisnykh ta znykhayuchikh vydiv»], Dopovidi NANU, No 8, pp.150–154.
19. Shejko E. A., Sherbatyuk M. M. (2015) «Features of morphology of orchid seeds of Ukraine» [«Osoblyvosti morfologiyi nasinnya orkhidnykh Ukrayiny»], Abstracts of the VI Open congress of phytobiologists of the Black Sea region, 19 May 2015: proc. of conf., Kherson–Lazurnoe, pp. 110–113.
20. Arditti J. (2000) Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications, *New Phytology*, 145. – pp. 367–421.
21. Barthlott W. (1981) Epidermal and seed surface characters of plant: systematic applicability and some evolutionary aspects, *Nordic J. Bot.*, V. 1, No 3, pp. 345–355.
22. Barthlott W., Ziegler B. (1980) Uber ausziehbare helicale Zellwandverdickungen als HaftApparat der Samenschalen von *Chiloschista lunifera* (*Orchidaceae*), *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, V. 93, pp. 391–403.
23. Cameron K. V., Chase M. W. (1998) Seed morphology of Vanilloid Orchids (*Vanilloideae: Orchidaceae*), *Lindleyana*, V. 13, No 3, pp. 148–169.
24. Chase M. W. Phippen J. S. (1990) Seed morphology and phylogeny in subtribe *Catasetinae* (*Orchidaceae*), *Lindleyana*, 5, No 2, pp. 126–133.
25. Chase M. W. Phippen J. S. (1988) Seed morphology in the *Oncidiinae* and related subtribes (*Orchidaceae*), *Syst. Bot.*, 13, No 3, pp. 313–323.
26. Clifford H. T., Smith W. K. (1969) Seed morphology and classification of *Orchidaceae*, *Phytomorphology*, 19, No 1. – pp. 133–139.
27. Dressler R. L. (1990) Phylogeny and classification of the orchid family, Portland, Oregon: Dioscorides Press, 278 p.
28. Gamarra R., Dorda E., Scrugli A. [et al.] (2007) Seed micromorphology in the genus *Neotinea* Rchb.f. (*Orchidaceae, Orchidinae*), *Bot. J. Lin. Society*, 153, pp. 133–140.
29. Prutsch J., Schardt A., Schill R. (2005) Adaptations of an orchid seed to water uptake and storage, *Plant Systematics and Evolution*, V. 220, No 1–2, pp. 69–75.
30. Swamy K. Krishna, Kumar H. N. Krishna, Ramakrishna T. M. [et al.] (2004) Studies on seed morphometry of epiphytes orchids from Western Ghats of Karnataka, *Taiwania*, 49, No 2, pp. 124–140.
31. Thompson D. E., Edwards T. J., Staden J. (2001) *In vitro* germination of several South African summer rainfall Disa (*Orchidaceae*) species: is seed testa structure a function of habitat and a determinant of germinability?, *Syst. Geogr.*, No 71, pp. 597–606.
32. Toscano de Brito A. L.V. (1999) Seed morphology of subtribes *Ornithocephalinae* and *Telepogoninae* (*Maxillarieae: Orchidaceae*), *Lindleyana*, V. 14, No 1, pp. 27–37.