

Морфо-анатомическая дифференциация центральных и маргинальных популяций *Calluna vulgaris* L. (Hull)

И.В. Петрова, д.б.н., *О.Е. Черепанова*, к.б.н., *С.Н. Санников*, д.б.н., профессор, *Ю.Д. Мицихина*, аспирантка, *Е.В. Болотник*, аспирантка, ФГБУН Ботанический сад УрО РАН

В настоящее время для изучения эволюционно-генетических процессов, протекающих в популяциях растений, эффективно используются молекулярно-генетические методы. С этой целью достаточно информативно применяются также и классические морфо-анатомические методы.

В качестве модельного вида для изучения процессов, протекающих в островных маргинальных популяциях, нами был избран вереск обыкновенный (*Calluna vulgaris* L. (Hull)). Согласно постулату систематики популяции этого вида монотипического рода *Calluna* почти не подвержены адаптивной радиации в пределах обширного и экологически гетерогенного ареала, который простирается от Приатлантики в Европе до Зауралья в Западной Сибири [1, 4]. Однако эта дискуссионная гипотеза не подтверждена количественными популяционно-генетическими и фенотипическими исследованиями.

Цель настоящего исследования – сравнительный анализ географической изменчивости и дифференциации некоторых морфо-анатомических параметров центральных (восточно-европейских) и изолированных маргинальных (восточных и западных) популяций вереска обыкновенного.

Материал и методы исследования. Сравнительный анализ морфологической изменчивости семян и морфо-анатомической изменчивости годичного побега *C. vulgaris* проведён в ценопопуляциях на географических трансектах, ориентированных с запада на восток ареала: Лондон – Бордо –

Гомель – Миголощи – Череповец – Воронеж – Сыктывкар – Пенза – Тавда – Заводоуспенское – Курган. Все популяции произрастают под пологом географически замещающих древостоев сосняков бруснично-вересково-зеленомошных.

Структуру годичного побега *C. vulgaris* изучали у 11–40 особей в каждой популяции на свежих и фиксированных образцах. Коробочки с семенами собраны в августе – сентябре. Линейные размеры (длина, толщина, удлинённость) семян проанализированы в общей сложности на 300 семенах из 6 популяций вереска.

У особей измеряли длину и толщину не менее чем пяти листьев, отобранных из средней части каждого из трёх терминальных годичных побегов. Образцы листьев фиксировали в смеси спирт–глицерин (3:1). Поперечные срезы готовили бритвой от руки. С каждого листа делали по 5 срезов и брали образцы ткани для мацерации эпидермы, которую проводили на материале, выдержанном в водном растворе NaOH. Из предварительно отобранных 16 параметров годичного побега в итоговый анализ включено 10 морфо-анатомических признаков листа, кроме малоинформативных (длина годичного побега, длина междоузлия, средний прирост годичного побега, длина, толщина и удлинённость клетки хлоренхимы).

Параметры морфо-анатомической структуры листа и семян измеряли в трёх-, пятикратной повторности с применением бинокулярной лупы MC-2-ZOOM и оптического микроскопа Carl Zeiss, а также программного обеспечения Axio Vizion ReL. 4.8.

Для определения суммы флавоноидов в годичных побегах вереска проводили экстракцию в спир-

те (30%) на водяной бане. Полученный экстракт центрифугировали (Eppendorf – 5417R) в течение 5 минут при 20°C со скоростью 5000 оборотов для осаждения мелкой примеси и полисахаридов. Определение оптической плотности выполнено на спектрофотометре (UV 3600 SHIMADZU) согласно известной методике В.Л. Шелюто (2007) с модификациями [2].

Статистический анализ проведён по комплексу 16 морфо-анатомических признаков годичного побега (длина междоузлия, толщина, длина и удлинённость листа, клеток хлоренхимы и эпидермы, число устьиц, трихом и др.) и 3 параметров семени, цвет семян учитывался отдельно и в общий анализ не включён. Для обработки параметров использована программа Statistica 8.0 (дискриминантный анализ, ANOVA/тест Kruskal-Wallis, t-критерий Стьюдента).

Результаты исследования. Параметры семени. Географическая изменчивость линейных размеров (длина, толщина и удлинённость) и анатомической структуры семени вереска ранее достаточно подробно не изучалась ни на территории России, ни в Европе [5]. Описание внешнего строения семени используется лишь палеонтологами при проведении палеоботанических исследований. Встречаются единичные работы по регенерационной способности вереска с краткой характеристикой семян и проростков [4–6].

В изучавшихся нами популяциях окраска семян вереска изменяется от желтовато-коричневой до светло- и тёмно-коричневой. Во всех выборках высока встречаемость светло-коричневых семян (51–68%), кроме Воронежской, где доля тёмно-коричневых семян достигает 42%. Форма семени меняется от округлой до продолговатой и не связана с регионом произрастания; поверхность их сетчатая, на терминальной части семени расположена пора. Анализ линейных размеров семян также не выявил достоверных отличий между популяциями. Максимальная длина и толщина семени

отмечены в Миголощах (Новгородская область) (0,604±0,013 мм; 0,406±0,007 мм соответственно); минимальная длина – в Заводоуспенском (При-тоболье) (0,448±0,013 мм), а толщина – в Бордо, Франция (0,276±0,008 мм). Максимальная удлинённость семени выявлена в Бордо (1,859±0,08), а минимальная – в Заводоуспенском (1,419±0,044) (табл. 1).

Согласно результатам дискриминантного анализа по комплексу морфологических параметров семени достоверных различий в линейных параметрах между популяциями нет.

Минимальными размерами семени обладают особи Заводоуспенской и Воронежской популяций, а максимальными – Новгородской. Полученные результаты согласуются с европейскими работами, в которых также не было обнаружено значимых различий в морфологии и анатомии семян вереска [5, 7].

Линейные параметры листа. *C. vulgaris* – вид монотипичного рода *Calluna*, на протяжении обширного ареала которого следовало бы ожидать сходство морфо-анатомических признаков [8]. Между тем в результате анализа комплекса морфологических и анатомических признаков (табл. 2) особей вереска в популяциях, расположенных на трансекте, ориентированной в направлении с востока на запад ареала, в том числе маргинальных (Лондон, Бордо, Заводоуспенское), выявлено следующее. Длина и толщина листа клинально уменьшаются в западном направлении, но градиенты этих параметров между маргинальными изолированными западносибирскими (Заводоуспенское, Курган) и приатлантическими популяциями (Лондон, Бордо) максимальны [3].

Максимальные длина и толщина листа найдены нами в Заводоуспенском (2,36±0,04 мм и 0,76±0,02 соответственно), минимальная длина – в Бордо (1,53±0,02 мм), толщина – в Пензе (0,41±0,01 мм). Максимальные показатели удлинённости листа

1. Линейные параметры семени *C. vulgaris* L. (P ≤ 0,05)

Признак	Бордо, Франция (N = 50)			Миголощи, Новгород (N = 50)			Воронеж (N = 50)		
	M±m	Min	Max	M±m	Min	Max	M±m	Min	Max
Длина семени, мм	0,489±0,010	0,310	0,650	0,604±0,013	0,410	0,790	0,458±0,011	0,340	0,610
Толщина семени, мм	0,276±0,008	0,130	0,420	0,406±0,007	0,340	0,500	0,307±0,008	0,210	0,460
Удлинённость семени, мм	1,859±0,080	1,146	4,154	1,493±0,029	1,079	1,973	1,542±0,054	0,761	2,435
	Череповец (N = 50)			Заводоуспенское (N = 50)			Просвет, Курган (N = 50)		
Длина семени, мм	0,558±0,011	0,380	0,740	0,448±0,013	0,290	0,660	0,579±0,012	0,440	0,730
Толщина семени, мм	0,380±0,011	0,190	0,500	0,320±0,007	0,170	0,460	0,377±0,008	0,230	0,500
Удлинённость семени, мм	1,515±0,048	1,042	2,474	1,419±0,044	1,000	2,471	1,566±0,043	1,136	2,348

Примечание: M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего, Min – минимум, Max – максимум, N – число семян.

2. Средние анатомические и морфологические параметры листа в популяциях *C. vulgaris* ($P \leq 0,05$)

Признак	Заводоуспенское	Сыктывкар	Пенза	Гомель	Бордо	Лондон
	(N=20)					
	M ± mM					
$K_{трх}$	17,76±0,75	24,33±0,71	19,27±0,85	10,31±0,60***	17,00±0,61	22,06±1,82
$K_{уст}$	13,32±0,63	15,69±0,80	9,74±0,46***	16,44±0,55	15,89±0,72	17,70±1,02***
$L_{кэ}$	53,10±2,00	55,27±2,23	53,00±2,67	57,73±2,78	53,00±2,67	63,18±2,94***
$T_{кэ}$	23,24±1,35	24,83±1,74	24,60±1,13	23,87±1,38	24,60±1,13	29,55±1,25***
$У_{кэ}$	0,44±0,02	0,45±0,02	0,47±0,02	0,42±0,02	0,47±0,02	0,47±0,02
$S_{кэ}$	1010,54±70,01	1120,62±67,01***	1144,41±90,19	1159,20±109,45	1144,41±90,19	1500,00±93,63***
$P_{кэ}$	170,68±5,78	171,37±5,13	164,79±3,14	181,94±4,43	187,54±6,32	214,85±9,30***
$L_{л}$	2,36±0,04***	1,60±0,03	1,74±0,05	1,81±0,05	1,53±0,02	1,97±0,07
$T_{л}$	0,76±0,02***	0,58±0,02	0,41±0,01	0,48±0,01	0,48±0,02	0,44±0,02
$У_{л}$	0,32±0,01	0,37±0,01	0,24±0,01	0,27±0,01	0,32±0,01	0,22±0,01

Примечание: $K_{трх}$ – количество трихом в 50 мкм длины желоба листа; $K_{уст}$ – количество устьиц в 50 мкм длины желоба листа;

$L_{кэ}$, мкм – длина клетки эпидермы; $T_{кэ}$, мкм – толщина клетки эпидермы; $У_{кэ}$ – удлинённость клетки эпидермы; $S_{кэ}$, мкм² – площадь клетки эпидермы; $P_{кэ}$, мкм – периметр клетки эпидермы; $L_{л}$, мм – длина листа; $T_{л}$, мм – толщина листа; $У_{л}$ – удлинённость листа; N – повторность измерений. *** – признаки, на которых основывается дифференциация изученных популяций *C. vulgaris* (при $p \leq 0.00001$)

выявлены в Сыктывкаре (0,37±0,01), а минимальные – в Лондоне (0,22±0,01). В отличие от малоизменчивых параметров клеток хлоренхимы, линейные размеры клеток эпидермы в крайних географических точках (Лондон, Заводоуспенское) различаются на 18% (63,18±2,94 мкм и 53,10±2,00 мкм соответственно) по длине клетки и на 27% по толщине (29,55±1,25 мкм и 23,24±1,35 мкм соответственно). Показатель удлинённости клетки эпидермы увеличивается в направлении с востока (0,44±0,02) на запад (0,47±0,02) с небольшим спадом в Гомеле (0,42±0,02). Максимальное число устьиц отмечено в Лондонской популяции (17,70±1,02), а минимальное – в Пензенской (9,74±0,46). Вероятно, достоверно большее число устьиц в Лондоне – результат адаптации к интенсивной транспирации в условиях атлантического климата по сравнению с континентальным климатом лесостепи Русской равнины (Пенза).

С трендами признаков морфо-анатомической структуры листа согласуются градиенты суммы флавоноидов в некоторых популяциях вереска. В Западной Сибири, где зарегистрированы максимальные значения длины листа, сумма флавоноидов (0,503±0,007%) в 1,3 раза больше, чем в Англии (0,374±0,009%).

В целом для европейских популяций характерно снижение среднего значения суммы флавоноидов почти в два раза (0,392±0,002%) по сравнению с западносибирскими (0,699±0,006%). Достоверные различия по сумме флавоноидов отмечены между крайними популяциями трансекты (Лондон, Тавда) (tST = 396,64 при $P \leq 0,00001$). У всех остальных морфолого-анатомических параметров также наблюдается постепенное увеличение с востока на

запад ареала с резким снижением на юге (Пенза, Гомель) (табл. 2).

Согласно результатам теста Kruskal-Wallis популяции *C. vulgaris* наиболее чётко дифференцируются по 6 из 16 параметров годичного побега. Выборка Лондон обособляется от всех остальных популяций по числу устьиц на единицу длины желоба листа и периметру клетки эпидермы, Гомель – по числу трихом, Пенза – по числу устьиц, Сыктывкар – по периметру клетки эпидермы, Заводоуспенское – по толщине листа.

Вывод. По параметрам линейных размеров семян «центральных» и маргинальных популяций *C. vulgaris* на изучавшейся географической трансекте от Приатлантики до Притоболья Западной Сибири не выявлено достоверных различий. Тем не менее резкое увеличение средних размеров длины и толщины листа вереска установлено при переходе от восточно-европейских к притобольским популяциям. В общем направлении с запада на восток ареала выявлено вначале резкое падение градиента комплекса морфо-анатомических признаков листа (от островной популяции Лондон к береговой приатлантической Бордо), а затем его быстрый рост (почти на порядок величин) по мере удаления от Атлантики. Таким образом, впервые установлен статистически достоверный географический тренд изменений фенотипических признаков ассимиляционного аппарата вереска в пределах его ареала. Вероятно, это отражает увеличение интенсивности процессов его адаптивной фенотипической радиации в связи с повышением континентальности климата. Вопреки ожиданиям, в том же направлении, а также и в направлении с севера на юг ареала, на данном материале пока не

отмечается увеличения признаков ксероморфизма листьев *C. vulgaris*. Количественные географические тренды экологически модификационных фенотипических признаков *C. vulgaris* могут быть выявлены лишь в сопоставимых условиях среды, например под пологом географически замещающих типов сосновых лесов с близкой световой и корневой конкуренцией древостоя-эдификатора.

Литература

1. Горчаковский П.Л. К географии, экологии и истории формирования ареала вереска // Ботанический журнал. 1962. № 9. С. 1244–1257.
2. Шелюто В.Л., Онегин С.В., Фурса Н.С. Обнаружение, выделение, физико-химическое изучение и количественное определение флавоноидов в траве вереска обыкновенного // Вестник фармации. 2007. № 2 (36). С. 15–25.
3. Санников С.Н. Генетическая и фенотипическая дифференциация Притобольских и Европейских популяций *Calluna vulgaris* (L.) HulL. / С.Н. Санников, И.В. Петрова, О.С. Дымшакова, О.Е. Черепанова // Генетика. 2014. Т. 50. № 9. С. 1050–1058.
4. Gimingham C.H. Biologikal flora of British Isles: *Calluna Salisb.* A monotypic genus // J. Ecology. 1960. VoL. 48. N. 2. P. 455–483.
5. Fag ndez J., Izco J. Seed morphology of *Calluna salisb.* (Ericaceae) // Acta Botanica Malacitana. № 29. 2004. P. 215–220.
6. Barclay-Estrup P., Gimingham C.H. Seed-shedding in a Scottish heath community // Journal of Vegetation Science. № 5. 1994. P. 197–204.
7. Fraga M.I. Valor taxon mico de la morfolog a de las semillas en las especies del genero *Erica* presentes en el NO de Espaa // Acta Bot. Malacitana. 1984. № 9. P. 147–152.
8. Gaudio N. Growth and morphology of three forest understorey species (*Calluna vulgaris*, *Molinia coerulea* and *Pteridium aquilinum*) according to light availability / N. Gaudio, P. Balandier, Y. Dumas, C. Ginisty // Forest Ecology and Management. Elsevier. 2011. 261 (3). P. 489–498.