

АСИМБИОТИЧЕСКОЕ СЕМЕННОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ОРХИДЕЙ
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*,
НА ПРИМЕРЕ *LUDISIA DISCOLOR* (KER-GAWL). RICH.

О.Л.Госенова, Т.А.Алаторцева, Е.А.Киреев
Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского

Красота и оригинальность цветков орхидей, их особенности размножения издавна вызывали к этим растениям научный и коммерческий интерес. Почти полное отсутствие эндосперма в семенах не позволяет их прорастить в обычных условиях культуры. Необходимо, как выяснилось, симбиоз с грибом (Bernard, 1899). Обойти препятствие позволяет проращивание семян на искусственной питательной среде, содержащей углеводы. Такая методика впервые была разработана Кнудсоном (Knudson, 1922). Позднее Морелем был предложен и метод микроклонального размножения орхидей (Morel, 1964). С тех пор появилось огромное количество работ в этой области. Однако орхидеи по-прежнему остаются объектом внимания учёных и цветоводов-любителей, так как по сей день многие проблемы, связанные с размножением орхидных, в том числе вопросы дифференциации и регуляции развития зародышей, остаются нерешёнными. Возможно, поэтому работа над совершенствованием методик размножения сортовых и диких форм орхидей *in vitro* продолжается.

Цель настоящей работы заключалась в изучении развития *Ludisia discolor* из семян в асимбиотической культуре *in vitro*.

В задачи работы входило:

- а) проследить в динамике все стадии развития от семени до высадки в грунт;
- б) определить возможность клонирования протокормов;
- в) оценить влияние типа питания углеводного на рост и развитие проростков;
- г) определить способность семян разного срока хранения к проращению в культуре *in vitro*.

Материал и методы

В эксперименте использовали семена *Ludisia discolor*, полученные спустя месяц после искусственного опыления комнатных растений. Перед культивированием семена стерилизовали в 70% этаноле и растворе гипохлорита натрия, содержащем 1,5% активного хлора.

Питательная среда для проращивания включала макро- и микроэлементы MS, витамины, агар-агар, активированный уголь, в качестве источника углевода: сахарозу, глюкозу, либо виноградный сок. Проращивание проводили при естественном освещении.

Результаты и обсуждение

Наблюдения за семенами показали, что в первые две недели культивирования происходит набухание семян, они увеличиваются в размерах и приобретают молочно-белую окраску. После 30-40 дней у протокормов с явно выра-

женной полярностью поверхность базальной части покрывается всасывающими волосками. По мере роста и удлинения появляется членистое строение, характерное для взрослого растения. По достижении «критической массы» (Батыгина, Шевцова, 1985), определённого размера и формы, у 40-50-суточных сеянцев на верхней части закладываются листовые примордии, а у 70-90-суточных – начинают разворачиваться зелёные листочки, зеленеет и сам протокорм. Позже появляется корешок. В итоге через 10-11 месяцев после опыления материнских растений формируются молодые растеньица, готовые к пересадке из стерильных сосудов в субстрат. Замечено, что в основании членистых протокормов из боковых почек возникают протокормы следующего порядка, то есть происходит самовоспроизводство, или клонирование протокормов. В результате образуются группы протокормов, связанных между собой основаниями. При механическом воздействии такие комплексы легко рассыпаются на отдельные части. Каждый из отделившихся дочерних протокормов способен далее развиваться как самостоятельное растение. Таким образом, *in vitro* семена лудизии проходят все стадии, свойственные орхидным *in vivo*.

Кроме сахарозы было проведено испытание и других источников углеводного питания, глюкозы и виноградного сока. Протокормы и проростки на разных стадиях развития переносили на новую среду. Замена сахарозы на другой углевод практически не повлияла на способность протокормов к «самоклонированию». Однако на среде с виноградным соком развивались более крупные проростки, но лишённые зелёной окраски и не образующие настоящих листьев. В то же время зелёный цвет, приобретенный ранее (до смены углевода), сохранялся и в новом пассаже. Подобные явления не были свойственны сеянцам на среде с глюкозой и сахарозой.

Следует отметить, что для проращивания использовали семена разных сроков хранения (см. таблицу). Было установлено, что они довольно быстро теряют жизнеспособность. После четырёхмесячного хранения в холодильнике при температуре 1-2°C всхожесть семян снижалась с 90 до 70%, а после 14 месяцев составляла лишь 30%, что сопровождалось удлинением сроков проращивания семян.

Влияние сроков хранения семян на их способность к проращиванию

Время после опыления, мес.	Количество проросших семян, %	Время вступления в очередную стадию проращивания, сутки от начала культивирования			
		Начало проращивания	Появление всасывающих волосков	Появление зелёной окраски	Проросток с 1-2 листьями
1	90	10-14	30-40	50-60	75-90
5	70	12-14	30-40	50-60	75-90
14	30	20-26	55-60	70-80	100-120

Сравнение наших результатов с литературными данными показало, что развитие из семян *Ludisia discolor* принципиально не отличается от развития других орхидей в культуре *in vitro*, и для получения посадочного материала.

могут быть использованы стандартные безгормональные питательные среды. При этом проявляется характерная для *Orcidaceae* способность проростков к образованию дочерних протокормов, что обеспечивает высокий коэффициент размножения и вполне компенсирует затраты при использовании данной методики.

Выводы

1. Используемая питательная среда обеспечивает прорастание семян *Ludisia discolor in vitro*, при этом семена проходят все стадии развития, характерные для орхидных.
2. Весь процесс от опыления материнского растения и до формирования проростков, готовых к пересадке в грунт, составляет 11 месяцев.
3. Образовавшиеся первичные протокормы в условиях *in vitro* обладают способностью к самостоятельной вегетативной репродукции дочерних протокормов.
4. Процессы роста и развития *Ludisia discolor* протекают сходно на средах, содержащих сахарозу и глюкозу, наличие виноградного сока в среде препятствует развитию хлорофилла.
5. Семена быстро теряют жизнеспособность, их всхожесть за 13 месяцев хранения при температуре 1-4°C уменьшается в три раза по сравнению с семенами, посеянными сразу после сбора.

Литература

Батыгина Т.Б., Шевцова Г.Г. Метаморфоз в культуре орхидных (на примере *Cymbidium hybridum*, *Orchidaceae*) // Бот. журн. 1985. Т.70. №12. С.1614-1621.

Поддубная-Арнольди В.А., Селезнёва В.А. Выращивание орхидей из семян // Тер. Гл. Бот. сада. 1953. №3, С.33-35.

Черевченко Т.М., Кушнир Г.П. Орхидеи в культуре. // Киев, 1986. 197 с.

Bernard N. Sur la germination du *Neottia nidus avis* // C.R. Acad. Sci. 1899. Vol.128. P.23-27.

Knudson L. Non Symbiotic germination of orchids seeds // Bot. Gar. 1922. Vol. LXXXIII. №1. P. 8-12.

Morel G. Tissue culture – a new means of clonal propagation of Orchids // Idid. 1964. Vol.33. №6. P.473-478.