

Черник В.Ф. Цитоэмбриологические исследования – методическая основа сохранения биоразнообразия редких видов орхидных Беларуси / В.Ф. Черник/ Сборник статей XLIX международной научно-практической конференции «Российская наука в современном мире». Москва, 15 октября 2022: «Научно-издательский центр «Актуальность.РФ», 2022. С. 11 – 15.



«Российская наука в современном мире»
XLIX Международная научно-практическая конференция
15 октября 2022
Научно-издательский центр «Актуальность.РФ»

СБОРНИК СТАТЕЙ

Collected Papers XLIX International Scientific-Practical conference «Russian Science in the Modern World» Research and Publishing Center «Actualnots.RF», Moscow, Russia October, 15, 2022 Moscow 2022

Сборник статей XLIX международной научно-практической конференции. Москва: «Научно-издательский центр «Актуальность. РФ», 2022. – 296 с.

ISBN 978-5-6048589-8-1

Книга представляет собой сборник статей XLIX международной научно-практической конференции «Российская наука в современном мире» (Москва, 15 октября 2022 г.). Представленные доклады отражают наиболее значительные достижения в области теоретической и прикладной науки. Книга рекомендована специалистам, преподавателям и студентам. Сборник рецензируется членами оргкомитета.

Издание включено в Elibrary согласно лицензионному договору 930-03/2015К. Организатор конференции: Научно-издательский центр «Актуальность.РФ». При информационной поддержке: Пензенского государственного университета Федерального государственного унитарного предприятия «Информационное телеграфное агентство России (ИТАР-ТАСС)» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Российская книжная палата» Научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова ISBN 978-5-6048589-8-1 © ООО «Актуальность.РФ»

Черник В.Ф. Цитоэмбриологические исследования – методическая основа сохранения биоразнообразия редких видов орхидных Беларуси / В.Ф. Черник/ Сборник статей XLIX международной научно-практической конференции «Российская наука в современном мире». Москва, 15 октября 2022: «Научно-издательский центр «Актуальность. РФ», 2022. С. 11 – 15.

УДК 581.522.4

**ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ –
МЕТОДИЧЕСКАЯ ОСНОВА СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ
РЕДКИХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ БЕЛАРУСИ**

В.Ф. Черник

Канд. биол. наук, доцент факультета естествознания,
Белорусский государственный педагогический университет имени Максима
Танка, Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье изложены некоторые данные цитоэмбриологического исследования редких видов семейства орхидных белорусской флоры. Показано значение цитоэмбриологического метода исследования в разработке основ технологии клонального микроразмножения орхидных в целях разрешения проблемы сохранения малых популяций представителей *Orchidaceae* Juss.

**CYTOEMBRYOLOGICAL STUDIES - A METHODOLOGICAL BASIS
FOR CONSERVATION OF BIODIVERSITY OF RARE ORCHID SPECIES
IN BELARUS**

V. Chernik

Cand. biol. Sciences, Associate Professor of the Faculty of Natural Sciences, Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank, Minsk, Republic of Belarus

Annotation. The article presents some data of a cytoembryological study of rare species of the orchid family of the Belarusian flora. The significance of the cytoembryological research method in the development of the fundamentals of orchid clonal micropropagation technology in order to solve the problem of preserving small populations of representatives of *Orchidaceae* Juss is shown.

Виды орхидных белорусской флоры относятся к редким растениям. Проблема заключается не только в том, что на территории Беларуси редко встречаются популяции орхидных, но также и в том, что в этих популяциях произрастает малое количество особей (часто 2–3 особи). Поэтому

необходимы разработка биотехнологических методов сохранения видов, а также цитоэмбриологическое исследование популяций, позволяющее установить оптимальную стадию культивирования репродуктивных органов на питательной среде. Анализ литературы показал, что семязачатки орхидных, изолированные на ранних этапах развития, поддаются культивированию на специально подобранных питательных средах. Так, в опытах В.А. Поддубной-Арнольди [1], семязачатки приступали к формированию проростков. Эмбриологический материал по дикорастущим орхидным, собранный на территории Беларуси, может оказать помощь в исследованиях по сохранению их малых популяций.

Эмбриология культивируемых видов орхидных исследована достаточно подробно [1, 2, 3]. Имеются данные о строении стенки пыльника и образовании микроспор; изучено развитие и строение зародышевого мешка и образование эндосперма. Недостаточно сведений о развитии женской генеративной сферы у дикорастущих видов орхидных, произрастающих на границе ареала.

Цель работы: выяснить особенности оплодотворения многочисленных семязачатков в пределах завязи у дикорастущих видов орхидных, разработать технологию сохранения малых популяций путем культивирования репродуктивных органов орхидных *in vitro*.

Материал и методы. Объектами исследования явились малые популяции редких видов семейства *Orchidaceae* Juss. флоры Беларуси, нуждающиеся в наблюдении и охране: *Gimnadenia conopsea* (L.)R.Br. (Островецкий район, окр. д. Жукойни, злаково-осоковый переувлажненный луг), *Cephalanthera rubra* (L.)Rich. (Королево-Мостовское лесничество Национального парка «Беловежская пуща», дубрава орляковая), *Listera ovata* (L.)R.Br. (Островецкий район, 2,0 км к северо-востоку от д. Белая вода, приручейный ольс).

Сбор материала проводился в естественных популяциях Беларуси. Использованы общепринятые методики цитоэмбриологического исследования [1]. Завязи цветков фиксировались в смеси Карнуа. Микропрепараты окрашивались гематоксилином по Гейденгайну. Изучение и фотографирование постоянных микропрепаратов проведено с помощью микроскопа Nu-2 фирмы Цейс. Процессы оплодотворения половых ядер изучены при увеличении $\times 1500$ (объектив масляной иммерсии $\times 100$ и окуляр $\times 15$).

Для культивирования семязачатков орхидных использован модифицированный состав питательной среды Л. Кнудсона по методу Черевченко: кальциевая селитра 1,0 г/л; фосфат калия 0,25 г/л; сульфат магния 0,25 г/л; хелат железа 0,05 г/л; сульфат аммония 0,5 г/л; гумат натрия 0,05 г/л; активированный уголь 1,0 г/л; сахароза 20,0 г/л; ага-агар 8 г/л. Стерилизация семязачатков достигалась путем погружения их в 70 % спирт на 10 мин с применением промывания в бидистиллированной воде. После стерилизации

в специальном ламинаре семязачатки высевались на агаризованную питательную среду.

Результаты исследования. Семязачатки у всех изученных представителей анатропные, обычно развиваются два интегумента. Зародышевый мешок у изучаемых видов восьмиядерный моноспорический. Полярные ядра сливаются до оплодотворения. Антиподы, чаще в количестве трех, представлены ядрами, которые дегенерируют. Слияние половых ядер происходит по премитотическому типу (рис. 1), то есть до первого митоза зиготы.

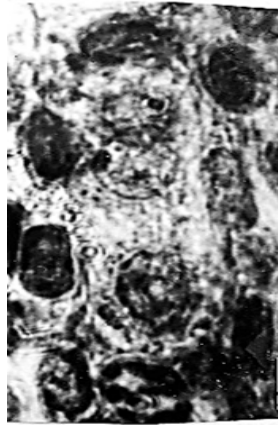


Рис. 1. Оплодотворенный зародышевый мешок *Listera ovata*

На рисунке 2 видны: развитие зародышевого мешка (тетрада мегаспор; развитие нижней из четырех мегаспор и образование одноядерного зародышевого мешка); ядрышки спермиев, расположенные в ядре яйцеклетки и центральной клетки и зародыш ранней стадии развития у *Cephalantera rubra*. В большинстве случаев в популяциях изученных видов оплодотворение протекает нормально.

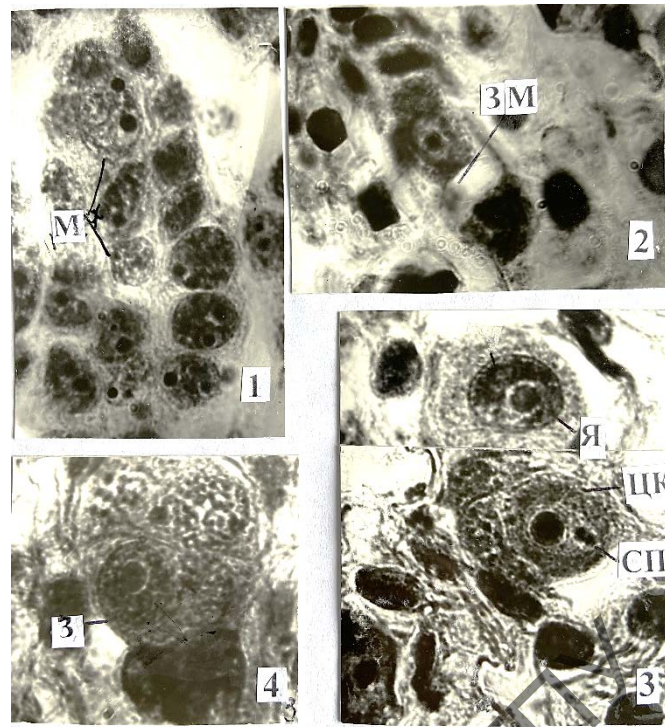


Рис. 2. Развитие зародышевого мешка, двойное оплодотворение и сформированный проэмбрио у *Cephalanthera rubra*: 1. – тетрада мегаспор; 2. – развитие нижней из четырех мегаспор и образование одноядерного зародышевого мешка; 3. – оплодотворенные яйцеклетка и центральная клетка зародышевого мешка; 4 – проэмбрио. М – мегаспора; ЗМ – зародышевый мешок; СП – спермий; З – зародыш; Я– яйцеклетка; ЦК – центральная клетка.

Эмбриогенез осуществляется по Asterad-типу. Зародыш в зрелом семени не дифференцирован. Его дифференциация происходит за период прорастания семени. Зародыш орхидных овальной формы с подвеском.

У *Listera ovata* у большинства семязачатков в завязи отмечено наличие двойного оплодотворения, зародышей ранних стадий развития и ядер эндосперма (рис. 3).

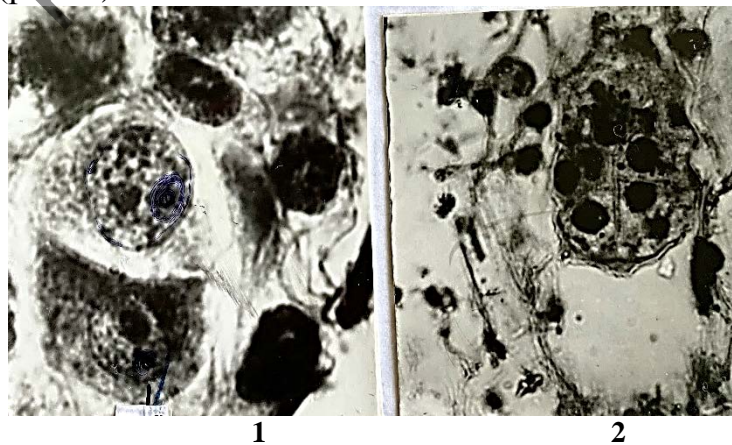


Рис. 3. Двойное оплодотворение (1) и многоклеточный зародыш (2) у *Listera ovata*

Эмбриологическая особенность развития *Listera ovata* и *Gimnadenia conopsea* заключается в морфологической полноценности половых клеток, зигот и зародышей ранних стадий развития во многих зародышевых мешках.

Цитоэмбриологические исследования позволили выявить оптимальную стадию культивирования *Listera ovata* на питательной среде. Оказалось, что это – семязачатки, содержащие зародыши на разных стадиях развития, в том числе и на ранних стадиях. Таким образом, цитоэмбриологические исследования послужили методической основой разработки биотехнологических приемов ускоренного получения большого количества проростков.

Культивирование семязачатков осуществлялось в закрытых стерильных сосудах на питательной среде, при соблюдении температурно-светового режима, что позволило наблюдать их дальнейшее развитие. Оптимальная температура в климатокамере составила 25 °С, круглосуточное флюоресцентное освещение – 3000 люкс, влажность воздуха – 76 %. опыты показали, что зародыши исследуемых дикорастущих видов орхидей можно выращивать на искусственной питательной среде Кнудсона, специально подобранной для орхидей. Для этого семязачатки с находящимися в них зародышами ранних стадий развития помещали на питательную среду Кнудсона. В процессе культивирования недоразвитые зародыши питались не только за счет среды, но и за счет тканей семязачатков. Проростки, полученные на питательной среде, были дифференцированы и не отличались от проростков, появившихся из зрелых семян. Таким образом, применение технологии клонального микроразмножения (культивирование семязачатков *Listera ovata* на питательной среде, содержащей сбалансированный раствор солей), позволило получить проростки, что имеет практическое значение для решения проблемы сохранения редких видов семейства Orchidaceae.

Использованные источники

1. Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений /В.А. Поддубная-Арнольди. – Москва, Наука 1986. – 507 с.
2. Савина Г.И., Поддубная -Арнольди В.А. Семейство Orchidaceae // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Т. 5, Л.: Наука. 1990. – С. 172–179
3. Савина Г.И. Оплодотворение у орхидных (Orchidaceae): Автореф. дисс. канд. биол. наук. Л.: Ботан. ин-т АН СССР, 1965.
4. Андропова Е.В., Ковалева А.А., Евдокимова Е.Е., Назаров В.В. Причины низкой жизнеспособности семян *Orchis purpurea* (Orchidaceae) в Крыму. Ботан. журн. 2018. 103 (8): 992–1002.
5. Черник В.Ф. Изучение особенностей эмбриологии и репродуктивной биологии редких и исчезающих видов растений Беларуси / В.Ф. Черник. Весці БДПУ. Серыя 3. 2019. № 1. С. 22–28.
6. Черник В.Ф. Разработка основ технологии микроклонального размножения *Vaccinium corymbosum* L. в культуре *in vitro*. / В. Ф. Черник // Global science and innovations 2019: Central Asia : материалы VI Междунар. науч.-практ. конф., Нур-Султан, 10–12 мая 2019 г. / редкол.: Х. Б. Маслов [и др.]. – Нур-Султан, 2019. – Т. 5. – С. 37–41.

Репозиторий БГПУ