
ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

Клональное микроразмножение *Coelogyne mooreana* Sander ex Rolfe

**Мусаб Хуссиен^{1✉}, Ольга Ивановна Молканова¹,
Владимир Анатольевич Коваль¹, Елена Евгеньевна Орлова²**

¹Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия

²Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

✉ **Автор, ответственный за переписку:** muthab.hussien95@gmail.com

Аннотация

Целоги́на Мура (*Coelogyne mooreana* Sander ex Rolfe) – представитель семейства *Orchidaceae*, редкий и эндемичный вид флоры Вьетнама, характеризуется высокой декоративностью и называется «королевой» рода *Coelogyne* благодаря крупным, белым и ароматным цветкам, украшенным желтой полоской посередине губы. Цель исследований – разработка протокола клонального микроразмножения *C. mooreana* путем модификации питательной среды с использованием органических добавок и регуляторов роста. Для исследований использовали незрелые семена, собранные из нераскрывшихся плодов, через 6 месяцев после искусственного (ксеногамного) опыления. Исследования состояли из нескольких этапов: асимбиотический посев семян, рост и развитие протокормов, формирование проростков и их укоренение. На этапе асимбиотического посева семян максимальная всхожесть, составлявшая 93%, зафиксирована на питательной среде Гамборга (B5) с добавлением 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП). Наиболее интенсивное образование адвентивных побегов наблюдали на питательной среде Мурасиге-Скуга ½ MS), содержащей органические добавки без регуляторов роста (5,64 и 4,56 шт. соответственно). Оптимальный процесс развития протокормов и образования проростков отмечен на питательной среде ½ MS с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и 100 мл/л кокосовой воды. На этапе укоренения наиболее эффективной оказалась питательная среда ½ MS с добавлением 0,5 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и 100 мл/л кокосовой воды, что способствовало формированию развитой корневой системы: процент укоренения – 96,7%; число корней – $5,05 \pm 0,36$ шт./эксплант; длина корней – $2,43 \pm 0,05$ см; длина растений – $5,95 \pm 0,24$ см. Проростки, высаженные в субстрат, состоящий из коры, торфа и перлита в соотношении 1:1:1, характеризовались высокой жизнеспособностью при адаптации к условиям *ex vitro*. Впервые для *C. mooreana* разработан протокол клонального микроразмножения на всех этапах. Полученные результаты могут быть рекомендованы для сохранения и массового размножения этого редкого и ценного вида.

Ключевые слова

Orchidaceae, *in vitro*, *ex vitro*, асимбиотический посев семян, органические добавки, протокормы, регуляторы роста

Благодарности

Работа выполнена в рамках Государственного задания ГБС РАН № 122042700002–6.

Для цитирования

Хуссиен М., Молканова О.И., Коваль В.А., Орлова Е.Е. Клональное микроразмножение *Coelogyne mooreana* Sander ex Rolfe // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2025. № 4. С. 77–89.

Clonal micropropagation of *Coelogyne mooreana* Sander ex Rolfe

Muthab Hussien¹✉, Olga I. Molkanova¹, Vladimir A. Koval¹, Elena E. Orlova²

¹Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

²Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

✉Corresponding author: muthab.hussien95@gmail.com

Abstract

Coelogyne mooreana Sander ex Rolfe, a valuable, rare, and endemic orchid species of the Vietnamese flora, is characterized by high ornamental qualities. This orchid is highly ornamental and often referred to as the “queen” of the genus *Coelogyne* due to its large, white, fragrant flowers adorned with black spots and a central yellow stripe. Therefore, this study aimed to develop a protocol for clonal micropropagation by modifying the nutrient medium with organic additives and plant growth regulators. Immature seeds collected from unopened fruits six months after artificial pollination were used as starting material. This work involved several stages: asymbiotic seed germination, protocorm development, seedling formation, and rooting. The highest seed germination rate (93%) was achieved on Gamborg (B5) nutrient medium supplemented with 0.5 mg/L 6-BAP. Maximum adventitious shoot formation was observed on Murashige and Skoog (½ MS) nutrient medium with organic additives but without plant growth regulators (5.64 and 4.56 shoots, respectively). Favorable results for protocorm development and seedling formation were obtained on ½ MS medium supplemented with 0.5 mg/L 6-BAP and coconut water (100 mL/L). At the rooting stage, the most effective medium was ½ MS supplemented with 0.5 mg/L IBA and 100 mL/L coconut water, which promoted the development of a strong root system, with a rooting percentage of 96.7%, 5.05 ± 0.36 roots per explant, a root length of 2.43 ± 0.05 cm, and a plant length of 5.95 ± 0.24 cm. Seedlings planted in a 1:1:1 ratio of bark, perlite, and peat exhibited high viability when adapted to *ex vitro* conditions. For the first time, a complete protocol for clonal micropropagation of *C. mooreana* encompassing all stages was developed. These results provide recommendations for the conservation and mass propagation of this rare and valuable orchid species.

Keywords

Orchidaceae, *in vitro*, *ex vitro*, asymbiotic seed germination, organic additives, protocorm, plant growth regulators

Acknowledgements

This research was conducted under the state assignment of the Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (No. 122042700002–6).

For citation

Hussien M., Molkanova O.I., Koval V.A., Orlova E.E. Clonal micropropagation of *Coelogyne mooreana* Sander ex Rolfe. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2025. No. 4. P. 77–89.

Введение Introduction

Орхидные (*Orchidaceae*) – одно из крупнейших семейств цветковых растений, насчитывающее более 28 400 видов и более 100 000 сортов и гибридов [1]. Они имеют значительную ценность для декоративных, медицинских и пищевых целей. Около 70%

орхидей мира являются эпифитными, 25% – наземными; 5% орхидей мира имеют смешанные экологические предпочтения [2, 3]. Численность многих видов сокращается по причине утраты среды обитания в результате изменения климата, практики землепользования и осаждения азота в атмосфере [4]. Многие виды занесены в Красные книги и охраняются законодательством [5, 6].

Род *Coelogyne* относится к подсемейству *Epidendroideae*, Clayton (2002). Согласно [7], род *Coelogyne* подразделен на 20 секций, выделено около 200 видов; Марк Чейз (2021) [8] включил в *Coelogyne* 14 родов, которые до недавнего времени считались отдельными, тем самым расширив род до 550 видов. Представители рода характеризуются как симподиально нарастающие, листовые, преимущественно эпифитные и иногда литофитные травянистые растения с псевдобульбами. Их природный ареал охватывает территорию от Гималаев до Японии и Юго-Восточной Азии до Новой Каледонии и Квинсленда. *Coelogyne mooreana* – ценный редкий и эндемичный вид флоры Вьетнама. Он встречается в горных лесах на высоте 1300–2000 м н.у.м., преимущественно в Центральном регионе, а также в провинциях Куангчи, Нячанг, Лам Донг. Этот вид считается одним из самых красивых представителей рода *Coelogyne* и характеризуется крупными ароматными белоснежными цветками длиной до 10 см. Губа – трехлопастная белая с оранжевым пятном в центре (рис. 1а) [9].

Семена *C. mooreana* характеризуются отсутствием эндосперма, недифференцированным зародышем, а также наличием внутрисменного воздушного пространства. Предполагается, что это способствует распространению семян на значительные расстояния. В естественных условиях орхидеи трудно размножить семенами ввиду их небольших размеров и требований к питанию для прорастания и дальнейшего развития. Успех прорастания семян орхидей обусловлен множеством факторов, ключевым из которых является степень зрелости зародыша [10]. Важную роль играют особенности сочетания фаз органического и вынужденного покоя, а также способность проростков переходить от естественного симбиотического эндогетеротрофного питания к искусственному экзогетеротрофному, обеспечиваемому компонентами питательной среды [11]. Строение семенной оболочки также существенно влияет на этот процесс: ее плотность, скульптурность, наличие дубильных веществ, абсцизовой кислоты или других ингибиторов прорастания [12]. В природных условиях семена орхидей сначала набухают и начинают развитие под воздействием благоприятных климатических условий – таких, как вода и подходящая температура, без участия микоризного гриба. На более поздних стадиях формирования протокорма микоризные грибы проникают не в зародыш покоящегося семени, а в его базальные клетки [13]. Наибольшей актуальной проблемой при прорастании семян является отсутствие микоризного симбиоза, поскольку он обеспечивает большую часть питательных веществ, минералов, витаминов и воды, необходимых для прорастания семян и развития проростков.

Эффективным способом размножения орхидей является асимбиотический посев семян в асептических условиях с последующим клональным микроразмножением проростков. Этот метод обеспечивает высокую продуктивность и перспективен для получения посадочного материала в промышленных масштабах [14]. Использование органических добавок *in vitro* позволяет компенсировать отсутствие естественного симбиоза с грибами, предоставляя растениям макро- и микроэлементы, витамины и углеводы, необходимые для роста и развития [15, 16]. Результаты многочисленных исследований продемонстрировали положительное влияние органических добавок (таких, как кокосовая вода, картофельное пюре и томатный сок) на рост и развитие различных видов орхидных [17–19].

Цель исследований: разработка протокола клонального микроразмножения *C. mooreana in vitro* с использованием органических добавок и регуляторов роста.

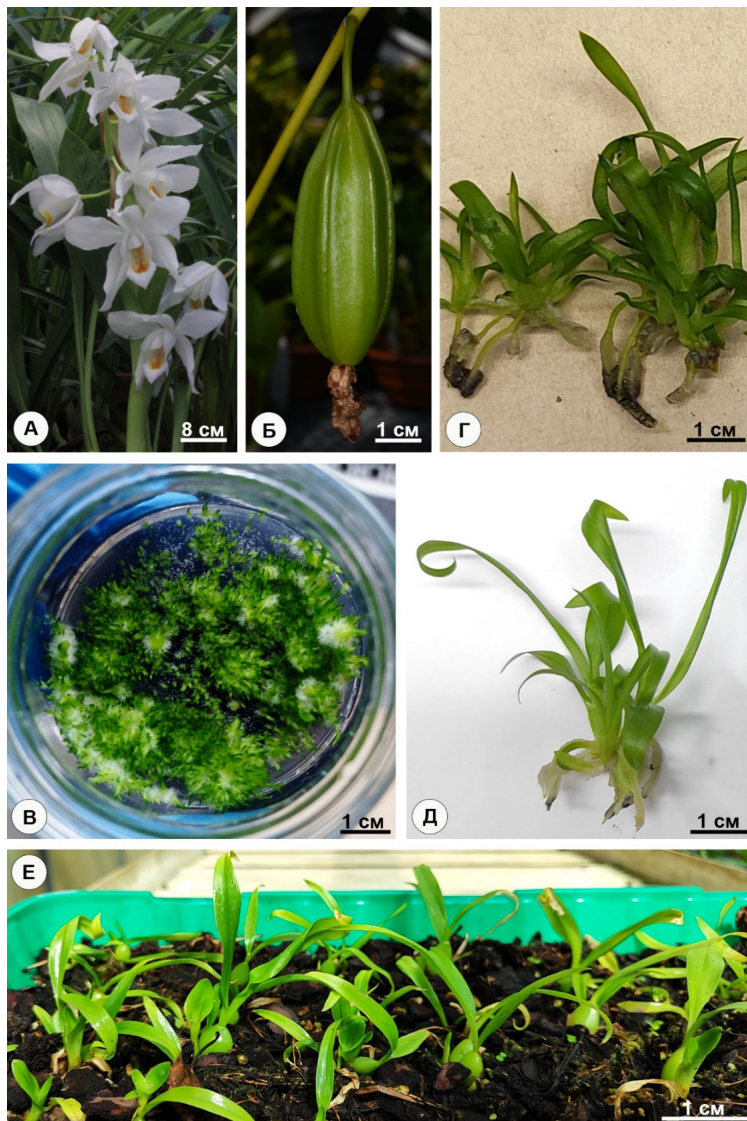


Рис. 1. Технологическая цепочка клонального микроразмножения *C. mooreana*:
а – интактное растение; б – плод; в-асимбиотический посев семян;
г – образование адвентивных побегов; д – укоренение проростков;
е – адаптированные проростки. Масштабные линейки: а – 8 см; б-д – 1 см

Figure 1. Technological chain of clonal micropropagation of *C. mooreana*:
а – intact plant; б – fruit; в – asymbiotic seed germination; д – formation of adventitious shoots;
е – rooting of seedlings; ф – adapted seedlings; scale bars: а – 8 cm; б-ф – 1 cm

Методика исследований

Research method

Материалом для исследования служили незрелые семена *C. mooreana*, вычлененные из нераскрывшихся плодов (рис. 1б), собранные через 6 месяцев после искусственного (ксеногамного) опыления в фондовой оранжерее ГБС РАН (Вьетнам, номер по каталогу 2002.00729). Исследования проводили как по общепринятым, так

и по разработанным методикам [20, 21] в Лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН в 2022–2024 гг.

В ходе работы был проведен асимбиотический посев семян *in vitro*, изучены рост и развитие протокормов при использовании органических добавок и цитокининов, а также адаптация молодых растений к нестерильным условиям.

На этапе стерилизации плоды обрабатывали хозяйственным препаратом с высоким содержанием гипохлорида натрия в течение 15–20 мин, погружали в 70%-ный раствор этанола на 5 с, обжигали на спиртовой горелке.

Асимбиотический посев семян *in vitro* осуществляли равномерным распределением густой семенной массы на поверхность питательной среды с помощью скальпеля. В качестве питательной среды применяли базальную среду Гамборга (B5) с добавлением цитокининов. Опыт включал в себя следующие варианты:

1. B5 без регуляторов роста (контроль).
2. B5 + 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП).
3. B5 + 0,5 мг/л N6-(Дельта-2-Изопентенил)-Аденин (2-iP).

Через 30 дней наблюдали образование протокормов и учитывали их всхожесть.

Далее протокормы с зачатками листьев были перенесены на питательную среду Мурашиге-Скуга ($\frac{1}{2}$ MS) с использованием органических добавок (свекольное пюре – 30 г/л, кокосовая вода – 100 мл/л) и цитокининов (6-бензиламинопурина (6-БАП), кинетин (Kin), мета-тополин (mT)) в концентрации 0,5 мг/л. В качестве контроля применяли питательную среду без добавления гормонов. По истечении 70–90 суток провели морфометрические измерения: количество адвентивных побегов, листьев и длина проростков.

Укоренение проростков осуществляли на среде $\frac{1}{2}$ MS с добавлением кокосовой воды (100 мл/л) и ауксинов – индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и индол-3-уксусной кислоты (ИУК). Растительный материал культивировали на фитотроне при интенсивности освещения 1500–2000 лк, температуре воздуха +23...+27°C, влажности воздуха 80–85% и фотопериоде 16/8 ч. В каждый культуральный сосуд высаживали по 10 растений в 3 повторностях. Учитывали высоту растений, число и длину корней, процент укоренения.

На этапе адаптации микроклонов к условиям *ex vitro* использовали субстрат, состоящий из верхового торфа, перлита и сосновой коры в соотношении 1:1:1. Приживаемость растений оценивали через 70 дней.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения CoStat 6.45 и Microsoft Office Excel 2019. Различия между значениями оценивали с помощью теста Дункана ($p \leq 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

Асимбиотический посев семян растений и последующее клональное микроразмножение являются ключевой стратегией сохранения и размножения орхидей в коммерческом производстве. В исследованиях была модифицирована питательная среда для массового размножения *C. mooreana*: от индукции протокормов из зародышей семян до получения адаптированных растений. На этапе асимбиотического посева семян *C. mooreana in vitro* было установлено, что всхожесть семян была высокой на питательных средах с добавлением 6-БАП и 2-iP в концентрации 0,5 мг/л (93,0 и 84,0% соответственно) по сравнению с контролем (рис. 1б, 2).

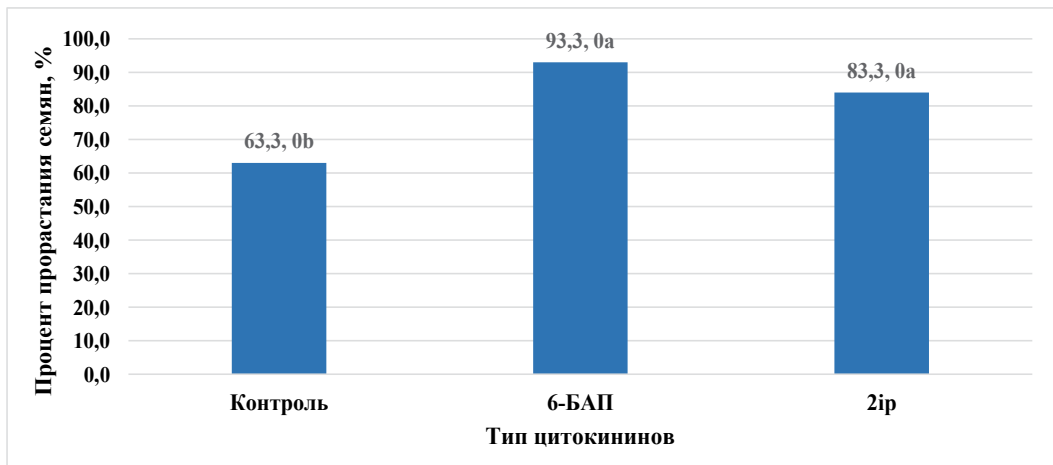


Рис. 2. Влияние цитокининов на прорастание семян *C. mooreana* после 30 дней культивирования *in vitro*

Figure 2. Effect of cytokinins on seed germination of *C. mooreana* after 30 days of *in vitro* cultivation

Во многих исследованиях доказано, что использование кокосовой воды способствует увеличению числа побегов при размножении представителей эпифитных видов орхидей. Это объясняется тем, что кокосовая вода является природным источником аминокислот, витаминов и фитогормонов, наиболее важный из которых – индол-3-уксусная кислота ИУК [22, 23]. Именно ее присутствие в среде приводит к значительному увеличению числа побегов.

При рекультивировании протокормов было отмечено различное влияние органических добавок и регуляторов роста на их морфометрические показатели (табл. 1).

На питательных средах, содержащих кокосовую воду и свекольное пюре без добавления гормонов, наблюдали значительное образование адвентивных побегов ($5,64 \pm 0,36$ и $4,56 \pm 0,05$ шт. соответственно) по сравнению с добавлением использованных цитокининов (рис. 1в). Однако статистический анализ показал, что число адвентивных побегов, полученное на питательной среде с добавлением свекольного пюре, не имело существенного отличия от показателя, полученного при использовании кокосовой воды в качестве органической добавки. Таким образом, свекольное пюре может быть использовано как экономически выгодная альтернатива для размножения орхидей.

Использование регуляторов роста не способствовало увеличению числа адвентивных побегов, однако оказывало положительное влияние на увеличение числа листьев и длины регенерантов в варианте с добавлением 6-БАП. Наибольшие количество листьев ($3,5 \pm 0,15$ шт/эксплант) и длина проростков ($2,75 \pm 0,05$ см) были зафиксированы на питательной среде $\frac{1}{2}$ MS, содержащей 0,5 мг/л 6-БАП и 100 мл/л кокосовой воды (табл. 1), что, однако, не является существенным. Многие исследования подтверждали влияние кокосовой воды на число листьев различных видов орхидей – таких, как *Phalaenopsis amabilis* [24]. Это связано со способностью 6-БАП стимулировать митоз, особенно при низких концентрациях, в сочетании с кокосовой водой. Таким образом, питательная среда $\frac{1}{2}$ MS с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и 100 мл/л кокосовой воды является оптимальной для развития проростков и получения качественных растений-регенерантов на этапе укоренения.

**Влияние органических добавок и цитокининов
на морфометрические показатели проростков *C. mooreana*
после 70 дней культивирования *in vitro***

Table 1

**Effect of organic additives and cytokinins on morphometric parameters
of *C. mooreana* seedlings after 70 days of *in vitro* cultivation**

Органические добавки	Тип цитокинина	Число адвентивных побегов, шт/эксплант	Число листьев, шт/эксплант	Длина проростков, см
Свекольное пюре	Б/г	4,56±0,05 ab	2,19±0,09 c	1,48±0,04 c
	6-БАП	2,92±0,22 cd	3,19±0,09 ab	2,16±0,25 b
	Kin	2,39±0,32 cd	2,72±0,14 abc	2,36±0,03 b
	mT	2,94±0,42 cd	2,47±0,12 bc	2,20±0,06 b
Кокосовая вода	Б/г	5,64±0,36 a	2,39±0,14 bc	1,64±0,07 c
	6-БАП	1,64±0,21 d	3,50±0,15 a	2,75±0,05 a
	Kin	3,72±0,02 bc	2,77±0,26 abc	2,48±0,06 ab
	mT	1,89±0,30 d	2,94±0,30abc	2,49±0,05 ab

Укоренение орхидей *in vitro* по-прежнему является актуальной проблемой, которая усложняет их производство, поскольку развитие корневой системы напрямую влияет на жизнеспособность растений-регенерантов, их дальнейший рост и развитие *ex vitro* [25]. Статистический анализ на этапе укоренения показал, что тип и концентрация ауксинов оказывают влияние на число и длину корней *C. mooreana*. Культивирование растений-регенерантов на питательной среде ½ MS, содержащей 0,5 мг/л ИМК с добавлением 100 мл/л кокосовой воды, способствовало увеличению высоты растений (5,95±0,24 см) и укореняемости *C. mooreana* (96,7%). При этом была сформирована более развитая корневая система (рис. 1г): число корней – 5,05±0,36 шт/эксплант; длина корней – 2,43±0,05 см (табл. 2).

Следует отметить, что повышение концентрации ауксинов до 1,0 мг/л оказало негативное влияние на морфометрические характеристики проростков в сравнении с питательными средами, содержащими более низкие уровни ауксинов. Эти результаты согласуются с данными других исследований, которые также подтверждают положительное влияние кокосовой воды и низких концентраций ИМК на укоренение эпифитных видов – таких, как *Trichopilia suavis* [26]. Это можно объяснить тем, что ауксины стимулируют корнеобразование и регулируют трофические реакции внутри растений. Следовательно, в свою очередь это способствует поступлению углерода и его распределению для роста корней [27].

Влияние ауксинов и их концентрации на морфометрические показатели проростков *C. mooreana* после 150 дней культивирования

Table 2

Effect of auxins and its concentration on morphometric parameters of *C. mooreana* seedlings after 150 days of cultivation

Ауксин	Концентрация ауксина	Укоренение, %	Длина растений, см	Число корней, шт/эксплант	Длина корней, см
ИМК	0,5	96,7±5,77 a	5,95±0,24 a	5,05±0,36 a	2,43±0,05 a
	1,0	70,0±3,33 b	4,19±0,16 c	2,40±0,30 c	1,52±0,15 b
ИУК	0,5	83,3±3,33 ab	5,15±0,07 ab	3,74±0,04 b	1,92±0,11 b
	1,0	66,7±3,33 b	5,05±0,25 bc	3,46±0,17 bc	1,83±0,24 b

Адаптация укорененных проростков является заключительным этапом клонального микроразмножения, и ее успешность часто имеет большое значение для экономической эффективности протокола [28]. Важным фактором, влияющим на приживаемость пересаженных орхидей, является выбор субстрата. Для успешной адаптации эпифитных видов орхидей требуется субстрат, который создает оптимальные условия для их роста и развития [29]. В субстрате, состоящем из верхового торфа, перлита и сосновой коры в соотношении 1:1:1, приживаемость растений составила 90–100% (рис. 1д). Это можно объяснить тем, что такая комбинация компонентов субстрата обеспечивала необходимую аэрацию корней и способствовала развитию проростков.

Выводы

Conclusions

В результате проведенных исследований выявлено, что максимальная всхожесть семян *C. mooreana* получена на среде В5 с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП и составляет 93%. Максимальное число адвентивных побегов наблюдали при культивировании на питательной среде ½ MS, содержащей кокосовую воду или свекольное пюре (в среднем 5,64 и 4,56 шт. соответственно). Оптимальной питательной средой для образования растений-регенерантов на этапе размножения является ½ MS, дополненная 0,5 мг/л 6-БАП и 100 мл/л кокосовой воды. На этапе укоренения для формирования развитой корневой системы максимальные результаты получены на питательной среде ½ MS с 0,5 мг/л ИМК и 100 мл/л кокосовой воды. Укоренение составляет в среднем 96,7%. При адаптации проростков к условиям *ex vitro* была отмечена высокая жизнеспособность растений в субстрате из верхового торфа, перлита и сосновой коры в соотношении 1:1:1, составившая 90–100%. В результате выполненной работы был разработан протокол клонального микроразмножения *Coelogyne mooreana*.

Список источников

1. Khasim S.M., Hegde S.N., González-Arno M.T., Thammasiri K. *Orchid Biology: Recent Trends & Challenges*. Singapore, Singapore: Springer, 2020:547. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1>
2. Ai Y.Y., Liu Q., Hu H.X. et al. Terrestrial and Epiphytic Orchids Exhibit Different Diversity and Distribution Patterns Along an Elevation Gradient of Mt. Victoria, Myanmar. *Global Ecology and Conservation*. 2023;42: e02408. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2023.e02408>
3. Коровкин О.А., Черятова Ю.С. *Ботаника: Учебник*. Москва: КноРус, 2024. 464 с. EDN: CBVVAR
4. Черятова Ю.С. Эволюционно-экологические адаптации и биосферная роль растений // Биосферное хозяйство: теория и практика. 2022. № 10 (51). С. 45–49. EDN: XPBCYE
5. Djordjević V., Tsiftsis S. *The Role of Ecological Factors in Distribution and Abundance of Terrestrial Orchids*. Brno, Czech Republic: Springer International Publ. 2022;71. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11257-8_4-1
6. Shefferson R.P., Jacquemyn H., Kull T., Hutchings M.J. The Demography of Terrestrial Orchids: Life History, Population Dynamics and Conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2020;192(2):315-332. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz084>
7. Clayton D. The Genus *Coelogyne*. A Synopsis. Borneo: Natural History Publications; Kew: The Royal Botanic Gardens, 2002:305
8. Chase M.W., Gravendeel B., Sulistyo B.P., Wati R.K. Expansion of the Orchid Genus *Coelogyne* (Arethuseae; Epidendroideae) to Include *Bracisepalum*, *Bulleyia*, *Chelonistele*, *Dendrochilum*, *Dickasonia*, *Entomophobia*, *Geesinkorchis*, *Gynoglottis*, *Ischnogyne*, *Nabaluia*, *Neogyna*, *Otochilus*, *Panisea* and *Pholidota*. *Phytotaxa*. 2021;94:134. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.510.2.1>
9. Yeung E.C. The Orchid Embryo – «An Embryonic protocorm». *Botany*. 2022;100(9):691-706. <https://doi.org/10.1139/cjb-2022-0017>
10. Kolomeitseva G.L., Koval V.A., Ryabchenko A.S., Babosha A.V. Megasporogenesis and Megagametogenesis in *Coelogyne speciosa* subsp. *Fimbriata* (J.J.Sm.) Gravendeel (Orchidaceae Juss.). *Int. J. Plant Biol.* 2023;14:190-198. <https://doi.org/10.3390/ijpb14010016>
11. Коломейцева Г.Л., Цавкелова Е.А., Гусев Е.М. и др. О симбиозе некоторых орхидей и активного штамма бактерии *Bacillus pumilus* в культуре *in vitro* // Бюллетень Главного ботанического сада. 2002. Вып. 183. С. 117-126
12. Широков А.И., Коломейцева Г.Л., Буров А.В., Каменева Е.В. *Культивирование орхидей европейской России: Монография*. Нижний Новгород, 2005. 64 с.
13. Орлова Н.Д., Молканова О.И., Коновалова Т.Ю., Яценко И.О. Особенности регенерации *Decaisnea fargesii* Franch. в культуре *in vitro* // Таврический вестник аграрной науки. 2024. № 1 (37). С. 125–135. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10930671>
14. Татаренко И.В. Микориза орхидных (*Orchidaceae*) Приморского края // Ботанический журнал. 1995. Т. 80, № 8. С. 64-72
15. Большакова Е.В., Емельянова И.С., Лукаткин А.С., Мокшин Е.В. Влияние питательных сред на морфогенез *Vanda hybrid* и *Anoectochilus roxburghii* // Международная научно-практическая конференция «Наука сегодня: опыт, традиции, инновации». 26 июля 2017 г. Вологда: Маркер, 2017. С. 8–10. EDN: ZCBIUD
16. Вельмайкин И.Н., Мокшин Е.В., Лукаткин А.С. Влияние регуляторов роста на размножение и рост побегов *Cymbidium hybridum* Hort. *in vitro* // Вестник

Нижегородского университета имени Н.И. Лобачевского. 2013. № 3-1. С. 133–137. EDN: RAPWSR

17. Хуссиен М., Коновалова Т.Ю., Молканова О.И. Клональное микроразмножение представителей рода *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski // *АгроЭкоИнфо*. 2021. № 4. <https://doi.org/10.51419/20214417>

18. Hussien M., Molkanova O.I., Raeva-Bogoslovskaya E.N., Makarov S.S. Plant Growth Regulators and Organic Additives on the Proliferation of Protocorm-like Bodies and Plantlet Regeneration of *Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.) B.S. Williams. *Agricultural Sciences (Ciência e Agrotecnologia)*. 2024;48: e018223. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202448018223>

19. Хуссиен М., Молканова О.И., Орлова Е.Е., Коваль В.А. Совершенствование методики укоренения *Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.) B.S. Williams (Orchidaceae Juss.) в условиях *in vitro* // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2025. № 1. С. 35–43. <https://doi.org/10.31857/S1026347025010045>

20. Выращивание лесных ягодных растений в условиях *in vitro*. Лабораторный практикум: Учебное пособие / Сост. С.С. Макаров, Е.А. Калашникова, И.Б. Кузнецова, Р.Н. Киракосян. Караваево: Костромская ГСХА, 2019. 48 с. EDN: BPBDSP

21. Макаров С.С., Антонов А.М., Куликова Е.И. и др. *Биотехнология в садоводстве. Выращивание плодовых и редких ягодных растений в культуре in vitro. Лабораторный практикум: Учебное пособие*. Санкт-Петербург: Лань, 2023. 128 с. EDN: DLFKUD

22. Utami E.S.W., Hariyanto S. Organic Compounds: Contents and Their Role in Improving Seed Germination and Protocorm Development in Orchids. *International Journal of Agronomy*. 2020;2020(1):2795108. <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>

23. Huh Y.S., Lee J.K., Nam S.Y. et al. Improvement of Asymbiotic Seed Germination and Seedling Development of *Cypripedium macranthos* Sw. with Organic Additives. *Journal of Plant Biotechnology*. 2016;43(1):138-145. <https://doi.org/10.5010/JPB.2016.43.1.138>

24. Salsabila S.N., Fatimah K., Noorhazira S. et al. Effect of Coconut Water and Peptone in Micropropagation of *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchid. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022;1102(1):012002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1102/1/012002>

25. Dewir Y.H., El-Mahrouk M.E., Murthy H.N., Paek K.Y. Micropropagation of *Cattleya*: Improved *In Vitro* Rooting and Acclimatization. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2015;56:89-93. <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0108-z>

26. Hussien M., Molkanova O., Mitrofanova I.V. Micropropagation of *Trichopilia suavis* Lindl. & Paxton. *Ornamental Horticulture*. 2023;29:365-374. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v29i3.2653>

27. Nabieva A.Y. Asymbiotic Seed Germination and *In Vitro* Seedling Development of *Orchis militaris*, an Endangered Orchid in Siberia. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2021;19(1):122. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00223-1>

28. Jagiełło-Kubiec K., Nowakowska K., Łukaszewska A.J., Pacholczak A. Acclimation to *Ex Vitro* Conditions in Ninebark. *Agronomy*. 2021;11(4):612. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040612>

29. Sanghamitra M., Babu J.D., Bhagavan B.V.K., et al. Standardization of Different Potting Media on Physiological Growth, Yield and Vase Life of *Dendrobium* Orchid cv. Sonia 17 under Shade Net Conditions in High Altitude Tribal Zone of Andhra Pradesh. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2019;8(5):128-132.

References

1. Khasim S.M., Hegde S.N., González-Arno M.T., Thammasiri K. *Orchid Biology: Recent Trends & Challenges*. Singapore, Singapore: Springer, 2020:547. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1>
2. Ai Y.Y., Liu Q., Hu H.X., Shen T. et al. Terrestrial and Epiphytic Orchids Exhibit Different Diversity and Distribution Patterns Along an Elevation Gradient of Mt. Victoria, Myanmar. *Global Ecology and Conservation*. 2023;42: e02408. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2023.e02408>
3. Korovkin O.A., Cheryatova Yu.S. *Botany: a textbook*. Moscow, Russia: KnoRus, 2024:464. EDN: CBVVAR (In Russ.)
4. Cheryatova Yu.S. Evolutionary-ecological adaptations and the biosphere role of plants. *Biosferne khozyaystvo: teoriya i praktika*. 2022;(10):45-49. (In Russ.)
5. Djordjević V., Tsiftsis S. *The Role of Ecological Factors in Distribution and Abundance of Terrestrial Orchids*. Brno, Czech Republic: Springer International Publ. 2022;71. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11257-8_4-1
6. Shefferson R.P., Jacquemyn H., Kull T., Hutchings M.J. The Demography of Terrestrial Orchids: Life History, Population Dynamics and Conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2020;192(2):315-332. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz084>
7. Clayton D. *The Genus Coelogyne: A Synopsis*. Borneo, Republic of Indonesia: Natural History Publications; Kew, United Kingdom: The Royal Botanic Gardens, 2002:305.
8. Chase M.W., Gravendeel B., Sulistyo B.P., Wati R.K. Expansion of the *Orchid* Genus *Coelogyne* (Arethuseae; Epidendroideae) to Include *Bracisepalum*, *Bulleyia*, *Chelonistele*, *Dendrochilum*, *Dickasonia*, *Entomophobia*, *Geesinkorchis*, *Gynoglottis*, *Ischnogyne*, *Nabaluia*, *Neogyna*, *Otochilus*, *Panisea* and *Pholidota*. *Phytotaxa*. 2021:94-134. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.510.2.1>
9. Yeung E.C. The Orchid Embryo – “An Embryonic protocorm”. *Botany*. 2022;100(9):691-706. <https://doi.org/10.1139/cjb-2022-0017>
10. Kolomeitseva G.L., Koval V.A., Ryabchenko A.S., Babosha A.V. Megasporogenesis and Megagametogenesis in *Coelogyne speciosa* subsp. *Fimbriata* (J.J.Sm.) Gravendeel (Orchidaceae Juss.). *Int. J. Plant Biol.* 2023;14:190-198. <https://doi.org/10.3390/ijpb14010016>
11. Kolomeitseva G.L., Tsavkelova E.A., Gusev E.M., Malina N.E. On the symbiosis of some orchids and the active strain of *Bacillus pumilus* bacteria in *in vitro* culture. *Bulletin of the Central Botanical Garden*. 2002;183:117-126. (In Russ.)
12. Shirokov A.I., Kolomeitseva G.L., Burov A.V., Kameneva E.V. *Cultivation of Orchids of European Russia: a monograph*. Nizhny Novgorod, Russia, 2005:64. (In Russ.)
13. Orlova N.D., Molkanova O.I., Konovalova T.Yu., Yatsenko I.O. Features of *Decaïsnea fargesii* Franch. regeneration in *in vitro* culture. *Tauride Bulletin of Agrarian Science*. 2024;(1(37)):125-135. (In Russ.) <https://doi.org/10.5281/zenodo.10930671>
14. Tatarenko I.V. Mycorrhiza of *Orchidaceae* of Primorsky Krai. *Botanicheskii Zhurnal*. 1995;80(8):64-72. (In Russ.)
15. Bolshakova E.V., Emelyanova I.S., Lukatkin A.S., Mokshin E.V. Influence of nutrient media on the morphogenesis of *Vanda hybrid* and *Anoectochilus roxburghii*. *Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya 'Nauka segodnya: opyt, traditsii, innovatsii'*. July 26, 2017. Vologda, Russia: Marker, 2017:8-10. (In Russ.)
16. Velmyaykin I.N., Mokshin E.V., Lukatkin A.S. Effect of growth regulators on *in vitro* shoot growth and propagation of *Cymbidium hybridum* Hort. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobachevskogo*. 2013;(3-1):133-137. (In Russ.)

17. Hussien M., Konovalova T.Yu., Molkanova O.I. Clonal micropropagation of representatives of the genus *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski. *AgroEcoInfo*. 2021;(4):20. (In Russ.) <https://doi.org/10.51419/20214417>
18. Hussien M., Molkanova O.I., Raeva-Bogoslovskaya E.N., Makarov S.S. Plant Growth Regulators and Organic Additives on the Proliferation of Protocorm-like Bodies and Plantlet Regeneration of *Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.) B.S. Williams. *Agricultural Sciences (Ciência e Agrotecnologia)*. 2024;48: e018223. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202448018223>
19. Hussien M., Molkanova O.I., Orlova E.E., Koval V.A. Improving rooting of *Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.) B.S. Williams (Orchidaceae Juss.) under *in vitro* conditions. *Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*. 2025;(1):35-43. <https://doi.org/10.31857/S1026347025010045> (In Russ.)
20. Makarov S.S., Kalashnikova E.A., Kuznetsova I.B., Kirakosyan R.N. *Growing forest berry plants in in vitro conditions. Laboratory practical training: a textbook*. Karavaevo, Russia: Kostroma State Agricultural Academy, 2019:48. (In Russ.)
21. Makarov S.S., Antonov A.M., Kulikova E.I. *Biotechnology in horticulture. growing fruit and rare berry plants in in vitro culture. Laboratory practical training: a textbook*. St. Petersburg, Russia: Lan', 2023:128. (In Russ.)
22. Utami E.S.W., Hariyanto S. Organic Compounds: Contents and Their Role in Improving Seed Germination and Protocorm Development in Orchids. *International Journal of Agronomy*. 2020;2020(1):2795108 <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>
23. Huh Y.S., Lee J.K., Nam S.Y., Paek K.Y. et al. Improvement of Asymbiotic Seed Germination and Seedling Development of *Cypripedium macranthos* Sw. with Organic Additives. *Journal of Plant Biotechnology*. 2016;43(1):138-145 <https://doi.org/10.5010/JPB.2016.43.1.138>
24. Salsabila S.N., Fatimah K., Noorhazira S., Halimatun T.S.T.A.B. et al. Effect of Coconut Water and Peptone in Micropropagation of *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Orchid. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022;1102(1):012002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1102/1/012002>
25. Dewir Y.H., El-Mahrouk M.E., Murthy H.N., Paek K.Y. Micropropagation of *Cattleya*: Improved *In Vitro* Rooting and Acclimatization. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2015;56:89-93 <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0108-z>
26. Hussien M., Molkanova O., Mitrofanova I.V. Micropropagation of *Trichopilia suavis* Lindl. & Paxton. *Ornamental Horticulture*. 2023;29:365-374 <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v29i3.2653>
27. Nabieva A.Y. Asymbiotic Seed Germination and *In Vitro* Seedling Development of *Orchis militaris*, an Endangered Orchid in Siberia. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2021;19(1):122 <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00223-1>
28. Jagiełło-Kubiec K., Nowakowska K., Łukaszewska A.J., Pacholczak A. Acclimation to *Ex Vitro* Conditions in Ninebark. *Agronomy*. 2021;11(4):612 <https://doi.org/10.3390/agronomy11040612>
29. Sanghamitra M., Babu J.D., Bhagavan B.V.K., et al. Standardization of Different Potting Media on Physiological Growth, Yield and Vase Life of *Dendrobium* Orchid cv. Sonia 17 under Shade Net Conditions in High Altitude Tribal Zone of Andhra Pradesh. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2019;8(5):128-132 <https://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/5810181497>

Сведения об авторах

Мусаб Хуссиен, младший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина Российской академии наук»; 127276, Российская Федерация, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: muthab.hussien95@gmail.com

Ольга Ивановна Молканова, канд. с.-х. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина Российской академии наук»; 127276, Российская Федерация, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: molkanova@mail.ru

Владимир Анатольевич Коваль, канд. биол. наук, младший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина Российской академии наук»; 127276, Российская Федерация, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: vladimirkovall@yandex.ru

Елена Евгеньевна Орлова, канд. с.-х. наук, доцент, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения, Федеральное государственное бюджетное образовательное научное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: elena.orlova@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7301-0539>

Information about authors

Muthab Hussien, Junior Research Associate, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4 Botanicheskaya St., Moscow, 127276, Russian Federation; e-mail: muthab.hussien95@gmail.com

Olga I. Molkanova, CSc (Ag), Leading Research Associate, Head of the Laboratory of Biotechnology, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4 Botanicheskaya St., Moscow, 127276, Russian Federation; e-mail: molkanova@mail.ru

Vladimir A. Koval, CSc (Bio), Junior Research Associate, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4 Botanicheskaya St., Moscow, 127276, Russian Federation; e-mail: Vladimirkovall@yandex.ru

Elena E. Orlova, CSc (Ag), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Ornamental Horticulture and Lawn Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: elena.orlova@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7301-0539>