



АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИЕ И ЦИТО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *HIMANTOGLOSSUM CAPRINUM* (VIEB.) С. КОСН В СВЯЗИ С МИКОТРОФНОСТЬЮ В КРЫМУ

Наталья Ю. Лысякова и Наталья О. Симагина *

Аннотация. Показана отрицательная корреляция между микотрофностью растений *Himantoglossum caprinum* и их морфометрическими параметрами. Выявлены критерии аллелопатических взаимодействий между орхидеей и грибом микоризообразователем.

Ключевые слова: *Himantoglossum caprinum*, микотрофность

Таврический национальный университет, прос. ак. Вернадского, 4, г. Симферополь, 95007, Украина; * nsimagina@list.ru

Введение

Himantoglossum caprinum (Bieb.) Koch. (ремнелепестник козий) – эндемичный, узкоареальный вид. Крайне редко встречается в горном Крыму и на Южном берегу Крыма (Вульф 1966; Голубев и др. 1999; Собко 1989). *H. caprinum* является наименее изученным видом в трибе Orchideae. В литературе лишь представлены данные Попковой (1999), Собко (1989) по онтогенезу и фенологии этого вида. Поэтому, целью наших исследований было изучение причин слабого возобновления, установление адаптационных механизмов, эмбриологических особенностей *H. caprinum* в Крыму.

Материалы и методы исследований

Исследования проводились в предгорном и горном Крыму в 10 популяциях, различающихся по эдафическим факторам (содержанию гумуса, рН почвы). Для морфологического и анатомического анализа отбирались по 5 растений каждой популяции в иматурную (im), ювенильную (j), виргинильную (v), генеративную (g) фазы онтогенеза. У каждой особи (без нарушения целостности и жизнеспособности систем побегово-корневых модулей) анализировалось по 2 придаточных корня и по 20 срезов каждого из них. Анатомические препараты готовили по общепринятой методике, гистохимические реакции на наличие микобионта с окрашиванием метиленовым синим, фенольные соединения, суберин, пектин, меланоиды по методике Р.П. Барыкиной и Т.Д. Веселовой (2000). Потенциальную и реальную семенную продуктивность определяли по

методике В.В. Назарова (1989).

Результаты и их обсуждение

H. caprinum – гелиофит, который произрастает в светлых дубово-можжевельных лесах в фитоценозах совместно с *Festuca rupicola* Heuff, *Poa sterilis* M.Bieb., *Filipendula vulgaris* Moenh. Положительно реагирует на повышенное содержания кальция в почве, мезотроф. По отношению к влаге – ксеромезофит. Растения данного вида проявляют комбинированный тип жизненной стратегии, сочетая механизмы пациентов и эксплерентов, демонстрируя как сходство так и отличие с представителями трибы Orchideae.

После диссеминации в сентябре, без периода покоя молодого клубня, наблюдается отрастание придаточных корней. Было установлено типичное для представителей семейства Orchidaceae первичное анатомическое строение корня *H. caprinum*. Придаточный корень покрыт ризодермой, под ней располагается первичная кора, включающая экзо-, мезо- и эндодерму. Центральный цилиндр ограничен перициклом и представлен радиальным проводящим пучком с полиархной ксилемой. Фрагменты ксилемы чередуются с участками флоэмы. При исследовании корней изучаемого вида в корневых волосках и субэпидермальном слое корня обнаружены коммуникационные гифы гриба. Чаще всего гриб локализован в субэпидермальных слоях клеток, где гифы образуют характерные плотные клубки (пелтоны). У *H. caprinum* онтоморфогенетические преобразования побегово-корневых комплексов протекают

со сменой микотрофного питания на автотрофное, что имеет определяющее значение для формирования определенных жизненных форм взрослых растений. Согласно классификации И.В. Татаренко (2003), из 4 групп автотрофных орхидей по постоянству и регулярности образования микоризы *H. caprinum* следует отнести к постоянно и регулярно инфицирующимся орхидным, содержащим симбиотические грибы только в придаточных корнях, эпидермальных волосках и перефирических зонах первичной коры корнеклубня. Это менее зависимые от микоризы автотрофные орхидные, в отличие от орхидей, микотрофная специализация которых привела к тому, что вся побеговая или побегово-корневая система превратилась в органы локализации микоризы. Эффективность питания за счет микоризных грибов у этих видов, по-видимому, значительно слабее, чем у орхидных, имеющих специализированные микоризные участки корней в пределах слабомикотрофной корневой системы.

Определение частоты встречаемости микоризы у растений *H. caprinum* на разных стадиях онтогенеза показало, что в виргинильной фазе развития наблюдается максимальное количество клеток корня инфицированных эндодитным грибом (47%), минимальное количество клеток, инфицированных грибом обнаружено у растений в генеративной фазе онтогенеза (30%).

Микобионт, локализуясь в паренхиме коры корня орхидей, проникает только в клетки мезодермы и может достигать эндодермы. Возможно, что ткани орхидных вырабатывают специфические вещества, препятствующие проникновению грибного мицелия в центральный цилиндр. Это свидетельствует о реализации защитных механизмов в форме аллелопатических взаимодействий (Симагина и др. 2009). Многолетними гистохимическими, анатомическими и электронно-микроскопическими исследованиями доказано, что защитной реакцией растительного организма на действие аллелопатического фактора является избыточное накопление лигнина, суберина, пектиновых веществ, меланоидов, фенольных соединений (Богдан 1981). У *H. caprinum* при качественной реакции на лигнин в малиновый цвет окрашиваются лигнифицированные участки ксилемы. Качественная реакция на суберин показала

значительную суберинизацию клеток ризодермы и пелотонов в экзо- и мезодерме. Перечисленные структуры приобрели фиолетовую окраску. При проведении качественной реакции на фенольные соединения элементы ксилемы и ризодерма приобрели темно-коричневую окраску, которая свидетельствует о значительном накоплении этих веществ. Интенсивность окрашивания пелотонов в первичной коре изменялась от желтой до светло-коричневой. При качественной реакции на пектин отмечалось окрашивание в сине-фиолетовый цвет клеток первичной коры, перидермы, некоторых пелотонов в мезо- и эндодерме. Качественная реакция на меланоиды показала незначительное их содержание в клетках мезодермы, которые приобрели слабую желто-зеленую окраску. Согласно качественным гистохимическим реакциям можно заключить, что в гистологических элементах *H. caprinum* накапливаются вещества (суберин, фенольные соединения, пектин, меланоиды) как реакция на взаимодействия между высшим растением и грибом.

В условиях Крыма цветение *H. caprinum* приходится на 2-3 декады июня и продолжается в среднем 1-1,5 месяца. Зацветает соцветие базипетально, не синхронно. Длина соцветия зависит от климатических факторов и интенсивности освещения, возможно от интенсивности симбиотических отношений с эндодитными грибами. При длине соцветия до 30 см количество цветков варьирует от 15 до 20 шт. Листочки околоцветника сложены шлемом. Цветки зеленовато-белые, шлем и губа с пурпурно-фиолетовой оторочкой. Губа повислая, 3 лопастная длиной 3-7 см с ремневидной немного скрученной лопастью, разделенной на верхушке на две узко-линейные доли.

Пыльник у *H. caprinum* тетраспорангиатный. Стенка микроспорангия образуется по однодольному типу и имеет эпидермис, фиброзный эндотеций, один-два эфемерных средних слоя и одно-двурядный секреторный тапетум (Батыгина и Васильев 1980). Образование микроспор симультанное. Зрелые пыльцевые зерна двухклеточные. Аномалии в развитии мужской и женской генеративных сфер *H. caprinum* на этом этапе в наших исследованиях не выявлены.

Вид приспособлен к перекрестному опылению, встречается самоопыление, клейстогамия. К моменту опыления семязпочки очень мелкие, число их очень большое от

нескольких тысяч (4500) до нескольких десятков тысяч (20000).

Зародыши очень мелкие (50-250 мкм), округлой или овальной формы, обычно не дифференцированы на органы. В нижней и средней части соцветия чаще всего образуются коробочки с семенами. Созревают коробочки в конце июля – начале августа, диссеминация отмечается в середине августа – начале сентября. Проведенные морфометрические исследования семян и зародышей из зрелых плодов показали высокую степень вариабельности их линейных параметров. Длина семян составляет от 300 до 750 мкм, ширина от 50 до 250 мкм. Линейные размеры зародышей варьируют: длина 50-160 мкм, ширина 50-100 мкм. Показано, что 40% составляют мелкие семена, 30% – средние и 20% – крупные. Встречаются семена без зародышей или с деформированными зародышами (10%).

Выявленная вариабельность размеров семян и зародышей является, вероятно, следствием основных причин: место положения плода, семян в плоде, числа семязачатков в завязи, количеством запасных питательных веществ в зародыше, особенностями процесса формирования зародыша, а также неэффективностью опыления. Полученные результаты дают основание считать, что высокий уровень гетерогенности семян и зародышей по линейным параметрам может быть связан с асинхронностью процесса формирования зародыша. Такие характеристики являются существенными для процесса сохранения жизнеспособности семян в неблагоприятных условиях, во время прохождения периода покоя и, особенно, для процесса прорастания, как *in vivo* так и *in vitro*.

По данным В.Г. Собко (1989) и В.П. Назарова (1995), *H. caprinum* впервые цветет на 12-13 год жизни. Проростки развиваются под землей на протяжении 4-5 лет. Растение находится в ювенильном состоянии и формирует 1 надземный листок. Иматурный период длится также 3 года. В это время у растения развивается 3-4 узколанцетных или эллиптических листка. После 9-10 лет формируется розетка из 5-7 эллиптических листьев, которые имеют длину до 20 см и ширину около 1,5 см. В это время из почки возобновления впервые появляется зачаточное соцветие. Генеративные особи цветут через год. В начале осени второго года вегетации в апикальной зоне части протокорма

формируется почка с двумя точками роста. На следующий сезон протокорм начинает отмирать, формируя около основания почки придаточный корешок, а в пазухе первичного листа — маленький клубень диаметром 1-1,5 см. После 9-10 лет развития корнеклубень достигает 4 см в диаметре.

Изучение ряда морфометрических параметров (высота растения, длина соцветия, площадь листовой поверхности, количество цветков в соцветии) проводили на генеративных особях. Сравнительные исследования выявили отрицательную зависимость между морфометрическими параметрами растений и степенью микотрофности ($r=0,7$). С увеличением степени микотрофности изученные параметры у генеративных особей *H. caprinum* уменьшаются.

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 *H. caprinum* в Крыму.

Выводы

1. Показана отрицательная корреляция между микотрофностью растений и морфометрическими параметрами (длина соцветий, количество цветков в соцветии, площадь листовой поверхности) у генеративных особей растений;
2. Накопление суберина, фенольных соединений, пектина, меланоидов в гистологических элементах корня *H. caprinum* является результатом аллелопатического взаимодействия между высшим растением и грибом;
3. Морфометрические параметры семян являются существенным фактором, влияющим на репродукцию видов флоры Крыма.

Цитируемые источники

- БАТЫГИНА Т.Б. и ВАСИЛЬЕВА В.Е. 1980. Система воспроизведения у орхидных. *Охрана и культивирование орхидей (Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума, 18-20 марта 1980, Таллин)*: 107-110.
- БАТЫГИНА Т.Б. 2005. Эмбриология цветковых растений. Высшая школа, Москва.

- БАРЫКИНА Р.П., ВЕСЕЛОВА Т.Д., ДЕВЯТОВ А.Г., ДЖАЛИЛОВА Х.Х., ИЛЬИНА Г.М., ЧУБАТОВА Н.В. 2000. Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство. Изд. каф. высших растений МГУ, Москва.
- БОГДАН Г.П. 1981. Природа защитной реакции растений. Наукова думка, Київ.
- ВУЛЬФ О.В. 1966. Сем. Orchidaceae. В: Флора Крыма. Т. 5 (3): 77–124. АН СССР, Ленинград.
- ГОЛУБЕВ В.Н., ЕНА А.В., САЗОНОВ А.В. 1999. Высшие сосудистые растения. *Вопросы развития Крыма. Научно-практический дискуссионно-аналитический сборник* 13:81–116.
- НАЗАРОВ В.П. 1995. Репродуктивная биология орхидных Крыма. Автореф. дис. канд. биол. наук. Санкт-Петербург.
- ПОПКОВА Л.Л. 1999. Редкие виды орхидных Крыма, их микроразмножение и поддержание биологического разнообразия. Автореф. дис. канд. биол. наук. Ялта.
- СОБКО В.Г. 1989. Орхідеї України. Київ, Наук. думка.
- СИМАГИНА Н.О., ЛЫСЯКОВА Н.Ю., БУЛАВИН И.В. 2009. Аллелопатические аспекты симбиотических взаимоотношений некоторых представителей семейства Orchidaceae. *Экосистемы, их оптимизация и охрана* 20: 50–56.
- ТАТАРЕНКО И.В. 2003. Особенности прорастания семян и начальные фазы онтогенеза некоторых наземных орхидных. *Охрана и культивирование орхидей (Материалы Международной конф.)*: 56–58.

**MORPHO-ANATOMICAL, ALLELOPATHIC
AND CYTO-EMBRIOLOGICAL FEATURES OF *HIMANTOGLOSSUM CAPRINUM* (BIEB.) C. KOCH
IN CONNECTION WITH MICOTROPHY**

NATALYA YU. LYSYAKOVA & NATALYA O. SIMAGINA *

Abstract. Negative correlation between mycotrophy of *Himantoglossum caprinum* plants and their morphometric parameters are revealed. The criteria of allelopathic interactions have exposed between an orchid and mycorrhiza-former fungi.

Key words: *Himantoglossum caprinum*, mycotrophy

*V.I. Vernadskiy Taurida National University, prosp. Vernadskogo, 4, Simferopol, 95007, Ukraine; * nsimagina@list.ru*