Вестник ВГУИТ/ Proceedings of VSUET ISSN 2226-910X E-ISSN 2310-1202
DOI: http://doi.org/10.20914/2310-1202-2026-3-290-296 Оригинальная статья/Research article
УДК 640 Open Access Available online at vestnik-vsuet.ru

Особенности клонального микроразмножения *Ludisia discolor* (Ker Gawl.) A. Rich. в условиях in vitro

Владимир В. Назаров [1] vvn22222@mail.ru 0000-0002-6148-5019
Екатерина Ю. Семёнова [1] velckovsckaya1998@ya.ru 0000-0002-3121-2458
Виктория О. Климентова [1] vika.1298.1@mail.ru 0000-0001-7540-6687
Елена Ф. Семенова [2] sef1957@mail.ru 0000-0002-7987-6886
Лилия А. Хасанова [3] lisa2177@ya.ru 0000-0002-7655-0848

1 Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Республика Крым, Россия
2 Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия
3 Башкирский государственный педагогический университет имени М. Акмуллы, Уфа, Республика Башкортастан, Россия

Аннотация. Целью исследования явилось изучение особенностей клонального микроразмножения у трех вариаций *Ludisia discolor*. В качестве эксплантов использовались выводковые почки, апикальные побеговые меристемы, незрелые семена из 15, 20 и 25-дневных коробочек и зрелые семена из раскрывшихся коробочек. Они выращивались на модифицированной среде Мурасиге и Скуга. Для стерилизации и посадки микроскопических зрелых семян была разработана специальная методика, которая позволяет одновременно стерилизовать большое количество таких семян и быстро высаживать их на питательную среду в стерильных условиях. Зрелые семена прорастали на 60–70 день. Семена от 25-дневных коробочек показали наилучшие результаты среди незрелых семян. Они давали массовые всходы уже на 25–30 день после посадки. Валик будущего первого листа у протокормов в темноте закладывался через 2 месяца после прорастания. Перевод в световой режим индуцировал быстрый гемморизогенез – образование первых зеленых листьев, стебля и придаточных корней. Около 20% из высеянных семян от 20-ти дневных коробочек набухли или образовали протокормы. Семена от 15-дневных коробочек не прорастали вообще. Посадка незрелыми семенами является наиболее эффективным методом клонального размножения *L. discolor* в условиях *in vitro*. Однако ее успех зависит от точности выбора стадии в развитии семян, что возможно осуществить только в оранжереях. При взятии материала из природных популяций массовый посев зрелыми семенами более надежен, но стерилизация и посадка таких семян существенно сложнее. Поэтому нами разработана эффективная методика, значительно упрощающая эти этапы введения в эмбриокультуру и массового получения клонов ценных форм орхидных в контролируемых условиях.

Ключевые слова: биотехнология, клональное микроразмножение, семена, протокормы, *Ludisia discolor*, орхидные Orchidaceae.

Features of clonal micropropagation of *Ludisia discolor* (Ker Gawl.) A. Rich in vitro conditions

Vladimir V. Nazarov [1] vvn22222@mail.ru 0000-0002-6148-5019
Ekaterina Y. Semjonova [1] velckovsckaya1998@ya.ru 0000-0002-3121-2458
Viktoria O. Klimentova [1] vika.1298.1@mail.ru 0000-0001-7540-6687
Elena F. Semenova [2] sef1957@mail.ru 0000-0002-7987-6886
Lylia A. Khassanova [3] lisa2177@ya.ru 0000-0002-7655-0848

1 V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russia
2 Sevastopol State University, Sevastopol, Russia
3 Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmulla, Ufa, Respublika Bashkortostan, Russia

Abstract. The aim of this study was to investigate the characteristics of clonal micropropagation in three *Ludisia discolor* varieties. Brood buds, shoot apical meristems, immature seeds from 15-, 20-, and 25-day-old capsules, and mature seeds from dehisced capsules were used as explants. They were grown on modified Murashige and Skoog medium. A special technique was developed for sterilization and planting of microscopic mature seeds. This technique allows for the simultaneous sterilization of large numbers of such seeds and their rapid planting on a nutrient medium under sterile conditions. Mature seeds germinated in 60-70 days. Seeds from 25-day-old capsules showed the best results among immature seeds, producing mass shoots as early as 25-30 days after planting. The ridge of the future first leaf of protocorms was formed in the dark 2 months after germination. Switching to a light regimen induced rapid hemorrhyzogenesis—the formation of the first green leaves, stems, and adventitious roots. About 20% of the seeds sown from 20-day-old capsules swelled or formed protocorms. Seeds from 15-day-old capsules did not germinate at all. Planting immature seeds is the most effective method for clonal propagation of *L. discolor in vitro*. However, its success depends on accurately selecting the right stage of seed development, which is only possible in greenhouses. When taking material from natural populations, mass sowing of mature seeds is more reliable, but sterilizing and planting such seeds is significantly more difficult. Therefore, we have developed an effective method that significantly simplifies these stages of introducing into embryo culture and mass production of clones of valuable orchid species under controlled conditions.

Keywords: biotechnology, clonal micropropagation, seeds, protocorms, *Ludisia discolor*, orchids (Orchidaceae).

Для цитирования
Назаров В.В., Семёнова Е.Ю., Климентова В.О., Семенова Е.Ф., Хасанова Л.А. Особенности клонального микроразмножения Ludisia discolor (Ker Gawl.) A. Rich. в условиях in vitro // Вестник ВГУИТ. 2026. Т. 88. № 3. С. 290–296. doi:10.20914/2310-1202-2026-3-290-296

For citation
Nazarov V.V., Semenova E.Yu., Klimentova V.O., Semenova E.F., Khasanova L.A. Features of clonal micropropagation of Ludisia discolor (Ker Gawl.) A. Rich in vitro conditions. Vestnik VGUIT [Proceedings of VSUET]. 2026. vol. 88. no. 3. pp. 290–296. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2026-3-290-296

© 2026, Назаров В.В. и др. / Nazarov V.V. et al.
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

Введение

Ludisia discolor (Ker Gawl.) A. Rich (1825) – многолетняя орхидея, относящаяся к семейству орхидных, Orchidaceae [1–3]. Род *Ludisia* включает в себя лишь один полиморфный вид культуры – двухцветную орхидею *L. discolor*, внутри которого различается ряд форм, преимущественно по окраске листьев: *Одина* – на темно-зеленых или черных листьях прожилки серебристого оттенка; *Альба* – на яркой зелени белый причудливый орнамент; *Дисколор (орхидея многоцветная)* – темно-зеленые листовые пластины, с одной светлой жилкой; *Доусона* – вырастает до 30 см в высоту, листья красно-коричневые; *Вельвет* – бархатистая на ощупь орхидея, с листьями насыщенного зеленого оттенка; *Танланиана* – яркие темно-салатовые листовые пластины широкие, покрыты узорчатой сеткой светлых прожилок и другие варианты [4–5].

Это наземное орхидное находится под угрозой исчезновения в тропических лесах Юго-Восточной Азии и Индонезии. Одновременно две причины способствуют уничтожению природных популяций. Уникальные особенности окраски, текстуры и неповторимой мозаичности рисунка листьев у *L. discolor* делают эти растения из категории так называемых «драгоценных орхидей» самыми популярными среди коллекционеров. Помимо этого, *L. discolor* интенсивно собирают на родине в качестве ценного лекарственного сырья для традиционной медицины [6, 7]. Это растение так же является ценным сырьем для производства флавоноидов, антоцианов и антиоксидантов [8, 9]. Ситуацию может улучшить только разработка эффективной биотехнологии массового размножения [10–13].

Цель работы – изучение особенностей протекания клонального микроразмножения *Ludisia discolor* в связи с разработкой протокола оптимального культивирования в условиях in vitro.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали три вариации *L. discolour* из природных местообитаний Юго-Восточной Азии: var. *nigrescens*, var. *dawsoniana*, и var. *dawsoniana* f. *variegate*, которые различались между собой окраской, мозаичностью и текстурой листьев (рисунок 1). Коллекционный материал был получен из тропической оранжереи Ботанического сада имени Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург. Впоследствии эти растения в течение двух лет культивировали в тропической оранжерее Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского, Симферополь. Полное созревание плодов у всех изученных вариаций *L. discolor* в условиях оранжереи наступало на 30–35 день. Зрелые семена *L. discolor* имеют микроскопические размеры. Поэтому для их посева на питательную среду в условиях *in vitro* использовали специально разработанную технологию стерилизации и посадки. В ее основе лежал способ, который был разработан Е.В. Андроновой и др. [14] для стерилизации зрелых микроскопических семян орхидных химическим раствором при помощи шприца и специальной улавливающей мелкой металлической сетки. Однако, мы не использовали металлическую сетку для улавливания семян, а поступали следующим образом. Семена *L. discolor* помещали в бумажные фильтр-пакеты. Внутрь такого пакетика засыпалась порция сухих зрелых семян и они накрывались круглым бумажным кружком с номером. Диаметр кружка был чуть меньше диаметра поршня шприца. Готовый пакетик завязывался и помещался в шприц. Плотное прилегание и наличие бумажного кружка по размеру поршня способствовали хорошему перемешиванию содержимого пакетика со стерилизующей жидкостью при движении поршня.

В качестве стерилизанта использовалась смесь дистиллированной воды и 10% раствора гипохлорита натрия в пропорции 1:1 [15]. Стерилизация продолжалась 20 минут. Процедура отмывки семян от стерилизанта проходила аналогичным образом в дистиллированной воде 2 раза по 10 минут. Стерильными ножницами у пакетика отрезали хвостовую часть. Головная часть пакетика полностью разворачивалась и переносилась в чашку Петри с питательной средой.

Посадка *L. discolor* зрелыми семенами из уже раскрывшихся коробочек оказалась технически трудоемкой операцией. Поэтому была испытана технология посадки этого орхидного на стерильную питательную среду при помощи незрелых семян из еще нераскрывшихся коробочек согласно методике P.J. Kauth et al. [16]. В качестве эксплантов использовались семена разного возраста: 15, 20, 25 суток после гейтеногамного опыления между цветками одного соцветия. Посадку осуществляли на модифицированную среду Мурасиге и Скуга [17]. В отличие от стандартного варианта она имела половинное

количество минеральных компонентов, сахарозу в концентрации 15 г/л, фитогормоны 6-БАП и ИУК в соотношениях 1:2, 1:1, 2:1.



Рисунок 1. Изменчивость изученных форм Лудисии двуцветной по окраске, текстуре и мозаичности рисунка листьев: 1 – *L. discolor* var. *nigrescens*, 2 – *L. discolor* var. *dawsoniana*, 3 – *L. discolor* var. *dawsoniana* f. *variegata*

Figure 1. Variability of the studied forms of *L. discolor* in color, texture, and mosaic pattern of leaves: 1 – *L. discolor* var. *nigrescens*, 2 – *L. discolor* var. *dawsoniana*, 3 – *L. discolor* var. *dawsoniana* f. *variegata*

Результаты и обсуждение

Проведенный морфометрический анализ семян 3-х вариаций показал отсутствие достоверной разницы по размерам теста и зародыша (таблицы 1, 2). Небольшие отклонения у *L. discolor* var. *dawsoniana* f. *variegata* в сторону уменьшения средних размеров семенной оболочки и зародыша, вероятнее всего, были обусловлены тем, что при самоопылении *L. discolor* var. *dawsoniana* f. *variegata* образовывалось большое количество семян с относительно мелкими зародышами, возможно, остановившихся в своем развитии в процессе эмбриогенеза. Общий анализ семян, содержавшихся в плодах всех 3 образцов, показал также достаточно высокий процент беззародышевых семян: *L. discolor* var. *dawsoniana* f. *variegata* – 45%; *L. discolor* var. *dawsoniana* – 23%; у *L. discolor* var. *nigrescens*– 18%. Данные результаты по неоднородности и разнокачественности семян нами учитывались при их эксплантации в условиях *in vitro*, чтобы прогнозировать выход получаемых проростков.

На первом этапе от *L. discolor* var. *dawsoniana* были взяты разновозрастные коробочки, чтобы определить оптимальную для посадки стадию в развитии семян. Вначале чашки Петри с высаженными семенами содержали первые 60 дней в темном термостате при 18–20º С. Зародыши семян набухали и приобретали беломолочную окраску. Наилучшую всхожесть показали семена из 25-дневных коробочек (рисунок 2.1, таблица 3).

Через месяц после посадки протокормы массово разрывали семенную оболочку у семян и в базальной части у них образовывались первые корневые волоски (рисунок 2.2). Через 2 месяца у протокормов образовывался апикальный валик будущего первого листа. Базальная часть к этому времени была уже покрыта несколькими рядами корневых волосков (рисунок 2.3).

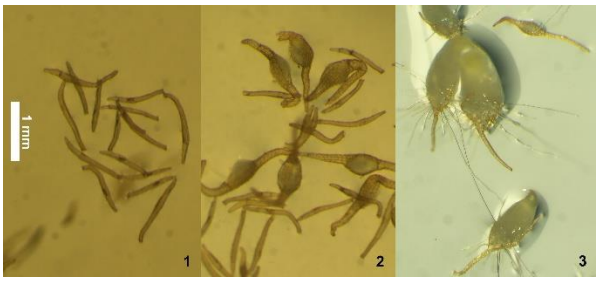


Рисунок 2. Прорастание семян и гемморизогенез протокормов у *L. discolor* var. *dawsoniana* в темновой фазе: 1 – незрелые 25-дневные семена после высадки на питательную среду; 2 – массовое прорастание семян и выход протокормов из теста, 40 дней; 3 – базальная часть протокормов покрыта несколькими рядами корневых волосков, в апикальной части закладывается валик будущего первого листа, 60 дней. Количество дней указано с момента посадки семян на питательную среду

Figure 2. Seed germination and protocorm hemorrhigesis in *L. discolor* var. *dawsoniana* during the dark phase: 1 – immature 25-day-old seeds after planting on a nutrient medium; 2 – mass seed germination and protocorm emergence from the testa, 40 days; 3 – the basal part of the protocorms is covered with several rows of root hairs, the ridge of the future first leaf is formed in the apical part, 60 days. The number of days is indicated from the moment of seed planting on a nutrient medium

По истечении 60-ти дней с момента посадки протокормы переносились в климатическую камеру с 8-часовым периодом освещения и температурой 25º С. Спустя 5 дней наблюдалось массовое позеленение протокормов (рисунок 3.1). Еще через 5 дней из апикального валика начинала формироваться листовая пластинка первого листа (рисунок 3.2). Через месяц содержания посевов на свету у проростков наблюдалось развитие 2–3 стеблевых метамеров с корневыми волосками (рисунок 3.3).

Семена из 20-дневных коробочек прорастали значительно хуже. В темновом термостате на 30-й день после эксплантации только около 20% из высеянных семян набухли или образовали протокормы. По размеру их протокормы были мельче протокормов от 25-дневных семян. Относительная задержка в развитии сеянцев сохранялась и при содержании в климатической камере. Семена от 15-дневных коробочек не проявили признаков прорастания за весь период наблюдений в темновом термостате и климатической камере.

Таблица 1.

Морфометрические показатели тесты у семян *Ludisia discolor*

Table 1.

Morphometric parameters of *Ludisia discolor* seeds

Название Name	Длина тесты (L), мкм Test length (L), μm	$\bar{x} \pm \sigma$	V, %	Ширина (B) тесты, мкм Width (B) of test, μm	$\bar{x} \pm \sigma$	V, %	Отношение L/B L/B ratio	$\bar{x} \pm \sigma$	V, %
L. discolor var. *nigrescens*	300,6 – 694,6	506,7 ± 101,2	20,0	77,6 – 115,3	97,3 ± 12,7	13,1	3,1 – 8,2	5,4 ± 2,3	42,8
L. discolor var. *dawsoniana f. variegata*	320,3 – 599,5	504,2 ± 87,1	17,2	47,5 – 115,2	87,3 ± 20,8	23,8	4,1 – 8,3	6,3 ± 2,5	39,6
L. discolor var. *dawsoniana*	1257,1 – 2136,8	1790,6 ± 271,3	15,2	120,0 – 228,1	596,0 ± 24,2	13,5	7,2 – 13,0	10,3 ± 3,2	31,0

Таблица 2.

Морфометрические показатели зародышей в семенах *Ludisia discolor*

Table 2.

Morphometric parameters of embryos in *Ludisia discolor* seeds

Название Name	Длина зародыша (L), мкм Embryo length (L), μm	$\bar{x} \pm \sigma$	V, %	Ширина (B) зародыша, мкм Width (B) of the nucleus, μm	$\bar{x} \pm \sigma$	V, %	Отношение L/B L/B ratio	$\bar{x} \pm \sigma$	V, %
L. discolor var. *nigrescens*	31,7 – 88,4	67,7 ± 18,8	27,7	16,8 – 47,8	29,3 ± 16,4	56	1,6 – 3,4	2,5 ± 1,5	63,0
L. discolor var. *dawsoniana f. variegata*	31,7 – 83,2	60,8 ± 17,3	28,5	15,6 – 39,4	25,0 ± 8,2	32,8	1,6 – 3,4	2,6 ± 1,6	61,3
L. discolor var. *dawsoniana*	98,4 – 277,6	192,4 ± 43,8	22,8	50,5 – 199,2	107,8 ± 34,4	32,0	1,2 – 4,1	2,0 ± 1,4	70,6

Таблица 3.

Влияние сроков отбора семян *Ludisia discolor* на способность к прорастанию

Table 3.

Effect of timing of *Ludisia discolor* seed selection on germination ability

Период после опыления, сут. Post-pollination period, days	Количество проросших семян,% Number of sprouted seeds,%	Начало прорастания The beginning of germination	Массовое прорастание семян и выход протокормов из тесты Mass germination of seeds and release of protocorms from the	Появление всасывающих волосков The appearance of suction hairs	Базальная часть протокормов покрыта несколькими рядами корневых волосков, в апикальной части	Массовое позеленение протокормов Massive greening of protocorms	Формирование из апикального валика листовой пластинки первого листа Formation of the first leaf from	Развитие 2–3 стеблевых метамеров с корневыми волосками Development of 2–3 stem metameres with root hairs	Проросток с 1–2 листьями A sprout with 1–2 leaves
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	20 ± 2	30–35	40–45	45–50	55–65	65–70	75–80	85–95	105–125
25	50 ± 5	20–25	30–40	35–45	50–60	65–70	70–75	80–90	100–120

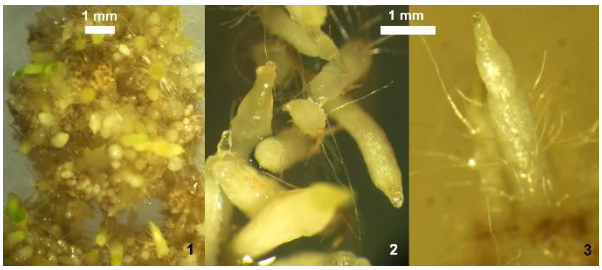


Рисунок 2. Гемморизогенез у проростков *L. discolor* var. *dawsoniana* в климатической камере при 8-часовом периоде освещения: 1 – позеленение протокормов и проростков, 65 дней; 2 – начало формирования листовой пластинки, 70 дней; 3 – метамеризация побега у проростков, 90 дней. Количество дней указано с момента посадки семян на питательную среду

Figure 2. Hemorhyzogenesis in Ludisia discolor var. dawsoniana seedlings in a climate chamber with an 8-hour illumination period: 1 – greening of protocorms and seedlings, 65 days; 2 – beginning of leaf blade formation, 70 days; 3 – shoot metamerization in seedlings, 90 days. The number of days is indicated from the moment of seed planting on the nutrient medium.

У остальных изученных вариаций *Ludisia* на посадку брали семена только от 25-дневных коробочек. Прорастание семян в темновой фазе и гемморизогенез в климатической камере происходили у них аналогично первой вариации.

Известно, что введение в культуру *in vitro* выводковых почек часто сопровождается развитием грибной и бактериальной микрофлоры, несмотря на жесткую обработку эксплантов различными стерилизантами [18–20].

Применение разработанных нами методик посева зрелыми и незрелыми семенами для клонального микроразмножения позволяет существенно увеличить коэффициент размножения *L. discolor*.

Ранее было показано, что для сохранения редких видов полиморфных орхидных следует применять комплексный подход, основанный на мониторинге популяций, исследовании внутривидовой структуры, а также особенностях биологии как семенного, так и вегетативного размножения [1–3, 9, 12–14]. Наши исследования еще одного редкого полиморфного орхидного – *Ludisia discolor* показали, что при семеном размножении в условиях *in vitro* следует использовать комбинированные методы посадки различными типами эксплантов: незрелыми семенами и семенами из раскрывшихся коробочек, в то время как выбор конкретного типа экспланта зависит от общих задач – поддержания генетического разнообразия популяции или мультипликации редкой вариации. При этом, при выборе метода посадки семенами необходимо учитывать возможности повторных выходов в естественные популяции для сбора материала и сроки его доставки в лабораторию.

Заключение

Изучены особенности протекания клонального микроразмножения *Ludisia discolor* при использовании различных типов эксплантов: выводковых почек, зрелых и незрелых семян в условиях *in vitro* на стандартной среде Мурасиге и Скуга.

Установлено, что использование незрелых семян из 25-дневных коробочек является наиболее оптимальным для массового размножения этого редкого орхидного. Так как использование зрелых семян из уже раскрывшихся коробочек ограничено трудностями в их антимикробной обработке (обеззараживании) из-за микроскопических размеров нами разработана эффективная методика стерилизации мелких семян орхидных, что облегчает и последующую посадку таких семян на питательные среды.

Литература

1 Huan T.P., Nguyen T.L., Oanh K.L. et al. Transcriptome characterization and population genetics of Ludisia discolor (Ker Gawl.) A.Rich (Orchidaceae): implication for its conservation in Vietnam // Biodiversity Data Journal. 2026. № 14. P. e173579. doi: 10.3897/BDJ.14.e173579

2 Bai Y., Ma Y., Chang Y. et al. Identification and transcriptome data analysis of ARF family genes in five provides new insight on conservation strategies // Conservation Letters. 2020. № 13 (2). doi: 10.1111/conl.12697

3 Ticktin T., Mondragón D., Lopez-Toledo L. et al. Synthesis of wild orchid trade and demography provides new insight on conservation strategies // Conservation Letters. 2020. № 13 (2). doi: 10.1111/conl.12697

4 Shirokov A.I., Syrova V.V., Salokhin A.V. et al. Conservation issues. № 5. Suppl. P. 145–154.

5 Averyanov L.V., Nguyen V.C., Vuong T.B. et al. New orchids in the flora of Vietnam X (Orchidaceae, Orchidoideae, tribe Orchideae, Epidendroideae, tribes Gastrodieae, Arethuseae, Cymbidieae, and Vandeae) // Phytotaxa. 2025. № 681 (1). P. 20–54. doi: 10.11646/phytotaxa.681.1.3

6 Ranjetta P., Rahmad Z., Vikneswaran M., Sreeramanan S. Autofluorescence study and selected cyanidin quantification in the Jewel orchids Anoectochilus sp. and Ludisia discolor // PLoS ONE. 2018. № 13. P. 1–19.

7 Nguyen C.K., Do T.H.T., Nguyen L.T.T. Cytotoxicity activity of Lusidia discolor extract against lung and liver cancer cells in An Giang // Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology. 2021. № 5 (126). P. 96–101.

8 Jiang K., Møller B.L., Luo S. et al. Genomic, transcriptomic, and metabolomic analyses reveal convergent evolution of oxime biosynthesis in Darwin's orchid // Molecular Plant. 2024. № 18 (3). P. 392–415. doi: 10.1016/j.molp.2024.12.010

9 Li C., Dong N., Zhao Y. et al. A review for the breeding of orchids: Current achievements and prospects // Horticultural Plant Journal. 2021. № 7 (5). P. 380–392. doi: 10.1016/j.hpj.2021.02.006

10 Poobathy R., Zakaria R., Edhzam S.M. et al. Early Studies on Protoplast Isolation of Ludisia discolor, A Wild Orchid // Tropical Life Sciences Research. 2016. № 27. Suppl. 1. P. 17–19.

11 Большакова Е.В. и др. Культивирование орхидеи Anoectochilus roxburghii (Wall.) в условиях ex vitro // Известия вузов. Поволжский регион. Естественные науки. 2019. № 3 (27). С. 16–23. doi: 10.21685/2307-9150-2019-3-2

12 Малаева Е.В. Биотехнология как современный метод сохранения биоразнообразия // Грани познания. 2022. № 3 (80). С. 17–19.

13 Молканова О.И., и др. Применение биотехноло-гических методов для сохранения генофонда редких видов растений // Ботанический журнал. 2020. Т. 105. № 6. С. 610–619. doi: 10.31857/S0006813620030072

14 Андронова Е.В., Ивасенко Ж.В., Федорова Н.А. Жизнеспособность и темпы развития сеянцев Dactylorhiza maculata s.l. (Orchidaceae) в культуре in vitro // Ботанический журнал. 2007. Т. 92. № 7. С. 1035–1048.

15 Poobathy R., Zakaria R., Murugaiyah V., Subramaniam S. Surface sterilization and micropropagation of Ludisia discolor // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. № 22. P. 101380.

16 Kauth P.J., Johnson T.R., Stewart S.L. A classroom exercise in hand pollination and in vitro asymbiotic orchid seed germination // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2008. № 93 (2). P. 223–230.

17 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. № 15 (3). P. 473–497.

18 Lai R., Lai S. Role of Tissue Culture in Rapid Clonal Propagation and Production of Pathogen-Free Plants // Crop Improvement Utilizing Biotechnology. 2019. P. 73–116.

19 Krumov N., Hristova V., Bonchev G. et al. Review on biological and biotechnological characteristics of the terrestrial orchid Ludisia discolor // Annual of Sofia University "St. Kliment Ohridski", Faculty of Biology, Book 2 – Botanics. 2022. № 106. P. 13–29. doi: 10.60066/gsu.biofac.bot.106.13-29

20 Ying L., Xiaohao L., Jingye Ch. et al. Effects of different factors on adventitious bud induction from stem explants of Ludisia discolor // E3S Web of Conferences. 2021. № 245 (03024). P. 1–4.

References

1 Huan T.P., Nguyen T.L., Oanh K.L. et al. Transcriptome characterization and population genetics of Ludisia discolor (Ker Gawl.) A.Rich (Orchidaceae): implication for its conservation in Vietnam. Biodiversity Data Journal. 2026. no. 14. Article e173579. doi: 10.3897/BDJ.14.e173579.

2 Bai Y., Ma Y., Chang Y. et al. Identification and transcriptome data analysis of ARF family genes in five provides new insight on conservation strategies. Conservation Letters. 2020. no. 13 (2). doi: 10.1111/conl.12697.

3 Ticktin T., Mondragón D., Lopez-Toledo L. et al. Synthesis of wild orchid trade and demography provides new insight on conservation strategies. Conservation Letters. 2020. no. 13 (2). doi: 10.1111/conl.12697.

4 Shirokov A.I., Syrova V.V., Salokhin A.V. et al. Conservation issues. no. 5. suppl. pp. 145–154.

5 Averyanov L.V., Nguyen V.C., Vuong T.B. et al. New orchids in the flora of Vietnam X (Orchidaceae, Orchidoideae, tribe Orchideae, Epidendroideae, tribes Gastrodieae, Arethuseae, Cymbidieae, and Vandeae). Phytotaxa. 2025. no. 681 (1). pp. 20–54. doi: 10.11646/phytotaxa.681.1.3.

6 Ranjetta P., Rahmad Z., Vikneswaran M., Sreeramanan S. Autofluorescence study and selected cyanidin quantification in the Jewel orchids Anoectochilus sp. and Ludisia discolor. PLoS ONE. 2018. no. 13. pp. 1–19.

7 Nguyen C.K., Do T.H.T., Nguyen L.T.T. Cytotoxicity activity of Lusidia discolor extract against lung and liver cancer cells in An Giang. Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology. 2021. no. 5 (126). pp. 96–101.

8 Jiang K., Møller B.L., Luo S. et al. Genomic, transcriptomic, and metabolomic analyses reveal convergent evolution of oxime biosynthesis in Darwin's orchid. Molecular Plant. 2024. no. 18 (3). pp. 392–415. doi: 10.1016/j.molp.2024.12.010.

9 Li C., Dong N., Zhao Y. et al. A review for the breeding of orchids: Current achievements and prospects. Horticultural Plant Journal. 2021. no. 7 (5). pp. 380–392. doi: 10.1016/j.hpj.2021.02.006.

10 Poobathy R., Zakaria R., Edhzam S.M. et al. Early Studies on Protoplast Isolation of Ludisia discolor, A Wild Orchid. Tropical Life Sciences Research. 2016. no. 27. suppl. 1. pp. 17–19.

11 Bolshakova E.V. et al. Cultivation of the orchid Anoectochilus roxburghii (Wall.) under ex vitro conditions. News of Universities. Volga Region. Natural Sciences. 2019. no. 3 (27). pp. 16–23. doi: 10.21685/2307-9150-2019-3-2 (in Russian).

12 Malaeva E.V. Biotechnology as a modern method of biodiversity conservation. Grani Poznaniya. 2022. no. 3 (80). pp. 17–19. (in Russian).

13 Molkanova O.I., et al. Application of biotechnological methods for the conservation of the gene pool of rare plant species. Botanical Journal. 2020. vol. 105. no. 6. pp. 610–619. doi: 10.31857/S0006813620030072 (in Russian).

14 Andronova E.V., Ivasenko Zh.V., Fedorova N.A. Viability and development rates of Dactylorhiza maculata s.l. (Orchidaceae) seedlings in in vitro culture. Botanical Journal. 2007. vol. 92. no. 7. pp. 1035–1048. (in Russian).

15 Poobathy R., Zakaria R., Murugaiyah V., Subramaniam S. Surface sterilization and micropropagation of Ludisia discolor. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. no. 22. article 101380.

16 Kauth P.J., Johnson T.R., Stewart S.L. A classroom exercise in hand pollination and in vitro asymbiotic orchid seed germination. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2008. no. 93 (2). pp. 223–230.

17 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 1962. no. 15 (3). pp. 473–497.

18 Lai R., Lai S. Role of Tissue Culture in Rapid Clonal Propagation and Production of Pathogen-Free Plants. In: Crop Improvement Utilizing Biotechnology. 2019. pp. 73–116.

19 Krumov N., Hristova V., Bonchev G. et al. Review on biological and biotechnological characteristics of the terrestrial orchid Ludisia discolor. Annual of Sofia University "St. Kliment Ohridski", Faculty of Biology, Book 2 – Botanics. 2022. no. 106. pp. 13–29. doi: 10.60066/gsu.biofac.bot.106.13-29.

20 Ying L., Xiaohao L., Jingye Ch. et al. Effects of different factors on adventitious bud induction from stem explants of Ludisia discolor. E3S Web of Conferences. 2021. no. 245 (03024). pp. 1–4.

Сведения об авторах

Владимир В. Назаров к.б.н., доцент, кафедра ботаники, физиологии растений и биотехнологии, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, пр. Академика Вернадского, 4, г. Симферополь, Республика Крым, 295007, Россия, vvn22222@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-6148-5019

Екатерина Ю. Семёнова магистр, кафедра ботаники, физиологии растений и биотехнологии, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, пр. Академика Вернадского, 4, г. Симферополь, Республика Крым, 295007, Россия, velckovsckaya1998@ya.ru
https://orcid.org/0000-0002-3121-2458

Виктория О. Климентова магистр, кафедра ботаники, физиологии растений и биотехнологии, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, пр. Академика Вернадского, 4, г. Симферополь, Республика Крым, 295007, Россия, vika.1298.1@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-7540-6687

Елена Ф. Семенова к.б.н., профессор, кафедра фундаментальной медицины, здравоохранения и здоровьесбережения, Севастопольский государственный университет, ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, Россия, sef1957@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-7987-6886

Лилия А. Хасанова д.б.н., профессор, кафедра биоэкологии и биологического образования, Башкирский государственный педагогический университет имени М. Акмуллы, ул. Октябрьской революции, 3-а, г. Уфа, Республика Башкортастан, 450077, Россия, lisa2177@ya.ru
https://orcid.org/0000-0002-7655-0848

Вклад авторов

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Vladimir V. Nazarov Cand. Sci. (Biol.), associate professor, botany, plant physiology and biotechnology department, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, 4 Academician Vernadsky Ave., Simferopol, Republic of Crimea, 295007, Russia, vvn22222@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-6148-5019

Ekaterina Y. Semjonova master student, botany, plant physiology and biotechnology department, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, 4 Academician Vernadsky Ave., Simferopol, Republic of Crimea, 295007, Russia, velckovsckaya1998@ya.ru
https://orcid.org/0000-0002-3121-2458

Viktoria O. Klimentova master student, botany, plant physiology and biotechnology department, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, 4 Academician Vernadsky Ave., Simferopol, Republic of Crimea, 295007, Russia, vika.1298.1@mail.ru
https://orcid.org/0000-0001-7540-6687

Elena F. Semenova Cand. Sci. (Biol.), professor, Department of Fundamental Medicine, Health and Health Care, Sevastopol State University, University Street, 33, Sevastopol, 299053, Russia, sef1957@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-7987-6886

Lylia A. Khassanova Dr. Sci. (Biol.), professor, bioecology and biological education department, Bashkir State Pedagogical University named after M. Akmully, st. October Revolution, 3-a, Ufa, Republic of Bashkortostan, 450077, Russia, lisa2177@ya.ru
https://orcid.org/0000-0002-7655-0848

Contribution

All authors are equally involved in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 08/06/2026	**После редакции** 29/06/2026	**Принята в печать** 23/07/2026
Received 08/06/2026	**Accepted in revised** 29/06/2026	**Accepted** 23/07/2026