

УДК 582.594.2:581.524.1

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ  
АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ОРХИДНЫХ  
IN VITRO**

*Назаров В.В.<sup>1</sup>, Широков А.И.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия*

<sup>2</sup>*НИИ Ботанический сад Нижегородского государственного университета*

*им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия*

*E-mail: vvn2222@mail.ru*

Особенности протекания онтогенеза у *Cynorkis seychellarum* изучались в условиях *in vitro* в ходе его монокультуривования и при культивировании с другими видами орхидных. Анализ морфологических изменений протокормов и семян показал разнонаправленный характер взаимовлияния *C. seychellarum* на другие изученные виды. Разнонаправленность этих взаимодействий обусловлена, прежде всего, видовыми особенностями орхидных и может быть представлена схематически "рядом аллелопатической напряженности": *Eulophya streptopetala* ← *Paphiopedilum coccineum* ← *Paphiopedilum delenatii* ← *Cynorkis* → *Doritis pulcherrima* → *Orchis militaris*. Вектор направленности взаимодействий зависел также и от степени развитости испытуемых организмов. При совместном выращивании протокормов и ювенильных растений в паре *Cynorkis* – *Orchis militaris* ювенильные растения всегда обнаруживали доминирование.

**Ключевые слова:** Orchidaceae, *Cynorkis seychellarum*, аллелопатия, вектор аллелопатической направленности.

**ВВЕДЕНИЕ**

В 1981 году фондовая коллекция БИН РАН была пополнена новым видом орхидного с Сейшельских островов – *Cynorkis seychellarum* Aver. [1]. Это ложно-клейстогамное растение оказалось способно к самовозобновлению в оранжерейных условиях и впоследствии широко саморасселилось по коллекции орхидных. Однако массовые всходы *C. seychellarum* наблюдались в горшках только определенных видов (Рис. 1). Это навело нас на мысль о возможности существования аллелопатического взаимодействия между *Cynorkis* и другими видами орхидных. Изучение аллелопатических взаимодействий в условиях *in situ* и *ex situ* крайне осложнено различными факторами, например, постоянно меняющимися условиями окружающей среды, влиянием микроорганизмов (в том числе и сильным аллелопатическим влиянием грибов-микоризообразователей), прямой конкуренцией между растениями за ресурсы [2-4]. Поэтому для проверки этой гипотезы мы выполнили серию экспериментов по совместному культивированию целого ряда видов тропических орхидных и некоторых орхидных умеренной зоны с *Cynorkis seychellarum* в асептических условиях *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были выбраны следующие орхидные: *Cattleya* sp., *Cynorkis seychellarum* Aver., *Doritis pulcherrima* Lindl., *Eulophia streptopetala* Lindley, *Orchis militaris* L., *Paphiopedilum coccineum* Perner & Herrmann, *P. delenatii* Guillaumin. Незрелые семена *Cynorkis seychellarum* и *Orchis militaris* были пророщены в асептических условиях *in vitro* на среде Фаста с добавлением БАП и НУК [5]. Все остальные изученные виды тропических орхидных были вначале получены из незрелых семян в асептических условиях *in vitro* на среде Tomale [6]. После достижения их протокормами размеров в несколько миллиметров в диаметре они пересаживались совместно с протокормами, сеянцами и ювенильными растениями *Cynorkis seychellarum* на асептическую безгормональную среду Фаста попарно. На такую же среду высаживались контрольные растения испытуемых видов орхидных, но без *C. seychellarum*. Экспериментальные и контрольные растения одной группы выращивались при одинаковом световом и температурном режиме, а среда для их пересадки всегда разливалась из одной колбы. Это делалось для исключения влияния малых различий окружающих условий выращивания на ход эксперимента. На втором этапе экспериментов мы производили проверку влияния смывов веществ из среды, на которой проводилось культивирование изученных видов орхидных на прорастание семян *Cynorkis*.



Рис. 1. Плотность самосева *Cynorkis seychellarum* в горшках различных орхидных коллекции БИН РАН: 1-2 – *Cyrtopodium* sp.; 3 – *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl.; 4-7 – *Eulophya* sp. Стрелками указаны органы растений *C. seychellarum*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2012–13 гг. было получено несколько тысяч протокормов и сеянцев *C. seychellarum* в культуре *in vitro*. Семена этого орхидного в асептических условиях начинали прорастать на гормональной среде Фаста после 3-х месячного периода покоя. Его протокормы заметно отличались от протокормов большинства изученных видов тем, что они были густо покрыты многочисленными длинными (до нескольких мм) эпидермальными волосками (Рис. 2: 8). Этот признак был обнаружен и у ювенильных растений в *ex situ*. Корни этих растений были густо покрыты длинными

тонкими волосками. Особенно это было заметно в местах соприкосновения корней *C. seychellarum* с корнями других орхидных при их совместном произрастании (Рис. 2: 9).

Полученные протокормы и ювенильные растения *C. seychellarum* высаживались на асептическую безгормональную среду совместно с протокормами и сеянцами других видов орхидных. По истечении нескольких месяцев культивирования испытуемых пар производилась оценка степени обоюдного влияния по размерам корней и листьев и их числу. Анализ морфологических изменений протокормов и сеянцев показал разнонаправленный характер взаимовлияния *C. seychellarum* на другие изученные виды орхидных. Обоюдно положительный характер взаимодействия показал *Synorkis* с сеянцами *Eulophya streptopetala*. В ходе длительного совместного культивирования сеянцы *Eulophya streptopetala* обнаруживали почти четырехкратное увеличение диаметра псевдобульб и



Рис. 2. *Cynorkis seychellarum*: 1 – верхняя часть соцветия с распусившимся цветком и бутонами; 2 – нижняя часть генеративного растения с несколькими ювенильными растения вокруг; 3 – общий вид; 4 – генеративный побег с коробочками и отцветшими цветками; 5 – бутон; 6 – коробочка; 7 – семена; 8 – протокорм; 9 – ювенильное растение на корне орхидного-"хозяина"; 10 – ювенильное растение. Стрелками указаны органы растений *C. seychellarum*.

двукратное увеличение диаметра корней по сравнению с контрольными экземплярами. Ювенильные растения *Synorkis* также показали хороший прирост корневой биомассы. При этом все корни были плотно покрыты длинными волосками (Рис. 3: 1). К этому типу взаимодействия следует отнести пару *Synorkis* – *Paphiopedilum coccineum*, где наблюдалось трехкратное увеличение общих размеров *P. coccineum* по сравнению с контролем. При этом сеянцы *Synorkis* имели крупные листья и хорошо развитые корни, но волоски менее плотно покрывали корни (Рис. 3: 2,3). Интересно, что другой *Paphiopedilum* – *P. delenatii* показал с *Synorkis* уже односторонне положительный характер. В ходе длительного совместного

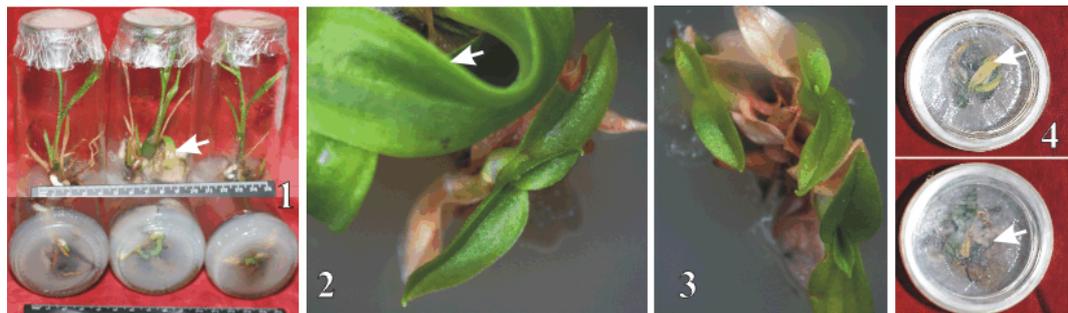


Рис. 3. Экспериментальные и контрольные колбы с *Synorkis seychellarum* и другими изученными видами орхидных: 1 – *Eulophya streptopetala* (в центре совместно с *S. seychellarum*, по бокам – контроль); 2-3 – *Paphiopedilum coccineum* (2 – после двух месяцев совместного культивирования, 3 – контроль); 4 – *Paphiopedilum delenatii* (вверху – после двух месяцев, внизу после пяти месяцев совместного культивирования). Стрелками указаны органы растений *C.seychellarum*.

культивирования *P. delenatii* показал трехкратное увеличение площади листьев и хорошо развитую корневую систему по сравнению с контрольными растениями. Последние, после годичного культивирования, практически прекращали свой рост. Однако *P. delenatii* оказывал явное угнетающее действие на *Synorkis*. В ходе культивирования наблюдалось пожелтение листьев, которые опадали впоследствии, а новые листья редуцировались до нескольких мм в длину, но корневая система *Synorkis* оставалась хорошо развитой (Рис. 3: 4). Односторонне положительный характер влияния установлен для пары *Synorkis* – *Cattleya sp.* Здесь уже *Synorkis* проявил явное доминирование в развитии. В ходе эксперимента он образовывал наиболее крупные листья, мощную корневую систему с хорошо развитым запасующем клубнем. Корневые волоски в этом случае были наиболее длинными и густыми. *Synorkis* оказывал слабо угнетающее действие на сеянцы *Cattleya* (Рис. 4: 1). Интересно, что наружный слой вилламена *Cattleya* в местах непосредственного соприкосновения с корневыми волосками *Synorkis* образовывал одноклеточные длинные выросты – что не характерно для этого орхидного. Слабое взаимное антогонистическое влияние проявилось в паре *Synorkis* – *Doritis*. При совместном культивировании надземные органы обоих орхидных обнаруживали очевидное недоразвитие по сравнению с контролем. Интересно, однако, что после подсадки

*Cynorkis* к *Doritis* корни у последней значительно удлинились. При этом темные пятна из окисленных фенольных веществ вокруг корней *Doritis* постепенно



Рис. 4. Экспериментальные и контрольные колбы с *Cynorkis seychellarum* и другими изученными видами орхидных: 1 – *Cattleya* sp. (результат совместного шестимесячного культивирования семян); 2-3 – *Doritis pulcherrima* (2 – контрольные колбы, 3 – результат совместного шестимесячного культивирования семян); 4-5 – результат полуторагодичного совместного культивирования трехмесячных семян *Orchis militaris* с протокормами *C. seychellarum*. Стрелками указаны органы растений *C. seychellarum*.

"рассасывались" при появлении в этой зоне корней *Cynorkis* (Рис. 4: 2,3). Наиболее антагонистическое влияние обнаружено у пары *Cynorkis* – *Orchis militaris*. При совместном культивировании протокормов этих орхидных наблюдалась массовая их почернение и гибель. У оставшихся особей обнаружены разнообразные морфологические аномалии. Эти аномалии наблюдались у годовалых ювенильных растений *O. militaris* даже при посадке к ним протокормов и мелких семян *Cynorkis*. Удивительно, но в этом случае, прирост стеблевой фитомассы происходил значительно быстрее, чем у контрольных растений, тогда как корневая система и запасующий клубень были, наоборот, недоразвитыми (Рис. 4: 4,5). Полученные результаты у изученных орхидных можно однозначно объяснить только исходя из концепции аллелопатического влияния. Оно осуществляется прежде всего через непосредственный корневой контакт и корневые выделения. Разнонаправленность этих взаимодействий обусловлена не только видовыми особенностями орхидных. В некоторых случаях (например, в паре *Cynorkis* – *O. militaris*) вектор направленности зависел от степени развитости испытуемых организмов. Полученные данные об аллелопатической активности *Cynorkis seychellarum* в условиях *in vitro* хорошо согласуются с наблюдениями о поведении этого орхидного в условиях *ex situ* фондовой коллекции БИН РАН. В обоих случаях протокормы, семена и взрослые растения *Cynorkis* показывали наибольшую интенсивность роста и цветения при совместном произрастании с видами *Eulophya*.

Более детальные исследования аллелопатической активности орхидных в условиях *in vitro* и *in situ* имеют важное теоретическое и практическое значение. Результаты этих исследований позволят нам в будущем более глубоко понять поведение орхидных в плотнонаселенных тропических эпифитных сообществах и

сохранить все многообразие этих удивительных растений. Данные о направленности аллелопатических взаимодействий разных видов орхидных позволяют перейти от их монокультуры к поликультуре, что открывают новые возможности для более эффективного выращивания этой сложной группы растений.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлена высокая аллелопатическая активность *Cynorkis seychellarum* по отношению к определенным видам орхидных.
2. Аллелопатическая активность *C. seychellarum* по отношению к другим изученным видам орхидных имела видоспецифический разнонаправленный характер взаимовлияния. Разнонаправленность этих взаимодействий может быть представлена схематически "рядом аллелопатической напряженности": *Eulophya streptopetala* ← *Paphiopedilum coccineum* ← *Paphiopedilum delenatii* ← *Cynorkis* → *Doritis pulcherrima* → *Orchis militaris*.
3. Вектор направленности взаимодействий завит также и от степени развитости испытуемых организмов. При совместном выращивании протокормов и ювенильных растений в паре *Cynorkis* – *Orchis militaris* ювенильные растения всегда обнаруживали доминирование.
4. Особенности саморасселения *C. seychellarum* по коллекции орхидных определяются в первую очередь направленностью его аллелопатической активности по отношению к другим видам.
5. Исследования аллелопатической активности орхидных в условиях *in vitro* и *in situ* имеют важное теоретическое и практическое значение. Они позволяют понять особенности поведения орхидных в плотнонаселенных тропических эпифитных сообществах и перейти от монокультуры орхидных к их поликультуре.

#### Список литературы

1. Аверьянов Л. В. Новый вид рода *Cynorkis* (Orchidaceae) с Сейшельских островов / Л.В. Аверьянов // Бот. журн. – 1983. – Т. 68, № 11. – С. 1566-1568.
2. Работнов Т.А. Экспериментальная фитоценология / Тихон Александрович Работнов – М. : Изд-во МГУ, 1987. – 180 с.
3. Миркин Б.М. Аллелопатия: состояние теории и методы изучения / Б.М. Миркин, И.Ю. Усманов // Журнал общей биологии. – 1991. – Т. 52, № 5. – С. 646-655.
4. Лысякова Н.Ю. Динамика симбиотических и аллелопатических отношений у корневищных видов орхидей / Н.Ю. Лысякова, Н.О. Симагина // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского, Серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22 (61), № 2. – С. 78-85.
5. Пименова А.А. Коллекция живых растений рода *Cypripedium* и микроклональное размножение / А.А. Пименова, Е.В. Андропова // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : Материалы III Всерос. науч.-практ. конф. (Волгоград, 19–21 августа 2008 г.) / Под ред. А. С. Демидова; Отд. биол. наук РАН, Сов. бот. садов России [и др.] . – Белгород: Изд-во БелГУ, 2008. – С. 123-127.
6. Thomale H. Die Orchideen. Einführung in die Kultur und Vermehrung tropischer und einheimischer Orchideen / Hans Thomale // Stuttgart: Eugen Ulmer, 1954. – 189 s.

PRELIMINARY RESEARCH RESULTS OF ALLELOPATHIC INTERACTION  
OF SOME ORCHIDS *IN VITRO*

Nazarov V.V.<sup>1</sup>, Shirokov A.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Crimean Federal V.I. Vernadsky University, Simferopol, Russia

<sup>2</sup>NII Botanical Garden of N. I. Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russia

E-mail: vvn22222@mail.ru

Ontogenetic phases in the pseudo-cleistogamous orchid species *Cynorkis seychellarum* were studied *in vitro* in plants growing alone and in specimens growing together with other orchid species. The analysis of morphological changes of the orchid protocorms and seedlings shows the multidirectional character of the interaction between *C. seychellarum* and other studied species. The mutually positive nature of interaction is established between seedlings of *Cynorkis* and seedlings of *Eulophya streptopetala*. Seedlings of *E. streptopetala* showed almost quadruple increase in diameter of pseudobulbs and double increase in diameter of roots during a long joint cultivation in comparison with a control group which was solitarily cultivated. Juvenile plants of *Cynorkis* also showed a double increase of root biomass in comparison with a monoculture (control). A positive interaction, however to a lesser extent, is also found in the *Cynorkis* – *Paphiopedilum coccineum* pair. An unilaterally positive nature of influence is established for *Cynorkis seychellarum* – *Paphiopedilum delenatii* (domination) and *Cynorkis* (domination) – *Cattleya sp.* pairs. Weak mutual antagonistic influence was shown in the *Cynorkis seychellarum* – *Doritis pulcherrima* pair. Obvious antagonistic influence to each other reveals the *Cynorkis* – *Orchis militaris* pair. In this orchid pair, their massive blackening and death was observed during joint cultivation of their protocorms. Various morphological anomalies are found in the surviving individuals. The received results in the orchids studied can only be unambiguously explained by the concept of allelopathic interaction. The multi-vector character of these interactions is caused first of all by species-specific features of the orchids and can be presented schematically as a "row of allelopathic potentiales": *Eulophya streptopetala* ← *Paphiopedilum coccineum* ← *Paphiopedilum delenatii* ← *Cynorkis* → *Doritis pulcherrima* → *Orchis militaris*. The vector of the allelopathic interactions depends also on the degree of the organism development. Only the juvenile plants show dominance during a joint cultivation of protocorms and juvenile plants in the *Cynorkis* – *Orchis militaris* pair.

**Keywords:** Orchidaceae, *Cynorkis seychellarum*, allelopathy, vector allelopathic potential.

**References**

1. Averyanov L.V. New species of the genus *Cynorkis* (Orchidaceae) from the Seychelles, *Bot. Zhurn* **68**, **11**, 1568 p. (1983).
2. Rabotnov T.A. *An experimental phytocenology* (Publishing House MGU, Moscow, 1987) 180 p.
3. Mirkin B.M., Usmanov I.Yu. Allelopaty: status of the theory and methods of studying, *Zhurnal Obshchei Biologii*, **52**, **5**, 655 p. (1991).
4. Lysyakova N.Yu., Simagina N.O. Dynamics and allelopathic symbiotic relationship in rhizomatous species of orchids, *Scientific Notes of Taurida National V. I. Vernadsky University*, **22(61)**, **2**, 78 p. (2009).
5. Pimenova A.A., Andronova E.V. Collection of live plants of the genus *Cypripedium* and micropropagation, *Proceedings of II All-Russian scientifically-practical conference Biotechnology as instrument of preservation of the plant biodiversity* (Publishing House BelGU, Belgorod, 2008), 123p.
6. Thomale H. *Die Orchideen. Einführung in die Kultur und Vermehrung tropischer und einheimischer Orchideen* (Eugen Ulmer, Stuttgart, 1954). 189 p.

*Поступила в редакцию 02.11.2014 г.*