

УДК 582.594.2:281

## ДИНАМИКА СИМБИОТИЧЕСКИХ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ У КОРНЕВИЩНЫХ ВИДОВ ОРХИДЕЙ

Лысякова Н.Ю., Симагина Н.О.

У четырех представителей подсемейства *Neottioideae*, относящихся к группе корневищных геофитов, выявлены особенности локализации эндомикотрофного компонента, динамика симбиотических и аллелопатических отношений в различные стадии онтогенеза, влияние эдафических и климатических факторов на степень микотрофности. Установлена отрицательная коррелятивная зависимость между степенью микотрофности и морфометрическими параметрами, а также потенциальной и реальной семенной продуктивностью корневищных орхидей Крыма.

**Ключевые слова:** орхидеи, микотрофность, аллелопатия.

### ВВЕДЕНИЕ

Уникальное семейство *Orchidaceae* Juss в Крыму представлено 17 родами и 45 видами, занесенными в Красную книгу Украины. По строению подземных запасающих органов выделяют три группы орхидей: корневищные, корнеклубневые геофиты, характерные для Крыма, и вторично-наземные гемикриптофиты [1]. В литературе проанализированы данные популяционной экологии [1 – 5], антэкологии [6], потенциальной и реальной семенной продуктивности [7, 8] крымских видов орхидей. Динамика симбиотических и аллелопатических взаимоотношений у корневищных видов орхидей не изучены.

Значение микоризы для орхидей, формы взаимодействия симбионтов, физиологические особенности грибов и их потребности в питании достаточно подробно описаны в многочисленных работах. Однако, о типе взаимоотношения орхидеи и гриба до сих пор идут дискуссии. По мнению Бургефа, Ромлера [9] в микоризных симбиозах гриб паразитирует на высшем растении. Напротив, другие исследователи (Франк, Люк) считают, что высшее растение в этом случае паразитирует на своем микоризном грибе. Наконец, согласно взглядам Шеде, Горбуновой и других [9 – 11], компоненты микоризного симбиоза находятся друг с другом в отношениях взаимного паразитизма.

Так как между орхидеей и грибом происходит обмен веществами различной природы, то можно предположить наличие аллелопатических взаимоотношений. Были выявлены различные фитогормоны, выделяемые грибом, которые усиливают рост орхидей. Исследования синтетической активности у 16 культур грибов у эпифитных и наземных орхидей показали способность к синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Были обнаружены у некоторых микосимбионтов вещества близкие к гиббериллину, зеатину и кинетину. При проведении

хроматографического анализа у грибов были выявлены соединений индольной природы. Не исключено, что гриб – симбионт может поставлять фенольные соединения. Опыты, проводимые по экзогенному обеспечению фенолами, показали, что под их влиянием происходит установление симбиотического взаимодействия, наращивание вегетативной массы высшего растения, стимулируется расселение микоризы [5, 12, 13].

Некоторые микромицеты (*Trichoderma*, *Fusarium*, *Phoma*) и базидиомицеты (*Dendrobium moschatum*) ингибируют развития семян орхидей [9].

Способность грибов, ассоциированных с орхидными, выделять во внешнюю среду ауксины и другие необходимые вещества открывает возможность воздействия микроорганизмов на общий гормональный баланс растений, стимулируя дополнительное корнеобразование орхидей, а так же влиять на прорастание их семян [11].

Цель наших исследований состояла в изучении анатомо-морфологических, эмбриологических, симбиотических и аллелопатических особенностей крымских видов орхидей.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом исследования служили корневищные геофиты из подсемейства *Neottioideae* Burns – *Balog*: *Neottia nidus – avis* (L.) Rich., *Limodorum abortivum* (L.) Sw., *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce, *C. longifolia* (L.) Fritsch, Анатомические препараты, качественные гистохимические реакции готовили по методике Р.П. Барыкиной [14]. Потенциальную и реальную семенную продуктивность определяли по методике В.В. Назарова [6].

Качественная реакция на лигнин заключалась в обработке срезов флороглюцином (триоксибензол,  $C_6H_3(OH)_3 \cdot 2H_2O$ ) в сочетании с концентрированной соляной кислотой. Для этого готовили 5-10% раствор флороглюцина, каплю которого наносили на срез, а затем добавляли каплю концентрированной соляной кислоты. В результате реакции одревесневшие элементы приобретают малиново-красный цвет. Интенсивность цветной реакции зависит от степени одревеснения.

Для выявления пектиновых веществ срезы обрабатывали жавелевой водой, затем промывали дистиллированной водой, нейтрализовали уксусной кислотой и окрашивали метиленовым синим. В результате пектиновые вещества приобретали сине-голубой цвет.

При проведении качественной реакции на фенольные соединения срезы помещали в раствор, включающий в себя 10 мл 5% раствора нитрата натрия и две капли 50% серной кислоты. Затем добавляли каплю 5% едкого калия. Согласно данному методу хлорогеновая кислота и другие фенольные соединения с орторасположенной гидроксильной группой, вступая в реакцию с азотистой кислотой, переходят в соединение, которое с едким калием дает красное или коричневое окрашивание. Эта реакция для хлорогеновой кислоты не строго специфична. Подобное окрашивание могут давать и другие фенольные соединения (пирокатехин, протокатеховая и кофейные кислоты), а также хиноны. Таким

образом, с помощью данного метода можно качественно определить присутствие в тканях растений широкого спектра фенольных соединений [14].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группе корневищных геофитов проявляются отличия по длине, расположению, степени ветвления корневища. У представителей рода *Cephalanthera* корневище шнуровидное, длинное (40 – 50 см), косо расположенное в почве. У *Listera ovata* корневище короткое, толстое, а у *N. nidus – avis* короткое корневище окружено многочисленными придаточными корнями.

Для большинства исследованных видов автотрофных орхидей характерна эумицетная толипофаговая эндомикориза. Для бесхлорофильных орхидей *L. abortivum* и *N. nidus – avis* отмечена птиофаговая эндомикориза. Локализация эндофитных несовершенных грибов-микоризообразователей в клетках и тканях подземных вегетативных органов обусловлена их анатомо-морфологическими особенностями. В клетках эпиблемы корня гифы отсутствуют, но в корневых волосках выявлены коммуникационные гифы. В субэпидермальных слоях первичной коры корня расположены пелотоны. В мезодерме отмечено расщепление гиф. В эндодерме и центральном цилиндре гифы не обнаружены. Степень микотрофности увеличивается в 2 раза от апекса корня к его основанию. В корнеклубнях и корневищах гифы гриба обнаружены преимущественно в эпидерме и в первичной коре. В клетках первичной коры, содержащих большое количество крахмальных зерен, пелотонов нет. Наибольшее количество клеток с гифами гриба наблюдали в зоне перехода расширенной части клубня в шнуровидное окончание.

Частота встречаемости микоризной инфекции изученных видов крымских орхидей варьирует в широких пределах: от  $2,8 \pm 0,2$  % – *D. incarnate* до  $6,3 \pm 0,2$  % *N. nidus – avis*. При этом четко прослеживается тенденция – у корневищных видов степень микотрофности ниже, чем у корнеклубневых орхидей. Максимальный процент клеток корня, содержащих гифы гриба, был выявлен у *N. nidus – avis* и *L. abortivum*. Такую особенность мы связываем с тем, что данные растения являются сапрофитами. Степень микотрофности *L. abortivum* меньше, чем *N. nidus – avis*. Частота встречаемости микоризной инфекции изученных видов крымских орхидей варьирует в широких пределах (табл. 1).

Для корнеклубневых геофитов выявлена отрицательная коррелятивная зависимость ( $r = - 0,65$ ) между морфометрическими параметрами и степенью микотрофности. В группе корнеклубневых геофитов с увеличением числа клеток корня, инфицированных гифами гриба, количество семязачатков в завязи и семян в коробочке уменьшается (в 1,3 – 1,5 раза, соответственно), а у корневищных геофитов эти показатели возрастают в 5 раз (табл. 2).

Корневищные геофиты, имея максимальную степень микотрофности, характеризуются минимальным количеством семязачатков в завязи и семян в коробочке. Корнеклубневые геофиты образуют большее число семязачатков в завязи цветка и семян в плоде при минимальном проценте клеток корня, содержащих гифы гриба. По-видимому, представители данной группы в большей степени зависят от семенного возобновления, чем представители корневищных

## ДИНАМИКА СИМБИОТИЧЕСКИХ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ

геофитов. Установлена отрицательная коррелятивная связь между степенью микотрофности и морфометрическими параметрами исследованных видов; а также между микотрофностью и потенциальной, реальной семенной продуктивностью у корнеклубневых геофитов

**Таблица 1.**

**Влияние эдафических факторов на морфометрические параметры и микотрофность корневищных и корнеклубневых видов орхидей ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Вид	Высота растения, см	Количество цветков в соцветии, шт	Количество коробочек, шт	Частота встречаемости и микоризной инфекции, F	Содержание гумуса в почве, %
<i>E. helleborine</i>	31,5±0,3	<i>P. chlorantha</i>	10,0±0,3	3,8±0,2	2,10±0,03
<i>E. helleborine</i>	42,2±0,2	<i>A. pyramidalis</i>	4,0±0,1	3,1±0,2	2,25±0,02
<i>C. damasonium</i>	12,9±0,2	<i>A. pyramidalis</i>	2,0±0,2	4,9±0,3	1,96±0,03
<i>C. damasonium</i>	21,2±0,1	14,0±0,2	9,0±0,2	4,2±0,2	2,25±0,02
<i>C. longifolia</i>	17,8±0,1	7,2±0,1	4,2±0,1	4,6±0,1	1,85±0,04
<i>C. longifolia</i>	30,2±0,5	10,2±0,1	10,2±0,1	4,0±0,2	1,96±0,02
<i>N. nidus – avis</i>	11,1±0,5	15,2±0,5	6,0±0,5	6,6±0,4	2,05±0,01
<i>N. nidus – avis</i>	17,2±0,3	21,0±0,5	16,0±0,2	6,0±0,2	1,98±0,05

**Таблица 2.**

**Репродуктивные возможности корневищных и корнеклубневых видов орхидей ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Вид	Частота встречаемости микоризной инфекции, F	Количество семязачатков в завязи, шт	Количество семян в коробочке, шт
<i>D. incarnata</i>	2,7±0,2	7656±15	7110±11
<i>E. helleborine</i>	3,8±0,1	6128±36	59635±35
<i>P. chlorantha</i>	4,3±0,3	5831±25	4598±15
<i>C. damasonium</i>	4,8±0,2	7650±45	5993±12
<i>C. longifolia</i>	4,0±0,1	7501±30	6981±22
<i>N. nidus- avis</i>	6,2±0,3	1706±18	1092±18
<i>L. abortivum</i>	6,0±0,5	8363±10	6176±20
<i>Listera ovata</i>	4,9±0,1	6280±24	6024±25

Динамика симбиотических отношений меняется по фазам онтогенеза. Частота встречаемости микоризной инфекции уменьшается от ювенильной к генеративной стадии у всех исследованных видов. Степень микотрофности зависит от климатических и эдафических факторов. С увеличением содержания гумуса на 0,5% степень микотрофности корнеклубневых геофитов увеличивается в 1,8 раза, а корневищных – уменьшается в 2,3 раза. Действие pH среды на показатель частоты встречаемости микоризной инфекции видоспецифично. В группе корневищных

геофитов в пределах рода *Cephalanthera* у растений, с максимальной степенью микотрофности наибольшая площадь фотосинтетической поверхности и минимальное значение высоты растения, количества цветков в соцветии (рис. 1).

Эти факторы, а также недоразвитие или повреждение соцветий, несинхронность и замедленность цветения, редкий специфический опылитель, высокий уровень гетерогенности семян и зародышей по линейным параметрам, асинхронность процесса формирования зародыша, по-видимому, являются причиной низкой численности популяций *Himantoglossum caprinum* (Bieb.) C. Koch. в Крыму.

Следует отметить, что у *N. nidus* – *avis* и *L. abortivum* с увеличением степени микотрофности наблюдается увеличение количества цветков в соцветии и уменьшение высоты растения. Листья данных видов редуцированы до чешуй. В группе корнеклубневых геофитов с увеличением процента клеток корня, инфицированных гифами гриба, количество семязачатков в завязи и семян в коробочке уменьшается. *D. incarnata*, находящаяся в наименьшей зависимости от гиф гриба, имеет максимальное количество семязачатков в завязи и семян в коробочке.

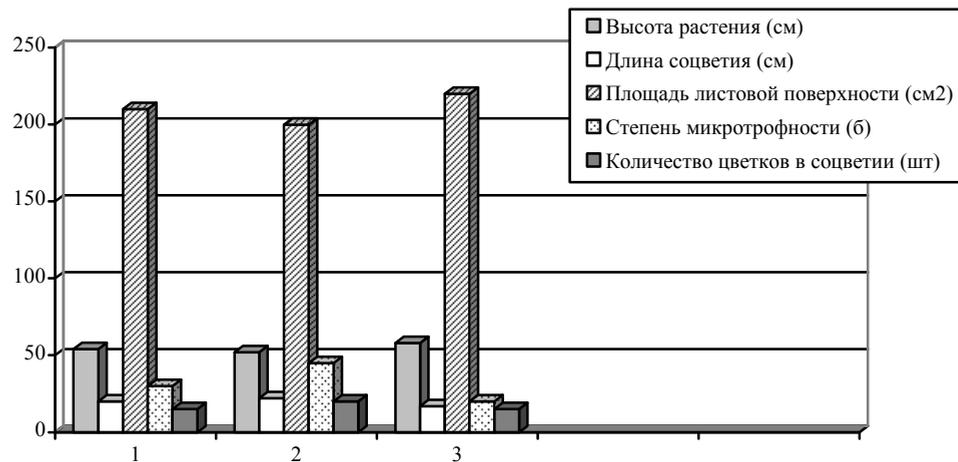


Рис. 1. Влияние степени микотрофности на морфометрические параметры *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce.

С увеличением степени микотрофности в группе корнеклубневых геофитов количество семязачатков в завязи уменьшается в 1, 3 раза, а в группе корневищных геофитов возрастает приблизительно в 5 раз. При увеличении частоты встречаемости микоризной инфекции в группе корнеклубневых геофитов количество семян в коробочке уменьшается в 1,5 раз, а в группе корневищных геофитов увеличивается примерно в 5 раз. В группе корневищных геофитов с увеличением степени микотрофности показатели потенциальной и реальной семенной продуктивности варьируют по-разному. В пределах рода *Cephalanthera* с увеличением этого показателя количество семязачатков в завязи увеличивается, а количество семян в плоде уменьшается. У сапрофитов количество семязачатков в

завязи и семян в коробочке уменьшается. *N. nidus – avis*, имея максимальный процент клеток корня, содержащих гифы гриба, характеризуется минимальными показателями потенциальной и реальной семенной продуктивности. *L. abortivum*, по степени микотрофности, отличающийся от *N. nidus – avis* всего на 0, 2 %, характеризуется максимальными показателями потенциальной и реальной семенной продуктивности. Тенденция уменьшения количества семян в коробочке характерна и для всей группы корневищных геофитов. Особый интерес представляет сравнение потенциальной и реальной семенной продуктивности между исследуемыми группами. Корневищные геофиты, имея максимальную степень микотрофности, характеризуются минимальным количеством семязачатков в завязи и семян в коробочке. Корнеклубневые геофиты образуют большее число семязачатков в завязи цветка и семян в плоде при минимальном проценте клеток корня, содержащих гифы гриба. По-видимому, представители данной группы в большей степени зависят от семенного возобновления, чем представители корневищных геофитов. В группе корне клубневых геофитов четко прослеживается уменьшение потенциальной и реальной семенной продуктивности, что отчасти связано с ксеногамным опылением. Тогда как в группе корневищных геофитов преобладает тенденция повышения потенциальной и реальной семенной продуктивности. Такая тенденция может быть отчасти объяснена особенностями опыления в пределах данной группы. *L. ovata* является облигатно ксеногамным видом. Это определяет минимальные значения его потенциальной и реальной семенной продуктивности. При минимальном количестве семязачатков он не может реализовывать свои потенциальные возможности только за счет благоприятных симбиотических отношений с грибным компонентом. При этом *N. nidus – avis* в меньшей мере зависит от агентов опыления, так как вид является облигатно автогамным.

Таким образом, репродуктивная стратегия исследуемых видов орхидей Крыма определяется степенью взаимодействия с грибом – микоризообразователем, особенностями условий произрастания и характером опыления изучаемых видов.

При проведении качественных гистохимических реакций были установлены аллелопатические взаимоотношения гриба-микоризообразователя с корневищными видами орхидей. У растений, находившихся в генеративном периоде онтогенеза отмечена начальная стадия лигнификации клеток паренхимы, прилегающей к центральному цилиндру, и более интенсивно лигнификация периферических участков ксилемы центрального цилиндра. Обнаружены многочисленные пелотоны в клетках первичной коры, которые дают слабую положительную реакцию на лигнин.

При качественной реакции на пектин отмечалась яркая окраска сине-голубого цвета эпibleмы и некоторых проводящих элементов ксилемы у ювенильных растений. Ксилема генеративных растений отличалась более интенсивной окраской синего цвета, а также экзодермы и перицикла.

При качественной реакции на фенольные соединения у ювенильных растений наблюдалось окрашивание эпibleмы и некоторых проводящих элементов ксилемы.

У генеративных растений эпиблема практически не окрашена. В первичной коре пелотоны приобрели светло желтую окраску, а некоторые элементы ксилемы коричневую.

Пелотоны гриба, локализованные в первичной коре на всех срезах, дальше эндодермы не проникали.

Согласно качественным гистохимическим реакциям можно отметить изменения накопления веществ лигнина, пектина и фенольных соединений в связи с изменением степени взаимодействия между высшим растением и грибом

### ВЫВОДЫ

1. С увеличением содержания гумуса на 0,5% степень микотрофности корневищных геофитов уменьшается в 2,3 раза.
2. Выявлена отрицательная коррелятивная зависимость между морфометрическими параметрами и степенью микотрофности.
3. С увеличением степени микотрофности в группе корневищных геофитов количество семязачатков в завязи возрастает в 5 раз.
4. При увеличении частоты встречаемости микоризной инфекции в группе корне клубневых геофитов количество семян в коробочке уменьшается в 1,5 раза, а в группе корневищных геофитов увеличивается примерно в 5 раз.
5. Репродуктивная стратегия исследуемых видов орхидей Крыма определяется степенью взаимодействия с грибом – микоризообразователем, особенностями условий произрастания и характером опыления изучаемых видов.
6. Динамика аллелопатических взаимодействий обусловлена накоплением лигнина, пектина и фенольных соединений в тканях первичной коры корневища орхидей.

### Список литературы

1. Батыгина Т.Б. Эмбриология цветковых растений / Батыгина Т.Б. – С.-Пб.: Мир и семья, 2000. – 645с.
2. Вахрушева Л.П., Кучер Е.Н. Особенности репродуктивного усилия некоторых видов орхидей Крыма / Вахрушева Л.П., Кучер Е.Н. // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 1997. – Вып. 9. – С. 65 – 67.
3. Вахрушева Л.П. Новое местонахождение *Ophrys taurica* (Agg) Nevsmi в Крыму / Л.П. Вахрушева, М.Д. Свольнский, Е.Н. Кучер // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 2002. – Вып. 12. – С. 164 – 169.
4. Собко В.Г. Орхидеи Украины / Собко В.Г. – К: Наукова думка, 1989. -190с.
5. Татаренко И.В. Микориза орхидных (*Orchidaceae*) Приморского края / И.В. Татаренко // Ботанический журнал. – 1995. –Т. 80. -№8. –С.64-72.
6. Холодов В.В. Насекомые - посетители и опылители орхидеи *Orchis purpurea* Huds. (*Orchidaceae*) в Крыму / В.В. Холодов, В.В. Назаров, С.П. Иванов // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 2002. – Вып. 12.– С.77 – 80.
7. Кучер Е.Н., Мишнев В.Г. Репродуктивное усилие у крымских орхидей в связи с их микотрофностью / Е.Н. Кучер, В.Г. Мишнев // Экология и ноосферология. – 2000. – Т.3. -С. 79 – 85.
8. Смирнова Е.С. Морфология побеговых систем орхидных / Смирнова Е.С. - М: Наука. – 1990. -207с.
9. Жизнь растений / [Тахтаджян А.Л., Артюшенко З.Т., Грудзинская И.А., Грушвицкий И.В., Цвелев Н.Н.] –М.: Просвещение, 1982. –Т. 6. -540 с.
10. Вахромеева М.Г. Орхидеи нашей страны /Вахромеева М.Г., Денисова Л.В., Никитина С.В. –М.: Наука, 1981.- 224 с.

11. Черевченко Т.М., Заименко Н.В., Мартыненко Е.И. Биохимические особенности видов орхидных различных экотипов / Т.М. Черевченко, Н.В. Заименко, Е.И. Мартыненко // Физиологи и биохимия культурных растений .-2002. –Т. 32, №2. -С.121 -127
12. Euwe D., Nelly E. Effect of mycorrhizal fungi on in vitro nitrogen response of some dutch indigenous orchid species // Can. J. Bot. -1995. –V. 73, №8. -1203 -1211p.
13. Матвеев Н.М. Аллелопатия как фактор экологической среды / Матвеев Н.М. – Самара: Самар. университета, 1994. – С. 3-20.
14. Барыкина Р. П., Веселова Т. Д. Основы микротехнических исследований в ботанике / Р.П. Барыкина, Т.Д.Веселова. – М:МГУ. – 2000. – 125с.

*Лисякова Н.Ю., Сімагіна Н.О. Динаміка симбіотичних і алелопатичних стосунків у кореневищних видів орхідей // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С.78-85.*

У 4 представників під родини *Neottioideae*, які відносяться до групи кореневищних геофітів, виявлені особливості локалізації ендомікотрофного компонента, динаміка симбіотичних і алелопатичних стосунків в різні стадії онтогенезу, вплив едафічних і кліматичних чинників на міру мікотрофності. Встановлена негативна корелятивна залежність між мірою мікотрофності і морфометричними параметрами, а також потенціальною і реальною насінною продуктивністю кореневищних орхідей Криму.

**Ключові слова:** орхідеї, мікотрофність, алелопатія.

*Lysyakova N.Yu., Simagina N.O. Dynamics of symbiotic and allelopathic interaction of rhizomatous Crimean orchids // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 78-85.*

At 4 representatives of subfamilies *Neottioideae*, concerning to groups of rhizomatous geophytes, peculiarities of localization of endomycotrophic component, dynamics of symbiotic and allelopathic interaction on ontogenesis phases, influences of edaphic and climatic factors on a degree of micotrophity are revealed. It is established negative correlative dependence between a degree of micotrophity and morphometric parameters, and also potential and real seed efficiency of rhizomatous species of Crimean orchids.

**Keywords:** orchids, micotrophity, allelopathy.

*Поступила в редакцію 07.05.2009г.*