

Comparative analysis of the leaf anatomy of *Phlox sibirica* L. and *Phlox sibirica* var. *borealis* (Wherry) B. Boivin

A.N. Butenkova

Siberian Botanical Garden, National Research Tomsk State University

T.N. Belyaeva

Siberian Botanical Garden, National Research Tomsk State University

In this comparative research of the leaf anatomy of *Phlox sibirica* and *Phlox sibirica* var. *borealis*, we discovered that morphometric features of the leaf blades structure in 95 % of cases significantly differ at a significance level of $P < 0.05$. Statistically significant differences were not found only in determining the stomatal index, the value of which also corresponds to other types of groundcover phlox. The studied taxa are characterized by collateral vascular bundles, an anomocytic type of the stomatal apparatus and elongated, winding epidermal cells. *Phlox sibirica* is distinguished by a better development of collenchyma strands, which provides sheet rigidity even with the loss of turgor, xylem, and the most photosynthetically active layer of mesophyll (cells of the upper layer). Thus, in the anatomical structure of the studied phloxes, the features characteristic of xerophytic-heliophytic species, more pronounced in *Phlox sibirica*, were revealed. The leaf anatomy of the studied taxa reflects their adaptation to conditions with an unfavorable water regime (ensures the maintenance of a normal water balance) and excessive lighting.

Research ARTICLE UDC 5 81.8

**Comparative analysis of the leaf anatomy of *Phlox sibirica* L.
and *Phlox sibirica* var. *borealis* (Wherry) B. Boivin**

A. N. Butenkova , T. N. Belaeva

Siberian Botanical Garden, National Research Tomsk State University

Lenin Avenue 36, Tomsk, 634050, Russia. E-mail:

In this comparative research of the leaf anatomy of *Phlox sibirica* and *Phlox sibirica* var. *borealis*, we discovered that morphometric features of the leaf blades structure in 95 % of cases significantly differ at a significance level of $P < 0.05$. Statistically significant differences were not found only in determining the stomatal index, the value of which also corresponds to other types of groundcover phlox. The studied taxa are characterized by collateral vascular bundles, an anomocytic type of the stomatal apparatus and elongated, winding epidermal cells. *Phlox sibirica* is distinguished by a better development of collenchyma strands, which provides sheet rigidity even with the loss of turgor, xylem, and the most photosynthetically active layer of mesophyll (cells of the upper layer). Thus, in the anatomical structure of the studied phloxes, the features characteristic of xerophytic-heliophytic species, more pronounced in *Phlox sibirica*, were revealed. The leaf anatomy of the studied taxa reflects their adaptation to conditions with an unfavorable water regime (ensures the maintenance of a normal water balance) and excessive lighting.

Keywords: anatomy; heliophyte; xerophyte; stomatal index; Arctic phlox; Siberian phlox

Сравнительное изучение анатомического строения листьев *Phlox sibirica* L. и *Phlox sibirica* var. *borealis* (Wherry) B. Boivin**А. Н. Бутенкова, Т. Н. Беляева***Сибирский ботанический сад Национального исследовательского Томского государственного университета**пр. Ленина, 36, г. Томск, 634050, Россия. E-mail:*

Проведенное сравнительное изучение анатомии листьев *Phlox sibirica* L. и *Phlox sibirica* var. *borealis* позволило выявить, что морфометрические признаки строения листьев в 95 % случаев достоверно отличаются при уровне значимости $P < 0,05$. Статистически значимых отличий не было обнаружено только при определении устьичного индекса, значение которого также соответствует другим видам почвопокровных флоксов. Для изученных таксонов характерны закрытые коллатеральные пучки, аномоцитный тип устьичного аппарата и удлинённые, извилистые эпидермальные клетки. *Phlox sibirica* отличается большим развитием тяжёлой колленхимы, обеспечивающей жесткость листа даже при потере тургора, ксилемы, наиболее фотосинтетически активного слоя мезофилла (клеток верхнего слоя). Таким образом, в анатомическом строении листьев изученных флоксов выявлены признаки, свойственные для ксерофитно-гелиофитных видов, более выраженные у *Phlox sibirica*. Анатомия листьев изученных таксонов отражает их адаптацию к условиям с неблагоприятным водным режимом (обеспечивает поддержание нормального водного баланса) и избыточным освещением.

Ключевые слова: анатомия; гелиофит; ксерофит; устьичный индекс; флокс северный; флокс сибирский

Введение

Сохранение разнообразия естественной растительности является приоритетной задачей современных исследований. Для сохранения вида в природе и культуре необходимо изучение его биологических особенностей, выявление адаптивного потенциала. Исследование растений с анатомической точки зрения позволяет уточнить их экологические характеристики, выявить адаптационные возможности в условиях интродукции и в некоторых случаях может быть использовано в качестве дополнительных диагностических признаков.

Особый научный интерес представляет *Phlox sibirica* L. (Polemoniaceae), включенный в региональные Красные книги Урала, Сибири и Дальнего Востока. Флокс сибирский является единственным представителем североамериканского рода *Phlox* L. на территории России. Согласно разным авторам вид относят к реликтам плиоценового степного комплекса (Smirnova, 1973) или к ледниковым реликтам позднеплейстоценового времени (Gorchakovskiy, 1969).

Ареал *Phlox sibirica* охватывает Урал, Предуралье (Башкортостан), горные и предгорные районы Южной Сибири (Алтай, Кемеровская область, Республики Тыва, Хакасия, южная часть Красноярского края, Прибайкальская Сибирь), Якутию, Монголию, северные регионы Дальнего Востока (Чукотская АО, Магаданская область). Ареал является дизъюнктивным, популяции изолированы. По данным П. Н. Крылова (Krylov, 1937) и ряда американских авторов, флокс сибирский также распространен в Северной Америке на Аляске, например, E. Hultén признавал 2 расы: *Phlox sibirica* subsp. *sibirica* (включая *Phlox alaskensis*) и *Phlox sibirica* subsp. *richardsonii*. Однако E. T. Wherry (Wherry, 1955; Grant, 2001), W. J. Cody, J. H. Locklear (Locklear, 2011) и др. приводят *Phlox sibirica* только для Евразии, описывая на северо-западе Северной Америки совокупность видов и подвидов (Elven, 2014). Согласно последней информации, выделяемый ранее как отдельный вид *Phlox borealis* Wherry, произрастающий на

открытых участках на территории штата Аляска (США), рассматривают как разновидность *Phloxsibirica* var. *borealis* (Wherry) B. Boivin (The Plant List, 2013).

По-видимому, общий предок комплекса близких видов «флокс сибирский», произрастающий на Аляске и адаптированный к условиям холодного климата, проник в кайнозое по Берингийскому перешейку на территорию Чукотки и по горным системам Байкальской Сибири спустился на территорию гор Южной Сибири, откуда впоследствии переместился на Урал и в Предуралье. Массовой миграции видов рода флокс на территорию Дальнего Востока и Сибири не произошло, так как основная часть видов рода распространена южнее, между 30-й и 50-й параллелями Северной Америки в условиях достаточно мягкого климата. Кроме того, в позднем плиоцене миграции из Азии в Северную Америку преобладали над миграциями обратного направления, т.к. процесс трансформации флоры Северной Азии в направлении приспособления к более холодному и континентальному климату опережал по времени аналогичные преобразования североамериканской флоры (Yurtsev, 1974). Впоследствии эволюция азиатских и североамериканских рас происходила отдельно друг от друга, что привело к возникновению комплекса близких таксонов (Belaeva, 2014).

Целью данного исследования было сравнение анатомического строения листьев *Phloxsibirica* и его разновидности *Phloxsibirica* var. *borealis*. Полученные данные могут быть использованы для разработки рекомендаций по интродукции вида.

Материалы и методы

Исследование анатомического строения листьев флоксов проводили в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета (г. Томск, подзона южной тайги Западной Сибири) на растениях, размещенных на экспозиции декоративных многолетников в одинаковых условиях. Образцы *Phloxsibirica* L. были собраны в Республике Хакасия, окрестностях с. Ефремкино, в долине р. Белый Июс. Образец *Phloxsibirica* var. *borealis* получен из Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина Российской академии наук (г. Москва).

Для изучения анатомического строения листьев в качестве методической основы использован ряд общепринятых методик (Vekhov, 1980), работы Ч. Ш. Каратаевой, А. С. Дариева и А. А. Паутова (Pautov, 2003; Pautov, 2012), К. Эзау (Esau, 1980a; Esau, 1980b), С. Ф. Захаревича (Zakharevich, 1954), М. А. Барановой (Baranova, 1985), устьичный индекс рассчитывали по формуле А. Kästner (Kästner, 1972).

Изучение анатомического строения листьев проводили на поперечных срезах с использованием светового микроскопа Carl Zeiss Axio Lab. A1 (Германия). Поперечные срезы делали в средней части листа или хвои на замораживающем микротоме МЗ-2. Толщину среза листовых пластинок устанавливали на 6090 мкм. Эпидерму листьев срезали в средней трети листа. Срезы делали в пятикратной повторности на листьях, собранных с пяти побегов; для каждого образца анализировали не менее 25 срезов (Appelt, 1959). Для проведения микроскопических измерений и получения изображений использована цифровая камера AxioCam ERc 5s, программа Axio Vision 4.8.

Результаты измерений обрабатывали с использованием программы Statistica 8.0. Определяли следующие показатели: M (Mean) – средняя арифметическая, m (SE) – ошибка средней арифметической, CV – коэффициент вариации признака, %. При оценке достоверности различий независимых выборок оценивали: t -критерий – значение статистики t -критерия; df – число степеней свободы, P – уровень значимости для t -критерия. Уровни варьирования приняты по Г. Н. Зайцеву (Zaytsev, 1973): $CV > 20\%$ – высокий, $CV = 11-20\%$ – средний, $CV < 10\%$ – низкий. Анатомические показатели эпидермы считаются маловариабельными, если коэффициент вариации $CV < 20\%$, средневариабельными – при $CV = 20-40\%$,

сильновариабельными – при $CV > 40\%$ (Butnik, 1987).

Результаты и их обсуждение

Для изученных флоксов характерны сидячие, мелкие, линейные остроконечные листья. Мезофилл листа дорсовентральный, однако, нижний слой губчатого мезофилла образует подобие палисадного, в результате мезофилл напоминает изолатеральный. Клетки нижнего слоя достоверно мельче клеток верхнего слоя мезофилла (рис. 1), что согласуется с полученными данными для изученных ранее видов почвопокровных флоксов (Butenkova, 2014).

Вдоль центральной жилки, а также по краям листа располагаются тяжи колленхимы, в совокупности образующие ребра жесткости, благодаря чему лист не сминается при потере тургора. Причем у *Phloxsibirica* тяжи выражены в большей степени и в районе центральной жилки проходят на всю толщину листа, что свидетельствует о более выраженной адаптации к недостатку влаги, чем у *Phloxsibirica* var. *borealis* (рис. 1) (Goryshina, 1979).

Для изученных таксонов характерны закрытые коллатеральные пучки. На поперечном срезе листа *Phloxsibirica* были отмечены в среднем 11 пучков (считая центральный), *Phloxsibirica* var. *borealis* – 3. Площадь поперечного сечения проводящего пучка флокса сибирского в 2,8 раз больше, чем у флокса северного, и *Phloxsibirica* также характеризуется более развитой ксилемой: отношение площади поперечного сечения ксилемы и флоэмы составляет $1,47 \pm 0,07$, в отличие от $0,82 \pm 0,08$ у *Phloxsibirica* var. *borealis* (табл. 1). Виды с более развитой ксилемой более приспособлены к интенсивной транспирации и проведению большего количества воды, поэтому способны произрастать в условиях повышенной температуры и высокой степени инсоляции (Agaev, 2002).

Признаки	Средняя арифметическая (M) ± ошибка средней (m) Коэффициент вариации (CV), %	
	Ph . sibirica	Ph. sibiricavar.borealis
Число клеток верхней эпидермы на 1 мм ² , шт.	234,24a ± 6,0512,91	526,086 ± 8,928,48
Число клеток нижней эпидермы на 1 мм ² , шт.	202,24a ± 4,9612,27	532,576 ± 14,9510,50
Число устьиц верхней эпидермы на 1 мм ² , шт.	62,72a ± 5,5444,14	150,406 ± 8,2627,47
Число устьиц нижней эпидермы на 1 мм ² , шт.	66,24a ± 2,5919,57	216,006 ± 10,4418,09
Длина устьиц на верхней эпидерме, мкм	51,71a ± 1,4113,62	28,896 ± 0,386,57
Ширина устьиц на верхней эпидерме, мкм	33,86a ± 0,507,38	24,356 ± 0,316,42
Длина устьиц на нижней эпидерме, мкм	51,13a ± 0,858,36	28,766 ± 0,586,66
Ширина устьиц на нижней эпидерме, мкм	30,40a ± 0,7011,50	20,746 ± 0,8213,11
Устьичный индекс верхней эпидермы, %	20,47a ± 1,3532,93	22,04a ± 1,0123,01
Устьичный индекс нижней эпидермы, %	24,79a ± 0,9819,82	28,746 ± 0,9312,06
Толщина листа, мкм	408,32a ± 2,983,65	682,276 ± 10,797,25
Толщина верхней эпидермы, мкм	28,25a ± 1,5026,61	21,096 ± 0,4711,15
Толщина нижней эпидермы, мкм	25,43a ± 0,7514,78	22,416 ± 1,0924,37
Высота клеток верхнего слоя мезофилла, мкм	54,00a ± 1,029,40	38,316 ± 11,1114,52

Ширина клеток верхнего слоя мезофилла, мкм	29,03a ± 0,549,26	20,996 ± 0,6515,53
Площадь поперечного сечения ксилемы, мкм ²	5668,70a ± 283,4024,99	2000,076 ± 173,1928,72
Площадь поперечного сечения флоэмы, мкм ²	3960,18a ± 196,4824,81	2596,176 ± 294,5937,63
Площадь поперечного сечения проводящего пучка, мкм ²	9628,87a ± 417,1521,66	5120,056 ± 410,6426,60
Отношение площадей ксилемы/флоэмы	1,47a ± 0,0722,84	0,826 ± 0,0830,33

Table 1. Морфометрические признаки строения листовых пластинок флоксов и характеристики центрального проводящего пучка. Примечание: Разные буквенные обозначения указывают на достоверность различий средних значений по признакам при $P < 0,05$.

Phloxsibirica var. *borealis* отличается большей толщиной листа, что, в основном, обеспечивается хорошо развитым губчатым мезофиллом (рис. 1). Наиболее фотосинтетически активный слой лучше развит у *Phloxsibirica* (табл. 1), следовательно, он является более приспособленным к произрастанию в условиях с высокой интенсивностью освещения (Givnish, 1988; Aleric, Kirkman, 2005).

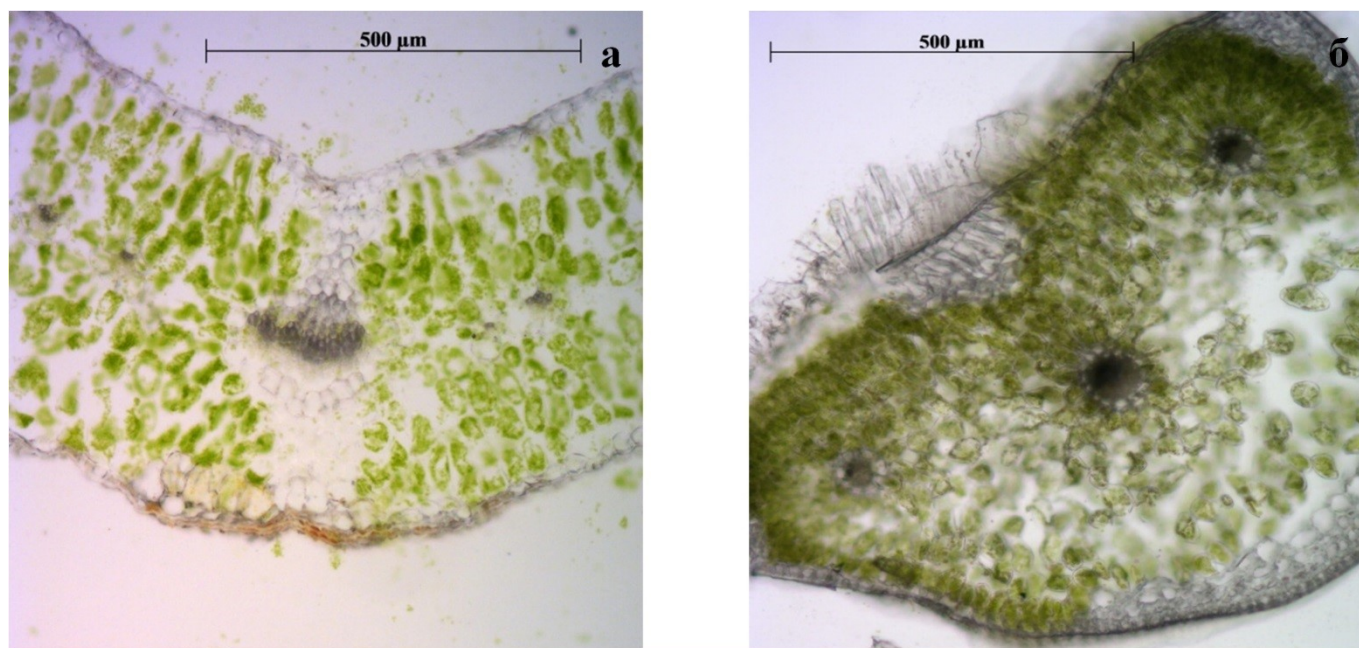


Figure 1. Поперечные срезы листьев *Ph. sibirica* (a) и *Ph. sibirica* var. *borealis* (б).

Листья изученных флоксов амфистоматные, тип устьичного аппарата – аномоцитный (рис. 2). Устьица ориентированы преимущественно параллельно длине листа, с отклонением не более 30 градусов. В пределах таксона размеры устьиц на верхней и нижней эпидерме не имеют статистически значимых отличий при уровне значимости $P < 0,05$, их средние значения практически равны.

Phloxsibirica отличается более крупными устьицами. Замыкающие клетки устьиц имеют овальную форму, длина устьиц составляет 40,18–62,76 мкм, ширина – 26,74–37,17 мкм, длина превышает ширину более чем в 1,5 раза. Замыкающие клетки *Phloxsibirica* var. *borealis* округлые, 24,90–32,93 мкм длиной, 16,49–26,67 мкм шириной. Так как размеры устьиц варьируют незначительно (табл. 1) (коэффициент вариации низкий и не превышает 13,62 %), этот показатель является стабильным и может быть использован в качестве дополнительного диагностического признака.

В отличие от *Phloxsibirica*, число устьиц на верхней и нижней эпидерме которого практически одинаково, у *Phloxsibirica* var. *borealis* число устьиц на верхней эпидерме почти в 1,5 раза меньше, чем на нижней. Устьичный индекс верхней эпидермы обоих таксонов не имеют статистически значимых отличий при уровне значимости $p \leq 0,05$, устьичный индекс нижней эпидермы отличается, но сопоставим (табл. 1).

Устьичный индекс *Phloxsibirica* и *Phloxsibirica* var. *borealis* также соизмерим со значениями данного показателя для других видов почвопокровных флоксов, например, у *Phloxdouglasii* Hook. устьичный индекс составляет $23,94 \pm 1,59$ % для верхней эпидермы и $17,31 \pm 2,53$ % для нижней (Belaeva, 2016).

Эпидермальные клетки изученных флоксов удлинённые, извилистые, располагаются вдоль оси листа и характеризуются большим количеством изгибов (гелиофитные признаки), амплитуда и частота которых не постоянна. Клетки *Phloxsibirica* более крупные ($144-304$ шт. на 1 мм^2) и менее вытянутые, чем клетки *Phloxsibirica* var. *borealis* ($416-608$ шт. на 1 мм^2) (рис. 2).

Совокупность описанных особенностей анатомического строения листа изученных флоксов отражает адаптацию к условиям с неблагоприятным водным режимом и обеспечивают поддержание нормального водного баланса (Agaev, 2002; Goryshina, 1979). В процессе эволюции вида анатомо-морфологические особенности вегетативных органов формировались как приспособление к определенным местообитаниям. Таким образом, подтверждено, что основным направлением эволюции *Phloxsibirica* и *Phloxsibirica* var. *borealis* являлась ксерофитизация (Belaeva, 2014).

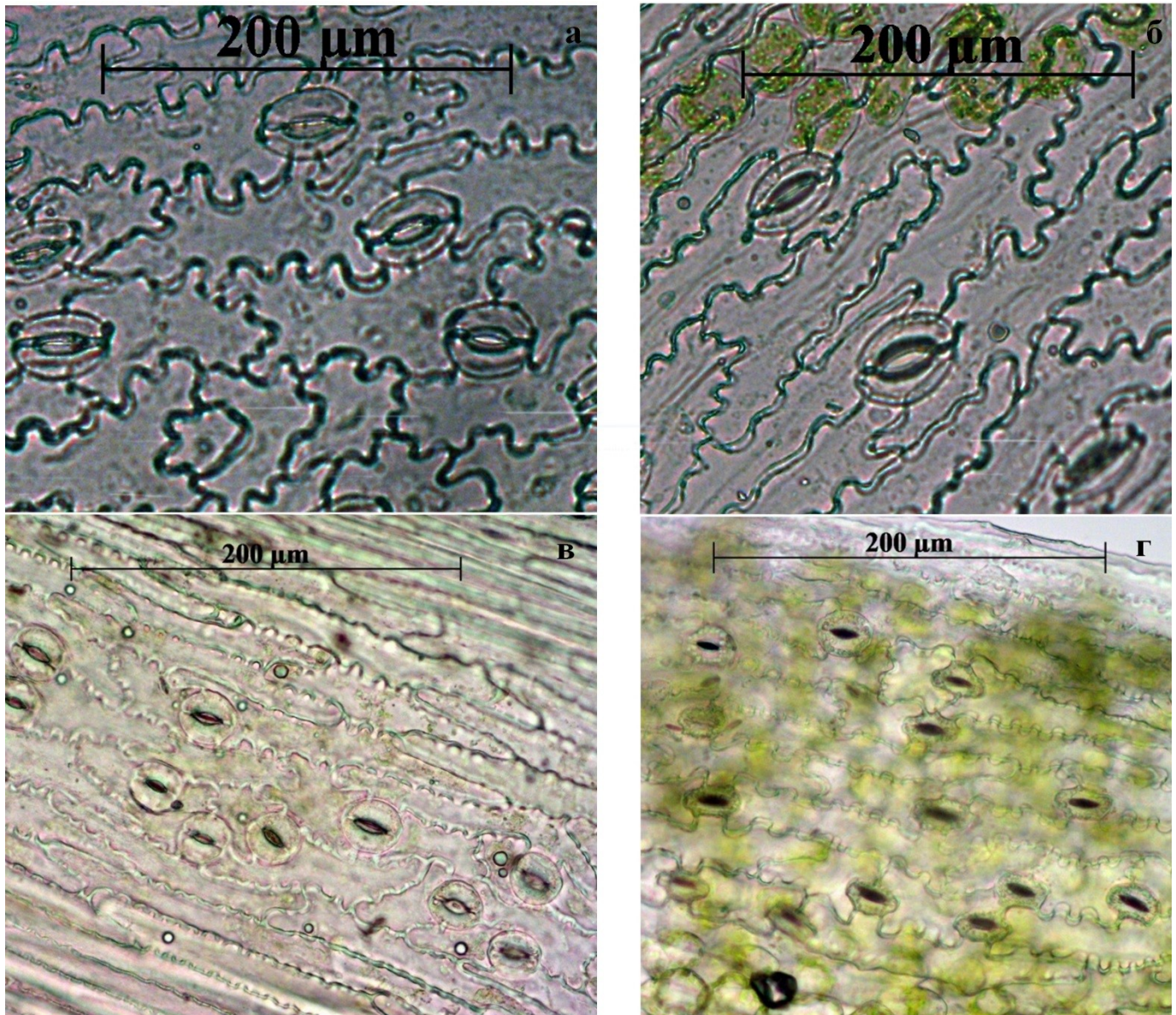


Figure 2. Верхняя и нижняя эпидерма *Ph. sibirica*(а, б) и *Ph. sibirica* var. *borealis*(в, г) соответственно.

Заклучение

Проведенное сравнительное изучение анатомии листьев *Phlox sibirica* и *Phlox sibirica* var. *borealis* позволило выявить, что морфометрические признаки строения листьев в 95 % случаев достоверно отличаются при уровне значимости $P < 0,05$. Статистически значимых отличий не было обнаружено только при определении устьичного индекса, значение которого также соответствует другим видам почвопокровных флоксов. В анатомическом строении листьев изученных флоксов выявлены признаки, характерные для ксерофитно-гелиофитных видов, более выраженные у *Phlox sibirica*. Таким образом, анатомия листьев изученных таксонов отражает их адаптацию к условиям с неблагоприятным водным режимом (обеспечивает поддержание нормального водного баланса) и избыточным освещением.

Благодарности

Результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки

России, проект № 37.7810.2017/8.9.

References

Agayev M. G. (2002). Novoye o zakone Zalenskogo [New about the law of Zalensky]. In: Proceed. II Int. Conf. po anatomii i morfologii rasteniy. St. Petersburg (In Russian).

Aleric K. M., Kirkman L. K. (2005). Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. *American Journal of Botany*, 92(4), 682-689. DOI:

Appelt G. (1959). Vvedeniye v metody mikroskopicheskogo issledovaniya [Introduction to Microscopic Methods]. Moscow (In Russian).

Baranova M. A. (1985). Klassifikatsiya morfologicheskikh tipov ust'its [Classification of morphological types of stomata]. *Bot. Zhurn. (Moscow & Leningrad)*, 70(12), 1585-1595 (In Russian)

Belaeva T. N., Butenkova A. N. (2016). The leaf anatomy structure of *Phlox douglasii* Hook. and *Phlox subulata* L. cultivated in the Siberian Botanical Garden (Tomsk, Russia). *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 18(4), 919-924.

Belaeva T. N., Butenkova A. N., Astafurova T. P. (2014). *Phlox sibirica* L. in South Siberia. *Biosci., Biotechnol. Res. Asia*, 11, 371-376. DOI:

Butenkova A. N., Belaeva T. N. (2014). Leaf structure of phlox species (*Phlox* L., Polemoniaceae) growing in the Siberian Botanical Garden. *Fundamental Research*, 5(4), 730-734 (In Russian).

Butnik A. A., Timchenko O. V. (1987). Stroyeniye epidermy list'yev vidov semeystva Chenopodiaceae [Structure of the epidermis of leaves of species of the Chenopodiaceae family]. *Bot. Zhurn. (Moscow & Leningrad)*, 72(8), 1021-1030 (In Russian).

Elven R., Murray D. F., Razzhivin V. Y., Yurtsev B. A. (2017). Annotated Checklist of the Panarctic Flora (PAF) Vascular Plants. Oslo: Natural History Museum, University of Oslo. Available from: (Accessed 25.05.2019).

Esau K. (1980a). *Anatomiya semennykh rasteniy. Kniga 1* [Anatomy of Seed Plants. Book 1]. Moscow: Mir (In Russian).

Esau K. (1980b). *Anatomiya semennykh rasteniy. Kniga 2* [Anatomy of Seed Plants. Book 2]. Moscow: Mir (In Russian).

Givnish T. J. (1988). Adaptation to Sun and Shade: A Whole-plant Perspective. *Aust. J. Plant Physiol.*, 15, 63-92. DOI:

Gorchakovskiy P. L. (1969). Osnovnyye problemy istoricheskoy fitogeografii Urala [The main problems of historical phytogeography of the Urals]. *Trudy instituta ekologii rasteniy i zhivotnykh UFAN SSSR*, 66, 1-290 (In Russian).

Goryshina T. K. (1979). *Ekologiya rasteniy* [Plant Ecology]. Moscow: Vysshaya shkola (In Russian).

Grant V. (2001). Nomenclature of the main subdivisions of Phlox (Polemoniaceae). *Lundellia*, 4, 25-29.

DOI

Kästner A. (1972). Blattepidermis-Strukturen bei *Carlina* [Leaf blade structure of *Carlina*]. *Flora*, 161(3), 225-255 (In German).

DOI

Krylov P. N. (1937). *Flora Zapadnoy Sibiri* [Flora of Western Siberia]. Vol. IX. Tomsk: Izdatel'stvo Krasnoye Znamya, 2085-2416 pp. (In Russian).

Locklear J. H. (2011). *Phlox: a natural history and gardener's guide*. Portland - Oregon: Timber Press, Inc.

Pautov A. A. (2003). Voprosy sravnitel'noy i ekologicheskoy anatomii rasteniy [Questions of comparative and environmental anatomy of plants]. *Trudy Biologicheskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 50, 1-220 (In Russian).

Pautov A. A. (2012). Morfologiya i anatomiya vegetativnykh organov rasteniy [Morphology and anatomy of vegetative organs of plants]. St. Petersburg: Publishing House of St. Petersburg State University (In Russian).

Smirnova V. A. (1973). Analiz flory yuzhnykh kamenistykh sklonov v doline r. Yenisey (ot g. Kyzyl do r. Podkamennoy Tunguski) [Analysis of the flora of the southern rocky slopes in the Yenisei River Valley (from the city of Kyzyl to the Podkamennaya Tunguska River)]. Tomsk (In Russian).

The Plant List. (2013). Version 1.1. Available from: (accessed 01.01.2019).

Vekhov V. N., Lotova L. I., Filin V. R. (1980). *Praktikum po anatomii i morfologii vysshikh rasteniy* [Workshop on the anatomy and morphology of higher plants]. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo Universiteta. (In Russian).

Wherry E. T. (1955). *The genus Phlox*. Pennsylvania: Morris Arboretum Monographs.

Yurtsev B. A. (1974). Problemy botanicheskoy geografii Severo-Vostochnoy Azii [Problems of botanical geography of Northeast Asia]. Leningrad: Nauka (In Russian).

Zakharevich S. F. (1954). K metodike opisaniya epidermisa lista [On the methodology for describing the epidermis of the leaf]. *Vestnik Leningradskogo universiteta*, 4, 65-75 (In Russian).

Zaytsev G. N. (1973). *Metodika biometricheskikh raschetov* [Method of biometric calculations]. Moscow: Vysshaya shkola (In Russian).

Citation:

Butenkova, A.N., Belaeva, T.N. (2019). Comparative analysis of the leaf anatomy of *Phlox sibirica* L. and *Phlox sibirica* var. *borealis* (Wherry) B. Boivin. *ActaBiologicaSibirica*, 5 (3), 40-45.

Submitted: 10.06.2019. **Accepted:** 29.08.2019



© 2019 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).