

CRENATE фитолиты эпидермы листьев *Agrostidinae* Fr. Потенциал морфометрических исследований

CRENATE phytoliths in the leaf epidermis of *Agrostidinae* Fr. Potential of morphometric studies

Соломонова М. Ю.

Solomonova M. Yu.

Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Россия. E-mail: m_solomonova@list.ru
Altai State University, Barnaul, Russia

Реферат. Представленная статья посвящена результатам морфометрических исследований одного из основных морфотипов фитолитов *Pooideae* Benth. CRENATE среди некоторых представителей подтрибы *Agrostidinae*. Анатомические особенности тканей растений широко используются для целей систематики. Морфометрические исследования фитолитов показывают высокий уровень специфичности фитолитов. Подобные статьи обычно направлены на изучение культурных злаков и их отличий от диких сородичей. Дискуссионным остается вопрос о специфичности морфометрических характеристик на уровне рода или вида. Проведенное исследование основано на изучении CRENATE фитолитов в трех видах *Agrostidinae*. Было изучено 17 морфометрических показателей фитолитов и проведен подсчет количества лопастей. Анализ данных включал в себя выборочную оценку средних значений и стандартного отклонения. Итоговая матрица данных обработана методом дискриминантного анализа. В результате было выявлено, что у вида *Agrostis gigantea* Roth по сравнению с *Calamagrostis* Adans., наблюдаются более крупные и вытянутые фитолиты, за счет большей длины и количества лопастей. Дискриминантный анализ показал точность классификации между родами *Agrostis* и *Calamagrostis* 80 %. Пересекающаяся область данных образована за счет того, что у обоих видов образуются минимально трехлопастные фитолиты.

Ключевые слова. Анатомия листьев, размер клеток, фитолиты, *Agrostis*, *Calamagrostis*.

Summary. The presented article is devoted to the results of morphometric studies one of the main morphotypes of *Pooideae* CRENATE phytoliths among some representatives of the subtribe *Agrostidinae*. The anatomical features of plant tissues are widely used for taxonomy purposes. Morphometric studies of phytoliths show a high level of phytolith specificity. Such articles are usually aimed at studying cultivated grasses and their differences from wild relatives. The question of the specificity of morphometric characteristics at the genus or species level remains controversial. The study is based on the study of CRENATE phytoliths in three species of *Agrostidinae*. 17 morphometric indicators of phytoliths were studied and the quantity of lobes was counted. Data analysis included random estimation of means and standard deviations. The final data matrix was processed using the discriminant analysis method. As a result, it was revealed that the species *Agrostis gigantea*, compared to *Calamagrostis*, has larger and elongated phytoliths due to the greater length and number of blades. Discriminant analysis showed a classification accuracy between the genera *Agrostis* and *Calamagrostis* of 80 %. The overlapping data area is formed due to the fact that both species form minimally three-lobed phytoliths.

Key words. *Agrostis*, *Calamagrostis*, cell size, leaf anatomy, phytoliths.

Введение. Характеристика ультраструктуры эпидермы растений является систематически обусловленным признаком (Ellis, 1979; Ortunez, Fuente, 2010; Fernandez et al., 2012; Крючкова и др. 2020). Наиболее часто для этих целей используются колосковые чешуи. Фитолиты, как часть тканей растений, также могут нести таксономический сигнал. Достоверно изучена (Twiss et al., 1969; Twiss, 2001; Bremond et al., 2005, 2008) и подкреплена морфометрическими исследованиями (Hošková et al., 2022) специфичность фитолитов на уровне подсемейств Poaceae. Определенный потенциал имеется и при сопоставлении отдельных триб между собой (Соломонова и др., 2022). Но наибольшего уровня достигли морфометрические исследования фитолитов злаков и их сородичей (Ball et al., 1999; Portillo et al., 2006; Out, Madella, 2016). Одной из проблем фитолитного анализа является то, что у ряда филогенетически далеких видов, могут образовываться одинаковые по форме фитолиты, тогда как у близких

видов наоборот фитоциты могут различаться, в том числе на основе морфометрических критериев. Границы этой изменчивости может помочь установить анализ фитоцитов близких родов и видов.

Одним из важных, но наиболее вариабельным морфотипом фитоцитов *Pooideae* является CRENATE (CRE) (Neumann et al., 2019). Предположительно, в нем выделяется две формы, специфичные на уровне триб и подтриб (Соломонова и др., 2022). Впервые подобное разделение было предложено Н. К. Киселевой (1989). Она считала, что у *Agrostis* и *Calamagrostis* фитоциты одного типа, а у *Agropyron* и *Koeleria* фитоциты второго типа. Для подтверждения подобной гипотезы необходимо понимание насколько вариабельны форма и размер фитоцита одного типа между родами *Agrostis* и *Calamagrostis*.

Материалы и методы. В ходе исследования нами были изучены CRENATE фитоциты в листьях *Agrostis gigantea* Roth (2 экземпляра), *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth (3 экземпляра), *C. pseudophragmites* (Haller f.) Koeler (1 экземпляр).

Экстракция фитоцитов производилась методом сухого озоления в муфельной печи (400 °С, в течении 20 часов) с последующей обработкой соляной кислотой (Гольева, 2001). Микроскопические исследования образцов и фотографирование CRENATE фитоцитов проводилось с помощью микроскопа Olympus Vx-51, камеры Olympus XC-50 и программного обеспечения cellSens Standart. Морфометрические исследования выполнены с помощью программы ImageJ с установленным плагином PhytolithsBatch, рекомендованным международным комитетом по номенклатуре фитоцитов (Ball et al., 2016). Выборка фитоцитов для измерения составила 100 и более шт. Также для каждого вида был проведен подсчет лопастей с двух сторон. То есть, 6 и 5 лопастей с двух сторон соответствует 3-х лопастному фитоциту, 7 и 8 – 4-х лопастному. Выборка при подсчете лопастей для каждого вида составила 300 шт. фитоцитов.

Обработка результатов выполнена в программе Past 4.03. Основные результаты представлены анализом средних значений и стандартных отклонений. В рамках этой статьи проанализированы следующие характеристики фитоцитов: площадь, периметр, длина, ширина, степень вытянутости, количество лопастей. Остальные морфометрические характеристики носят схожий характер или слабо отличаются между собой. Общая матрица морфометрических данных по 17-ти классическим характеристикам (Ball et al., 2016) 692 фитоцитов обработана методом дискриминантного анализа.

Результаты и их обсуждение. На рисунке 1 (А–Д) представлены результаты анализа характеристик фитоцитов некоторых видов *Agrostidinae*. Не смотря на наличие области пересечения в характеристиках изучаемого морфотипа между видами полевицы и вейника, *A. gigantea* обладает более крупными значениями длины, площади, периметра и характеристики соотношения сторон. При приблизительно равных значениях ширины на вариабельность характеристик фитоцитов оказывает влияние именно больший диапазон длинны у CRENATE полевицы. Полученные нами данные подтверждают наличие межвидовых различий в размере и расчетных характеристиках формы фитоцита, показанные у различных родов злаков (Ball et al., 1999; Portillo et al., 2006; Hoškova et al., 2021).

Количество лопастей у фитоцитов *A. gigantea* также выше, чем у *Calamagrostis epigejos*. Для обоих видов характерны трехлопастные фитоциты, но у полевицы они присутствуют значительно реже, тогда как в листьях вейника их большинство. За счет увеличения количества лопастей вид *A. gigantea* имеет более удлинённые CRENATE фитоциты. Для территории умеренных широт при разработке палео-индексов встречается использование значения количества лопастей равное 5 (при учете с одной стороны), как границу между лесными и степными фитоценозами (Blinnikov, 2005; Jarl, Bruch, 2023). В частности, для вида *Calamagrostis rubescens* Buckley отмечено наличие 3–4 лопастных фитоцитов в близком соотношении (17 : 20 %) с 5+ фитоцитами (Blinnikov, 2005). Полученные нами данные указывают на спорность подобного деления и необходимость дальнейшего изучения этого вопроса.

Дискриминантный анализ (табл. 1) вывил высокую степень точности классификации (80 %) между двумя исследуемыми родами. При этом фитоциты вейника классифицируются правильно на 85 %, а фитоциты *A. gigantea* на 69 %. Более низкая точность классификации фитоцитов полевицы связана с тем, что часть ее трехлопастных форм были классифицированы как фитоциты вейника. Подобный уровень точности классификации показывают между собой VILOBATE фитоциты *Setaria italica* (L.) P. Beauv. и *Panicum miliaceum* L. (Out, Madella, 2016). Изначально для CRENATE фитоцитов полевицы и вейника предполагалась более точная классификация из-за вариативности числа лопастей по сравнению с VILOBATE. Но были получены близкие значения. В тоже время точность классификации между фитоцитами CRENATE у полевицы и вейника значительно выше, чем в пределах одного вида, собранного из различных популяций, которая была получена на примере *Dactylis glomerata* L. (Solomonova et al., 2023).

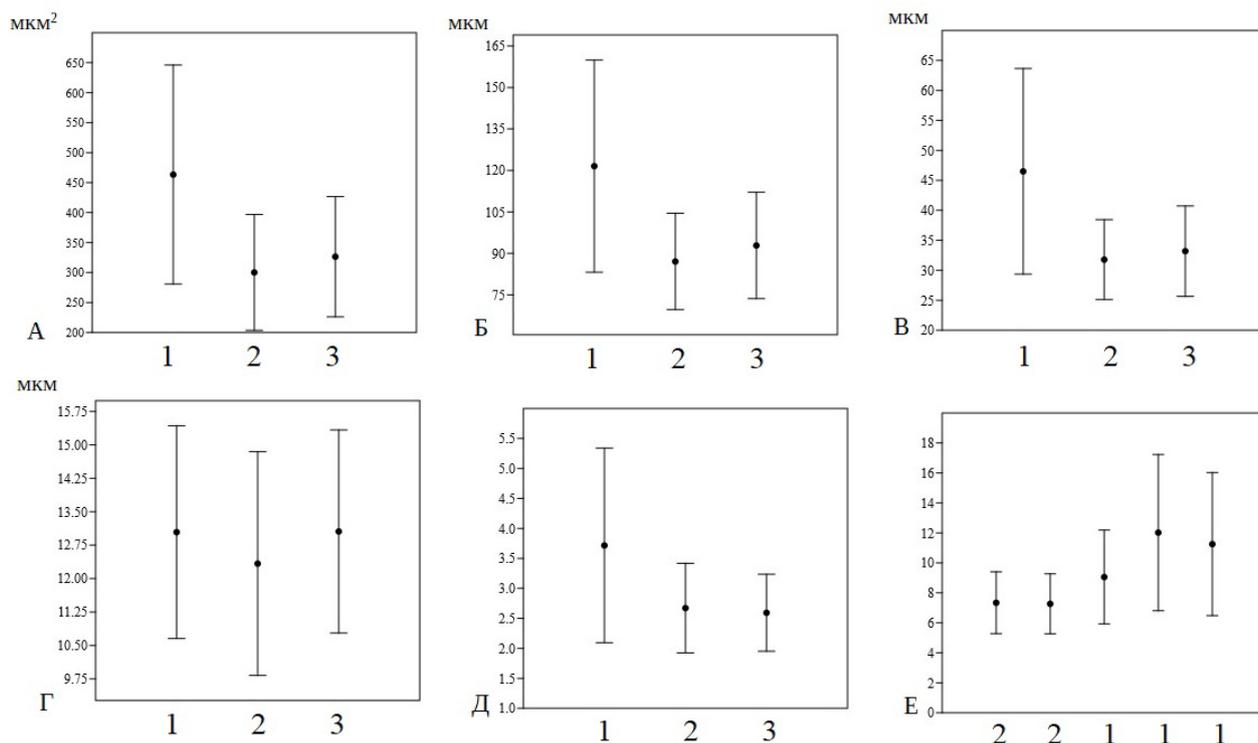


Рис. 1. Характеристики CRENATE фитолитов исследуемых видов: 1 – *Agrostis gigantea*, 2 – *Calamagrostis epigejos*, 3 – *C. pseudophragmites*; А – площадь, Б – периметр, В – длина, Г – ширина, Д – соотношение сторон, Е – количество лопастей. На рисунке точкой обозначена среднее значение, границы линии соответствуют стандартному отклонению.

Таблица 1

Результаты классификации фитолитов методом дискриминантного анализа

	<i>Agrostis</i>	<i>Calamagrostis</i>	Заданная классификация
<i>Agrostis</i>	145	65	210
<i>Calamagrostis</i>	72	410	482
Итоговая классификация	217	475	692

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о значимых различиях между фитолитами одной формы двух разных родов подтрибы *Agrostidinae*. Специфичность морфометрических характеристик CRENATE фитолитов указывает на возможность их использования в таксономических целях. Подобные исследования расширяют границы фитолитного анализа. Открывают возможности определения фитолитов на уровне триб, подтриб.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-74-01026, <https://rscf.ru/project/23-74-01026/> на базе ФГБОУ ВО Алтайский государственный университет.

ЛИТЕРАТУРА

Гольева А. А. Фитолиты и их информационная роль в изучении природных и археологических объектов. – М.; Сыктывкар: Элиста, Полтекс, 2001. – 140 с.

Киселева Н. К. Фитолитный анализ зоогенных отложений и погребенных почв // История степных экосистем Монгольской Народной Республики / Ред. Л. Г. Динесман, Н. К. Киселева, А. В. Князев. – М.: Наука, 1989. – С. 15–36.

Крючкова Е. А., Олонова М. В., Баяхметов Е. Ж., Гудкова П. Д. Таксономическое значение строения эпидермы листовой пластинки на уровне секций Алтайских овсяниц (*Festuca* L.) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии, 2020. – Т. 19, № 2. – С. 117–122. DOI: 10.14258/pbssm.202008

Соломонова М. Ю., Сперанская Н. Ю., Блишников М. С., Жембровская Т. А., Силантьева М. М. Разделение волнистых и полилопастных форм фитолитов морфотипа «crenate» у видов *Pooideae* Benth. юга Западной Сибири на основе филогенетических данных // Turczaninowia, 2022. – Т. 25, № 4. – С. 122–135. DOI: 10.14258/turczaninowia.25.4.13

Ball T. B., Gardner J. S., Nicole A. Identifying inflorescence phytoliths from selected species of wheat (*Triticum monococcum*, *T. dicocum*, *T. dicoccoides* and *T. aestivum*) and barley (*Hordeum vulgare* and *H. spontaneum*) (Gramineae) // American Journal of Botany, 1999. – Vol. 86, No 11. – P. 1615–1623. DOI: 10.2307/2656798

Ball T. B., Davis A., Evett R. R., Ladwig J. L., Tromp M., Out W. A., Portillo M. Morphometric analysis of phytoliths: recommendations towards standardization from the International Committee for Phytolith Morphometrics // Journal of Archaeological Science, 2016. – No 68. – P. 106–111. DOI: 10.1016/j.jas.2015.03.023.

Blinnikov M. S. Phytoliths in plants and soils of the interior Pacific Northwest, USA // Rev. Palaeobot. Palynol., 2005. – No 135. – P. 71–98. DOI:10.1016/j.revpalbo.2005.02.006

Bremond L., Alexandre A., Peyron O., Guiot J. Grass water stress estimated from phytoliths in West Africa // J. Biogeogr., 2005. – Vol. 32, No 2. – P. 311–327. DOI: 10.1111/j.1365-2699.2004.01162.x.

Bremond L., Alexandre A., Wooller M. J., Hély C., Williamson D., Schäfer P. A., Majule A., Guiot J. Phytolith indices as proxies of grass subfamilies on East African tropical mountains // Global and Planetary Change, 2008. – Vol. 61, No (3–4). – P. 209–224. DOI: 10.1016/j.gloplacha.2007.08.016.

Ellis R. P. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae. II. The epidermis as seen in surface view // Bothalia, 1979. – No 12. – P. 641–671.

Fernandez M. G., Zucol A., Arriaga M. O. Comparative phytolith analysis of *Festuca* (Pooideae: Poaceae) species native to Tierra del Fuego, Argentina // Botany, 2012. – Vol. 90, No 11. – P. 1113–1124. DOI: 10.1139/b2012-070

Hošková K., Neustupa J., Pokorný P., Pokorná A. Phylogenetic, ecological and intraindividual variability patterns in grass phytolith shape // Ann. of Bot., 2022. – Vol. 129, No 3. – P. 303–313. DOI: 10.1093/aob/mcab143.

Hošková K., Pokorná A., Neustupa J., Pokorný P. Inter- and intraspecific variation in grass phytolith shape and size: a geometric morphometrics perspective // Ann of Bot., 2021. – No 127. – P. 191–201. DOI: 10.1093/aob/mcaa102.

Jarl J., Bruch A. A. Modern phytolith assemblages as indicators of vegetation in the southern Caucasus // Veget. Hist. Archaeobot., 2023. – No 32. – P. 561–581. DOI: 10.1007/s00334-023-00921-5.

Neumann K., Strömberg C., Ball T., Albert R. M., Vrydaghs L., Cummings L. S. International Code for Phytolith Nomenclature (ICPN) 2.0 // Annals of Botany, 2019. – Vol. 124, No 2. – P. 189–199. DOI: 10.1093/aob/mcz064

Ortunez E., Fuente V. Epidermal micromorphology of the genus *Festuca* L. (Poaceae) in the Iberian Peninsula // Plant Syst. and Evol., 2010. – Vol. 284, No 3. – P. 201–218. DOI:10.1007/s00606-009-0248-7

Out W. A., Madella M. Morphometric distinction between bilobate phytoliths from *Panicum miliaceum* and *Setaria italica* leaves // Archaeological and Anthropological Sciences, 2016. – Vol. 8, No 3. – P. 505–521. DOI:10.1007/s12520-015-0235-6

Portillo M., Ball T. B., Manwaring J. Morphometric analysis of inflorescence phytoliths produced by *Avena sativa* L. and *Avena strigosa* Schreb. // Economic Botany, 2006. – Vol. 60, No 2. – P. 121–129. DOI:10.1663/0013-0001(2006)60[121:MA OIPP]2.0.CO;2

Twiss P. C., Suess E., Smith R. Morphological classification of grass phytoliths // Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1969. – Vol. 33, No 1. – P. 109–115. DOI: 10.2136/sssaj1969.03615995003300010030x

Twiss P. C. A curmudgeons view of grass phytolithology // Phytoliths: Applications in Earth Sciences and Human History / J. D. Meunier, F. Colin (eds.). – Lisse: Swets end Zeitlinger, 2001. – P. 7–25.

Solomonova M. Y., Zhebrovskaya T. A., Lyashchenko A. D., Kotov S. D., Speranskaya N. Y. Environmental impact on phytolith morphometric parameters by example crenate morphotype of *Dactylis glomerata* L. leaves (South of Western Siberia, Russia) // Acta Biol. Sib., 2023. – No 9. – P. 953–973. DOI: 10.5281/zenodo.10101537