

УДК 581.48: 581.145.21: 582.594.2

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕМЯН ДВУХ ВИДОВ ОРХИДНЫХ ЦЕНТРАЛЬНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ И ИХ СПОСОБНОСТЬ К ПРОРАСТАНИЮ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А.В. Сидоров, Ю.В. Зайцева, О.А. Маракаев

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль

Проведена оценка морфофизиологических особенностей и эффективности прорастания семян двух видов орхидных (Orchidaceae) Центрально-европейской части России – *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó и *Epipactis helleborine* (L.) Crantz. Их средние и нижние плоды, отличающиеся крупными размерами, содержат наибольшее число семян по сравнению с верхними плодами. В нижних плодах у *D. incarnata* формируются более крупные семена и зародыши, а у *E. helleborine* – более крупные зародыши. Высокая доля семян без зародышей выявлена для *D. incarnata*, особенно в верхних плодах (до 24%). Семена *D. incarnata* содержат в основном жизнеспособные зародыши и отличаются хорошим прорастанием в асимбиотических условиях на питательной среде в отличие от семян *E. helleborine*. Результаты исследования подтверждают имеющиеся в литературе сведения о более успешном семенном размножении в культуре *in vitro* тубероидных видов орхидных флоры России по сравнению с корневищными.

Ключевые слова: *Dactylorhiza incarnata*, *Epipactis helleborine*, морфофизиологические параметры семян, асимбиотическое проращивание.

DOI: 10.26456/vtbio35

Введение. Пристальное внимание исследователей привлечено в последние годы к различным аспектам репродуктивной биологии растений семейства Орхидные (*Orchidaceae* Juss.), являющихся символом глобальной охраны на международном, государственном и региональном уровнях (Vakhrameeva et al., 2008; Варлыгина, 2011). Изучение семенной продуктивности и качества формирующихся семян имеет большое значение при оценке репродуктивного потенциала и прогнозирования перспектив существования ценопопуляций редких и охраняемых видов, а также при оптимизации метода асимбиотического культивирования – эффективного приема интродукции и сохранения генофонда редких растений (Кривошеев и др., 2014; Сидоров и др., 2015).

Для некоторых видов орхидных Центрально-европейской России показано, что количество производимых растениями семян, их размеры и качество зависят от региона произрастания (Виноградова и др., 2003; Кириллова, 2011; Кривошеев и др., 2014), экологических условий (Сидоров и др., 2015). Одновременно с этим известно, что наряду с нормальными семенами, для них характерно наличие семян без зародыша. Однако механизмы и причины их возникновения для большинства видов остаются малоизученными (Андропова, 2003). Согласно одним исследованиям доля семян без зародышей может различаться в плодах разных частей соцветия (Андропова, 2003; Кириллова, 2011), другие демонстрируют отсутствие достоверной связи (Виноградова и др., 2003). Установление этой зависимости является особенно важным при использовании семян для посева в культуре *in vitro*.

Данных о семенной продуктивности и доле семян без зародышей, вероятно, недостаточно без знаний о том, какая часть этих семян является жизнеспособной и может прорасти (Виноградова и др., 2003). На сегодняшний день известно лишь о возможной связи биоморфологических характеристик плодов и семян с процентом прорастания семян (Теплицкая, 2005; Astapenko, 2010). Остается малоизученным вопрос жизнеспособности семян, имеющих зародыш. В этом направлении имеются немногочисленные работы, учитывающие лишь потенциальную всхожесть семян, основанную на количестве семян с зародышем и без него. Результаты посевов в культуре *in vitro* указывают на физиологическую разнокачественность семян в плодах орхидных, поэтому при их проращивании наряду с учетом дифференциации зародыша, степени его автономности, уровня ингибиторов подчеркивается актуальность исследования морфофизиологического состояния семян (Виноградова и др., 2003; Андропова, 2007).

Для орхидных Центрально-европейской России данные по морфофизиологической оценке семян практически отсутствуют, а сведения об эффективности их прямого проращивания из плодов разных частей соцветия фрагментарны и касаются лишь единичных видов. Однако крайне важным является выяснение доли семян с зародышем, являющихся жизнеспособными и способными к прорастанию. Особенно это касается зрелых семян, которые имеют низкий процент прорастания в культуре *in vitro*, но наиболее перспективны в работах по сохранению редких видов (Коломейцева и др., 2012).

Цель работы – выявить морфофизиологические особенности и эффективность прорастания семян двух видов орхидных Центрально-европейской части России – *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó

(пальчатокоренник мясокрасный) и *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (дремлик широколистный) – с учетом их формирования в плодах разных частей соцветий.

Методика. Исследования семян двух видов орхидных – *Dactylorhiza incarnata* и *Epipactis helleborine* проводили в 2007-2014 гг. Плоды со зрелыми семенами (июль-август) собирали с растений, произрастающих в природных условиях Центрально-европейской части России (Ярославская область). *D. incarnata* принадлежит к тубероидной, *E. helleborine* – к короткокорневищной жизненной форме (Татаренко, 1996). Оба вида включены в Европейский список краснокнижных сосудистых растений (Bilz et al., 2011), II Приложение к конвенции CITES (Convention on International Trade..., 2013), а также охраняются на региональном уровне (Маракаев, 2015).

Размеры плодов и реальную семенную продуктивность (количество производимых растением семян в расчете на цветок и соцветие) определяли с учетом их положения в соцветии, выделяя три одинаковые по длине части – верхнюю, среднюю и нижнюю. Для подсчета количества семян в каждый сезон исследований отбирали по три плода у 20 особей из верхней, средней и нижней частей соцветия. Однослойного распределения семян добывались путем раскрытия плода над стеклом с водой, после испарения которой стекло с семенами помещали под стереомикроскоп и фотографировали цифровой камерой. В дальнейшем подсчет семян проводили на полученных изображениях. Для каждого вида изучены средние размеры плодов и семенная продуктивность по результатам исследований 180 плодов.

Для определения размеров семенных оболочек и зародышей, выявления отсутствия зародыша семена помещали под световой микроскоп и фотографировали цифровой камерой. Морфометрические параметры семян измеряли на полученных изображениях с использованием программы Altami studio 2.0. Процент рассчитывали как отношение количества семян без зародыша к числу семян с зародышем.

Жизнеспособность семян определяли тетразольно-топографическим методом (ГОСТ 12039-82), основанном на взаимодействии 2,3,5 трифенилтетразолхлорида (ТТХ) с дегидрогеназами живых клеток зародыша и их последующим окрашиванием в красный цвет за счет образования фармазана. Семена предварительно помещали на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри и оставляли при температуре 24°C на 30 дней. Затем их погружали в 2% раствор ТТХ (рН – 7,5) и выдерживали 24 часа при температуре 24°C. После этого проводили подсчет семян с окрашенным зародышем. Для каждого вида исследовали по 100 семян из плодов верхней, средней и нижней частей соцветия. Работу проводили в

трехкратной повторности. Процент жизнеспособных семян рассчитывали к общему числу семян с зародышем.

Для выявления способности семян к прорастанию их стерилизовали в 1,5% растворе гипохлорита кальция в течение 15 минут, трехкратно отмывали водой и высевали на модифицированную питательную среду Кнудсона с активированным углем и гуматом натрия (Черевченко, Кушнир, 1986). Посевы культивировали в течение 2-х месяцев в темноте и 16-и месяцев при освещении (интенсивность – 2000 лк, фотопериод – 16 ч). Число образовавшихся сеянцев подсчитывали через 18 месяцев.

Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методикам (Зайцев, 1973) с использованием пакета анализа данных программы Excel 2010. В таблицах приведены средние величины, их стандартные ошибки и коэффициенты вариации. Достоверность различий между вариантами устанавливали с помощью критерия Стьюдента (при уровне значимости $p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение. Плоды орхидных – коробочки существенно различаются по форме, размерам и количеству формирующихся в них семян у разных видов (Назаров, 1995; Коломейцева и др., 2012). Характеристики плодов исследованных видов приведены в табл. 1. Согласно полученным данным, средние размеры плодов *D. incarnata* составляют 10,0×3,4 мм. Размеры плодов нижней и средней частей соцветия достоверно не различаются. При этом они длиннее на 30% и шире более чем на 40% по сравнению с верхними плодами. Наибольшее количество семян (5374) содержится в нижних, наиболее крупных, плодах соцветия. Их число на 15% превышает таковое в средних и на 40% в верхних плодах. Реальная семенная продуктивность *D. incarnata* при расчете на один плод в среднем составляет 4446, при расчете на одну особь – 56401 семян. Аналогичные показатели ранее выявлялись для особей *D. incarnata*, произрастающих на территории Крыма, и они оказались более высокими – 7270 и 238446 семян соответственно (Назаров, 1995). Вероятно, эти различия могут быть связаны как с морфофизиологическими особенностями исследованных генеративных особей, так и с экологическими условиями.

У *E. helleborine* средние размеры плодов составляют 11,9×4,4 мм. Наиболее крупными, так же, как и у *D. incarnata*, являются плоды в нижней части соцветия (табл. 1). Их длина на 23-34%, а ширина на 10-22% превышает соответствующие значения для плодов средней и верхней частей соцветия. Наиболее крупные нижние плоды *E. helleborine* содержат в 3-5 раз больше семян по сравнению с другими. Реальная семенная продуктивность *E. helleborine* при расчете на один плод в среднем составляет – 3078, при расчете на одну особь – 52126

семян. По данным литературы, количество семян в одном плоде *E. helleborine* в Архангельской области составляет 3024 (Баталов, 1998), в Тверской области – 3840 (Хомутовский, 2012), в Нижегородской области – 3284 (Широков и др., 2007), в Пермском крае – 3108 (Шибанова, Долгих, 2010). Семенная продуктивность одной особи этого вида варьирует от 26604 до 122022 семян (Назаров, 1995; Хомутовский, 2012). Большие различия в количестве семян при расчете на одну особь могут быть обусловлены разными условиями произрастания, особенностями опыления, неодинаковым числом формирующихся плодов и др.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика плодов и семенная продуктивность *D. incarnata* и *E. helleborine*

Плоды	Размер плода				РСП $X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$
	Длина, мм		Ширина, мм		
	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$C_v, \%$	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$C_v, \%$	
<i>D. incarnata</i>					
верхние	8,0±0,28 (7,6–8,4)	12	2,3±0,17 (2,1–2,5)	8	3315±191 (3109–3471)
средние	10,7±0,32 (10,2–11,1)	13	3,9±0,19 (3,7–4,1)	11	4648±250 (4410–4876)
нижние	11,3±0,33 (11,1–11,4)	10	4,0±0,19 (3,9–4,1)	10	5374±273 (5286–5468)
<i>E. helleborine</i>					
верхние	9,7±0,36 (8,6–10,5)	13	3,8±0,11 (3,4–4,1)	11	1278±40 (1205–1340)
средние	11,3±0,41 (10,5–12,0)	12	4,4±0,13 (4,0–4,9)	10	2711±96 (2354–2987)
нижние	14,6±0,52 (13,5–15,4)	10	4,9±0,17 (4,4–5,3)	12	5272±145 (4874–5654)

Морфометрическая характеристика семян исследуемых видов орхидных приведена в табл. 2. Средние размеры семян *D. incarnata* составляют 665×220 мкм, что сопоставимо с данными, полученными для этого вида в других регионах (Назаров, 1995; Виноградова и др., 2003; Кириллова, 2011). Размеры семян в нижних плодах на 10% больше по сравнению с семенами из плодов других частей соцветий. Зародыши семян *D. incarnata* имеют округлую форму, их средние размеры – 215×151 мкм. В наиболее крупных семенах из нижних плодов зародыши больше на 5-7%. По данным литературы, размеры зародышей семян *D. incarnata* слабо варьируют, однако в некоторых случаях отмечается значительное количество семян с мелкими зародышами (Виноградова и др., 2003). У *D. incarnata* на территории Республики Коми зародыши семян имеют размеры 160×100 мкм (Кириллова, 2011), что на 25-34% меньше значений, полученных нами. Это, вероятно, объясняется географической изменчивостью размерных характеристик семян и зародышей, которая для *D. incarnata* показана в работе М.М. Кривошеева и др. (2014).

Таблица 2

Морфометрическая характеристика семян *D. incarnata* и *E. helleborine*

Плоды	Семенные оболочки				Зародыши			
	Длина, мкм		Ширина, мкм		Длина, мкм		Ширина, мкм	
	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$C_v, \%$	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$C_v, \%$	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$C_v, \%$	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$C_v, \%$
<i>D. incarnata</i>								
верхние	621±19 (609–631)	13	210±8 (208–213)	11	207±6 (205–210)	8	144±5 (149–153)	9
средние	662±23 (622–689)	15	220±10 (214–225)	9	216±7 (212–220)	10	154±5 (148–161)	9
нижние	713±26 (659–751)	19	231±10 (215–249)	8	223±8 (210–240)	12	156±5 (150–176)	7
<i>E. helleborine</i>								
верхние	1306±49 (1275–1351)	15	211±7 (193–225)	10	199±7 (192–207)	13	107±4 (101–114)	8
средние	1144±40 (1112–1195)	13	205±5 (199–215)	9	208±8 (198–219)	17	126±6 (109–138)	9
нижние	1253±40 (1223–1298)	16	205±6 (198–211)	9	229±8 (220–238)	16	143±6 (134–149)	6

По сравнению с семенами *D. incarnata*, семена *E. helleborine* крупнее, их средние размеры составляют 1234×207 мкм (табл. 2). Эти результаты в целом сопоставимы с данными литературы (Вахрамеева и др., 1997; Шибанова, Долгих, 2010; Кириллова, 2011). В некоторых регионах средние размеры семян значительно ниже полученных нами значений (Кривошеев и др., 2014), что может быть вызвано разницей климатических условий в местах произрастания вида. Семена из плодов разных частей соцветия в большинстве случаев не имеют достоверных различий линейных размеров. Размеры зародышей семян *E. helleborine* в среднем – 212×125 мкм, что согласуется с данными других авторов (Вахрамеева и др., 1997; Кириллова, 2011). Семена в нижних плодах соцветия имеют зародыши, размеры которых на 9-25% превышают таковые в семенах плодов из других частей соцветия.

Таблица 3

Показатели качества и способности к прорастанию семян *D. incarnata* и *E. helleborine*

Плоды	Процент семян без зародыша	Процент жизнеспособных семян	Процент проросших семян*
	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$	$X \pm m (x_{\min} - x_{\max})$
<i>D. incarnata</i>			
верхние	16,2 (9,4–24,1)	76 (72–79)	4,5 (1,4–10,4)
средние	3,0 (2,0–5,1)	97 (96–98)	14,4 (12,9–16,3)
нижние	2,7 (1,2–3,4)	95 (92–97)	20,0 (13,3–25,5)
<i>E. helleborine</i>			
верхние	0,4 (0,2–0,8)	27 (23–31)	0,5 (0,2–0,9)
средние	0,1 (0,1–0,2)	48 (45–51)	1,7 (1,3–2,0)
нижние	0 (0–0,2)	48 (46–49)	2,9 (2,4–3,4)

Примечание. *на 18 месяц культивирования

Что касается доли семян без зародыша, то по результатам нашей работы для *D. incarnata* она составляет в среднем 7% от всех семян, формируемых растением. При этом наибольшее количество семян без

зародыша характерно для некрупных семян верхних плодов, по сравнению со средними и нижними (табл. 3). Интересно, что семена с зародышем на 10-15% крупнее семян без зародыша. Эта особенность ранее уже отмечалась в литературе для *D. incarnata* на территории Московской области (Виноградова и др., 2003). Следует отметить, что минимальное количество семян без зародыша содержат плоды с наибольшим количеством семян. В целом же, по данным других авторов, доля семян без зародыша у *D. incarnata* сильно варьирует – от 12-15% (Кириллова, 2011) до 60% (Виноградова и др., 2003).

Для *E. helleborine* характерна пониженная доля семян без зародыша: в нижних плодах таковые практически отсутствуют, а в средних и верхних плодах этот показатель существенно ниже 1% (табл. 3). Известно, что на северной границе распространения (Республика Коми) доля семян без зародыша у этого вида составляет 3,3% (Кириллова, 2011), на территории Валдайской возвышенности – 0-2,7% (Хомутовский, 2012). Последние данные вполне сопоставимы с нашими результатами. В то же время предположение, что у орхидных, размножающихся преимущественно вегетативным путем, доля семян без зародыша может быть очень высокой – до 60-100% (Суюндуков, Кривошеев, 2014), для *E. helleborine* в нашей работе не находит подтверждения.

Установлено, что количество жизнеспособных семян в плодах *D. incarnata* составляет в среднем 89%, в плодах *E. helleborine* в два раза меньше – 41%. При этом наименьший их процент для исследованных видов выявлен в верхних плодах соцветия (табл. 3). Посев зрелых семян исследуемых видов на питательную среду выявил, что у *D. incarnata* прорастает в среднем 13%, а у *E. helleborine* – около 2% семян. Для двух видов показана наибольшая эффективность прорастания семян из средних и нижних плодов. Так, у *D. incarnata* процент проросших семян из нижних плодов в 4,5 раза, а у *E. helleborine* – более чем в 5 раз выше по сравнению с семенами из верхних плодов. Для незрелых семян *D. incarnata* ранее нами была показана всхожесть 82%. Известно, что в процессе созревания семян формируется механическая непроницаемость семенной оболочки и в ее клетках накапливаются ингибиторы (Коломейцева и др., 2012), которые впоследствии могут тормозить прорастание. Низкая всхожесть зрелых семян исследуемых видов может быть связана также с их качеством (состоянием зародышей), что требует использования специальных приемов их предпосевной обработки.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования репродуктивной сферы двух видов орхидных, произрастающих на территории Центрально-европейской части России (Ярославская область), выявили наличие более крупных плодов у *E. helleborine* в

отличие от *D. incarnata*. При этом реальная семенная продуктивность выше у *D. incarnata*, чем у *E. helleborine* как при расчетах на один плод, так и на одну особь, что, по-видимому, связано с большими размерами семян *E. helleborine*. Показано, что у двух видов нижние плоды в соцветиях имеют большие размеры по сравнению с другими плодами и содержат повышенное число семян, эти различия наиболее выражены у *E. helleborine*. Выявленная семенная продуктивность видов сопоставима с таковой в других частях их ареала при расчете на один плод и может отличаться в несколько раз при расчете на одну особь, что вероятно связано с неодинаковым числом формирующихся плодов на одну особь в разных экологических условиях.

Семена двух видов достоверно различаются по размерным параметрам. Максимальные их размеры характерны для *E. helleborine*, при этом величина зародышей семян у двух видов не имеет значимых различий. Это указывает на больший объем воздушного пространства в семенах *E. helleborine*. Исследования показали гетерогенность семян в плодах разных участков соцветия. Так, в нижних плодах у *D. incarnata* формируются более крупные семена и зародыши, а у *E. helleborine* – более крупные зародыши. Анализ наших результатов по морфометрическим параметрам семян и зародышей указывает в целом на их сопоставимость с данными литературы. Однако в некоторых случаях полученные в настоящей работе значения оказались выше приведенных ранее для изученных видов в географически удаленных регионах. Это может быть связано с асинхронностью формирования семян и зародышей, различным количеством запасаемых в зародышах питательных веществ и др.

Полученные результаты в целом свидетельствуют, что у исследованных видов формируются семена с высокими качественными показателями. Доля семян без зародышей очень низкая (в среднем менее 7%), для семян в нижних плодах этот параметр оказывается минимальным. К прорастанию потенциально способны 89% семян *D. incarnata* и 41% – *E. helleborine*, при этом наибольшей жизнеспособностью у двух видов отличаются семена в средних и нижних плодах. Однако на питательной среде в культуре *in vitro* сеянцы образовывало существенно меньшее число семян: у *D. incarnata* – 13%, у *E. helleborine* – 2%. Проведенные нами исследования показали, что для семенного асимбиотического размножения *D. incarnata* и *E. helleborine* в культуре *in vitro* целесообразно использовать семена из нижних плодов, в большей степени способных к прорастанию.

Дальнейшее изучение жизнеспособности и эффективности прорастания семян орхидных Центрально-европейской части России будет способствовать раскрытию причин их низкой всхожести и уязвимости в природных условиях, оптимизации работ по их введению

в культуру *in vitro* с целью сохранения популяций редких и охраняемых видов.

Список литературы

- Андропова Е.В. 2003. Летальные аномалии строения и развития зародыша у *Dactylorhiza fuchsii* (Orchidaceae) // Бот. журнал. Т. 88. № 5. С. 63–71.
- Андропова Е.В. 2007. О биологическом разнообразии, семенном размножении *in vitro* и репатриации орхидных // Вестник ТвГУ. Т. 7. № 35. С. 8-11.
- Баталов А.Е. 1998. Биоморфология, экология популяций и вопросы охраны орхидей Архангельской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 16 с.
- Варлыгина Т.И. 2011. Охрана орхидных России на государственном и региональном уровнях // Охрана и культивирование орхидей. Материалы IX Международной научной конференции (Санкт-Петербург, 26–30 сентября 2011 г.) М.: Товарищество науч. изд. КМК. С. 76–80.
- Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Баталов А.Е., Тимченко И.А., Богомолова Т.И. 1997. Род Дремлик. Биологическая флора Московской области. М.: Полиэкс. С. 62-73.
- Виноградова Т.Н., Пегова А.Н., Осипьянц А.И., Пугачева П.В., Савченко А.С. 2003. Потенциальная всхожесть, индивидуальная и географическая изменчивость семян пальчатокоренника мясокрасного – *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó // Биол. вестн. Харьковского нац. ун-та. Т. 7. № 1-2. С. 64–67.
- ГОСТ 12039-82. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения жизнеспособности. Дата введения 30.06.1983.
- Зайцев Г.Н. 1973. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 256 с.
- Коломейцева Г.Л., Антипина В.А., Широков А.И., Хомутовский М.И., Бабоша А.В., Рябченко А.С. 2012. Семена орхидей: развитие, структура, прорастание. М.: Геос. 352 с.
- Кириллова И.А. 2011. Некоторые характеристики семян орхидных, произрастающих на северной границе распространения (Республика Коми) // Охрана и культивирование орхидей. Материалы IX Международной научной конференции (Санкт-Петербург, 26–30 сентября 2011 г.). М.: Товарищество научных изданий КМК. С. 210-214.
- Кривошеев М.М., Ишмуратова М.М., Суюндуков И.В. 2014. Показатели семенной продуктивности некоторых видов орхидей (Orchidaceae Juss.) Южного Урала, рассчитанные с применением программы ImageG // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Т. 3. № 3. С. 49-57.
- Маракаев О.А. 2015. Семейство Орхидные – Orchidaceae. Красная книга Ярославской области. Ярославль. С. 114-138.
- Назаров В.В. 1995. Репродуктивная биология орхидных Крыма: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб. 26 с.
- Сидоров А.В., Сечин Е.Н., Маракаев О.А. 2015. Репродуктивный потенциал

- Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae) в разных условиях вегетации // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Естественные науки Т. 9. № 31. С. 23-28.
- Суюндуков И.В., Кривошеев М.М. 2014. Репродуктивные стратегии орхидных (Orchidaceae Juss.) на Южном Урале // Фундаментальные исследования. Т. 5. № 1. С. 79-83.
- Татаренко И.В. 1996. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М.: Аргус. 207 с.
- Теплицкая Л.М. 2005. Изучение морфометрических параметров семян орхидных флоры Крыма в связи с проблемой их прорастания *in vitro* // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. Тематический сборник научных трудов. С. 98-106.
- Хомутовский М.И. 2012. Антэкология, семенная продуктивность и оценка состояния ценопопуляций некоторых видов орхидных (Orchidaceae Juss.) Валдайской возвышенности: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 23 с.
- Червченко Т.М., Кушнир Г.П. 1986. Орхидеи в культуре. Киев: Наукова думка. 197 с.
- Шибанова Н.Л., Долгих Я.В. 2010. Морфометрическая характеристика семян и реальная семенная продуктивность редких видов орхидных Предуралья // Вестник Пермского университета. Серия биология. №. 2. С. 4-6.
- Широков А.И., Крюков Л.А., Коломейцева Г.Л. 2007. Морфометрический анализ семян некоторых видов орхидных Нижегородской области // Вестник Тверского государственного университета. Серия биология и экология. Т. 4. № 8. С. 205-208.
- Astapenko N.A. 2010. Biomorphological researches of fruits of *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce (Orchidaceae) in connection with the problem of seed's germination // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. Series: Biology, chemistry. Т. 23. № 62. P. 9-13.
- Bilz M., Kell S.P., Maxted N., Lansdown R.V. 2011. European Red List of Vascular Plants. Luxembourg: Publications Office of the European Union. 130 p.
- Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Appendices I, II and III valid from 12 June 2013. International Environment House. Switzerland: Geneva. 45 p.
- Vakhrameeva M.G., Tatarenko I.V., Varlygina T.I., Torosyan G.K., Zagulskii M.N. 2008. Orchids of Russia and Adjacent Countries (within the Borders of the Former USSR). Konigstein: A. R. G. Gantner VerlagK. G. 690 p.

**MORPHOPHYSIOLOGICAL PECULIARITIES OF TWO SPECIES
ORCHID'S SEEDS FROM CENTRAL EUROPEAN PART
OF RUSSIA AND THEIR ABILITY TO GERMINATE *IN VITRO***

A.V. Sidorov, J.V. Zaitseva, O.A. Marakaev
Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl

Here we evaluate the morphophysiological characteristics and seeds germination efficiency of rare orchids species from the Central European part

of Russia – *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó and *Epipactis helleborine* (L.) Crantz. Their middle and lower fruits, which are larger in size, contain a greater number of seeds than the upper fruits. Larger seeds and embryos are formed in the lower fruits of *D. incarnata*. *E. helleborine* has larger embryos in the lower fruits too. A high proportion of germ-free seeds was detected in *D. incarnata*, especially in the upper fruits (up to 24%). 89% of the seeds of *D. incarnata* and 41% of *E. helleborine* have potentials to germinate. The seeds in the middle and lower fruits are the most viable in two species. However, the seeds *in vitro* produced a significantly smaller number of seedlings: 13% for *D. incarnata*, and 2% for *E. helleborine*. To carry out the asymbiotic reproduction of *D. incarnata* and *E. helleborine in vitro*, it is better to use better-germinating seeds from the lower fruits. Further studies of the viability and efficacy of germination of orchid seeds in the Central European part of Russia will help to unveil the reasons for their low germination and vulnerability in natural conditions. This is essential to optimize the work on their introduction into the culture *in vitro* in order to conserve populations of rare and protected species.

Keywords: *Dactylorhiza incarnata*, *Epipactis helleborine*, *morphophysiology of seeds*, *asymbiotic seed germination*.

Об авторах:

СИДОРОВ Андрей Владимирович – аспирант, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, 150003, Ярославль, ул. Советская, 14, e-mail: a.sidorov@uniyar.ac.ru.

ЗАЙЦЕВА Юлия Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, 150003, Ярославль, ул. Советская, 14, e-mail: y.zaytseva@uniyar.ac.ru.

МАРАКАЕВ Олег Анатольевич – кандидат биологических наук, доцент, декан факультета биологии и экологии, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, 150003, Ярославль, ул. Советская, 14, e-mail: marakaev@uniyar.ac.ru.

Сидоров А.В. Морфофизиологические особенности семян двух видов орхидных Центрально-европейской России и их способность к прорастанию в культуре *in vitro* / А.В. Сидоров, Ю.В. Зайцева, О.А. Маракаев // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2018. № 4. С. 143-153.