

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И МИКОРИЗНОСТИ КОРНЕЙ *PLATANThERA BIFOLIA* И *DACTYLORHIZA HEBRIDENSIS*

Проанализированы размеры придаточных корней и особенности развития микоризы у *Platanthera bifolia* и *Dactylorhiza hebridensis* в разных онтогенетических состояниях. Установлено, что интенсивность развития микоризы при переходе от ювенильных особей к виргинильным, имматурным и генеративным снижается. При этом по мере возрастного развития растений увеличиваются поперечные размеры корней, и особенно протяженность мезодермы. В результате количество грибного мицелия в пересчете на единицу длины корня в онтогенезе исследованных тубероидных орхидных остается постоянным.

Ключевые слова: орхидные, *Platanthera bifolia*, *Dactylorhiza hebridensis*, корни, микориза, онтогенез, морфогенез.

Орхидные – длительно и продуктивно изучаемая группа, являющаяся модельной для анализа многих вопросов в рамках проблемы растительно-микробных симбиотических взаимодействий. В традиционной области изучения микориз орхидных выделяются несколько направлений, которые условно можно обозначить как: 1) «структурное»; 2) «микологическое»; 3) «физиологическое». Несмотря на хронологическую и идеологическую первичность структурного направления, часть традиционно рассматриваемых в нем вопросов до настоящего времени не имеет однозначных ответов.

Таков, например, вопрос об онтогенетических особенностях формирования орхидной микоризы. Существует устойчивое мнение [4], поддержанное большим количеством фактических данных [1], [3], [4], [5], что от ювенильных к генеративным особям развитие микоризы у тубероидных видов снижается, а у корневищных – возрастает. Но это заключение основывается на анализе относительных показателей развития микоризы, учитывающих соотношение между огрибенными и неогрибенными участками подземных органов. Цель сообщения состоит в демонстрации возможности иной интерпретации онтогенетических особенностей формирования микоризы орхидных, основывающейся на использовании нетрадиционных показателей микоризообразования.

Материал и методы

Объекты исследования – широко распространенные клубнеоразующие виды орхидных – любка двулистная (*Platanthera bifolia* (L.) Rich.)

и пальчатокоренник гебридский (*Dactylorhiza hebridensis* (Wilmott) Aver.). Сбор выполнен в июне–августе 2010 г. Любка собрана в сосняке орляковом на территории г. Екатеринбурга (Уктусский лесопарк); пальчатокоренник – в ельнике вейниковом Советского р-на Ханты-Мансийского авт. окр. Ориентировочная численность исследованных ценопопуляций – порядка 500–700 особей, по возрастному составу они нормальные полночленные с преобладанием генеративных особей. У каждого вида изучено по 5–6 особей в ювенильном и виргинильном возрастном состоянии и по 10 имматурных и генеративных.

Анализ морфо-анатомического строения корней и оценку развития микоризы осуществляли на поперечных срезах придаточных корней (не корневидных окончаний клубня), приготовленных на замораживающем микротоме. Фиксировали размеры корня, центрального цилиндра, коры и число слоев клеток в ней. Определяли интенсивность развития микоризы (С, % по [2]). У каждой особи анализировали строение 2–5 отдельных корней. Все измерения в пределах особи в дальнейшем были усреднены.

При статистической обработке использовали непараметрические аналоги дисперсионного анализа, однофакторного (критерий Краскела–Уоллеса, *H*) или двухфакторного (критерий Шейрера–Рея–Хара; *H'*) (Sokal, Rohlf, 1995), поскольку предположения о соответствии распределения анализируемых признаков нормальному и о равенстве дисперсий в сравниваемых группах подтверждались далеко не во всех случаях.

Результаты и обсуждение

Основное направление онтогенетического изменения строения корней у *P. bifolia* и *D. hebridensis* состоит в увеличении с возрастом, т. е. при переходе от ювенильных особей к иматурным, виргинильным и далее к генеративным, поперечного размера корней при одновременном снижении интенсивности развития микоризы в них. Эти реакции в равной степени характерны для обоих изученных видов, о чем свидетельствует отсутствие случаев значимого взаимодействия факторов «возраст» и «вид», влияющих на динамику рассмотренных признаков (таблица). Другими словами, несмотря на то, что по части признаков можно обсуждать устойчивые различия между *P. bifolia* и *D. hebridensis*, в онтогенезе все признаки строения корней у них изменяются одинаково.

Общей диаметр корня последовательно возрастает в онтогенезе особей в 1,3–2,6 раза. При этом увеличение размеров примерно в равной степени характерно как для центрального цилиндра (1,7–3,2 раза) и для слоя коры (1,3–2,5 раза). В результате пропорции между корой и центральным цилиндром (соотношение площадей соответствующих зон) остаются в онтогенезе неизменными и одинаковыми у обоих видов:

во всех возрастных состояниях порядка 95–97% площади поперечных срезов корней занимает кора и только 3–5% приходится на центральный цилиндр. Отметим, что увеличение поперечных размеров коры в онтогенезе изученных орхидных обусловлено утолщением только одного ее слоя – мезодермы. Это, в свою очередь, связано, преимущественно, с увеличением числа слоев клеток в 1,2–1,3 раза. Для любки двулистной, помимо этого, важной составляющей общего утолщения корней в онтогенезе является также возрастание размеров отдельных клеток коры от 80–90 мкм в ювенильном состоянии до 120–130 мкм в корнях генеративных особей.

Микориза у обоих видов является типичной микоризой орхидных или эумицтовой толипофазовой (Селиванов, 1981). Во всех случаях наряду с одиночными, легко различимыми внутриклеточными гифами в части клеток мезодермы обнаруживались пелотоны разной плотности и степени разрушения. Как правило, клетки с грибными структурами были локализованы на периферии мезодермы, в то время как внутренние слои, близкие к эндодерме, чаще всего были свободны от гриба и иногда содержали крахмальные зерна. При этом, основываясь на абсолютных значениях показателя интенсивности раз-

Таблица. Строение и микоризация корней двух видов орхидных в разных онтогенетических состояниях

Признак	Вид*	Медианы признаков в разных возрастных состояниях**				Значимость различий***		
		j	im	v	g	[1] возраст (dF=3)	[2] вид (dF=1)	[1]□[2] (dF=3)
Диаметр корня, мм	<i>P.b.</i>	0,70	1,33	1,54	1,85	$H^*=21,08;$ $P=0,0001$	$H^*=15,30;$ $P=0,0001$	$H^*=6,86;$ $P=0,0765$
	<i>D.h.</i>	1,06	1,22	1,36	1,41			
Диаметр центрального цилиндра, мм	<i>P.b.</i>	0,13	0,26	0,27	0,41	$H^*=26,05;$ $P<0,0001$	$H^*=10,85;$ $P=0,0010$	$H^*=6,91;$ $P=0,0748$
	<i>D.h.</i>	0,19	0,26	0,27	0,32			
Толщина коры, мм	<i>P.b.</i>	0,29	0,53	0,63	0,72	$H^*=18,10;$ $P=0,0004$	$H^*=15,61;$ $P=0,0001$	$H^*=6,41;$ $P=0,0933$
	<i>D.h.</i>	0,44	0,49	0,56	0,56			
Число слоев клеток коры, экз.	<i>P.b.</i>	4,2	4,8	5,2	5,4	$H^*=23,93;$ $P<0,0001$	$H^*=2,10;$ $P=0,1473$	$H^*=0,98;$ $P=0,8061$
	<i>D.h.</i>	4,4	4,7	5,1	5,2			
Площадь коры на срезе, мм ²	<i>P.b.</i>	0,37	1,34	1,81	2,57	$H^*=21,66;$ $P=0,0001$	$H^*=10,96;$ $P=0,0009$	$H^*=7,35;$ $P=0,0615$
	<i>D.h.</i>	0,86	1,12	1,40	1,55			
Доля коры на площади среза, %	<i>P.b.</i>	97	96	96	95	$H^*=7,58;$ $P=0,0555$	$H^*=1,83;$ $P=0,1761$	$H^*=0,73;$ $P=0,8661$
	<i>D.h.</i>	96	96	97	95			
Интенсивность развития микоризы, %	<i>P.b.</i>	56	48	39	27	$H^*=16,91;$ $P=0,0007$	$H^*=2,17;$ $P=0,1409$	$H^*=1,02;$ $P=0,7965$
	<i>D.h.</i>	39	34	16	16			

Примечания: * виды: *P.b.* – любка двулистая; *D.h.* – пальчатокоренник гебридский; ** возрастные состояния: j – ювенильное, im – иматурное, v – виргинильное, g – генеративное; *** H^* – значение критерия Шейрера–Рей–Хара, P – достигнутый уровень значимости, dF – число степеней свободы; заливкой отмечены случаи значимого влияния фактора.

вития микоризы, *P. bifolia* можно считать умеренномикоризным видом, а *D. hebridensis* – слабомикоризным. В онтогенезе обоих видов отмечено снижение средней интенсивности развития микоризы в 2,1–2,5 раза. Снижение этого показателя было обусловлено как уменьшением регистрируемого обилия грибных структур на срезах, где гриб присутствовал, так и увеличением у виргинильных и генеративных особей числа участков корней, которые были совсем не заселены микобионтами.

Как уже отмечалось, снижение значений показателя развития микоризы, наблюдающееся в онтогенезе тубероидных орхидных, вполне ожидаемо [1], [3], [4], [5]. Однако нельзя не заметить, что последовательное возрастное уменьшение доли заселенных микобионтами клеток сопровождается ростом объема растительных тканей, потенциально пригодных для поселения гриба. По нашим оценкам, площадь, занимаемая на поперечных срезах мезодермой, от ювенильных особей к генеративным увеличивается от 2 (*D. hebridensis*) до 6 (*P. bifolia*) раз. На этом фоне наблюдаемое в онтогенезе снижение интенсивности развития микоризы в 2–2,5 раза оказывается не критичным в том плане, что оно не приводит к общему снижению абсолютного обилия грибных структур в корнях изученных видов. Для характеристики абсолютного обилия микобионтов на площади среза или, другими словами, в единице длины корней, ис-

пользовали величину S_{fungi} – среднюю площадь видимых на одном срезе клеток мезодермы, содержащих грибные структуры (мицелий или пелотоны, независимо от их сохранныости):

$$S_{fungi} = S_{cortex} \times C,$$

где S_{cortex} – абсолютная площадь коры корня на срезе, C – интенсивность развития микоризы, выраженная в долях от единицы. Этот показатель отчасти условен, так как рассчитан на основании усредненных величин, но он, все же, дает представление об абсолютном количестве клеток орхидеи, занятых грибом. Абсолютное обилие грибов в единице длины корня онтогенетической динамики не демонстрирует (рисунок). Этот вывод справедлив как при объединенном анализе данных для двух видов ($H_{возраст} = 3,81$; $P = 0,2827$; $H_{вид} = 6,97$; $P = 0,0083$; $H_{возраст \times вид} = 3,89$; $P = 0,2736$), так и при отдельном рассмотрении каждого вида: *P. bifolia* ($H = 5,35$; $P = 0,1476$), *D. hebridensis* ($H = 6,27$; $P = 0,0990$).

Таким образом, характеристика интенсивности развития микоризы, а по сути – соотношение количества огрибленных и неогрибленных клеток коры – не обязательно действительно является универсальной характеристикой успешности формирования симбиоза. Этот параметр лишь операционален, т. е. определяется легко, достаточно строго и обеспечивает возможность сравнения разнородных объектов. Однако максимизация или какая-либо иная стабилизация доли растительных клеток, несущих грибные структуры, не обязательно является «целью» взаимодействия орхидей и микоризных грибов. Не менее обосновано предположение, что таким функционально нагруженным показателем может быть абсолютное количество грибного мицелия в единице длины или массы корня. Оправдано, например, соображение, что напряженность обменных процессов между партнерами может быть пропорциональна именно общему количеству мицелия микобионта.

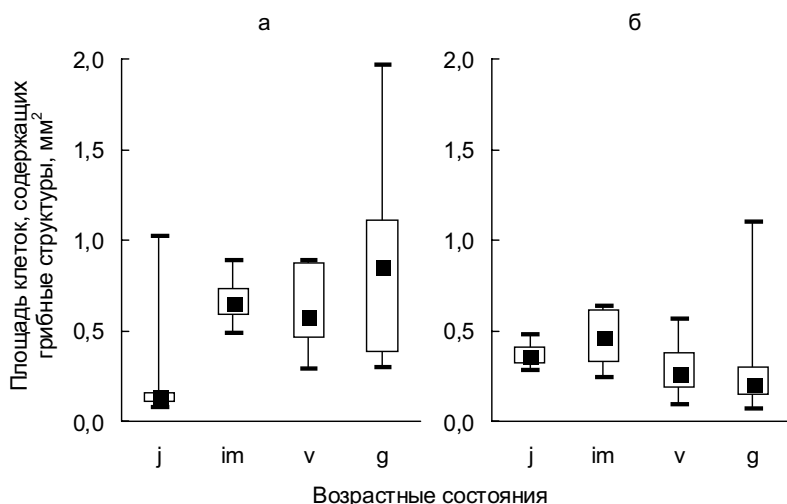


Рисунок. Среднее абсолютное обилие клеток мезодермы, содержащих грибные структуры, на срезах корней *P. bifolia* (а) и *D. hebridensis* (б) разных возрастных состояний. Квадрат – медиана, прямоугольник – межквартильный размах, вертикальные линии – размах между 5-м и 95-м перцентилями

Закключение

В соответствии с представленными оценками и расчета-

ми, количество грибного мицелия на площади среза или в единице длины корней в онтогенезе *P. bifolia* и *D. hebridensis* не снижается. Наблюдаемое уменьшение показателя интенсивности развития микоризы с переходом в зрелое возрастное состояние компенсируется увеличением абсолютных размеров тканей корня, вмещающих микобионта. С учетом известного онтогенетического возрастания не только поперечных размеров корней, но и их линейной протяженности, можно ожидать, что в пересчете на особь абсолютное количество грибного мицелия от ювенильных к генеративным особям будет увеличиваться.

По нашему мнению, в будущем оправдано детально исследовать особенности топографии грибов в корнях орхидей разных возрастных состояний, так как регуляция интенсивности развития микоризы может быть обусловлена влиянием факторов структурного порядка. Представленные данные свидетельствуют, что выбор конкретной характеристики развития микоризы весьма существенно влияет на генерируемые выводы. Поэтому вопросам методического плана при исследовании феномена микотрофности растений необходимо уделять пристальное внимание, не обязательно ограничиваясь использованием классических признаков.

29.08.2013

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 12-04-32055-а) и гранта Президента РФ по поддержке ведущих научных школ (НШ-5325.2012.4)

Список литературы:

1. Вахрамеева М.Г. Род Пальчатокоренник // Биол. флора Моск. обл. М.: «Гриф и К», 2000. Вып. 14. С. 55–86.
2. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза / Под ред. Т.А. Работного. М.: Наука, 1981. 232 с.
3. Сизова И.П., Вахрамеева М.Г. Некоторые вопросы микоризообразования у двух видов семейства Orchidaceae // Охрана и культивирование орхидей. Киев, 1983. С. 41–43.
4. Татаренко И.В. Микориза орхидных (Orchidaceae) Приморского края // Ботан. журн. 1995. Т. 80. № 8. С. 64–73.
5. Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М.: Изд-во «Аргус», 1996. 206 с.
6. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. New-York: Freeman & Co, 1995. 850 p.

Сведения об авторах:

Бетехтина А.А., доцент кафедры экологии ИЕН ФГАОУ ВПО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», кандидат биологических наук, e-mail: betechtina@mail.ru

Гайсина Д.Ф., студент кафедры экологии ИЕН ФГАОУ ВПО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; e-mail: O-41-68@yandex.ru

620083, г. Екатеринбург, пр. Ленина, 51, тел. (343) 2617495

Веселкин Д.В., старший научный сотрудник лаборатории биоразнообразия растительного мира и микобиоты ИЭРиЖ УрО РАН, кандидат биологических наук, e-mail: denis_v@ipae.uran.ru

620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202, ИЭРиЖ УрО РАН, тел. (343)2103858

UDK 582.594–143:581.557.24

Betehtina A.A.¹, Gajgina D.F.¹, Veselkin D.V.²

¹Ural Federal University named after the first president of Russia B.N. Yeltsin; ²Institute of plant and animal ecology, Ural Division RAS, e-mail: betechtina@mail.ru; denis_v@ipae.uran.ru

FEATURES OF THE ROOTS STRUCTURE AND MYCORRHIZA FORMATION OF PLATANATHERA BIFOLIA AND DACTYLORHIZA HEBRIDENSIS IN DIFFERENT AGE STAGES

The sizes of additional roots and feature of mycorrhiza development at *Platanthera bifolia* and *Dactylorhiza hebridensis* were analyzed in different ontogenetic stages. It is established that intensity of mycorrhiza development decreases upon transition from juvenile individuals to virginile, immature and generative. Thus the cross sizes of roots and, especially, extent of a mesoderm increase in process of age development of plants. As a result the quantity of a fungal mycelium in ontogeny investigated tuberous orchids remains to constants in terms of unit of length of a root.

Key words: orchids, *Platanthera bifolia*, *Dactylorhiza hebridensis*, roots, mycorrhizae, ontogeny, morphogenesis.

Bibliography:

1. Vakhrameeva M.G. Genus Dactylorhiza // Biol. flora Moscow. region. MM: «Grief and K», 2000. MY. 14. S. 55–86 .
2. Selivanov, I.A. Mikosimbiotrofizm as a form consorts connection in the vegetation of the Soviet Union / Ed. TA Deeds . Moscow: Nauka, 1981. 232.
3. Sizov I.P., M.G. Vakhrameeva Some questions mycorrhiza formation in two species of the family Orchidaceae // Safety and cultivation of orchids. Kiev, 1983 . S. 41–43 .
4. Tatarenko I.V. Mycorrhiza of orchids (Orchidaceae) Primorsky Territory // Bot. Journal. 1995. T. 80 . Number 8. S. 64–73 .
5. Tatarenko I.V. Orchids Russia: life forms, biology, protection. Moscow: Publishing House of the «Argus», 1996. 206 с.
6. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. New-York: Freeman & Co, 1995 . 850 p .