УДК 582.594.2

DOI: 10.24412/2072-8816-2023-17-3-182-186

## РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ИСКУССТВЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТУБЕРОИДНЫХ ОРХИДНЫХ ИЗ ФЛОРЫ РОССИИ

© 2023 А.М. Прокин\*, А.И. Широков\*\*, В.В. Сырова\*\*\*, А.Е. Макарова\*\*\*

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, 603022, Россия
\*e-mail: prokinam691@gmail.com
\*\*e-mail: aishirokov@mail.ru
\*\*\*e-mail: vvsyrova@mail.ru
\*\*\*e-mail: alena.makarova.95@mail.ru

**Аннотация.** Приводятся результаты экспериментов по искусственному опылению и выявлению способности к гибридизации разных видов тубероидных орхидных. В работе оценивались показатели плодообразования у полученных гибридов, анализировалась жизнеспособность семян методом проращивания *in vitro*.

Ключевые слова: гибридизация, жизнеспособность семян, искусственное опыление.

Поступила в редакцию: 29.03.2023. Принято к публикации: 05.09.2023.

**Для цитирования:** Прокин А.М., Широков А.И., Сырова В.В., Макарова А.Е. 2023. Результаты экспериментов по искусственной гибридизации некоторых видов тубероидных орхидных из флоры России. — Фиторазнообразие Восточной Европы. 17(3): 182–186. DOI: 10.24412/2072-8816-2023-17-3-182-186

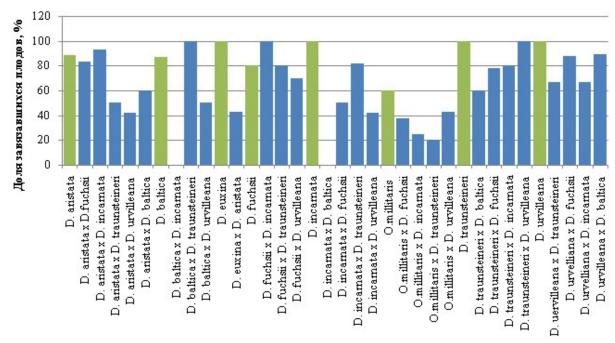
Семейство Orchidaceae является одной из крупнейших систематических групп высших растений, большая часть представителей которой требует охраны как редкие и исчезающие виды. В настоящее время флора Средней России насчитывает 39 видов 2006). Тубероидные орхидные – группа, объединяющая виды, приспособившиеся к сезонному климату с холодной зимой, с тубероидом в подземной части (Averyanov, 2000). Особое место в эволюции орхидных играет процесс гибридизации, при котором сравнительно легко в природе (и особенно в культуре) образуется большое число не только межвидовых, но и межродовых гибридов. Нередко жизнеспособными, существенно такие гибриды являются что расширяет потенциальные возможности эволюции семейства (Averyanov, 1991).

Ряд видов гибридного происхождения могут формироваться от одинаковых родительских таксонов независимо, что объясняет существование более или менее стойких генетических, морфологических, географических и экологических различий между ними (Ефимов, 2012). Если некоторые из гибридов имеют протяженные ареалы и давно широко известны ботаникам, то другие, скорее, представляют собой локальные гибридогенные расы. Установить, является ли в каждом конкретном случае наблюдаемый гибрид стабилизированным видом или результатом случайного скрещивания, остается серьезной таксономической проблемой этой группы (Hedrén, 2002; Balao et al., 2016).

Целью данной работы стало изучение способности к гибридизации разных видов тубероидных орхидных. Работа выполнялась на базе коллекции орхидных Ботанического сада ИББМ ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Объектом исследований стали 8 видов тубероидных орхидных из 2 родов – *Dactylorhiza aristata* (Fisch. ex Lindl.)

Soó, Dactylorhiza euxina (Nevski) Czerep., Dactylorhiza fuchsii (Druce) Soó, Dactylorhiza traunsteineri (Saut. ex Rchb.) Soó, Dactylorhiza urvilleana (Steud.) H.Baumann et Kunkele, Dactylorhiza incarnata (L.) Soó, Dactylorhiza majalis subsp. baltica (Klinge) H.Sund., Orchis militaris L. В ходе эксперимента было проведено искусственное опыление 800 цветков с целью анализа способности данных видов к гибридизации. Процесс искусственного опыления включал в себя перенос поллиниев на рыльце цветка между разными особями одного вида (при контрольном опылении) и между разными видами (при гибридном скрещивании). Для скрещивания особей с разным временем цветения, либо при несинхронном цветении в условиях интродукции, соцветия раннецветущих экземпляров сохранялись при низких положительных температурах, что позволяло поллиниям сохранить жизнеспособность на более долгий период (Dillon, 1957; 2009). Немаловажную роль при искусственном опылении Ivannikov. необходимость соблюдения сроков жизнеспособности женской генеративной сферы, что связано уменьшением воспринимающей способности рыльцевой поверхности по мере продолжительности цветения (Lo et al., 2004). Для исключения факта повторного опыления в условиях открытого грунта, неопыленную часть соцветия удаляли, а опыленную часть закрывали колпачком из тонкой сетки. Для оценки жизнеспособности полученных семян гибридного происхождения был произведен посев семян из 180 коробочек на стерильные питательные среды in vitro. Для посева использовались незрелые семена: части соцветия с плодами либо одиночные плоды собирались на сроке 20 дней после опыления и помещались в чистый пакет с сопроводительной этикеткой. Период с момента сбора коробочек до их посева не превышал двух-трех дней. (Shirokov et al., 2005).

В ходе эксперимента была выявлена доля образованных плодов у опыленных экземпляров (рис. 1).



**Рис 1.** Доля (%) завязавшихся плодов от общего числа опыленных цветков в результате эксперимента по искусственному опылению (зеленым цветом обозначены виды, синим – гибриды)

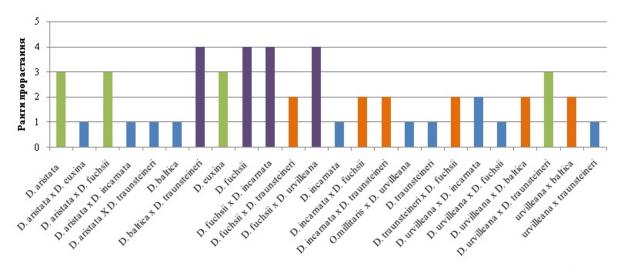
**Fig. 1.** The percentage (%) of the fruit set from the total number of pollinated flowers as a result of the experiment on artificial pollination (green indicates species, blue – hybrids)

Высокий процент формирования коробочек был отмечен в результате опылений между представителями одного вида (Dactylorhiza incarnata, D. euxina, D. traunsteineri,

*D. urvilleana*). Наименьшие показатели плодообразования наблюдаются у *D. aristata*, *D. fuchsii* и *Orchis militaris*. Это может быть связано с разной эффективностью искусственного опыления, с видоспецифичными особенностями и разным уровнем жизнеспособности конкретных представителей.

Полученные экспериментальные данные по гибридному опылению тубероидных орхидей демонстрируют наиболее высокие показатели плодообразования у гибридов  $Dactylorhiza~aristata \times D.~incarnata,~D~majalis~subsp.~baltica \times D.~traunsteineri,~D.~fuchsii \times D.~incarnata,~D.~traunsteineri \times D.~incarnata~u~dp.~Bысокая доля завязывания плодов (наравне с показателями внутривидовых скрещиваний) обусловлена отсутствием естественных репродуктивных барьеров, препятствующих гибридизации. Меньше всего завязавшихся плодов было зафиксировано в результате следующих скрещиваний: <math>D.~aristata \times D.~urvilleana,~D.~euxina \times D.~aristata,~D.~incarnata \times D.~urvilleana~u$  межродовыми гибридами представителей родов Dactylorhiza~u~Orchis, объединяемыми ранее в один род.

Положительные результаты анализа жизнеспособности семян методом проращивания *in vitro* были отмечены у 18 гибридов (рис. 2). Наибольшей всхожестью обладают семена гибридов *Dactylorhiza aristata*  $\times$  *D. fuchsii* - 55%, *D majalis* subsp. baltica  $\times$  *D. traunsteineri* - 75%, *D. fuchsii*  $\times$  *D. incarnata* - 85%, *D. fuchsii*  $\times$  *D. traunsteineri* + 80%, *D. fuchsii*  $\times$  *D. urvilleana* + 90%, *D. incarnata*  $\times$  *D. traunsteineri*  $\times$  *D. urvelliana*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. traunsteineri*  $\times$  *D. traunsteineri*  $\times$  *D. urvelliana*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. urvelliana*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. urvelliana*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. urvelliana*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. fuchsii*  $\times$  *D. traunsteineri*  $\times$  *D. t* 



**Рис. 2.** Результаты проращивания семян *in vitro* через 6 месяцев после посева (1 - 0 - 10%; 2 - 11 - 30%; 3 - 31 - 50%; 4 - более 50% прорастания)

**Fig. 2.** Results of seed germination in vitro 6 months after sowing (1 - 0-10%; 2 - 11-30%; 3 - 31-50%; 4 - more than 50% germination)

Данные гибриды, по-видимому, с наибольшей вероятностью можно считать жизнеспособными. Отсутствие факта прорастания у остальных образцов семян можно объяснить их низкой жизнеспособностью, что отмечалось уже на этапе наблюдения стадий развития зародышей.

Таким образом, результаты эксперимента показывают высокую способность к межвидовой гибридизации внутри рода *Dactylorhiza* при искусственном опылении, что подтверждается образованием плодов и жизнеспособных семян, имеющих высокую всхожесть. Полученные данные по гибридизации видов родов *Dactylorhiza и Orchis* указывают на значительные репродуктивные барьеры, однако, не исключают возможность возникновения гибридов между ними. Данное исследование позволяет лучше понять процесс образования и стабилизации таксонов гибридного

происхождения в краевой части природных ареалов, а также применить экспериментальные данные для анализа современной классификации рода *Dactylorhiza*. В настоящий момент наблюдения за полученными гибридами продолжаются в условиях Ботанического сада ИББМ ННГУ им. Н.И Лобачевского.

## Литература

[Averyanov] Аверьянов Л.В. 1991. Происхождение и некоторые особенности эволюции, биологии и экологии орхидных (Orchidaceae). — Ботанический журнал. 76(10): 1345–1359.

[Averyanov] Аверьянов Л.В. 2000. Орхидные (Orchidaceae) Средней России. — Turczaninowia. 3(1): 30–53

Balao F., Tannhäuser M., Lorenzo M. T., Hedrén M., Paun O. 2016. Genetic differentiation and admixture between sibling allopolyploids in the *Dactylorhiza majalis* complex. Heredity. 116(4): 351–361.

Dillon G.W. 1957. Pollination and Fertilization in Orchids. — Amer. Orch. Soc. Bull. 26(4): 245–251.

[Efimov] Ефимов П.Г. 2012. Генетический полиморфизм *Dactylorhiza baltica*, *D. fuchsii* и *D. incarnata* (Orchidaceae) на северо-западе европейской части России. — Ботанический журнал. 97(6): 47–57.

Hedren M. 2002. Speciation patterns in the *Dactylorhiza incarnata/maculata* polyploid complex (Orchidaceae): evidence from molecular markers. — Journal Europäischer Orchideen. 34(4): 707–731.

[Ivannikov] Иванников Р.В. 2009. Длительное хранение поллиниев орхидных при низких отрицательных температурах. — В кн.: Сохранение биоразнообразия тропических и субтропических растений: материалы международной научнопрактической конференции. Киев. С. 151–155.

Lo S., Nalawade S.M., Kuo Ch., Chen Ch., Tsay H. 2004. Asymbiotic germination of immature seeds, plantlet development and ex vitro establishment of plants of Dendrobium tosaense Makino a medicinally important orchid. — In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 40: 528–535.

[Mayevskiy] Маевский П.Ф. 2006. Флора средней полосы европейской части России. 10-е изд. М. 600 с.

[Shirokov et al.] Широков А.И., Коломейцева Г.Л., Буров А.В., Каменева Е.В. 2005. Культивирование орхидей Европейской России. Нижний Новгород. 64 с.

## RESULTS OF EXPERIMENTS ON THE ARTIFICIAL HYBRIDIZATION OF TUBEROID ORCHID SPECIES FROM THE FLORA OF RUSSIA

© 2023 A.M. Prokin\*, A.I. Shirokov\*\*, V.V. Syrova\*\*\*, A.E. Makarova\*\*\*\*

Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky
23 Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022, Russia
\*e-mail: prokinam691@gmail.com
\*\*e-mail: aishirokov@mail.ru
\*\*\*e-mail: vvsyrova@mail.ru
\*\*\*\*e-mail: alena.makarova.95@mail.ru

**Abstract.** This article includes the results of artificial pollination experiments conducted for detecting the ability to hybridize among different species of tuberoid orchids. In this study we

evaluated the indicators of fruit formation of the obtained hybrids and analyzed the viability of seeds using *in vitro* germination method.

**Key words:** hybridization, seed viability, artificial pollination.

Submitted: 29.03.2023. Accepted for publication: 05.09.2023.

**For citation:** Prokin A.M., Shirokov A.I., Syrova V.V., Makarova A.E. 2023. Results of experiments on the artificial hybridization of tuberoid orchid species from the flora of Russia. — Phytodiversity of Eastern Europe. 17(3): 182–186. DOI: 10.24412/2072-8816-2023-17-3-182-186

## REFERENCES

Averyanov L.V. 1991. The origin and features of evolution, biology and ecology of the orchids (Orchidaceae). — Botanicheskiy Zhurnal. 76(10): 1345–1359 (In Russ.)

Averyanov L.V. 2000. Orhids (Orchidaceae) of the Middle Russia. — Turczaninowia. 3(1): 30–53 (In Russ.)

Balao F., Tannhäuser M., Lorenzo M. T., Hedrén M., Paun O. 2016. Genetic differentiation and ad mixture between sibling allopolyploids in the *Dactylorhiza majalis* complex. — Heredity. 116(4): 351–361.

Dillon G.W. 1957. Pollination and Fertilization in Orchids. — Amer. Orch. Soc. Bull. 26(4): 245–251.

Efimov P.G. 2012. Geneticheskiy polymorphizm *Dactylorhiza baltica*, *D. fuchsii* i *D. incarnata* (Orchidaceae) na severo-zapade evropeiskoy chaste Rossii. — Botanicheskiy Zhurnal. 97(6): 47–57. (In Russ.)

Hedren M. 2002. Speciation patterns in the *Dactylorhiza incarnata/maculata* polyploid complex (Orchidaceae): evidence from molecular markers. — Journal Europäischer Orchideen. 34(4): 707–731.

Ivannikov R.V. 2009. Dlitel'noe hranenie polliniev orhidnyh pri nizkih otricatel'nyh temperaturah. — In: Sohranenie bioraznoobrazija tropicheskih i subtropicheskih rastenij: materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. Kiev. P. 151–155. (In Russ.)

Lo S., Nalawade S.M., Kuo Ch., Chen Ch., Tsay H. 2004. Asymbiotic germination of immature seeds, plantlet development and ex vitro establishment of plants of Dendrobium tosaense Makino a medicinally important orchid. — In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 40: 528–535.

Maevskij P.F. 2006. Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii. 10-e izd. M.: KMK. 600 p. (In Russ.)

Shirokov A.I., Kolomejceva G.L., Burov A.V., Kameneva E.V. 2005.Kultivirovanie orhidej evropejskoj Rossii. Nizhnij Novgorod. 64 p. (In Russ.)