

## Таксономическое значение строения эпидермы листовой пластинки на уровне секций алтайских овсяниц (*Festuca* L.)

### Taxonomic value of the leaf blade epidermal structure at the sectional level of Altai fescue (*Festuca* L.)

Крючкова Е. А.<sup>1,2</sup>, Олонова М. В.<sup>1</sup>, Баяхметов Е. Ж.<sup>1,3</sup>, Гудкова П. Д.<sup>1,2</sup>

Kriuchkova E. A.<sup>1,2</sup>, Olonova M. V.<sup>1</sup>, Baiakhmetov E. Z.<sup>1,3</sup>, Gudkova P. D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Томский государственный университет, гербарий им. П. Н. Крылова, г. Томск, Россия. E-mail: olonova@list.ru

<sup>1</sup> Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Россия. E-mails: 79831087227@yandex.ru; pdgudkova2017@yandex.ru

<sup>2</sup> Altai State University, Barnaul, Russia

<sup>3</sup> Ягеллонский университет, г. Краков, Польша. E-mail: evgenii.baiakhmetov@doctoral.uj.edu.pl

<sup>3</sup> Jagiellonian University, Krakow, Poland

**Реферат.** Представлены результаты исследования эпидермы листовых пластинок 16 алтайских видов рода *Festuca*, проведенные с использованием сканирующей электронной микроскопии. Результат факторного анализа смешанных данных продемонстрировал секционное деление изученных видов, подтверждающее предыдущие филогенетические исследования, за исключением секции *Aulaxyper* Dumort. Наибольшее таксономическое значение имели признаки абаксиальной стороны листовых пластинок: форма длинных клеток и кремниевых тел, а также расположение последних.

**Ключевые слова.** Алтайская горная страна, микроморфологические признаки, систематика, СЭМ, *Festuca*.

**Summary.** Here we present results of our study on the leaf blades epidermis using scanning electron microscopy for 16 species of *Festuca* from Altai. The factor analysis of mixed data revealed markedly differentiated groups according to their sectional division. This result supports the previous phylogenetic findings in the genus, except the section *Aulaxyper*. The study also demonstrates the importance of the abaxial side of leaves in taxonomic treatment of the species, specifically the shape of long cells and silicon bodies, as well as the location of the latter.

**Keywords.** Altai Mountain Country, *Festuca*, micromorphological characters, SEM, systematic.

**Введение.** Род *Festuca* L. принадлежит к трибе *Poeae* R.Br., подтрибе *Loliinae* Dumort., и является одним из наиболее крупных в семействе *Poaceae* Barnhart, насчитывая около 450 видов, распространенных преимущественно во всех холодных, умеренно теплых и субтропических странах обоих полушарий и горных районах тропиков (Цвелев, 1976; Clayton, Renvoize, 1986; Soreng et al., 2017). Большинство представителей рода являются доминантами и содоминантами различных фитоценозов и образуют обширные пастбища в Европе, Азии и Америке, имеют большое значение как кормовые, а также как противоэрозионные (Серебрякова, 1968; Darbyshire, Pavlick, 1997). Многие виды отличаются высоким полиморфизмом, что во многом обусловлено широкой экологической амплитудой. Как и большинство представителей семейства *Poaceae*, овсяницы представляют особую сложность при таксономической обработке, так как имеют малое количество признаков-дискриминантов и небольшое число их состояний. Особенностью исследуемого рода является высокая значимость использования анатомических признаков, видимых на поперечном срезе листовых пластинок вегетативных побегов: форма среза, количество и форма ребер, количество и расположение проводящих пучков, расположение тяжей склеренхимной ткани, что является неотъемлемой частью понимания видов (Nackel, 1882;

Цвелев, 1976; Алексеев, 1980, 1990). В последнее время была показана высокая значимость микроморфологических признаков эпидермы листа и нижних цветковых чешуй для видов испанских, канадских, североамериканских и африканских овсяниц (Aiken, Lefkovitch, 1984; Fuente, Ortunez, 1996, 1997, 2000, 2001; Ortunez, Fuente, 2010; Ortunez, Cano-Ruiz, 2013; Stančik и Peterson, 2007; Namaganda et al., 2009). Таким образом, микроморфологическое изучение листовых пластинок алтайских овсяниц представляется весьма перспективным. Целью данного исследования было выявление особенностей анатомического строения листовых пластинок и их значимость для уточнения секционного деления.

**Материалы и методы.** Материалами для исследования послужили коллекции Гербария имени П. Н. Крылова (ТК) и Алтайского государственного университета (АЛТУ) с территории Алтайской горной страны (АГС). Были изучены листовые пластинки 16 наиболее распространенных видов овсяниц, принадлежащие к следующим под родам и секциям: под род *Drymanthele* Krecz. et Bobrov (секция *Phaeochloa* Griseb.), под род *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. (секция *Schedonorus*, секция *Plantynia* (Dumort.) Tzvelev), под род *Festuca* Tzvelev (секция *Aulaxyper*, секция *Festuca* Tzvelev), под род *Leucopoa* (Griseb.) Tzvelev (секция *Leucopoa* (Griseb.) Krivot.; секция *Breviaristatae* Krivot.). Секционное деление приводится в соответствии с последней системой овсяниц, основанной как на морфологических, так и на молекулярно-генетических данных (Catalan et al., 2004, 2007; Torrecilla, Catalan, 2002; Torrecilla et al., 2003; Muller, Catalan, 2006). Для исследования структуры эпидермы на сканирующем электронном микроскопе отбирались только хорошо развитые листовые пластинки вегетативных побегов. Фрагменты листовых пластинок размером 0,5×1 см из средней части листовой пластинки закреплялись на металлических столиках с помощью двусторонней углеродной клейкой ленты. Адаксиальная и абаксиальная поверхности листовой пластинки рассматривались отдельно. Для уменьшения влияния заряда их покрывали золотом путем термического напыления в вакууме на установке «Quorum» Q150 RS (Корея). Исследование и фотографирование производилось с использованием сканирующего электронного микроскопа SNE-4500M (Корея) при увеличении x150 и x600 раз, образцы под рода *Schedonorus* и *Drymanthele* – при увеличении x 95 и x 300 раз. Учитывалось 16 признаков для абаксиальной и 13 для адаксиальной стороны. Описание производилось в соответствии с терминологией, предложенной С. Metcalfe (1960), Н. Т. Clifford и L. Watson (1977), R. P. Ellis (1979) и E. Ortunez, V. de la Fuente (2010). Для описания были использованы следующие признаки: тип поверхности, форма длинных клеток, форма периклиальных стенок, форма антиклинальных стенок длинных клеток, ширина антиклинальных стенок длинных клеток, соотношение высоты антиклинальных и периклиальных стенок, форма кремниевых клеток, распространение кремниевых клеток, частота кремниевых клеток, частота трихом, распространение трихом, распространение коротких клеток, форма коротких клеток, отношение длины трихом и их основания, форма устьиц, распространение устьиц, частота устьиц.

После проведения измерений и описания признаков была создана матрица признаков в пакете программ Excel. Статистическая обработка микроморфологических признаков проводилась методом факторного анализа смешанных данных (FAMD; Pagès, 2004) в RStudio версия 1.1.463 (RStudio Team, www.rstudio.com) с применением пакета FactoMineR (Husson et al., 2015). Количество основных компонент определено с помощью Scree's test (Cattell, 1966). Визуализация объектов в осях первых трех компонент произведена в RStudio с использованием пакета plotly (Sievert et al., 2017).

**Результаты и обсуждение.** Результат факторного анализа смешанных данных показал разделение всего массива данных на шесть групп в осях первых трех компонент (рис. 1А). Относительно первой оси произошло разделение объектов на 2 группы, наиболее сконцентрированную – узколистных овсяниц, с обособлением секции *Breviaristatae* и достаточно рассеянную – широколистных, также с обособлением секции *Leucopoa*. Это подтверждает филогенетические и микроморфологические исследования овсяниц, которые показывают расхождение клад узколистных и широколистных овсяниц (Catalan et al., 2004, 2007; Torrecilla et al., 2003; Muller, Catalan, 2006; Namagande et al., 2009; Ortunez, Fuente, 2010; Zarinkamar, Jouyandeh, 2011; Ortunez, Cano-Ruiz, 2013). На первую ось, которая отражает 25,91 % общей изменчивости, наибольшее значение оказали признаки абаксиальной стороны: форма длинных клеток, форма, ширина антиклинальных стенок длинных клеток, расположение кремниевых

тел, тип поверхности, расположение устьиц, соотношение высоты антиклинальных и периклинальных стенок длинных клеток; адаксиальной стороны: расположение кремниевых тел, форма длинных клеток.

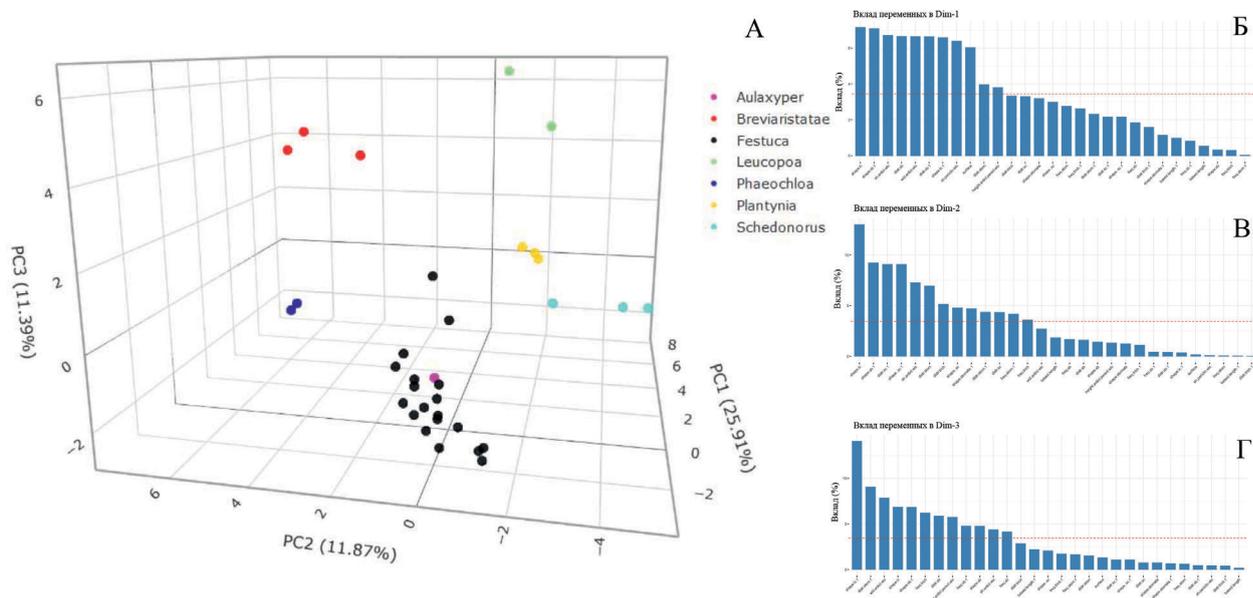


Рис. 1. Факторный анализ смешанных данных: А – график распределения секций рода *Festuca* на основе микроморфологических признаков листовых пластинок в осях первых трех главных компонент; вклад признаков в: Б – первую компоненту; В – вторую компоненту; Г – третью компоненту.

Относительно первой компоненты отделилась секция *Phaeochloa*, а также произошло кардинальное расхождение *Leucopoa* и *Breviaristatae*, не только по первой, но и по второй компоненте. Было выявлено значительное число признаков, отличающих секцию *Phaeochloa* от других широколистных овсяниц: на абаксиальной стороне имеются длинные клетки веретеновидной формы, отсутствуют короткие клетки, на адаксиальной устьица и кремниевые клетки вытянутой формы с извилистыми краями расположены в области над жилками, присутствуют короткие клетки вытянутой формы (рис. 2).

Вторая ось, отражающая 11,87 % общей нагрузки, обусловлена следующими признаками с абаксиальной стороны: форма длинных клеток, форма антиклинальных стенок длинных клеток, расположение устьиц, расположение трихом, форма коротких клеток, расположение коротких клеток и трихом; адаксиальной стороны: форма кремниевых тел, расположение, форма коротких клеток, форма, расположение и частота устьиц. Относительно данной оси разделение произошло на группу узколистных, включив секцию *Breviaristatae*, и широколистных, включив секцию *Leucopoa*.

Для секций *Festuca*, *Aulaxyper* и *Breviaristatae* общими признаками является прямоугольная на абаксиальной стороне форма длинных клеток, сильно извилистые антиклинальные длинные стенки, равны половине или полной ширине длинных клеток, равномерное расположение кремниевых клеток по поверхности листовой пластинки (за исключением *F. altaica* Trin., не имеющей кремниевых клеток), недифференцированное на зону над жилками и между жилок строение эпидермы (кроме *F. tristis* Krylov et Ivanizk.), отсутствие устьиц; на адаксиальной стороне: отсутствие кремниевых тел и веретеновидная форма длинных клеток характерная только для секций *Aulaxyper* и *Festuca*. Секции *Phaeochloa*, *Plantynia* и *Schedonorus* имеют с обеих сторон дифференцированное строение эпидермы, кремниевые клетки, расположенные в зоне над жилками, на адаксиальной стороне длинные клетки веретеновидной формы в зоне над жилками и прямоугольной в зоне между жилок, тонкие антиклинальные стенки длинных клеток (рис. 2).

На третью ось (11,39 % дисперсии) оказали наибольшее влияние признаки абаксиальной стороны: ширина антиклинальных стенок длинных клеток, форма длинных клеток, частота трихом, располо-

жение, форма, частота кремниевых тел, соотношение высоты антиклинальных и периклинальных стенок длинных клеток, форма антиклинальных стенок, адаксиальной стороны: форма длинных клеток, расположение устьиц, форма кремниевых тел, частота кремниевых тел.



Рис. 2. Фрагменты листовых пластинок абаксимальной (А, Б, В, Г, И, Й, К) и адаксиальной (Д, Е, Ж, З, Л, М, Н) сторон: А, Д – *F. pratensis* Huds. (*Schedonorus*); Б, Е – *F. gigantea* (L.) Vill. (*Plantynia*); В, Ж – *F. altissima* All. (*Phaeochloa*); Г, З – *F. altaica* (*Breviaristatae*); И, Л – *F. ovina* L. (*Festuca*); Й, М – *F. rubra* L. (*Aulaxyper*); К, Н – *F. sibirica* Hack. ex Boiss. (*Leucopoa*): кт – кремниевые тела, кк – короткие клетки, у – устьица, в – волоски, ш – шипики.

Так, для секции *Breviaristatae* характерными признаками, отделяющими ее от группы узколистных овсяниц, являются на адаксиальной стороне длинные клетки удлиненной формы, высокая частота трихом от 13 до 31 в поле зрения на 300. Виды *F. tristis* и *F. altaica* имеют несколько разное строение эпидермы, обусловленное отсутствием кремниевых тел у последнего.

**Заключение.** Проведенные исследования микроморфологических признаков листовой пластинки вегетативных побегов овсяниц территории АГС показали таксономическую ценность на секционном уровне. Так, FAMD анализ продемонстрировал большее значение признаков абаксиальной стороны, чем адаксиальной. Наибольшее значение имела форма длинных клеток и кремниевых тел, а также расположение последних. На адаксиальной стороне значимость кремниевых тел и коротких клеток, присутствующих только у секций *Leucopoa*, *Phaeochloa*, *Schedonorus*, *Plantynia*, и, следовательно, имеющих таксономическое значение при разведении данных секций между собой. Секции *Leucopoa* и *Breviaristatae* имеют различное строение эпидермы, что ставит под сомнение их родство и принадлежность к одному подроду. Разделение представителей секций *Festuca* и *Aulaxyper*, ранее входивших в одну, не произошло, что требует более детального исследования этого вопроса с применением современных молекулярных маркеров.

**Благодарности.** Исследования поддержаны грантами РФФИ (19-04-00973) и Фондом президентских грантов (МК-88.2020.4).

#### ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев Е. Б.** Овсяницы Кавказа. – М.: Изд-во Московского ун-та, 1980. – 180 с.
- Алексеев Е. Б.** *Festuca* L. // Флора Сибири. Poaceae (Gramineae). – Новосибирск: Наука, 1990. – Т. 2. – С. 132–146.
- Серебрякова Т. И.** Вопросы морфогенеза цветковых растений и строения их популяций. – М.: Наука, 1968. – 51 с.
- Цвелев Н. Н.** Злаки СССР. – Л.: Наука, 1976. – 788 с.
- Aiken S. G., Lefkovich L. P.** The taxonomic value of using epidermal characteristics in the Canadian rough fescue complex (*Festuca altaica*, *F. campestris*, *F. hallii*, “*F. scabrella*”) // Can. J. Bot., 1984. – Vol. 62 – Pp. 1864–1870.
- Catalan P., Torrecilla P., Lopez-Rodriguez J. A., Muller J., Stace C. A.** A systematic approach to subtribe Loliinae (Poaceae: Pooideae) was based on phylogenetic evidence // Aliso, 2007. – Vol. 23. – Pp. 380–405.
- Catalan P., Torrecilla P., Lopez-Rodriguez J. A., Olmstead R. G.** Phylogeny of the festucoid grasses of subtribe Loliinae and allies (Poaceae, Pooideae) inferred from ITS and trnL-F sequences // Mol. Phylog. Evol., 2004. – Vol. 31, № 2. – Pp. 517–541.
- Cattell R. B.** The scree test for the number of factors. Multivariate Behav Res., 1966 – Vol. 1 – Pp. 245–276.
- Clayton W. D., Renvoize S. A.** Genera Graminum: grasses of the world // Kew. Bull. Addit. Ser., 1986. – Vol. 8. – P. 1–389.
- Clifford H. T., Watson L.** Identifying grasses. Data, methods and illustrating. – Brisbane, 1977. – 146 pp.
- Darbyshire S. J., Pavlick L. E.** Nomenclatural notes on North American grasses // Phytologia, 1997. – Vol. 82. – № 2. – P. 73–78.
- Ellis R. P.** A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae. II. The epidermis as seen in surface view // Bothalia, 1979. – Vol. 12. – Pp. 641–671.
- Fuente V., Ortunez E.** *Festuca* seccion *Schedonorus*, subgenero *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. en la Peninsula Iberica // Lazaroa, 1996. – Vol. 17. – Pp. 7–32.
- Fuente V., Ortunez E.** Biosistemática de la seccion *Festuca* del genero *Festuca* L. (Poaceae) en la Peninsula Iberica. – Universidad Autonoma de Madrid, Contoblanco, Madrid, 1997. – 126 pp.
- Fuente V., Ortunez E.** Nueva especie de *Festuca* L. seccion *Festuca* (Poaceae) en la Peninsula Iberica // Lazaroa, 2000. – Vol. 21. – Pp. 3–6.
- Fuente V., Ortunez E.** *Festuca* L. section *Eskia* Willk. subgenus *Festuca* in the Iberian Peninsula // Folia Geobot., 2001. – Vol. 36. – Pp. 385–421.
- Hackel E.** Monographia Festucarum Europaeorum. – Kassel, T. Fischer, 1882. – 230 p.
- Husson, F., Josse, J., Le S., Mazet, J.** FactoMineR: multivariate exploratory data analysis and data mining. URL: <http://factominer.free.fr> (Accessed 2015).
- Metcalfe C. R.** Anatomy of the Monocotyledons. Gramineae. – Oxford: Clarendon Press, 1960. – Vol. I. – 731 pp.

- Müller J., Catalan P.** Notes on the Infrageneric Classification of *Festuca* L. (Gramineae) // *Taxon*, 2006. – Vol. 55. – № 1. – P. 139–144.
- Namaganda M., Krekling T., Lye K. A.** Leaf anatomical characteristics of Ugandan species of *Festuca* L. (Poaceae) South African // *Journal of Botany*, 2009. – № 75. – Pp. 52–59.
- Ortunez E., Cano-Ruiz J.** Epidermal micromorphology of the genus *Festuca* L. subgenus *Festuca* (Poaceae) // *Plant Syst. and Evol.*, 2013. – Vol. 299. – Pp. 1471–1483.
- Ortunez E., Fuente V.** Epidermal micromorphology of the genus *Festuca* L. (Poaceae) in the Iberian Peninsula // *Plant Syst. and Evol.*, 2010. – Vol. 284, №3. – Pp. 201–218.
- Pagès, J.** Analyse Factorielle de Donnees Mixtes // *Revue Statistique Appliquee*, 2004. – № 4. – Pp. 93–111.
- RStudio Team.** RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. URL: [www.rstudio.com](http://www.rstudio.com) (Accessed 2016).
- Sievert C., Parmer C., Hocking T., Chamberlain S., Ram K., Corvellec M., Despouy P.** Plotly: create interactive web graphics via 'plotly.js'. URL: <https://rdrr.io/cran/plotly/> (Accessed 2017).
- Soreng R. J., Peterson P. M., Romaschenko K., Davidse G., Teisher J. K., Clark L. G., Barber P., Zuloaga F. O.** A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae) II: An update and a comparison of two 2015 classifications // *Journal of Systematics and Evolution*, 2017. – Vol. 55. – Pp. 259 – 290.
- Stančík D. P., Peterson M.** A revision of *Festuca* (Poaceae: Loliinae) in South American páramos // *Contributions from the United States National Herbarium*, 2007. – Vol. 56. – Pp. 1–184.
- Torrezilla P., Catalan P.** Phylogeny of broad-leaved and fineleaved *Festuca* Lineages (Poaceae) based on Nuclear ITS Sequences // *Syst. Bot.*, 2002. – Vol. 27. – Pp. 241–251.
- Torrezilla P., Lopez Rodriguez J.A., Stancik D. and Catalan P.** Systematics of *Festuca* L. sects. *Eskia* Willk., *Pseudatropis* Kriv., *Amphigenes* (Janka) Tzvel., *Pseudoscariosa* Kriv. and *Scariosae* Hack. based on analysis of morphological characters and DNA sequences // *Plant Systematics and Evolution*, 2003. – Vol. 239. – P. 113–139.
- Watson D., Dalwitz M. J.** The grass genera of the world. – C.A.B. International. Wallingford, 1992. – 1088 pp.
- Zarinkamar F., Jouyandeh N. E.** Foliar anatomy and micromorphology of *Festuca* and its taxonomic applications // *Taxonomy and Biosyst.*, 2011. – № 8. – Pp. 55–63.