

Криосохранение семян редкой орхидеи умеренных широт *Dactylorhiza baltica* (Klinge) Orlova (*Orchis baltica* (Klinge) Nevski)

Т.В.Никишина¹, А.С.Попов¹, Е.А.Попович²¹Институт физиологии растений им.К.А.Тимирязева РАН, г. Москва²Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск

Орхидеи – красивые лекарственные растения. Российские виды хотя и уступают тропическим собратьям по красоте, но превосходят их по лекарственным свойствам. Кроме того, для них характерна сложная биология: облигатный симбиотрофизм начальных стадий развития зародыша, состоящего из нескольких клеток и не имеющего запасных питательных веществ: медленный рост и длительный жизненный цикл (некоторые виды цветут один раз в 10 лет). Проявляются высокие требования к субстрату (в природе обычно прорастает только 5% семян). Эти особенности затрудняют использование орхидей в декоративном садоводстве и коммерческом производстве. Кроме того, мощный антропогенный прессинг, ухудшение экологии и изменение биоценозов грозят полным их исчезновением. Почти все семейство *Orchidaceae* (около 35000 видов) занесено в Красную книгу. В России насчитывается примерно 150 видов орхидей. Наиболее надежный и относительно простой способ сохранения генофонда растений – криогенное хранение семян. Такое хранение может быть практически вечным [1, 2] Настоящая работа посвящена первым результатам проращивания семян *Dactylorhiza baltica*, которая занесена в Красную книгу России, после криосохранения.

Семена этого вида для данного исследования были собраны в Минской области Белоруси. До замораживания их хранили в холодильнике. Семена орхидей пылевидны, имеют микроскопические размеры. Мы высаживали их *in vitro* на жидкую или агаризованную безгормональную среду ½МС [3], после стерилизации семян 5%-м раствором гипохлорита кальция с последующей промывкой, этот раствор депигментировал кожуру семян, обеспечивая ее прозрачность и возможность наблюдения за зародышем. Культивировали сначала в темноте при 25°C 2 мес, затем на свету при 22-23°C; в тех же условиях культивировали проросшие протокормы (специфические зародышевые органы орхидей). Ампулы отогревали в воде при 40°C 30-60 сек, семена культивировали 3-5 мес в тех же условиях, что и контрольные незамороженные. Всхожесть оценивали на 45 сут

по проценту семян с протокормами, жизнеспособность – по соотношению растущих и некротизирующих протокормов. Измерения проводили под микроскопом МБС-9 с окулярной линейкой.

Длина семян *D. baltica* до 1000 мкм, средний размер зародыша 175 мкм, количество семян без зародышей в среднем 30%. Всхожесть в контроле на агаризованной среде была 33,1±1,5% на 20-30 сут, но только 14,5±1,7% на 45 сут из-за некрозов (43,2±2%). Но в жидкой среде на качалке всхожесть в контроле была 79,9±3,3% на 45 сут и даже на 110 сут, а некрозы – только 7±2,1%. После быстрого замораживания всхожесть была 44,7±0,8% на агаре и 61±2,5% на жидкой среде. Если на жидкой среде в контроле протокормы за 3,5 мес увеличивались в 3,8 раза, то на агаре – лишь в 3 раза. После быстрого замораживания семян протокормы вырастали за тот же срок в 3,3 раза на жидкой среде и только в 2,6 раза – на агаризованной.

Получены результаты хорошего выживания и развития семян *D. baltica* на жидкой питательной среде после их криосохранения в жидком азоте в течение нескольких недель. Через 4-5 мес выжившие протокормы, возникшие из семян, пересаживали на агаризованную среду, где продолжалось их развитие, происходил морфогенез, появлялись ювенильные растеньица. С высотой 3-4 см на стадии разворачивания 2-3 листов наблюдается их дальнейший рост. Криобанк семян пополнился 34 видами орхидей.

Литература

1. Whittingham D., Lyon M., Glenister P. Long-term storage of mouse embryos at -196°C: the effect of background radiation // *Genetical Res.* (Camb.).– 1977.– Vol. 29.– P. 171-181.
2. Попов А.С. Криобанк клеточных, меристемных культур и семян растений для биотехнологии и сохранения генофонда // Тезисы 8-й Международной конференции “Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология”.– Саратов, 2003.– С. 255.
3. Murashige T., Sroog F. A revised medium for rapid grown and bioassay with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum.*– 1962.– P. 15.

Адрес для корреспонденции: Попов А.С., Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, Российская Федерация 127276; тел.: +7 (095) 977-93-63, e-mail: sgyo@ippras.ru