

**ІВАННІКОВ Р.В.**

Національний ботанічний сад ім. М.М.Гришка НАН України  
Україна, 01014, м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1, e-mail: ivannikov\_roman@rambler.ru

## ХЛОРОЕМБРИОГЕНІЯ ОРХІДНИХ

Насінині орхідних, крім виконання загальних, для всіх покритонасінних функцій (розмноження і розселення) є притаманним здійснення ще однієї, надзвичайно важливої – встановлення партнерських взаємовідносин із грибним партнером.

Всі насінні рослини за ознакою хлорофілоносності тканин зародка ділять на дві групи – хлороембріофіти (рослини, зародки яких містять повноцінні хлоропласти з хлорофілами у своїх клітках) та лейкоембріофіти (клітки зародків яких не містять повноцінних хлоропластів з фотосинтетичними пігментами (хлорофілами)). Значущим, у цьому відношенні, є той факт, що різні види однієї родини (і навіть різні види одного роду) можуть за цією ознакою бути віднесені до різних груп.

Факт наявності зелених пігментів в клітинах ендосперму, зародку та спермодерми насінини, тобто в тканинах, які безпосередньо не піддаються впливу сонячного світла під час свого формування відомий давно. Перша робота в якій звертається на це увага вийшла в Німеччині у 1859 році. Є низка вітчизняних робіт з цього питання [3, 5–7, 11, 12, 17, 19].

Явище хлорофілоносності зародку надзвичайно широко розповсюджене серед групи покритонасінних. В наявності цієї властивості зародка серед *Angiospermae* можна виявити певні закономірності. Виходячи з відомих фактів [19], види одного роду *не відрізняються* за цією ознакою. Більше того, здатність до синтезу хлорофілів, або її відсутність властива цілим групам рослин, які об'єднані у таксони вищого рангу.

Традиційно, орхідні, відносять до групи лейкоембріофітів [1, 19, 20]. Для насіння представників *Orchidaceae* (у своїй більшості) характерним є не диференційований на окремі органи зародок, клітини якого не мають пігментів групи хлорофілів. Перша згадка про те, що деякі види орхідей можуть мати насіння клітини зародків якого містять зелений пігмент, належить Ф. Нетоліцкому [цит. за Яковлев М.С. *и др.*, 1973]. У своїй роботі, яка вийшла у 1926 році він серед інших родин назвав орхідні також. При описі зародків та їх ембріональних структур часто використовуються такі терміни як «критична стадія» або «критичний період» [2], які характеризують зміну структурно – функціональних хара-

ктеристик в розвитку зародку та оточуючих тканин насінини та плода. В основу їх виділення покладені морфо-генетичні та морфо-фізіологічні кореляції в розвитку репродуктивних структур. Однією з найважливіших є стадія «автономності зародку», починаючи з якої відбувається перехід зародку до самостійного розвитку.

Наявність хлорофілів в клітинах на стадії «автономності зародка», з еволюційної точки зору, видається нам, ключовим моментом на який треба звертати увагу при дослідженні даного питання, адже відомо [13], що біохімічні системи синтезу та перетворення вуглеводів функціонують саме у стромі хлоропластів. Для орхідних, як для типових мікотрофів це є принциповим питанням, оскільки постнасінний розвиток зародків представників цієї родин можливий лише за умови консорціуму з грибним партнером.

Орхідні – чисельна родина квіткових, представники якої поширені практично на всіх континентах. Широке розповсюдження цієї групи покритонасінних ґрунтується на специфіці їхньої біології – рослини цієї родини в більшості своїй облігатні мікотрофи. Ступінь мікотрофності орхідних варіює залежно від виду та від етапу їх онтогенетичного розвитку. Однак, загальною для всіх представників цієї групи є залежність початкових процесів проростання насіння від симбіотичних взаємин із грибом. Гіфи гриба проникають під поверхню спермодерми насінини орхідних і вступають у контакт із частиною клітин зародку. Гриб постачає проросток різними органічними сполуками, найважливішими з яких є цукри. Тільки після цього стає можливим повноцінний розвиток зародка.

Таким чином, у зародка орхідних немає необхідності від перших моментів постембріонального розвитку забезпечувати себе вуглеводами за рахунок фотосинтезу. Саме цим, більшість дослідників і пояснює відсутність хлорофілів (а відповідно й повноцінних хлоропластів) в клітинах зародку орхідних. У зв'язку із викладеним вище, сам факт хлорофілоносності зародка окремих видів становить значний інтерес, як з точки зору біології, так і у контексті встановлення векторів філогенетичного розвитку представників цієї родини в цілому, оскільки відомо

[21], що еволюційні перетворення зародків покритонасінних пов'язані з їх екологічною (т.т. адаптивною) «радіацією», а одна із найбільш характерних рис ембріогенезу – закономірний, таксоноспецифічний морфогенез зародків.

Якщо співвіднести відомі факти хлорофілоносності зародка із загальною кількістю таксонів в ранзі виду родини Orchidaceae (19-22 тис. видів) [23] стає зрозумілою винятковість цього явища.

Цей факт ставить перед нами ряд питань еволюційної спрямованості безпосередньо пов'язаних з філогенезом представників даної родини, а саме:

- наскільки поширене це явище, серед яких груп орхідних та як це відображується на їх репродукційній здатності?

- лейкоембріофітизм зародка за своєю природою первинне чи вторинне явище?

- у якому напрямку (лейкоембріофітизм або хлорофітизм) еволюціонує родина *Orchidaceae* в цілому?

У ході наших досліджень насіння тропічних та субтропічних орхідних колекції НБС, вперше виявлено три види орхідних в насінні яких містилися зелені зародки після повного вирівання та розтріскування коробочки (*Coelogyne brachyptera* Rchb.f., *Dendrobium bellatulum* Rolfe та *Dendrobium citrinum* Ridl. (сун. *Cadetia citrina* (Ridl.) Schuit.)). Виходячи із власного практичного досвіду, ми можемо констатувати, що повноцінні фотосистеми епіфітних орхідних *in vitro* формуються набагато раніше ніж у наземних видів цієї родини. У нашій практиці не зафіксовано випадки проростання насіння представників вище зазначених видів орхідних на живильних середовищах без вуглеводної компоненти в умовах асептичної культури [18].

Аналізуючи явище лейкоембріофітизму, його структурно-функціональні та еволюційні наслідки для орхідних в цілому, ми виділяємо ряд ключових моментів, на які треба звернути увагу при розгляді цього питання: розповсюдженість хлороембріофітизму в родині Orchidaceae; час формування повноцінних пластид у рослин взагалі та у орхідних зокрема; механізми формування фотосинтетичних систем в онтогенезі у вищих та нижчих автотрофів.

Особливості будови зародка безпосередньо пов'язані зі специфікою процесів при проростанні насіння. Так, зародки рослин паразитів, на протигагу автотрофним рослинам, іноді складаються з 2-15 клітин (*Allotropia*, *Hypopitius*) [2]. Цей же факт підтверджується і на прикладі представників родини Orchidaceae – типових

алелопаразитів, зародок яких у переважній більшості видів є недиференційованим на органи та складається із декількох десятків або сотень клітин. Відповідно до класифікації насіння квіткових Л.І. Лотової [10] яка базується на локалізації запасних речовин в насінні, насіння більшості орхідних відноситься до 4-го типу як таке, поживні речовини в якому відкладаються безпосередньо в клітинах зародку.

Як було відмічено нашими попередниками [15], серед групи мікотрофних рослин відсутність хлорофілу у вегетативних органах спорофіту може бути обумовлена не тільки ступенем залежності вищої рослини від гриба. Навіть в межах одного роду трапляються види, органи типових представників яких містять хлорофіл або відзначаються його відсутністю. В деяких випадках це можна пояснити потрійним паразитизмом, коли вища рослина паразитує на грибі, який паразитує на іншій вищій рослині.

У ході історичного розвитку взаємин з грибами, в родині Orchidaceae відокремилась окрема група рослин (близько 100 видів), що повністю втратила хлорофіл та перейшла на облігатно-мікотрофний та епіпаразитичний спосіб живлення. Філогенетичний аналіз показує, що втрата здатності до фотосинтезу в родині Orchidaceae відбувалася щонайменше 20 разів. Епіпаразитизм виявлений у таких облігатних мікотрофів, як *Gastrodia* R. Br., *Yuania* Maxim., *Rhizantella* R. S. Rogers та деяких інших родів [8, 22, 24].

Сучасні докази епіпаразитизму мікотрофних та фотосинтетичних орхідей поділяють на дві групи. До першої входять дані молекулярних досліджень, що показують ідентичність ITS повторів грибів, із коренів орхідних, та грибів, що утворюють ектомікоризу на коренях сусідніх дерев [25]. А до другої – однакові частки стабільних ізотопів вуглецю та азоту в орхідеях та ближніх ектомікоризних грибах [22]. За допомогою радіоактивної мітки показано, що рослини – паразити від рослин-господарів в основному засвоюють сахарозу, аспарагінову і глютамінову кислоти та їх аміді [13].

Відповідно до принципів розподілу паразитних рослин, запропонованих у попередніх роботах [4, 16], орхідні належать до алелопаразитів. Для мікотрофних алелопаразитів характерною особливістю є наявність спеціалізованої гаусторіальної тканини, яка приймає в себе гіфи гриба і в клітинах якої в подальшому відбувається їх перетравлювання. Суттєва різниця у формах паразитизму покритонасінних свідчить на користь ідеї про політопне виникнення різних

типів паразитизму. Крім того, різниця у ступені еволюційної досконалості різних типів паразитизму свідчить на користь гетерохронного виникнення цього біологічного явища [14-16]. Алелопаразитизм є наслідком тривалої сумісної еволюції вищої рослини і гриба. У підтримку цієї гіпотези можна навести ряд фактів.

Відомо, що характер взаємовідносин орхідеї та її грибного партнера часто носять непередбачуваний характер – іноді грибні гіфи повністю захоплюють зародки та протокорми орхідних і знищують, використовуючи їх як субстрат для живлення. Це саме відбувається в тому випадку, коли спори грибів потрапляють в ємкості для асептичної культури з ювенільними рослинами орхідних. Середовища для асептичної культури орхідеї достатньо багаті на поживні речовини, на ньому швидко розвивається міцелій гриба, який завжди поводить себе агресивно по відношенню до спорифітів орхідних. У зв'язку з цим, для симбіотичної культури орхідних рекомендують відносно бідні на поживні речовини середовища [9]. В інших випадках ми спостерігаємо зворотні явища – вища рослина поводить себе агресивно повністю перетравлюючи гіфи гриба у спеціальних тканинах свого кореня. Тобто баланс паразитичних взаємовідносин в парі вища рослин – гриб нестійкий і залежить від цілого комплексу факторів зовнішнього середовища.

З практики власних багаторічних спостережень можемо констатувати, що при проведенні процедури постасептичної адаптації ювенільні рослини тропікогенних видів орхідних, безумовно, формують мікоризні консорції з грибами субстрату. Субстрат для адаптації ми підбираємо з місцевих матеріалів, відповідно і види грибів є неспецифічними для ювенільних рослин. Однак, рослини в більшості випадків успішно адаптуються, що говорить про їх здатність утворювати стабільні консортивні системи з місцевими видами грибів [18].

З цього також впливає ще один дуже цікавий висновок, про що можна прочитати в роботах Шале (1900 – цит. по Терехин Е.С., 1979). На його думку, вищі рослини в ґрунті конкурують, перш за все, не за сполуки гумусової природи, а за мінеральні речовини, видобувати які з ґрунтових сумішей їм допомагають мікоризи. Внаслідок цього, *Angiosperme* здатні до формування мікоризних консорцій, отримали істотну перевагу над рештою флори. Наслідком цього було так зване «вторинне» заселення покритона-

сінними бідних на поживні речовини та заболочених ділянок ценозів по всіх континентах.

Це припущення повністю узгоджується з біологією орхідних та характером їх розповсюдження. Відомо, що найбільше різноманіття представників цієї родини можна спостерігати в тропіках та субтропіках: тропічна Америка – 306 родів, 8266 видів; тропічна Азія – 250 родів, 680 видів; Нова Гвінея – 1450 видів; Колумбія – 1300 видів [23]. Серед тропікогенних орхідних значна частина видів є типовими епіфітами, або таким які можуть зростати епіфітно. Епіфіти – рослини які зайняли свою екологічну нішу внаслідок тривалої еволюції та переходу від наземного способу життя до епіфітного. Безумовно, це було б мало ймовірно без здатності орхідних утворювати стійкі консорції з мікоризними грибами.

Аналізуючи сукупність наявних даних, ми приходимо до наступних висновків:

- хлороембріогенія, як явище, для орхідних є винятковим, рудиментарним структурно-функціональним проявом характерним в основному для представників *Epidendroideae* Lindl.;
- нами вперше описано випадки хлороембріогенії для *Coelogyne brachyptera* Rehb.f., *Dendrobium bellatulum* Rolfe і *Dendrobium citrinum* Ridl.;
- орхідні в ході філогенезу втратили ферментні системи, відповідальні за автономний темновий біосинтез хлорофілів;
- для запуску світлозалежних шляхів біосинтезу фотосинтетичних пігментів спорифіту орхідних необхідне зовнішнє джерело вуглеводів (*in vitro* – це цукри живильного середовища, *ex situ* – цукри протоплазми партнера по грибному консорціуму);
- структури фотосинтетичного апарату клітин зародку хлороембріогенних орхідних хоча і містять зелені фотосинтетичні пігменти, однак не здатні самостійно забезпечувати пластичні та енергетичні потреби спорифіту на початкових етапах його розвитку *in vitro*, що свідчить про рудиментарність явища хлороембріогенії орхідних;
- явище хлороембріогенії для орхідних як родини є архаїзмом – вектор адаптивної радіації Orchidaceae, спрямований на поглиблення консорційних зв'язків з нижчими міксотрофами, а, відповідно, лейкоембріофітизм є нормою та пріоритетним напрямком розвитку цієї родини.

## Література

1. Банникова В.П., Хведынич О.А. Основы эмбриологии растений. – К, 1982. – 164 с.
2. Батыгина Т.Б. Васильева В.Е. Размножение растений. – С-П.: изд-во: С.-Петербур. ун-та, 2002. – 232 с.
3. Васильченко И.Т. Неотенические изменения у растений. – М.–Л.: Наука, 1965. – 84 с.
4. Голубова Н.П. Микориза *Encephalartos hildebrandtii* Arb. and Banche. И некоторые соображения о взаимоотношениях гриба-эндوفита и высшего растения в эндотрофных микоризах // Бюлл. МОИП, отд. биол. – Т. XIII, №2. – С. 123.
5. Жукова Г.Я. Хлорофилоносность зародыша как признак для классификации цветковых растений // Эмбриология цветковых растений [ред. Т.Б. Батыгина]. – С-П.: Мир и семья – 1997. – Т. 95. – С. 461–470.
6. Иоффе М.Д. О наличии хлорофилла в эндосперме Крестоцветных // ДАН СССР. – 1952. – Т. 87. – С. 3.
7. Иоффе М.Д. Развитие зародыша и эндосперма у пшеницы, конских бобов и редиса // Тр. БИН АН СССР, сер. VII, Морфол. и анат. рас. – 1957. – С. 4.
8. Коломейцева Г.Л. Морфолого-экологические особенности адаптации тропических орхидных при интродукции. Автореф. дис. ... доктора биол. наук. спец: 03.00.05 «Ботаника». – М., 2006. – 38 с.
9. Куликов П.В. О методах размножения орхидных умеренной зоны в культуре *in vitro* // Бюл. ГБС М.: Наука. – 1998. – Вып. 176. – С. 125 – 131.
10. Лотова Л.И. Ботаника: Морфология и анатомия высших растений – М.: КомКнига, 2007. – 512 с.
11. Любименко В.Н. О превращении пигментов пластид в живой ткани растения // Зап. Акад. наук. Сер.VIII. – 1916. – Т. 33. – С. 12.
12. Поддубная-Арнольди В.А. Общая эмбриология покрытосеменных растений. – М.:Наука, 1964. – 481 с.
13. Полевой В.В. Физиология растений: Учеб. для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.
14. Терехин Э.С., Камелина О.П. Эндосперм *Orchideaceae* (К вопросу о редукции) // Бот. журнал. – 1969. – Т. 54, №5. – С. 657–666.
15. Терехин Э.С., Никитичева З.И. О принципах создания экологической классификации зародышей покрытосеменных растений. Актуальные вопросы эмбриологии покрытосеменных. – Л.: Наука, 1979. – С. 120–130.
16. Терехин Э.С. Паразитные цветковые растения эволюция онтогенеза и образ жизни. – Л.: Наука, 1977. – 220 с.
17. Худяк М.И. К вопросу о роли неассимилирующих хлоропластов в процессе плодообразования // Журн. общ. биол. – 1964. – Т. 25. – С. 5.
18. Черевченко Т.М., Лаврентьева А.М., Иванников Р.В. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. – К.: Наук. думка, 2008. – 560 с.
19. Яковлев М.С., Жукова Г.Я. Покрытосеменные растения с зелёным и бесцветным зародышем (хлоро- и лейкоэмбриофиты). – Л.: Наука. – 1973. – 116 с.
20. Arditti J. Aspects of the physiology of orchids // Advances Bot. Res. – 1979. – №7. – P. 421 – 655.
21. Batygina T.B., Bragina E.A., Vasilyeva V.E. The reproductive system and germination in orchids / T.B. Batygina // Acta biologia Cracoviensia, ser. Botanica. – 2003. – Vol. 45, №2. – P. 21-34.
22. Dearnaley J.D.W. Further advances in orchid mycorrhizal research // Mycorrhiza. – 2007. – №17, №6. – P. 475–486.
23. Dressler R.L. Phylogeny and classification of the orchids family. – Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1993. – 278 p.
24. Richard J. Waterman and Martin I. Bitartondo. Deception above, deception below: linking pollination and mycorrhizal biology of orchids // J. of Exp. Bot. – 2008. – Vol. 59, №5. – P. 1085–1096.
25. Yamato M., Yagame T., Suzuki A. Isolation and identification of mycorrhizal fungi associating with an achlorophyllous plant, *Epipogium roseum* (Orchidaceae) // Mycoscience. – 2005. – Vol. 46. – P. 73–77.

## IVANNIKOV R.

Gryshko National Botanical Gardens of the Academy of Science of Ukraine

Ukraine, 01014, Kyiv, Tymiriazevska st. 1, e-mail: ivannikov\_roman@rambler.ru

## CHLOROEMBRYOGENY OF ORCHIDS

**Purpose.** Analyze the phenomenon of orchids chloroembryogeny and set its biological significance. **Methods.** Used standard biotechnological methods and techniques of light microscopy. **Results.** For the first time there are three types of orchids for seed embryos are characterized by the presence of chloroplasts. All species belong to a group *Epidendroideae* Lindl. **Conclusion:** Made a number of assumptions about the value of general biological phenomena chloroembryogenii for orchids.

**Key words:** orchids, chloroembryogeny, preservation, *in vitro*.