

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ БОТАНІЧНИЙ САД імені М.М. ГРИШКА**

ГИРЕНКО ОЛЕКСАНДР ГРИГОРОВИЧ



УДК 582.594.2: 581.44./46: 57.084.1

**МОРФОЛОГІЧНА БУДОВА ТА ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ
ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ
COELOGYNE LINDL. (*ORCHIDACEAE* JUSS.) В УМОВАХ ОРАНЖЕРЕЙНОЇ
КУЛЬТУРИ**

03.00.05 – ботаніка

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у відділі тропічних та субтропічних рослин Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Буюн Людмила Іванівна,
Національний ботанічний сад
імені М.М. Гришка НАН України,
завідувач відділу тропічних та
субтропічних рослин

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Гайдаржи Марина Миколаївна,
Ботанічний сад імені акад. О.В. Фоміна
Навчально-наукового центру «Інститут
біології та медицини» Київського
національного університету імені
Тараса Шевченка, директор

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
відділу клітинної біології та анатомії
Недуха Олена Макарівна,
Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного
НАН України,
провідний науковий співробітник

Захист відбудеться «30» квітня 2021 року о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.215.01 Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України за адресою: м. Київ, 01014, вул. Тімірязєвська, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України за адресою: м. Київ, 01014, вул. Тімірязєвська, 1.

Автореферат розісланий «29» березня 2021 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник



Н.І. Джуренко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Ботанічні сади завдяки наявним ресурсам – таксономічно репрезентативним колекціям живих рослин, банкам насіння, широкій географії зразків, контрольованим умовам вирощування рослин, наявності багаторічних фенологічних спостережень – є унікальним місцем для проведення дослідницьких проектів, пов'язаних зі збереження біорізноманітності *ex situ* та раціональним використанням ресурсного потенціалу. Колекційні фонди, депоновані у ботанічних садах світу, наразі є важливою складовою міжнародних природоохоронних програм, відіграючи важливу роль у процесі інтеграції стратегій охорони рослин *in situ* та *ex situ* (Cherevchenko et al., 2015; Pence, 2013; Volis, 2017; Gaidarzhy et al., 2020).

Із часу захисту докторської дисертації Т.М. Черевченко (1984), з якої розпочалось різнопланове вивчення тропічних орхідних в Україні, в Національному ботанічному саду імені М.М. Гришка НАН України (НБС), було виконано низку робіт, які відзначались високим рівнем актуальності, наукової новизни, застосуванням інноваційних технологій (Лаврентьева, 1985; Буюн, 1986, 2011; Заїменко, 1987, 2007; Ковальська, 1992; Ярославська, 1999; Іванніков, 2001, 2012; Вахрушкін, 2010). Катастрофічне скорочення природних популяцій орхідних, спричинене змінами клімату та діяльністю людини, попитом на орхідеї як декоративні та лікарські рослини (Fay, 2020), не лише не зменшує актуальності цих досліджень, а робить їх ще більш невідкладними.

Через складний та тривалий життєвий цикл, високоспеціалізовані репродуктивні стратегії (Chen et al., 2009; Liu et al., 2013), вузькі екологічні ніші, представники роду *Coelogyne* Lindl. належать до найбільш вразливих при зміні умов існування. Епіфітний спосіб життя, характерний для переважної більшості видів роду *Coelogyne*, пов'язаний із різноманітними обмеженнями, насамперед із тимчасовим/постійним водним стресом, передбачає існування особини на межі своїх функціональних можливостей (Gravendeel et al., 2004; Zhang et al., 2016), підкреслюючи важливість дослідження цієї групи у зв'язку зі змінами клімату.

Зважаючи на це, ретельнішого дослідження потребують різні аспекти біології розвитку представників роду *Coelogyne* за умов культури, такі як будова елементарних пагонів та типів пагонових систем, системи репродукції, анатомічна структура та міроморфологія поверхні листків, у т.ч. за умов *in vitro*, з'ясування яких слугуватиме теоретичним підґрунтям для розробки різноманітних стратегій збереження цих рослин за умов *ex situ*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота була виконана у відділі тропічних та субтропічних рослин НБС імені М.М. Гришка НАН України відповідно з напрямками його науково-дослідних робіт, а саме за темами «Теоретичні та практичні аспекти комплексної охорони фітогенофонду тропічних та субтропічних рослин в Україні» (2008-2012 рр., № д/р 0108U001517); «Особливості репродукції та структурно-функціональні адаптації тропічних та субтропічних рослин за умов оранжерейної культури та культури *in vitro*» (2013-2017 рр., № д/р 0108U001517); «Збереження

біорізноманіття тропічних рослин *ex situ* за умов глобальних змін клімату та оцінка можливості їх практичного використання» (з 2018 р. й дотепер; № д/р 0118U4223).

Мета і завдання дослідження. Мета – з'ясувати особливості репродукції та структурної організації пагонів і пагонових систем, анатомічної структури листка та мікроморфологічних особливостей його поверхні у різних видів роду *Coelogyne* з метою збереження *ex situ* та оцінити перспективи їх використання.

Для реалізації мети були поставлені такі завдання:

- здійснити аналіз літературних даних щодо сучасного положення роду *Coelogyne* в системі покритонасінних, поширення та екології, біоморфологічних особливостей, репродуктивної біології; оцінити перспективи охорони *ex situ* та практичного використання представників цього роду;

- дослідити особливості будови репродуктивних органів, фенологічних особливостей та впливу систем схрещування на життєздатність насіння модельних видів роду *Coelogyne*;

- з'ясувати особливості будови пагона та пагонової системи різних видів *Coelogyne*;

- виявити особливості анатомічної структури листків рослин видів *Coelogyne*;

- дослідити мікроморфологію поверхні листкової пластинки представників роду *Coelogyne*;

- здійснити порівняльний анатомо-стоматографічний аналіз листків *C. lawrenceana* (як модельного виду) для виявлення структурних маркерів, що можуть бути використані для оцінки адаптаційного потенціалу та прогнозування ефективності акліматизації розмножених в культурі *in vitro* рослин до умов *ex vitro*;

- дослідити біологічну активність екстрактів вегетативних органів різних видів *Coelogyne* як потенційного джерела лікарських засобів рослинного походження.

Об'єкт дослідження – системи репродукції та структурна організація рослин видів роду *Coelogyne*.

Предмет дослідження – особливості морфологічної будови і структурної організації пагонів і пагонових систем; анатомічна структура листків та мікроморфологія листкової поверхні; особливості біологічної активності екстрактів вегетативних органів дослідних видів роду *Coelogyne*.

Методи дослідження – інтродукції рослин, фенологічні, порівняльно-морфологічні, світлової та сканувальної електронної мікроскопії, анатомічні, мікробіологічні, біометричні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведений порівняльно-морфологічний аналіз пагонових систем дослідних видів *Coelogyne* (*C. cristata*, *C. fimbriata*, *C. flaccida*, *C. huettneriana*, *C. ovalis*, *C. speciosa*, *C. tomentosa*, *C. viscosa*) виявив, що всі види мають ди-, монохазіальний тип галуження пагонової системи і чотири типи розвитку суцвіття (синантний, гетерантний, протерантний та гістерантний). Для видів *C. flaccida*, *C. cristata* та *C. tomentosa* характерний диморфізм пагонів.

Істотно поглиблено уявлення щодо анатомічної структури листків та особливостей мікроморфології поверхні у різних екологічних груп *Coelogyne* – епіфітів та літофітів. Суттєво доповнено існуючі дані щодо гетероморфності типів продихового апарату як у різних видів *Coelogyne*, так і в межах одного виду.

Підтверджено, що основним типом продихового апарату є тетрацитний, рідше трапляється циклоцитний тип. Разом з тим, наявність гіподерми та розвиток "продихових кластерів" у деяких видів *Coelogyne* (*C. cristata*, *C. flaccida*, *C. huettniana* та *C. viscosa*) свідчить про те, що рослини цих видів за умов флуктуацій водного режиму реалізують стратегію «drought avoidance»; натомість мезофіл гомогенного типу у інших досліджених представників роду (*C. assamica*, *C. cristata*, *C. lawrenceana*, *C. pandurata*, *C. speciosa* та *C. tomentosa*), свідчить про існування цих рослин за умов недостатнього освітлення, хоча вони всі є епіфіти.

Встановлено, що облігатна самонесумісність, а, відтак, і знижена здатність до статевої репродукції у видів роду компенсується підвищеною здатністю рослин до вегетативного розмноження та значною тривалістю існування безлистих пагонів в системі пагонової системи.

Вперше у видів *Coelogyne*, зразки яких утримуються за умов штучного клімату, виявлено антимікробну та антимікотичну активність щодо широкого спектру патогенних мікроорганізмів.

Практичне значення роботи. Дані щодо анатомічної структури листка дослідних видів *Coelogyne* сприятимуть розробці оптимальної технології культивування, що забезпечить тривале збереження колекційних зразків за умов *ex situ*. Дані порівняльної морфології та анатомії можуть знайти застосування у фармакології при стандартизації лікарської сировини. Дані фенологічних спостережень будуть використані для оптимізації методів штучного запилення та отримання життєздатного насіння, а також при кріоконсервації полінів.

У результаті виконання міжнародного проекту між НБС НАН України та Інститутом тропічної біології (ІТБ) Академії наук та технологій В'єтнаму (VAST) "Translocation, studying appropriate conditions for *ex situ* conservation of 45 Vietnam orchid species from NBG, Ukraine and *in vitro* propagation of some rare orchid species" (Project Code: VAST.ĐL.08/13-14) до Центру збереження біорізноманіття ІТБ (м. Хошимін) передано рослини чотирьох видів роду *Coelogyne* (*C. fimbriata*, *C. huettniana*, *C. ovalis*, *C. viscosa*), які були розмножені в НБС.

Особистий внесок здобувача. Разом з керівником поставлені мета та завдання дисертаційного дослідження. Дисертантом самостійно опрацьована література, проведено морфологічні, анатомічні дослідження, фенологічні спостереження. Здійснено обробку та аналіз отриманих результатів та сформульовано висновки. Дослідження антимікробної активності виконано в Інституті біології та наук про Землю Поморської академії в Слупську під керівництвом д.б.н. (dr hab), професора Г.М. Ткаченко (Польща) і були підтримані грантами Польського комітету у справах ЮНЕСКО (The Polish National Commission for UNESCO) "The antimicrobial screening of the various extracts derived from the leaves and pseudobulbs of *Coelogyne* spp. (Orchidaceae)" та Вишеградського фонду (Visegrad Scholarship Program /V4EaP, the application # 51910272). Матеріали, опубліковані у співавторстві, містять пропорційний внесок здобувача.

Апробація результатів дисертації. Результати та основні положення дисертації доповідались і обговорювались на засіданнях відділу тропічних та субтропічних рослин, на вчених радах НБС імені М.М. Гришка НАН України, а також були представлені на національних та міжнародних форумах: IX

Міжнародній науковій конференції “Охрана и культивирование орхидей” (Санкт-Петербург, 2011), VI Міжнародній науковій конференції “Біологія: від молекули до біосфери” (Харків, 2011), Міжнародній науковій конференції “Растительный мир и его охрана” (Алмати, 2012), I Міжнародній науковій конференції “Сучасна фітоморфологія” (Львів, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції “Роль ботанических садов в сохранении разнообразия растений” (Батуми, 2013), Міжнародній науковій конференції “Растения в муссонном климате-VI” (Владивосток, 2013), Міжнародній науковій конференції “Сучасні підходи до формування і управління антропогенними та природними біоценозами в країнах Східної Європи” (Херсон, 2015), Міжнародній науково-практичній конференції “Інтегрований захист та карантин рослин. Перспективи розвитку в XXI столітті” (Київ, 2015), Міжнародній науковій конференції “Сучасні тенденції збереження, відновлення та збагачення фіторізноманіття ботанічних садів і дендропарків” (Біла Церква, 2016), V Міжнародній науковій конференції “Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса” (Ставрополь, 2016), VI Міжнародній науково-практичній конференції “Перспективы развития науки и образования в современных экологических условиях” (Солёное Займище, 2017), Міжнародній науковій конференції “Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира” (Минск, 2017), II Міжнародній науковій конференції “Сьогоднішня біологічна наука” (Суми, 2018), III Міжнародній науково-практичній конференції “Methodology, Theory and Practice of Modern Biology” (Kostanay, 2018), на XIII-XV Міжнародних наукових конференціях “Молодь і поступ біології” (Львів, 2017, 2018, 2019) та ін.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 34 публікації, серед яких 3 у фахових виданнях; 4 – у виданнях, які індексуються в міжнародних наукометричних базах, 5 статей – в інших наукових періодичних виданнях. 22 публікації містяться у збірниках матеріалів наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, 7 розділів, висновків, переліку використаних джерел. Загальний обсяг роботи становить 226 сторінок. Список використаних джерел нараховує 395 найменувань, з них 79 – кирилицею, а 316 – латиницею. Дисертація містить 9 таблиць та ілюстрована 106 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

РОЗДІЛ 1. РІД *COELOGYNE* LINDL. (*ORCHIDACEAE* JUSS.): СИСТЕМАТИКА ТА ФІЛОГЕНІЯ, ПОРІВНЯЛЬНА МОРФОЛОГІЯ, АНАТОМІЯ, РЕПРОДУКТИВНА БІОЛОГІЯ

Наведено короткий огляд систем *Orchidaceae*, простежено положення в них роду *Coelogyne* Lindl. У найсучаснішій системі *Orchidaceae* (Chase et al., 2015) рід належить до підтриби *Coelogyneae*, триби *Arethuseae*, підродини *Epidendroideae*. Дані сучасних молекулярно-генетичних досліджень свідчать, що рід *Coelogyne* є поліфілетичним і об'єднує види, які належать до двох неспоріднених клад

(Gravendeel, 2000; Gravendeel et al., 2001). Упродовж останніх десятиліть були опубліковані результати ревізії кількох секцій *Coelogyne* (Gravendeel, de Vogel 1999; Pelsner et al., 2000; Li et al., 2015; Rusea et al., 2020). Разом з тим, як зазначають автори цих робіт, остаточне внутрішньородове розмежування на основі морфологічних даних та результатів молекулярних досліджень й досі залишається актуальним (Gravendeel et al., 2000; Sierra et al. 2000).

Зазначено, що рід об'єднує понад 200 видів симподіальних орхідей, розповсюджених від Південно-Східної Азії до островів у південно-західній частині Тихого океану (Butzin 1992, Clayton, 2002, Chen and Clayton 2009), з основними центрами різноманітності на Борнео, Папуа-Новій Гвінеї, Суматрі та у Гімалаях (Chen and Clayton, 2009; George and George, 2011). Підкреслено існування екологічної спеціалізації (епіфіти, літофіти, рідше – геофіти).

У класифікації морфологічних типів орхідних Г.Л. Коломєйцева (2006) віднесла рід *Coelogyne* до «архітектурної моделі» АМ Serebryakova (кореневищні (ризомоутворюючі) рослини з одномомерними псевдобульбами). Застосування концепції "архітектурних моделей" в біоморфології орхідних має багато позитивних аспектів, але загалом, не вирішує суто "інтродукційних" питань, пов'язаних з необхідністю тривалого збереження рослин цієї групи *ex situ*.

У межах роду *Coelogyne* наведено результати анатомічних досліджень. Основну увагу приділено аналізу особливостей вегетативної анатомії. Відзначено контрверсійність даних щодо типів продихового апарату. Різними авторами в межах роду було виявлено аномоцитні, тетрацитні, циклоцитні продихи (Stern et al. .

Проаналізовано будови репродуктивних органів, особливостей систем схрещування та запилювальних стратегій. Для видів роду *Coelogyne* характерні високоспеціалізовані запилювальні стратегії, у т.ч. і "бімодальні" (поєднання у одного виду *Coelogyne* орнітофілії та ентомофілії) (Liu et al., 2013); облігатна самонесумісність, що лімітує ефективність репродукції як *in situ* (Chen et al., 2009), так і *ex situ* (Антипина, 2009; Буюн, 2011), а відтак – визначає необхідність застосування особливих підходів при розробці стратегій збереження цих рослин у культурі.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, УМОВИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота виконана у фондових оранжереях та лабораторіях відділу тропічних та субтропічних рослин НБС імені М.М. Гришка НАН України (2010-2020 рр.). Дослідження біологічної активності екстрактів рослин виконані в Інституті біології та наук про Землю Поморської академії в Слупську під керівництвом д.б.н. (dr hab), професора Г.М. Ткаченко (Республіка Польща) в 2017–2020.

Об'єктами дослідження були генеративні рослини 18 видів роду *Coelogyne* Lindl.: *C. assamica* Linden & Rchb.f., *C. brachyptera* Rchb.f., *C. cristata* Lindl., *C. cumingii* Lindl., *C. dichroantha* Gagnep., *C. fimbriata* Lindl., *C. flaccida* Lindl., *C. huettniana* Rchb. f., *C. lawrenceana* Rolfe, *C. lentiginosa* Lindl., *C. ovalis* Lindl., *C. pandurata* Lindl., *C. rochussenii* de Vriese, *C. speciosa* (Blume) Lindl., *C. tenasserimensis* Seidenf., *C. tomentosa* Lindl., *C. trinervis* Lindl., *C. viscosa* Rchb.f., інтродукованих у Фондовій оранжереї НБС.

У роботі було використано систему *Orchidaceae*, яка була розроблена з урахуванням молекулярно-філогенетичних даних (Chase et al., 2015). Назви дослідних видів роду *Coelogyne* наведено відповідно до World Checklist of Selected Plant Families (WCSP) (<http://wmsp.science.kew.org/> 2021).

Ріст і розвиток рослин вивчали шляхом регулярних фенологічних спостережень та біометричних досліджень згідно методики «Методика фенологических наблюдений» (1975).

Вивчення вегетативних та репродуктивних органів проводили шляхом препарування, дослідження бруньок та пагонів за допомогою біокулярної лупи МБС-1. Елементи квітки фотографували за допомогою стереомікроскопа STEMI 2000-C (Carl Zeiss, Німеччина) з дзеркальною фотокамерою Canon PowerShot G5. Графічна візуалізація будови пагонової системи виконана за допомогою програми Corel Draw.

Для характеристики вегетативних та генеративних органів використовували "Атласи з описової морфології вищих рослин" (Федоров, Артющенко, Кирпичников, 1956-1990).

Морфометричні дослідження продихового апарату та основних епідермальних клітин проводили на відбитках епідерми, знятих із живих рослин методом реплік з використанням безколірного лаку. Опис епідермальної поверхні листків дослідних видів проводили з використанням загальноприйнятої в цитології рослин термінології (Мирославов, 1974; Баранова, 1990; Baranova, Jeffrey, 2000; Паутов, 2010). Для характеристики форми (обрису та проекції) епідермальних клітин використовували класифікацію С.Ф. Захаревича (1954). У роботі використана класифікація морфологічних типів продихів М.О. Баранової (1985).

Для дослідження анатомічних особливостей поперечних зрізів листкової пластинки на світловому мікроскопі матеріал брали з центральної частини. Подвійне забарвлення проводили послідовно барвниками: 1 % розчином сафраніну (Китай) – 10 хв. і 0,5% розчином Астраблау (Fluka, Німеччина) – 1,5 хв., промиваючи після кожного етапу дистильованою водою, потім диференціювали у 96% етанолі протягом 1-5 хв. Отримані препарати заключали у гліцерин (Прозина, 1960; Барыкина и др., 2004).

Товщину листкової пластинки, а також розміри клітин вимірювали за допомогою ліцензійної програми AxioVision Rel. 4.7 (Carl Zeiss, Jena, Німеччина).

Математичну обробку даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft®Office Excel 2007 (11.8342.8341) SP 3 та методів статистичного аналізу (Зайцев, 1984; Лакин, 1990; Урбах, 1963).

При дослідженні антимікробної активності використовували диско-дифузійний метод (Bauer, et al., 1966). Для скринінгу біологічної активності використовували екстракти листків і псевдобульб видів *Coelogyne*. Як тест-об'єкти використовували бактерії *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* та *Candida albicans*.

Для визначення чутливості або резистентності бактерій були використані наступні критерії відносно діаметру зони інгібування: дуже чутливі (S) ≥ 15 мм, помірно-чутливі (I) = 10-15 мм і малочутливі (R) ≤ 10 мм (Okoth et al., 2013).

РОЗДІЛ 3. БУДОВА РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ТА ОСОБЛИВОСТІ РЕПРОДУКЦІЇ ВИДІВ РОДУ *COELOGYNE* LINDL. ЗА УМОВ ОРАНЖЕРЕЙНОЇ КУЛЬТУРИ

При утриманні за умов оранжерейної культури переважна більшість видів *Coelogyne* виявляє самонесумісність, що значно обмежує можливість отримання життєздатного насіння, якщо види представлені поодинокими особинами.

У всіх дослідних видів квітка має типову для орхідних будову. За забарвленням квітки – білі, жовті, світло-зелені. Плід – коробочка, яка розкривається трьома щілинами.

Суцвіття у видів *Coelogyne* – бічна пряма або звисаюча китиця, яка за довжиною значно варіює – від 5-6 см (*C. fimbriata*, *C. ovalis*) до понад 30 см (*C. rochussenii* і *C. tomentosa*). У переважної більшості видів рослин суцвіття малоквіткове – від 1–2 (*C. fimbriata*, *C. ovalis*, *C. speciosa*) до 10 квіток (*C. flaccida*, *C. huettneriana*), а у *C. tomentosa* (до 20 квіток) та у *C. rochussenii* (до 35 квіток) – багатоквіткові суцвіття, які розкриваються одночасно або послідовно (рис. 1).

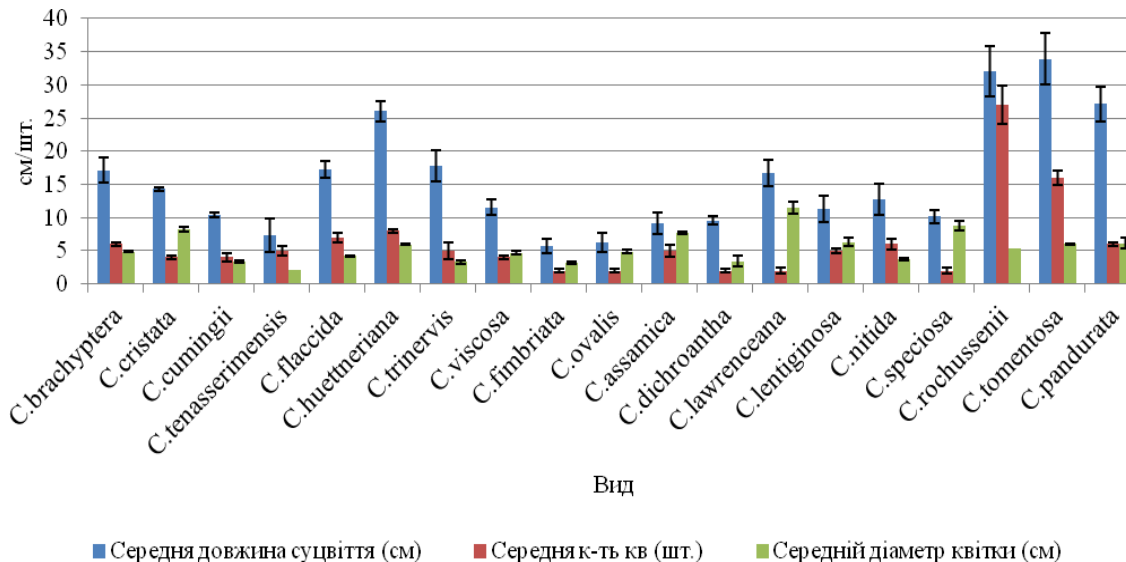


Рис. 1. Морфометричні показники генеративної частини пагона дослідних видів роду *Coelogyne*.

Рослини переважної більшості видів *Coelogyne* за умов культури цвітуть з вересня по червень, а деякі види – декілька разів протягом року. За умов оранжерей рослини різних видів *Coelogyne* переважно зберігають сезонність цвітіння, характерну для них *in situ*. Встановлено, що тривалість цвітіння, як правило, становить 2–3 тижні, у *C. speciosa* – до 6 тижнів.

Квітки розкриваються в акропетальному напрямку. У більшості випадків квітка, що розкрилася першою, цвіте триваліший час; тривалість цвітіння окремих квіток зменшується в акропетальному напрямку, що є проявом «архітектурного ефекту» (Diggle, 1985), виявленого як у представників родини *Orchidaceae*, так і в межах інших систематичних груп. Тривалість цвітіння квітки, що розкривається першою, варіює від 9 до 25 днів. У видів з багатоквітковим суцвіттям квітка, розташована при основі суцвіття, не обов'язково розкривається першою.

При різних комбінаціях штучного запилення (індукована автогамія, індукована ксеногамія) з 18 видів роду *Coelogyne* плоди з життєздатним насінням було отримано лише у видів *C. ovalis*, *C. speciosa*, *C. viscosa* (рис. 2).

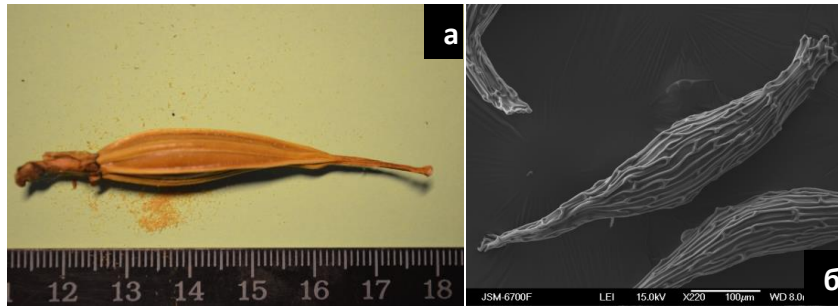


Рис. 2. *Coelogyne viscosa* Lindl.: а) плід; б) насінина.

Тривалість дозрівання плодів становить від 20 (*C. ovalis*) до 28 місяців (*C. viscosa*). Кількість насінин із зародками в плоді *C. ovalis* сягає майже 95%. При цьому зародок займає до 80% об'єму насінини, що характерно для епіфітів.

Загалом, інформація щодо тривалості дозрівання плодів *Coelogyne* в літературі практично відсутня. Як виняток трапляються дані щодо наявності плодів у природних популяціях *Coelogyne* (Liu et al, 2014), що, очевидно, саме й можна пояснити строгою самонесумісністю. Найтриваліший період дозрівання плодів було відмічено В.А. Антипиною (2009) у *Coelogyne trinervis* Lindl. – 29,5 місяців. У природі у *C. rigida* зав'язування плодів становить 26,33%±19,06 %; при штучному перехресному запиленні кількість плодів, які зав'язуються, сягає 74,73% (Liu et al, 2014).

Нами було досліджено мікроморфологію насінної оболонки у 5 видів роду: *C. cristata*, *C. ovalis*, *C. lawrenceana*, *C. speciosa*, *C. trinervis*. За класифікацією морфологічних типів насінин у орхідних (Dressler, 1993), їх було віднесено до *Dendrobium*-типу. Розміри насінин досліджених видів варіюють від 344,17±12,13 (*C. trinervis*) до 637,08±38,57 (*C. cristata*) мкм.

При розробці біотехнологічних методів насінного розмноження в культурі *in vitro* плоди *Coelogyne* (зокрема, *C. asperata*) придатні для використання вже через 4,5 місяців після запилення (Lestari, 2015). Використання прийнятого в біотехнології орхідних методологічного підходу "green pod culture" забезпечує високу проліферацію зародків. Разом з тим, при створенні кріобанків насіння важливого значення набуває отримання саме повністю сформованого насіння з низьким вмістом вологи (Іванніков, 2012).

РОЗДІЛ 4. ПОРІВНЯЛЬНА МОРФОЛОГІЯ ЕЛЕМЕНТАРНОГО ПАГОНА ТА ТИПІВ ПАГОНОВОЇ СИСТЕМИ ВИДІВ РОДУ *COELOGYNE* LINDL. ЗА УМОВ КУЛЬТУРИ

Дослідження структури рослини має фундаментальне значення в ботанічній науці, оскільки забезпечує неоціненні дані для теорії еволюції рослин, екофізіології та біотехнологічної практики.

Нами було досліджено будову пагонової системи рослин 8 видів *Coelogyne* для виявлення локалізації бруньок поновлення з перспективою їх використання як експлантів при опрацюванні біотехнологічних методів розмноження рослин цієї групи.

Встановлено, що у всіх дослідних видів пагін складається з плагіотропної (кореневищної) та ортотропної частин. Залежно від часу утворення суцвіття по відношенню до вегетативної частини, види *C. fimbriata* та *C. ovalis* мають гістерантне суцвіття; *C. huettneriana* та *C. speciosa* – синантне, *C. viscosa* – протерантне. У всіх цих видів першою розвивається брунька, розташована при основі псевдобульби, яка дає початок пагону наступного порядку.

У *C. flaccida*, *C. cristata* та *C. tomentosa*, у яких суцвіття гетерантне, також першою розвивається брунька при основі суцвіття, але вона утворює пагін, що складається з вегетативної та генеративної частин. Після закінчення цвітіння вегетативна частина цього пагона не розвивається і він відмирає. З бруньки, розташованої нижче, розвивається пагін наступного порядку, тобто у цих видів спостерігається диморфізм пагонів. Слід зазначити, що в межах секції *Flaccidae* наявні різні типи розвитку суцвіть: гетерантне (*C. flaccida*), синантне (*C. huettneriana*) та протерантне у (*C. viscosa*). У всіх дослідних видів пагони вегетативно-генеративні (рис. 3).

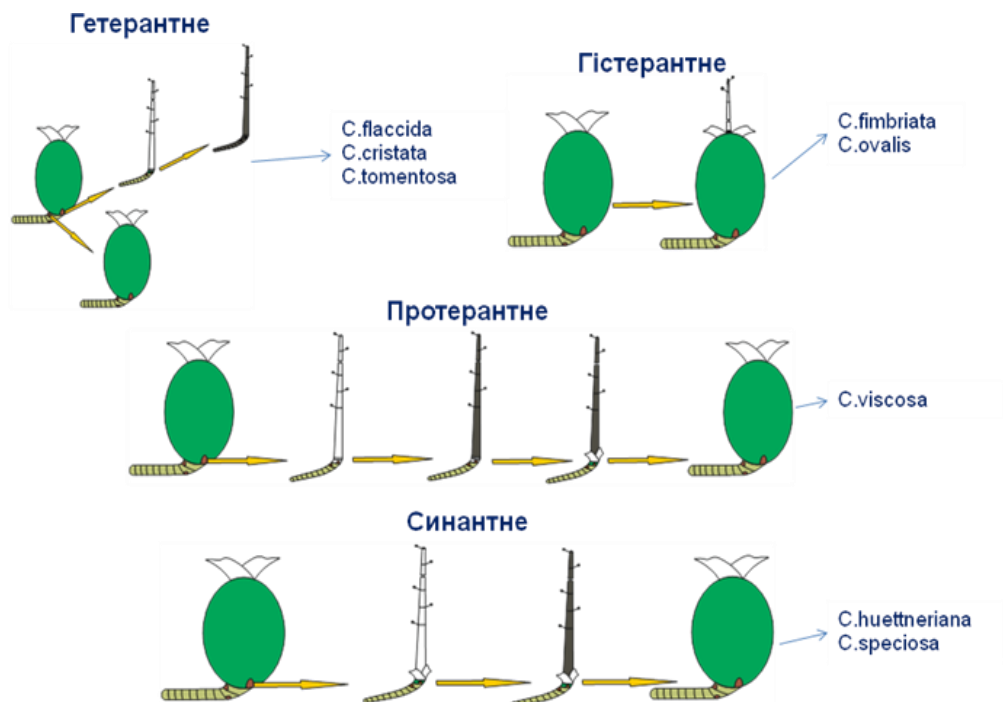


Рис. 3. Типи розвитку суцвіття у дослідних видів *Coelogyne* Lindl.

Іноді у дослідних видів було відмічено одночасний розвиток 2-ох пагонів, рідше – трьох (*C. flaccida*). Встановлено, що всі види мають ди-, монохазіальний тип галуження пагонової системи, з переважанням монохазіального (*C. huettneriana*) або, навпаки, дихазіального (*C. flaccida*) типу (рис. 4).

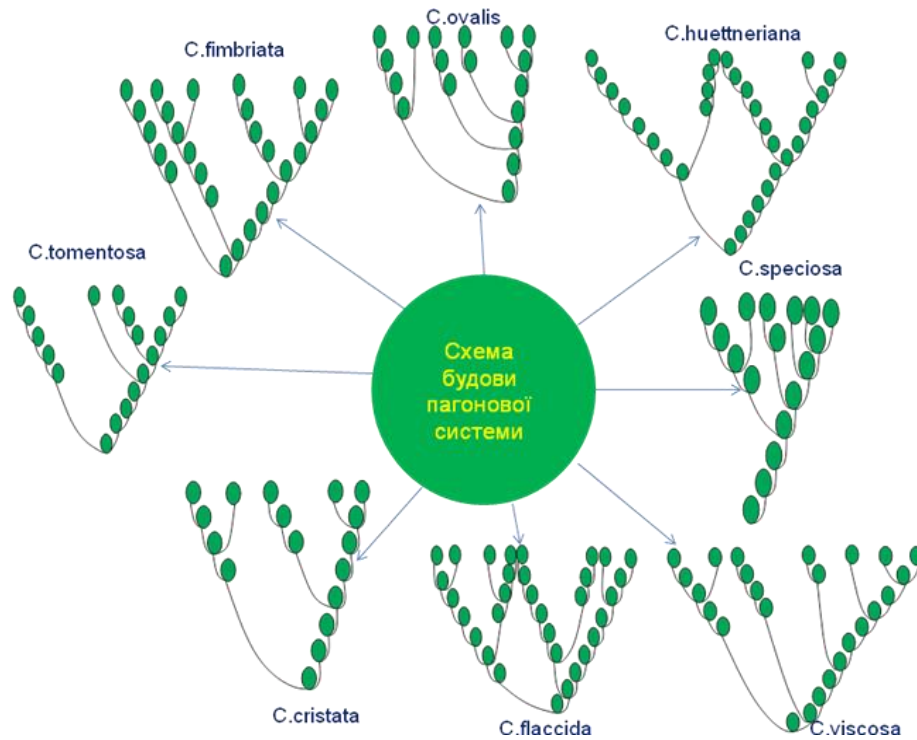


Рис. 4. Схема будови пагонової системи дослідних видів роду *Coelogyne*

РОЗДІЛ 5. АНАТОМІЧНА СТРУКТУРА ЛИСТКОВОЇ ПЛАСТИНКИ ВИДІВ РОДУ *COELOGYNE* LINDL.

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення анатомічної структури листкової пластинки. За класифікацією В.Р. Васильєва (1988), листки всі дослідних видів *Coelogyne* можна класифікувати як такі, що мають товсту листкову пластинку: від $303,59 \pm 15,52$ мкм (*C. pandurata*) до $402,19 \pm 15,03$ мкм (*C. viscosa*) і дуже товсту: $545,21 \pm 10,80$ мкм (*C. flaccida*) та $570,61 \pm 14,43$ мкм (*C. huettneriana*) (рис. 6).

Всі дослідні види мають одношарову епідерму як на абаксіальній, так і на адаксіальній поверхнях, причому у деяких видів висота адаксіальної епідерми перевищує абаксіальну. Найменші за розмірами клітини епідерми (як верхньої так і нижньої) має *C. viscosa*; найбільші клітини верхньої епідерми у листків має *C. lawrenceana*; найбільші клітини нижньої епідерми – *C. cristata*.

У чотирьох видів з дев'яти наявна одношарова гіподерма. У *C. flaccida* та *C. huettneriana* вона розташована як на абаксіальній, так і на адаксіальній поверхнях; у *C. cristata* та *C. viscosa* – тільки на адаксіальній поверхні. Клітини гіподерми у модельних видів переважно округлої форми (*C. cristata*, *C. flaccida* та *C. huettneriana*) або витягнуті (*C. viscosa*).

Більшість дослідних видів мають мезофіл гомогенного типу, що може свідчити про високий ступінь адаптації до умов затінення, за винятком трьох видів (*C. flaccida*, *C. huettneriana* та *C. viscosa* – секція *Flaccidae*), у яких мезофіл диференційований на палісадну та губчасту паренхіму (рис. 5), що, очевидно, можна пояснити переважно літофітним способом життя.

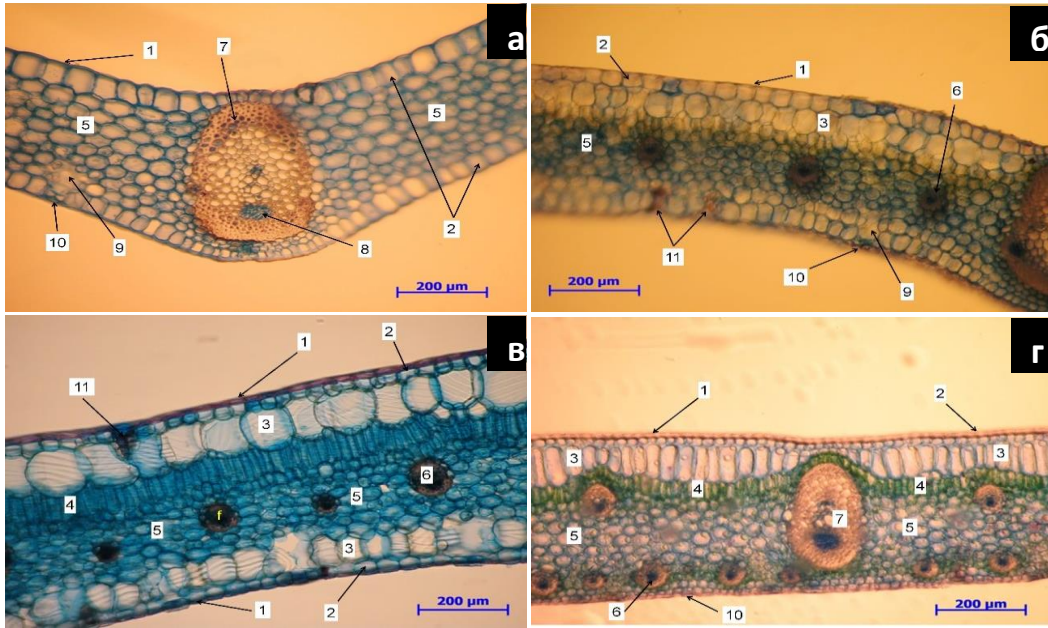


Рис. 5. Поперечні зрізи листка видів *Coelogyne*: а – *C. lawrenceana*; б – *C. cristata*; в – *C. huettneriana*; г – *C. viscosa* (1 – кутикула; 2 – епідерма; 3 – гіподерма; 4 – палисадна паренхіма; 5 – губчаста паренхіма; 6 – провідний пучок; 7 – центральний провідний пучок; 8 – флоема; 9 – повітряна камера; 10 – продихи; 11 – трихома)

Частка мезофілу від загальної товщини листової пластинки у дослідних видів становить від 23,21 до 76,61%. Встановлено, що мезоморфні ознаки найбільш виражені у *C. speciosa*, частка шару мезофілу від загальної товщини листової пластинки складає 76,61%, *C. tomentosa* – 75,28%) та *C. pandurata* – 74,30%. За цим показником, вид *C. flaccida* (23,21%) та *C. huettneriana* (28,36%), можна віднести до групи ксеромезофітів (рис. 6).

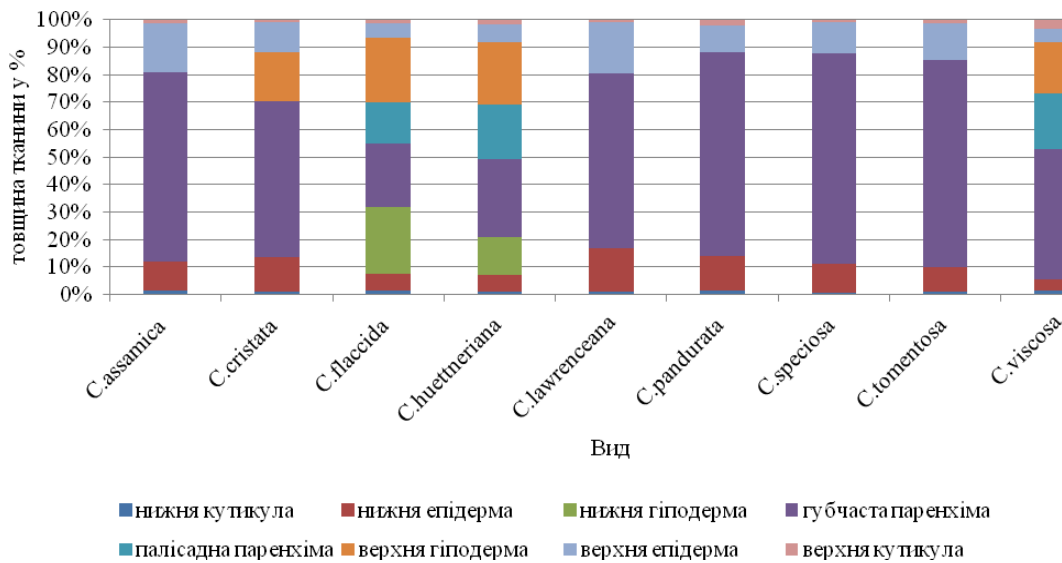


Рис. 6. Співвідношення основних типів тканин у структурі листка видів *Coelogyne*.

Переважає більшість дослідних видів містять клітинні включення – кристалічні або аморфні включення кремнію – та рафіди (рис. 7).

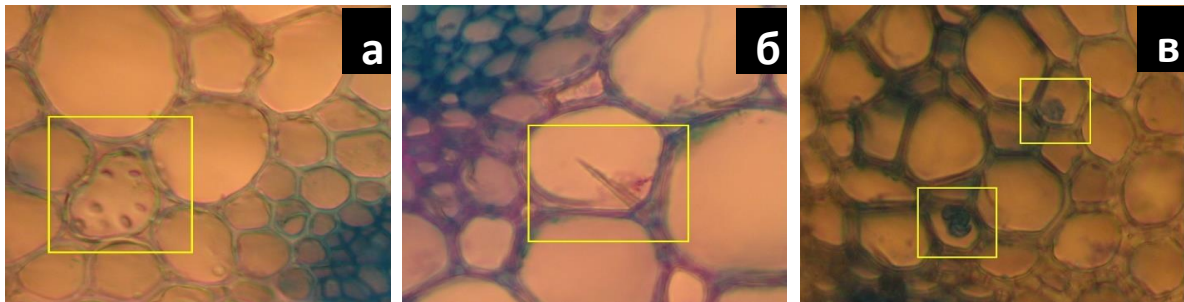


Рис. 7. Клітинні включення у листках *Coelogyne*: а) *C. cristata*; б) *C. tomentosa*; в) *C. lawrenceana*

Виявлені особливості анатомічної структури листка дають змогу диференціювати різні види *Coelogyne* в межах дослідної групи за екологічною спеціалізацією (епіфіти/літофіти, мезофіти/ксеромезофіти). Наявність гіподерми та добре розвиненого стовпчастого мезофілу у деяких видів *Coelogyne* (*C. flaccida*, *C. huettneriana* та *C. viscosa*), свідчить про те, що рослини цих видів за умов флуктуацій водного режиму реалізують стратегію «drought avoidance» (Zhang et al., 2019); натомість мезофіл гомогенного типу у інших досліджених представників роду (*C. assamica*, *C. cristata*, *C. lawrenceana*, *C. pandurata*, *C. speciosa* та *C. tomentosa*), свідчить про те, що ці рослини *in situ* зростають за умов недостатнього освітлення, що слід врахувати при культивуванні цих рослин в оранжереях.

РОЗДІЛ 6. МІКРОМОРФОЛОГІЧНА СТРУКТУРА ПОВЕРХНІ ЛИСТКА ВИДІВ РОДУ *COELOGYNE* LINDL.

Функції поверхні листка як межі розподілу між рослиною та середовищем забезпечуються різноманітністю макро-, мікро- та наноструктур цієї поверхні, їх генетично детермінованою ієрархічністю та здатністю до фенотипової мінливості, що сприяє проходженню основних біологічних процесів у рослині, та, у свою чергу, є відображенням впливу середовища існування рослини (Недуха, 2015).

Продихи регулюють дві ключові фізіологічні функції – фотосинтез і транспірацію, а, відтак, відіграють важливу роль при адаптації рослин до середовища, що змінюється (Lawson, 2009; Hetherington, Woodward, 2003).

З метою виявлення маркерів адаптаційної здатності рослин за умов оранжерейної культури було досліджено мікроморфологічну будову поверхні листка видів *Coelogyne*.

Порівняльне дослідження епідермальних клітин та продихового апарату листка видів роду *Coelogyne* показало, що за мікроморфологічними ознаками поверхні листка досліджені види складають досить однорідну групу. Найбільш характерними ознаками цих видів є листок гіпостоматичного типу та продиховий

апарат тетрацитного типу. В той же час у шести видів у поодиноких випадках були відмічені продихи циклоцитного типу (*C. assamica*, *C. brachyptera*, *C. cumingii*, *C. fimbriata*, *C. lawrenceana* та *C. ovalis*). Форма продихів округла або овальна (рис. 8).

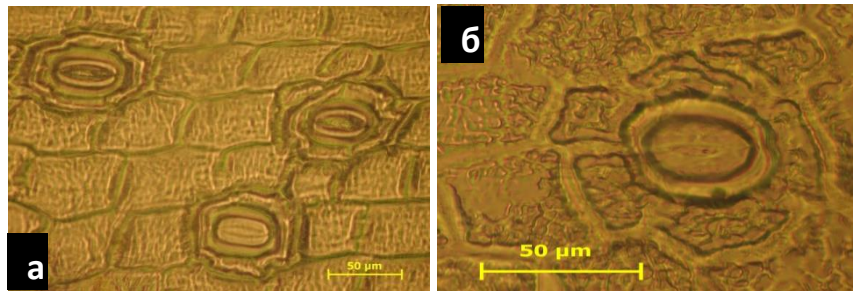


Рис. 8. Мікрофотографія поверхні листка та продихового апарату видів роду *Coelogyne*: а) *C. cristata* – тетрацитні продихи; б) *C. fimbriata* – циклоцитний продих.

Продихи розташовані хаотично або поздовжніми рядами; поодинокі або у невеликих групах – по 2, рідше – 3-4 і навіть по 5 продихів. Інколи ми відмічали утворення кластерів, до яких входять від 2 до 4 продихів (рис. 9).

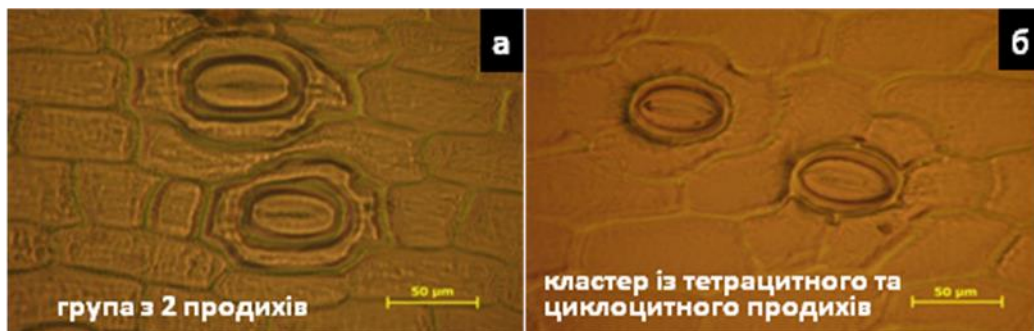


Рис. 9. Мікрофотографія поверхні листка та продихового апарату видів роду *Coelogyne*: а) *C. flaccida* – група з двох продихів; б) *C. lawrenceana* – кластер з тетрацитного та циклоцитного продихів

Продихові кластери можуть свідчити про зростання рослин у несприятливих умовах, а їх наявність є функціональним механізмом для підтримання водного балансу. У *C. speciosa* утворення кластерів відмічено не було.

Разом з тим, варіювання щільності продихів, їх розмірів, кількості основних епідермальних клітин на одиницю поверхні, ймовірно, є свідченням того, що умови зростання рослин дослідних видів *in situ*, є надзвичайно різноманітними і відрізняються низкою екологічних факторів.

Дослідження щільності продихів у досліджених видів показало, що цей показник варіює у досить широких межах: від 12 до 95 шт./1мм². Найбільша кількість продихів на 1 мм² була виявлена у *C. rochussenii* – 95,88±1,35, найменша – у *C. brachyptera* та *C. lawrenceana*, 12,78 ± 0,59 та 16,13 ± 0,46, відповідно (рис. 10).

Виявлено, що розміри продихів у досліджених видів *Coelogyne* варіюють у широких межах.

Так, найменші за розмірами продихи відмічені у *C. rochussenii* ($30,71 \pm 0,58$), а найбільші – у *C. flaccida* ($72,97 \pm 1,08$ мкм) та *C. huettneriana* ($70,22 \pm 0,79$ мкм).

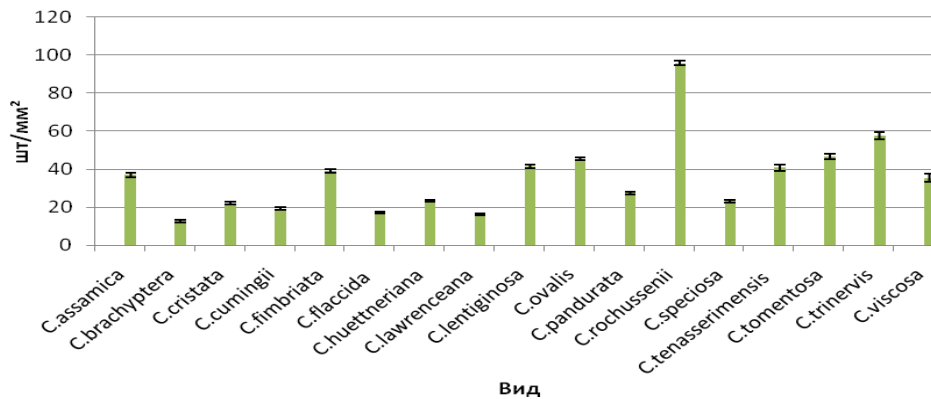


Рис. 10. Щільність продихів у дослідних видів *Coelogyne*.

При збереженні орхідних за умов *ex situ* застосування методу культури *in vitro* є практично єдиним способом розмноження та тривалого депонування. Разом з тим, переваги цього методу часто бувають обмежені низьким адаптаційним потенціалом рослин, розмножених в культурі *in vitro* (Pospíšilová, 1999; Hazarika, 2006). У зв'язку з цим одним із наших завдань було дослідження мікроморфологічних ознак поверхні епідермісу листків *Coelogyne lawrenceana* *in vitro* та *ex vitro* і визначення кількісних критеріїв будови поверхні листка, які можуть бути використані для оцінки адаптаційного потенціалу та прогнозування ефективності акліматизації розмножених у міксотрофних умовах рослин (*in vitro*) до умов *ex vitro*.

Встановлено, що ювенільні рослини відрізняються від дорослих рослин меншою кількістю основних епідермальних клітин на абаксіальній поверхні листків, а також меншим числом продихів – $28,7 \pm 1,3$ шт./ 1мм^2 (*in vitro*) порівняно з $33,3 \pm 1,4$ шт./ 1мм^2 (*ex vitro*) (рис. 11).

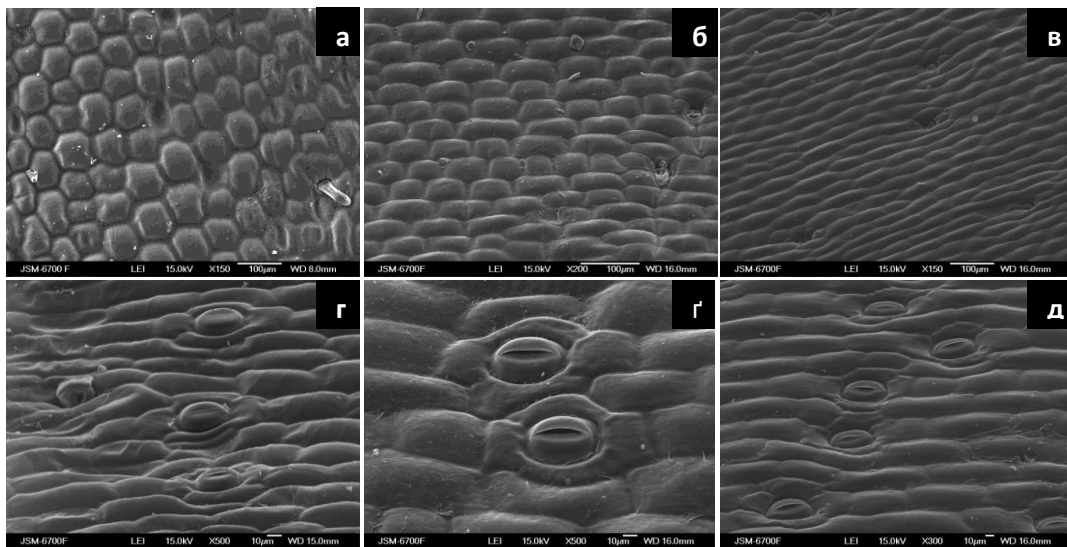


Рис. 11. Порівняльно-мікроморфологічна будова поверхні листка *Coelogyne lawrenceana*: а), б), в) – абаксіальна поверхня, де а) – *in vitro*, б) – через 1,5 року після перенесення *ex vitro*, в) – доросла рослина; г), г,) д) – абаксіальна поверхня, де г) – *in vitro*, г) – через 1,5 року після перенесення *ex vitro*, д) – генеративна рослина.

На розмножених *in vitro* рослинах було відмічено продири на адаксіальній поверхні листка (амфістоматичність) листків, що, на нашу думку можна розглядати як адаптацію, яка забезпечує збільшення провідності листка для CO₂ при низькій концентрації цього газу в середовищі (в культивацийних ємностях).

РОЗДІЛ 7. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ВЕГЕТАТИВНИХ ОРГАНІВ РОСЛИН ВИДІВ РОДУ *COELOGYNE* LINDL.

Наразі у світі існує яскраво виражений тренд до "переоцінки" значення колекцій, акумульованих у фондах ботанічних репозитаріїв, якими є колекції живих рослин, банки насіння та полініїв, вегетативних пропагул, що утримуються в стерильній культурі *in vitro* ботанічних садів світу, визначення пріоритетних видів для охорони та раціонального використання [Cavender et al., 2015].

Незважаючи на те, що антимікробна активність багатьох видів орхідних, включаючи види *Coelogyne*, активно досліджується упродовж останнього десятиліття стосовно широкого спектру мікроорганізмів (Chen et al., 2018; Kovács et al., 2008; Majumder et al., 2011), резистентність бактерій до антибіотиків залишається важливою проблемою в галузі охорони здоров'я, стимулюючи пошук нових альтернативних препаратів із меншими побічними ефектами (Mambe et al., 2019).

Це спонукало нас до здійснення скринінгу *in vitro* антимікробної активності екстрактів листків та туберидіїв деяких видів *Coelogyne* щодо патогенних мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) та грибка *Candida albicans*, який є збудником нозокоміальних інфекцій, що наразі становлять значну проблему (Tkachenko et al., 2015, 2017, 2019).

Встановлено, що етанольний екстракт із листків *Coelogyne* виявив високу антибактеріальну активність проти *P. aeruginosa*: (*C. assamica* – діаметр зони інгібування становить 10,0–15,0 мм, *C. brachyptera* – 16,5–18,3 мм); проти *S. aureus* (*C. brachyptera* – 20,0–26,5 мм, *C. cristata* – 28,0 мм, *C. speciosa* – 27,0–21,5 мм); проти *E. coli* (*C. brachyptera* – 18,2 мм). Етанольний екстракт із псевдобульб *C. cristata* і *C. flaccida* виявив активність проти штаму *S. aureus* з діаметром зони інгібування 20,0 мм та 18,0 мм, відповідно.

Дослідження антимікотичної активності етанольних екстрактів листків та псевдобульб *C. cristata*, *C. fimbriata*, *C. flaccida*, *C. huettniana*, *C. ovalis*, *C. speciosa*, *C. tomentosa* та *C. viscosa* проти *C. albicans* виявили яскраво виражену активність щодо цього патогена. Діаметр зони інгібування, спричиненого дією етанольних екстрактів листків, варіював від 16 до 20 мм, псевдобульб – від 17 до 21 мм.

Таким чином, види роду *Coelogyne* мають антимікробну та антимікотичну активність, а, відтак, ці рослини можна розглядати як потенційне джерело речовин, перспективних для застосування у медицині.

ВИСНОВКИ

У результаті дослідження різноманітних аспектів репродуктивної біології та структурної організації пагонів та пагонових систем, морфолого-анатомічних та мікроморфологічних особливостей листків видів роду *Coelogyne* за умов оранжерейної культури та культури *in vitro* було розроблено теоретичні та практичні засади для забезпечення тривалого збереження цих рослин за умов *ex situ*.

1. Порівняльно-морфологічний аналіз пагонових систем модельних видів *Coelogyne* (*C. cristata*, *C. fimbriata*, *C. flaccida*, *C. huettneriana*, *C. ovalis*, *C. speciosa*, *C. tomentosa*, *C. viscosa*) виявив, що всі види мають ди- або монохазіальний тип галуження пагонової системи і чотири типи розвитку суцвіття (синантний, гетерантний, протерантний та гістерантний). Для видів *C. flaccida*, *C. cristata* та *C. tomentosa* характерний диморфізм пагонів, який полягає в тому, що з верхньої бруньки розвивається пагін з гетерантним типом суцвіття, а з бруньки, розташованої нижче, – пагін поновлення, верхівкова меристема якого у флоральну фазу не переходить. У межах секції *Flaccidae* наявні різні типи розвитку суцвіть: гетерантне (*C. flaccida*), синантне (*C. huettneriana*) та протерантне (*C. viscosa*).

2. Застосування різних комбінацій штучного запилення (індукованої автогамії/штучної ксеногамії) у межах дослідної групи засвідчило, що характерною особливістю репродуктивної біології роду *Coelogyne* є облігатна самонесумісність, а, отже, основним чинником, який визначає ефективність репродукції цього роду за умов культури, є система схрещування. Плоди із життєздатним насінням при перехресному запиленні квіток було отримано лише у *C. speciosa*, *C. viscosa* та *C. ovalis*. Встановлено, що у життєвому циклі рослин *Coelogyne* обмежену здатність до статевої репродукції компенсує висока інтенсивність галуження та тривале існування безлистих пагонів (псевдобульб) (максимально – до 10-12 років у *C. huettneriana*).

3. Порівняльне дослідження епідермальних клітин та продихового апарату листка видів роду *Coelogyne* показало, що за мікроморфологічними ознаками поверхні листка досліджені види складають досить однорідну групу. Найбільш характерними ознаками цих видів є листок гіпостоматичного типу та продиховий апарат тетрацитного (рідше – циклоцитного типу).

4. Проведені дослідження анатомічної структури листка та аналіз мікроморфології його поверхні дають змогу диференціювати різні види *Coelogyne* в межах дослідної групи за екологічною спеціалізацією (епіфіти/літофіти, мезофіти/ксеромезофіти). Ці особливості анатомічної структури листка особливо виражені у видів, що тяжіють до літофітного способу життя або в одному локалітеті можуть зростати як епіфіти, так і літофіти (*C. viscosa*).

5. Результати анатомічних досліджень показали, що дослідні види *Coelogyne* переважно є мезофітами. Мезофіл гомогенного типу, низька щільність продихів, що мають великі розміри (*C. assamica*, *C. cristata*, *C. lawrenceana*, *C. pandurata*, *C. speciosa* та *C. tomentosa*), свідчить про те, що ці рослини зростають за умов недостатнього освітлення, хоча всі вони є епіфітами. Натомість наявність гіподерми, висока щільність продихів (до 95 шт./мм²), диференційований на стовпчасту і

губчасту паренхіму мезофіл, формування «продихових кластерів» у деяких видів *Coelogyne* (*C. flaccida*, *C. huettneriana* та *C. viscosa*), свідчить про наявність ксероморфних ознак, а також про те, що рослини цих видів за умов флуктуацій водного режиму реалізують стратегію «drought avoidance».

6. Аналіз результатів анатомо-стоматографічного дослідження листка різних видів *Coelogyne* виявив варіювання кількості основних епідермальних клітин та щільності продихів, їх розмірів, розвитку продихів на адаксіальній поверхні за умов культивування *in vitro* (амфістоматичність) як у різних видів, так і в межах одного виду, що свідчить про їх високий адаптаційний потенціал, а також про здатність до фенотипової мінливості, яка проявляється у зміні форми клітин, їх розташування відносно поверхні листка.

7. Анатомо-стоматографічний аналіз листків модельного виду *Coelogyne* у двох експериментальних моделях (*in vivo* та *in vitro*) з метою скринінгу структурних маркерів дасть змогу оптимізувати методи розмноження та постасептичної адаптації рослин, розмножених в умовах культури *in vitro*, що є слабкою ланкою біотехнологічних розробок, а відтак і вдосконалити існуючі методи депонування рідкісних та зникаючих видів тропікогенних флор у штучних умовах на різних етапах розвитку спорофіта та гаметофіта.

8. З'ясовано, що цвітіння квіток в межах суцвіття дослідних видів *Coelogyne* відбувається в акропетальному напрямку. Тривалість цвітіння квіток в межах багатоквіткового суцвіття варіює: найбільша тривалість цвітіння характерна для квіток, розташованих при основі суцвіття, є проявом "архітектурного ефекту" і повинно бути враховано при розробці методів штучного запилення.

9. Скринінг біологічної активності екстрактів листків та псевдобульб *C. assamica*, *C. cristata*, *C. fimbriata*, *C. flaccida*, *C. huettneriana*, *C. ovalis*, *C. speciosa* та *C. tomentosa* показав, що вони виявляють антимікробну активність проти *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* та *Candida albicans*, а, отже, ці рослини можуть бути використані як потенційне джерело природних антимікробних та антимікотичних засобів.

СПИСОК НАУКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України та у періодичних виданнях, що індексуються міжнародними наукометричними базами

1. Ковальська Л.А., **Гиренко О.Г.** Порівняльно-морфологічна характеристика будови квітки видів роду *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) з колекції національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. *Інтродукція рослин*. 2014. №1. С. 47–55. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, проведення досліджень, обробка даних, написання частини тексту).
2. **Гиренко О.Г.**, Ковальська Л.А., Ткаченко Г.М. Особливості будови елементарного пагона та пагонової системи чотирьох видів роду *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.). *Інтродукція рослин*. 2017. №2. С. 42–48. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, проведення досліджень, обробка даних, написання частини тексту).

3. Гиренко О.Г. Особливості будови елементарного пагона та пагонової системи деяких видів роду *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.). *Інтродукція рослин*. 2018. №4. С. 52–57.
4. Buyun L., Tkachenko H., Osadowski Z., Góralczyk A., Kovalska L., **Gyrenko O.** Antimicrobial screening of the various extracts derived from the leaves and pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. (*Orchidaceae*). *Ślupskie Prace Biologiczne*. 2016. №13. P. 37–54. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
5. Buyun L., Tkachenko H., Osadowski Z., Kovalska L., **Gyrenko O.** Antimicrobial activity screening of extracts from leaves and pseudobulbs of *Coelogyne cristata* Lindl. (*Orchidaceae*). *Agr. bio. div. Impr. Nut., Health Life Qual.* Nitra, 2016. P. 40–44. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
6. Buyun L., Tkachenko H., Osadowski Z., Kovalska L., **Gyrenko O.** The antimicrobial properties of the various extracts derived from the pseudobulbs of *Coelogyne speciosa* (Blume) Lindl. (*Orchidaceae*) against *Staphylococcus aureus*. *Agr. bio. div. Impr. Nut., Health Life Qual.* Nitra, 2017. №1. P. 43–49. DOI: <http://dx.doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2017.2585-8246.43-49>. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
7. Buyun L., Tkachenko H., Osadowski Z., Góralczyk A., Kovalska L., **Gyrenko O.** Evaluation of antifungal efficacy of ethanolic extracts obtained from vegetative organs of some epiphytic orchids from *Coelogyne* Lindl. Genus against *Candida albicans*. *Ślupskie Prace Biologiczne*. 2018. №15. P. 39–58. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
8. Buyun L., Tkachenko H., Kurhaluk N., **Gyrenko O.**, Kovalska L., Góralczyk A., Tomin V., Osadowski Z. Antibacterial activity of the ethanolic extracts derived from leaves and pseudobulbs of some orchids belonging to *Coelogyne* genus against *Enterobacter cloacae* strain. *Agr. bio. div. Impr. Nut., Health Life Qual.* Nitra, 2019. P. 348–360. DOI: <https://doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.348-360> (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).

Статті у інших наукових виданнях

9. Гиренко О.Г. Мікроморфологія поверхні листка видів роду *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) за умов оранжерейної культури. *Modern Phytomorphology*. Львів, 2013. Т. 3. С. 287–292.
10. Buyun L., Tkachenko H., Osadowski Z., Kovalska L., **Gyrenko O.** The antimicrobial activity of ethanolic extract obtained from leaves of *Coelogyne brachyptera* Rchb. f. (*Orchidaceae*). *Агробіологія. Збірник наукових праць*. Біла Церква, 2017. №1. С. 171–177. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
11. Buyun L., Kovalska L., **Gyrenko O.**, Tkachenko H., Kurhaluk N. The antimicrobial activity of ethanolic extracts derived from leaves and pseudobulbs of *Coelogyne flaccida* Lindl. (*Orchidaceae*) against different *Staphylococcus aureus* strains. *Науково-технічний бюлетень, ІТ НААН*. Харків, 2020. №124. С. 4–14. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
12. Buyun L., **Gyrenko O.**, Opryshko M., Kovalska L., Tkachenko H., Kurhaluk N. 2020. Antioxidant activity of vegetative organs of *Dendrobium parishii* Rchb.f. in the muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): *in vitro* model study. *Науково-технічний бюлетень ІТ НААН*, 123: 9-20. DOI 10.32900/2312-8402-2020-123-9-20. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).
13. Ковальська Л.А., **Гиренко О.Г.** Морфологічна будова квітки деяких видів роду *Coelogyne* Lindl. *Фундаментальні та прикладні аспекти сучасної орхідології. Збірник*

наукових праць. 2014. Т. 1. К.: Велес. С. 91–100. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, проведення досліджень, обробка даних, написання частини тексту).

14. Góralczyk A., Tkachenko H., Buyun L., Kovalska L., **Gyrenko O.**, Osadowski Z. 2019. Ocena antybakteryjnych właściwości etanolowych wyciągów wybranych gatunków roślin z rodzaju *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae*). *Nauka młodych: przeszłość, terażniejszość, przyszłość.* / Red. A. Bobryk, M. Jasińska, M. Jastrzębska, M. Karczewska-Czapska, J. Sosnowski, E. Toczyńska. Siedlce: Wyd. naukowe Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, 2019. P. 291–297. ISBN 978-83-7051-951-3. (Особистий внесок: проведення досліджень зі співавторами, обробка даних).

Матеріали наукових конференцій

15. Гиренко О.Г. Фенологія цвітіння *Coelogyne huettneriana* Rchb.f. в умовах оранжерейної культури. *Біологія: від молекули до біосфери.* Матеріали VI міжнародної конференції молодих науковців (Харків, 21–24 листопада 2011). Харків, 2011. С. 407–408.

16. Ковальська Л.А., **Гиренко А.Г.** Особенности цветения *Coelogyne tomentosa* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) в условиях оранжерейной культуры. *Охрана и культивирование орхидей.* Материалы IX Международной научной конференции (Санкт-Петербург, 26–30 сентября 2011). Санкт-Петербург, 2011. С. 224–227.

17. Буюн Л.І., Ковальська Л.А., **Гиренко О.Г.** Особенности строения поверхности листа *Coelogyne lawrenceana* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) *in vitro* и *in vivo*. *Растительный мир и его охрана.* Матеріали міжнародної наукової конференції присвяченої 80-річчю Інституту ботаніки та фітоінтродукції (Алмати, 5–7 вересня 2012). Алмати, 2012. С. 347–349.

18. Гиренко О.Г. Морфологія і фенологія цвітіння *Coelogyne speciosa* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) в умовах оранжерейної культури. *Сучасна фітоморфологія.* Матеріали I міжнародної конференції (Львів, 24–26 квітня 2012). Львів, 2012. С. 47–48.

19. **Гиренко О.Г.**, Ковальська Л.А. Морфологічна будова елементарного пагона *Coelogyne fimbriata* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.). Сучасні тенденції збереження, відновлення та збагачення фіторізноманіття ботанічних садів і дендропарків. Мат. міжнародної наукової конференції, присвяченої 70-річчю дендрологічного парку «Олександрія» як наукової установи НАН України (Біла Церква, 23–25 травня 2016). Біла Церква, 2016. С. 95–96

20. Ковальська Л.А., **Гиренко А.Г.** Строение репродуктивной сферы и фенология цветения *Coelogyne flaccida* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.). *Растения в муссонном климате.* Материалы конференции с международным участием (Владивосток, 16–20 октября 2013). Владивосток. Россия, 2013. С. 99.

21. Ковальська Л.А., **Гиренко А.Г.** Строение цветка *Coelogyne speciosa* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.). *Роль ботанических садов в сохранении разнообразия растений.* Материалы юбилейной международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Батумского ботанического сада (Батуми, 8–10 мая 2013). Батуми. Грузия, 2013. С. 148–149.

22. Ковальська Л.А., **Гиренко О.Г.** Строение репродуктивной сферы и фенология цветения видов *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.). Материалы X международной научно-практической конференции (Минск, 1–5 июня 2015). Минск. Белорусь, 2015. С. 89–91.

АНОТАЦІЯ

Гуренко О.Г. Морфологічна будова та особливості розвитку представників роду *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) в умовах оранжерейної культури. – Рукопис. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.05 – ботаніка. – Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка НАН України, Київ, 2021.

У дисертаційній роботі викладено результати дослідження особливостей морфологічної будови і структурної організації пагонів і пагонових систем, систем репродукції, анатомічної структури листків, мікроморфології листової поверхні та біологічної активності вегетативних органів видів роду *Coelogyne* за умов захищеного ґрунту.

З'ясовано, що всі види мають ди- або монохазіальний тип галуження пагонової системи і чотири типи розвитку суцвіття (синантний, гетерантний, протерантний та гістерантний), які було виділено залежно від часу утворення суцвіття по відношенню до вегетативної частини. Для рослин видів *C. flaccida*, *C. cristata* та *C. tomentosa* характерний диморфізм пагонів.

Досліджено особливості репродуктивної біології досліджених видів *Coelogyne* та визначено чинники, що обумовлюють ефективність систем їх репродукції як *in situ*, так і за умов оранжерейної культури.

Анатомічні дослідження листової пластинки показали, що дослідні види *Coelogyne* переважно є мезофітами, рідше – ксеромезофітами. Варіювання кількості основних епідермальних клітин та щільності продихів як у різних видів роду *Coelogyne*, так і в межах одного виду, свідчить про їх високий адаптаційний потенціал, а також здатність до фенотипової мінливості, що проявляється у зміні форми клітин, їх розташуванні відносно поверхні листка, утворенні "продихових кластерів" тощо. Представлено результати порівняльного анатомо-стоматографічного аналізу поверхні листків восьми видів *Coelogyne*, у т.ч. з'ясовано особливості адаптаційного синдрому при зміні умов *in vitro* → *ex vitro* (на прикладі *C. lawrenceana*).

Обґрунтовано можливість використання рослин роду *Coelogyne* як потенційного джерела антимікробних та антимікотичних засобів.

Ключові слова: *Coelogyne*, пагонова система, самонесумісність, суцвіття, мікроморфологія листка, гіподерма, мезофіл, продиховий апарат, антимікробна активність.

АННОТАЦИЯ

Гуренко А.Г. Морфологическое строение и особенности развития представителей рода *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) в условиях оранжерейной культуры. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.05 – ботаника. – Национальный ботанический сад имени Н.Н. Гришко НАН Украины, Киев, 2021.

В диссертационной работе представлены результаты исследования особенностей структурной организации побегов и побеговых систем, репродуктивных стратегий, анатомической структуры листьев, микроморфологии листовой пластинки видов рода *Coelogyne* в условиях защищенного грунта. Осуществлена оценка перспективности использования представителей рода *Coelogyne* в качестве потенциального источника веществ с широким спектром биологической активности.

Выявлено, что характерной особенностью репродуктивной биологии видов рода *Coelogyne* является облигатная самонесовместимость, т.е. основным фактором, определяющим эффективность репродукции видов этого рода в условиях культуры, является система скрещивания. Плоды с жизнеспособными семенами при перекрестном опылении цветков были получены лишь у *C. speciosa*, *C. viscosa* и *C. ovalis*. Высказано предположение, что в жизненном цикле *Coelogyne* ограниченную способность к семенному размножению компенсирует высокая интенсивность ветвления побеговой системы и продолжительное существование безлистных побегов (псевдобульб) (у *C. huettneriana* – до 10-12 лет).

В зависимости от времени образования соцветия по отношению к вегетативной части побега, виды *C. fimbriata* и *C. ovalis* имеют гистерантное соцветие; *C. huettneriana* и *C. speciosa* – синантное; *C. viscosa* – протерантное. У всех этих видов первой развивается почка, расположенная у основания псевдобульбы, дающая начало побегу следующего порядка ветвления.

Анатомические исследования структуры листовой пластинки показали, что виды рода *Coelogyne* преимущественно являются мезофитами, реже – ксеромезофитами. Наличие гиподермы у видов *C. cristata*, *C. flaccida*, *C. huettneriana* и *C. viscosa* свидетельствует о том, что растения этих видов произрастают в условиях водного дефицита. По микроморфологическим признакам поверхности листа исследованные виды составляют довольно однородную группу. Наиболее характерными признаками этих видов являются: лист гипостоматического типа, устьичный аппарат тетрацитного, реже – циклоцитного – типа. Варьирование количества основных эпидермальных клеток и плотности устьиц как у разных видов рода *Coelogyne*, так и в пределах одного вида, свидетельствует о высоком адаптационном потенциале и способности к фенотипической изменчивости, что проявляется в изменении формы клеток, их расположения относительно поверхности листа, формировании "устьичных кластеров". Представлены результаты сравнительного анатомо-стоматографического анализа поверхности листьев *C. lawrenceana* при изменении условий *in vitro*→*ex vitro* (на примере *C. lawrenceana*). Отмечено формирование устьиц на верхней поверхности листа (амфистоматичность) у растений *C. lawrenceana*, культивируемых *in vitro*.

Показано, что экстракты листьев и псевдобульб *Coelogyne* Lindl. имеют ярко выраженную антимикробную активность, а поэтому эти растения имеют практическое значение и могут быть использованы в медицине в качестве природных антимикробных и антимикотических средств.

Ключевые слова: *Coelogyne*, побеговая система, самонесовместимость, соцветия, микроморфология листа, гиподерма, мезофилл, устьичный аппарат, антимикробная активность.

SUMMARY

Gyrenko O.G. Morphological structure and developmental biology of the genus *Coelogyne* Lindl. (*Orchidaceae* Juss.) plants under glasshouse conditions. - Manuscript.

The thesis for the degree of candidate of biology sciences, specialty 03.00.05 – botany. – The M.M. Grishko National Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the research of morphological structure and structural patterns both the elementary shoot and the shoot systems; anatomical structure of the leaves, leaf micromorphology and the assessment of biological activity of various *Coelogyne* species plants, cultivated under glasshouse conditions.

It was found that a characteristic feature of reproductive biology of the genus *Coelogyne* is obligate self-incompatibility, so the main factor determining the effectiveness of reproduction of this genus is the breeding system. Within the group of *Coelogyne* species subjected to various experimental pollination treatments (induced autogamy/ induced xenogamy), the fruits with viable seeds have been obtained only in *C. speciosa*, *C. viscosa*, and *C. ovalis*. It has been suggested that in the life history of *Coelogyne* species, the limited capacity for seed reproduction is compensated by the high intensity of vegetative propagation, based on branching of the shoot system, and extended longevity of leafless shoots (i.e. pseudobulbs) (in *C. huettneriana* up to 10-12 years).

Depending on the time of inflorescence formation in relation to the vegetative shoot part, *C. fimbriata* and *C. ovalis* species have a hysteranthous inflorescence; *C. huettneriana* and *C. speciosa* – synanthous, and *C. viscosa* proteranthous.

The species of *C. flaccida*, *C. cristata* and *C. tomentosa* are characterized by a shoots dimorphism, therefore a shoot with a heteranthous inflorescence type is developed from the upper bud located on the pseudobulbs, while a renewal bud, located below, is proliferated into a renovation shoot.

Anatomical studies of the leaf blade have shown that the *Coelogyne* species studied are predominantly mesophytes. However, the presence of hypodermis in the leaf of *C. cristata*, *C. flaccida*, *C. huettneriana* and *C. viscosa* species, stomatal clusters formation indicate that the plants of these species in the wild are subjected to the drought and could be considered as xeromesophytes. Taking into account the leaf surface micromorphology, the studied *Coelogyne* species form a fairly homogenous group. The most characteristic features of these species are the leaf of the hypostomatic type and the stomatal apparatus of the tetracytic (or cyclocytic) type. Variations in the number of pavement epidermal cells and stomatal density both in various *Coelogyne* species and within the same species indicate a high adaptive potential to various environmental conditions and the ability to phenotypic variability, which is exhibited in the shape of cells and their location relative to the leaf surface.

It was shown that the extracts of leaves and pseudobulbs of *Coelogyne* plants have a pronounced antimicrobial activity, consequently these plants are of practical importance and can be used in medicine as natural antimicrobial agents.

Key words: *Coelogyne*, shoot system, self-incompatibility, inflorescence, hypodermis, mesophyll, leaf micromorphology, stomatal apparatus, antimicrobial activity.