

**М.В. Олонова, Н.С. Мезина**

*Биологический институт Томского государственного университета (г. Томск)*

## **ФИТОЛИТЫ НЕКОТОРЫХ МЕЗОФИЛЬНЫХ ВИДОВ МЯТЛИКОВ (POA L.) СЕКЦИИ STENOROА И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СИСТЕМАТИКЕ**

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (грант № 1004 00 637).

*Исследование посвящено уточнению диагностической ценности признаков фитолитов для систематики мятликов. Было исследовано 3 мезоморфных мятлика, принадлежащих близкородственным секциям Stenopoa (Poa palustris L. и P. nemoralis L.) и Tichopoa (P. compressa L.). Изучение абаксиальной эпидермы мятликов 10 популяций (по 3–5 растений из каждой) не выявило существенных анатомических различий между ними. Исследование фитолитов показало их значительное разнообразие и по форме, и по размерам, но не выявило существенных видовых различий. Это позволяет предположить, что признаки строения фитолитов имеют ограниченную таксономическую ценность; тем не менее полученные данные могут использоваться для определения по меньшей мере родовой принадлежности фитолитов, выделенных из растительных остатков и почвы.*

**Ключевые слова:** анатомия растений; эпидерма; фитолиты; *Poa palustris*; *P. nemoralis*; *P. compressa*.

Фитолиты – аморфные включения из диоксида кремния – встречаются у многих растений в листьях, междоузлиях и чешуях. Некоторые исследователи предлагают использовать термин «силикофитолиты» для того, чтобы отличить кремниевые фитолиты от оксалатов кальция, которые тоже могут накапливаться в растениях. Кремний, находящийся в подземных водах в растворенном состоянии, может адсорбироваться растениями и откладываться в виде опала между клетками растения, пропитывать клеточные стенки или заполнять клетки полностью [1]. У одних таксонов фитолиты могут откладываться преимущественно в листьях, у других – в эпидерме, у третьих – в корнях. У злаков они сосредоточены главным образом в эпидерме [1]. Они могут встречаться как включения или быть частью эпидермы.

Роль фитолитов для растения очень велика, поскольку они помогают поддерживать его прямостоячее положение, способствуют лучшей адсорбции солнечных лучей для осуществления фотосинтеза, служат защитой против заражения грибами, а также делают растения менее привлекательными для травоядных животных, грызунов и насекомых [2].

Состоящие из кремния, фитолиты являются более стойкими к разрушению, чем пыльца и споры сосудистых растений, обладают большей, чем другие органические остатки растений, плотностью и сохраняют свою морфоло-

гию после того как растение отмирает. В отличие от пыльцы фитоциты весьма ограниченно переносятся ветром или потоками воды и остаются рядом с материнским растением после его разложения [2]. Фитоциты хорошо сохраняются в почвенных горизонтах без консервации в течение сотен лет и в настоящее время наряду со спорами и пыльцой широко используются для стратификации. В данный момент наиболее полно изучены фитоциты злаков и осок. В отличие от пыльцевых зерен, которые обычно не отличаются разнообразием формы, фитоциты существенно варьируют по размерам и форме на разных таксономических уровнях и помогают датировать растительность прошедших эпох.

Особенно интересно в этом отношении семейство злаков, поскольку злаки аккумулируют большое количество кремния [1]. Фитоциты у злаков, растущих в лесах, и у злаков из степей имеют различные морфологические особенности, поэтому фитоцитный анализ особенно успешно используется для воссоздания динамики лесной и степной растительности в прошлом, для установления состава степных сообществ прошлого, где основная роль принадлежит дерновинным злакам [3–5], в почвоведении [6]. Помимо этого, фитоциты, обнаруженные в отложениях из археологических стоянок, начинают широко применяться для определения типа сельскохозяйственной деятельности древних людей [7–9]. Считается, что фитоциты, обладая известной морфологической специфичностью, могут служить надежными палеонтологическими остатками для воссоздания эволюции многих однодольных растений.

Вопрос о степени специфичности морфологического строения фитоцитов и о возможности их использования для целей систематики остается открытым: в то время как одни исследователи предлагают ключи для определения родов и видов злаков по признакам строения фитоцитов [1], другие более осторожны в своих оценках диагностической ценности признаков фитоцитов [10], третьи к идее различить таксоны видового уровня по этим признакам относятся весьма скептически [11, 12], при этом авторы последней работы отмечают, однако, что фитоциты близких видов, не различаясь по форме, могут различаться по размерам. Поскольку в большинстве случаев фитоциты злаков – пропитанные кремнием обычные клетки эпидермы, они могут служить для диагностических целей в той же мере, в какой разные таксоны злаков различаются по строению эпидермы. Общеизвестно, что анатомические различия на уровне подсемейств и триб злаков очень существенны [13–15 и др.], в то время как на видовом уровне эти различия значительно меньше [16], и нередко внутривидовая изменчивость превышает межвидовую [17]. Вместе с тем существует немало работ, где анатомические признаки листьев используются для диагностики на видовом уровне [18–20 и др.].

Как известно, клетки эпидермы злаков отличаются исключительным разнообразием [13, 15 и др.], поэтому и фитоциты даже в пределах одной листовой пластинки могут существенно различаться по размерам и форме. Вследствие этого классификация фитоцитов представляет немалую трудность. Т. Болл с соавт. [12] отмечают два подхода к их классификации – типологический и морфометрический. Сторонники первого подхода различают фитоциты по форме: седловидные, двулопастные, крестовидные и т.д., часто ис-

пользуя терминологию, которую предлагал для классификации клеток эпидермы Р. Эллис [21], или по типу клеток: шипики, устьица и т.д. Сторонники второго – морфометрического подхода – при описании фитолитов отдают предпочтение их размерам: длине, ширине, площади, периметру и т.д.

Поскольку фитолиты злаков чаще всего не оригинальные образования, а пропитанные кремнием обычные клетки эпидермы, прежде чем говорить о фитолитах, надо рассмотреть особенности строения эпидермы в целом. Семейство злаков, как известно, очень высокоспециализированно и мономорфно. Диагностических признаков, использующихся в систематике злаков, в целом немного, и поэтому выявление новых может иметь существенное значение. В связи с этим была предпринята попытка использования фитолитов для систематики мятликов. Известно, что строение эпидермы очень сильно изменяется в ходе ксероморфогенеза [22, 23], поэтому было исследовано 3 мезоморфных мятлика, принадлежащих близкородственным секциям *Stenopoa* (*Poa palustris* L. и *P. nemoralis* L.) и *Tichopoa* – (*P. compressa* L.).

Изучение *P. compressa* представляет особый интерес, поскольку в последнее время наблюдается его быстрое распространение по территории Западной Сибири. Всего 20 лет назад в Сибири он практически не встречался, а в настоящее время его часто находят вдоль дорог, на насыпях и отвалах породы, где он предположительно гибридизирует с *P. palustris* и *P. nemoralis*.

Цель нашего исследования – уточнение диагностической ценности признаков фитолитов для систематики мятликов на видовом и секционном уровнях и оценка возможности использования признаков фитолитов для разграничения этих морфологически близких видов. Работа носит предварительный характер, и на данном этапе производилась главным образом визуальная оценка изменчивости признаков.

### Материалы и методики исследования

Для получения сопоставимых результатов изучались только гербарные образцы, в целом соответствующие морфологическому типу видов, в фазе цветения с хорошо развитыми верхними стеблевыми листьями. Для исследования были отобраны растения из 10 популяций (таблица). Образцы хранятся в Гербарии им. П.Н. Крылова Томского государственного университета (ТК).

Для исследования отбиралось от 3 до 5 растений из каждой выборки. При изучении анатомического строения эпидермы на каждом растении просматривалось от 10 до 15 полей зрения. Исследовалась главным образом абаксиальная эпидерма (адаксиальная – лишь в отдельных случаях, так как ее признаки более лабильны). В области над жилками учитывались характер и форма коротких клеток, а также наличие окремнелых бугорков (hooks) и шипиков (pricles), извилистость длинных клеток; в пространстве между жилками – количество устьиц, форма, относительная длина и ширина длинных клеток, толщина клеточных стенок и их извилистость, наличие и форма коротких клеток. Приготовление препаратов проводилось по общепринятым методикам [24, 25]. Для изучения эпидермы отобранные образцы вымачивались в течение 10–15 мин в 20%-ном растворе NaOH, затем промывались водой и

помещались на предметное стекло адаксиальной стороной вверх, после чего абаксиальная эпидерма вместе с мезофиллом аккуратно соскабливалась при помощи бритвы. Полученные препараты переворачивались и помещались в глицерин.

#### Образцы, использованные в анализе (хранятся в ТК)

№ образца	Вид	Место сбора
09 – 159	<i>Poa nemoralis</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. с. Коларово, березовый лес
09 – 114	<i>Poa nemoralis</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. пос. Степановка, заросли ивы по берегу р. Ушайка
09 – 133	<i>Poa nemoralis</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. с. Батурино, бер. р. Тугояковка
09 – 132	<i>Poa nemoralis</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. с. Аникино, березовый лес
09 – 112	<i>Poa palustris</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. пос. Степановка, луг по берегу
09 – 125	<i>Poa palustris</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. с. Семилужки, луг
09 – 148	<i>Poa palustris</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. пос. Тимирязево, бер. Песчаного озера
09 – 126	<i>Poa compressa</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. с. Семилужки, у дороги
09 – 160	<i>Poa compressa</i>	Томская обл., Томский р-н, окр. 12-го км Коларовского тракта, у дороги
02 – 11	<i>Poa compressa</i>	Испания, Plato de Laaset, h = 1600 m, Aneto-Senet

Извлечение фитолитов проводилось по методике Д. Пиперно [9]: образцы листьев сжигались в течение 2 ч в муфельной печи при температуре 450°C, затем остужались при комнатной температуре. После этого промывались 10%-ным раствором HCl, затем концентрированной азотной кислотой и дистиллированной водой. Полученные осадки помещались в стеклянные флаконы.

Исследования проводились при помощи программно-аппаратного комплекса «SIAMS MesoPlant», включающего специализированный компьютер, микроскоп Ахиостар plus (CARE ZEISS, Германия), сканер и цифровую видеокамеру SIMAGIS 2M-75.

#### Результаты исследования и обсуждение

У мятликов, как и у большинства злаков, строение эпидермы над жилками и между жилками сильно различается: над жилками обычно располагаются более узкие клетки, часто имеются шипики и отсутствуют устьица. В пространстве между жилками клетки обычно более широкие и длинные, там располагаются устьица (рис. 1). Наибольшее значение для систематики имеют такие признаки, как форма и чередование (группировка) коротких и длинных клеток в пространстве между жилками, размеры и относительная длина клеток и устьиц, форма и размеры трихом (волоски, шипики и т.д.) [13, 15, 17]. Толщина стенок и их извилистость говорят скорее об условиях существования, чем о родственных отношениях, и увеличиваются с нарастанием общей ксероморфности практически у всех злаков [22, 23, 26, 27].

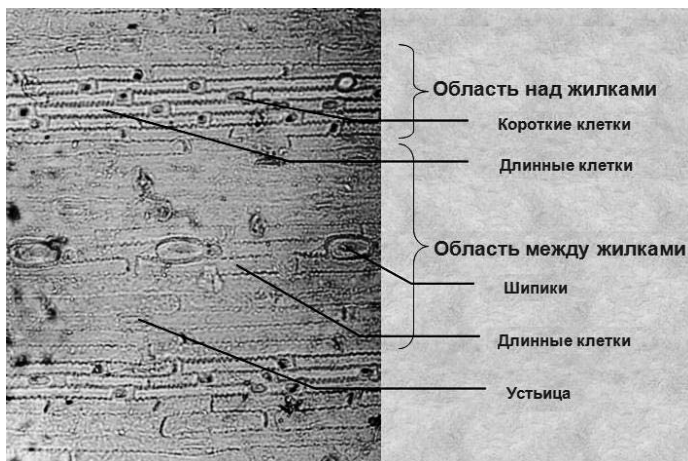


Рис. 1. Общее строение эпидермы злаков

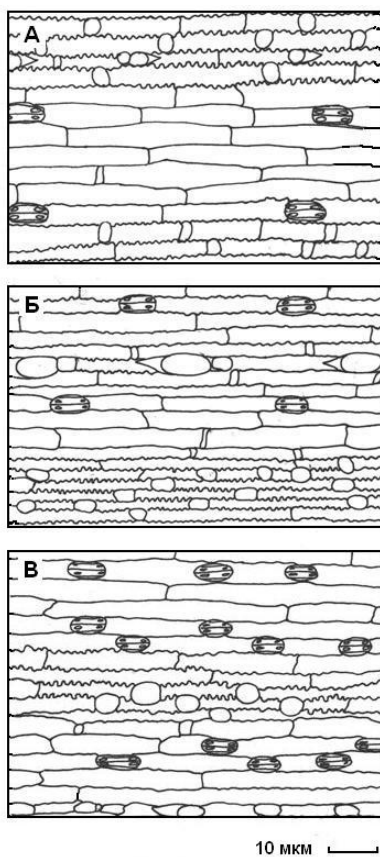


Рис. 2. Строение эпидермы: А – *Poa nemoralis*;  
 Б – *P. palustris*; В – *P. compressa*

Исследования абаксиальной эпидермы не выявили существенных анатомических различий у исследованных образцов (см. рис. 2). В области над жилками у всех исследованных образцов были обнаружены шипики, наряду с ними присутствовали и кремневые бугорки. Клетки над жилками в целом более узкие, чем между жилками, длинные клетки – с параллельными извилистыми стенками, короткие клетки – более короткие и узкие, одиночные или парные. Между жилками клетки в основном длинные, у некоторых образцов прослеживается упорядоченность в расположении длинных клеток: в середине межжилочного пространства клетки более длинные, а ближе к жилкам их длина нередко уменьшается, появляются короткие клетки и устьица. Устьица располагаются в рядах, обыкновенно по 2 ряда, но иногда (особенно между мелкими жилками) только по одному. Очень сильно варьирует извилистость стенок: от практически прямых до довольно сильно извилистых. По краям листовых пластинок, и нередко над жилками, присутствуют шипики.

Исследование фитолитов выявило их значительное разнообразие и по форме, и по размерам (рис. 3).

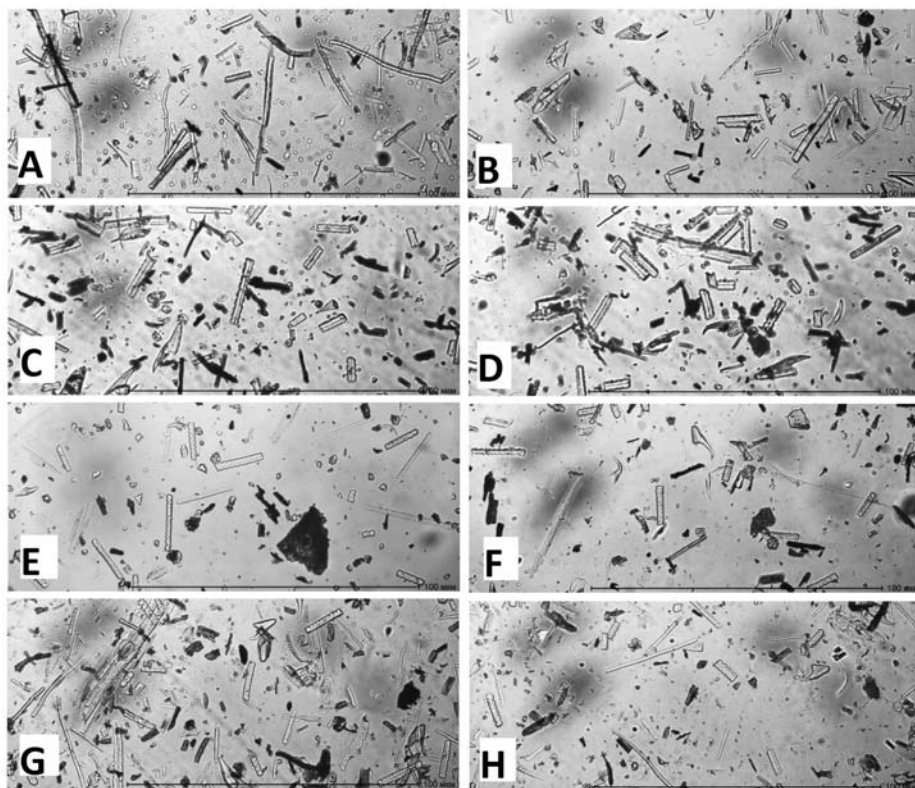


Рис. 3. Фитолиты, выявленные в ходе исследования:  
A–B – *Poa palustris*; C–E – *P. nemoralis*; F–G – *P. compressa*

Исследования эпидермы позволяют предполагать, что они принадлежат как к области над жилками (более узкие и короткие), так и к области между

жилками (широкие и длинные клетки). По происхождению обнаруженные фитолиты представляют собой окременелые кроющиеся эпидермальные клетки и трихомы, представленные шипиками разного размера и формы. Кроющиеся клетки в целом можно отнести к четырем типам: 1) узкие с извилистыми стенками; 2) короткие с извилистыми стенками; 3) длинные с прямыми стенками; 4) короткие с прямыми стенками (рис. 4).



Рис. 4. Основные типы фитолитов, выделенные в ходе исследования

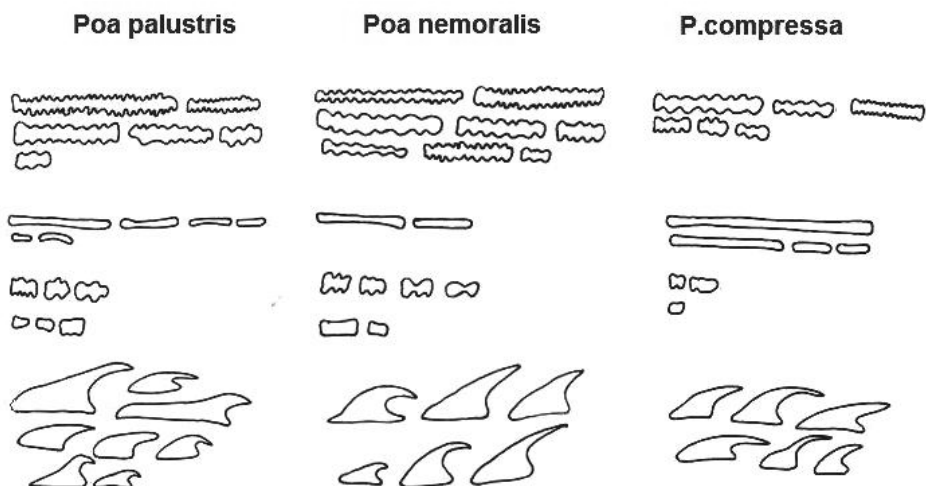


Рис. 5. Основные типы фитолитов, выделенные у *Poa palustris*, *P. nemoralis* и *P. compressa*

Тем не менее исследования показали, что деление это в известной мере условное и между типами существуют всевозможные промежуточные формы. Как и следовало ожидать, все выделенные фитолиты в целом характерны для фестукоидных злаков. Заметных различий между *P. palustris*, *P. nemoralis* и *P. compressa* по набору выделенных фитолитов обнаружить не удалось, и при всем разнообразии типов фитолитов не было обнаружено ни одной уникальной формы, характерной только для одного из исследованных видов (см. рис. 5). Не удалось обнаружить различий по признакам фитолитов и между близкими секциями *Stenopoa* и *Tichopoa*.

### Выводы

Фитолиты, выделенные из *P. palustris*, *P. nemoralis* и *P. compressa*, очень разнообразны как по размерам, так и по форме. Сравнение фитолитов, выделенных из образцов этих видов, не выявило существенных различий между ними. Это позволяет предположить, что признаки строения фитолитов имеют ограниченную таксономическую ценность, но данные могут использоваться для определения принадлежности фитолитов, выделенных из растительных остатков.

Авторы благодарны сотрудникам кафедры почвоведения ТГУ за предоставленную возможность отжигать препараты в муфельной печи, многочисленные советы и консультации, доктору S. Eksanbekar (Индия, Pune, Phytolith Research Institute) – за предоставление методик, литературы и полезные советы по выделению фитолитов, доктору R. Garcia-Gonzalez (Испания, Jaca, Centro Pirenaico de Biologia Experimental) – за гербарные образцы *P. compressa* и А.А. Кузнецову – за организацию полевых исследований.

### Литература

1. Krishnan S., Samson N.P., Ravichandran P., Dayanandran P. Zphytoliths of Indian grasses and their potential use in identification // Botanical Journal of Linnean Society. 2000. Vol. 132. P. 241–252.
2. Мырляя Н., Медяник С. Использование фитолитов для палеорекопструкций: определение, методы химической обработки и морфологическое разнообразие // Bulletinul Institutului de Geologie si seismologie al ASM. 2008. № 2. P. 39–47.
3. Kurmann M. An opal phytolith and palynomorph study of extant and fossil soils in Kansas (U.S.A.) // Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology. 1985. Vol. 49, № 3–4. P. 217–235.
4. Fisher R., Bourn C.N., Fisher W.F. Opal phytoliths as an indicator of the floristics of prehistoric grasslands // Geoderma. 1995. Vol. 68, № 4. P. 243–255.
5. Скрипник О. Использование информации о почвах для восстановления ландшафтного разнообразия степей // Степной бюллетень. 2003. № 13. С. 10–12.
6. Гольева А.А. Опыт в использовании анализа фитолитов в почвоведении // Почвоведение. 1995. № 12. С. 1498–1503.
7. Elbaum R., Weiner S., Albert R.M., Elbaum M. Detection on burning of plant materials in the archaeological record by changes in the refractive indices of siliceous phytoliths // Journal of Archaeological Science. 2003. Vol. 30, № 2. P. 217–226.
8. Delhon C. Potentiel de l'analys des phytolithes contenus dans les pates ceramicues et les materiaux de construction // Cahier des themes transversaux ArScAn. 2005–2006. Vol. 7. P. 86–93.



9. *Piperno D.R.* Phytoliths: a comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists. Lanham, Maryland: AltaMira Press, 2006. P. 89–102.
10. *Brown D.A.* Prospects and limits of a phytolith key for grasses in the central United States // Journal of Archaeological Science. 1984. Vol. 11, № 4. P. 345–368.
11. *Blinnikov M.S.* Phytoliths implants and soils of the interior Pacific Northwest USA // Review of Paleobotany and Palynology. 2005. № 135. P. 71–98.
12. *Ball T.V., Ehlers R., Standing M.D.* Review of typologic and morphometric analysis of phytoliths produced by wheat and barley // Breeding Science. 2009. Vol. 59, № 5. P. 505–512.
13. *Metcalf C.R.* Anatomy of the Monocotyledons. I. Gramineae. Oxford: Clarendon Press, 1960. 731 p.
14. *Цвелев Н.Н.* Злаки СССР. Л.: Наука, 1976. 788 с.
15. *Clifford H.T., Watson L.* Identifying grasses. Data, methods and illustrating. Brisbane, 1977. 146 p.
16. *Garcia-Gonzalez R.* Epidermis foliar de algunas especies de Festuca, Poa y Bellardiochloa en el Pirineo Occidental // Anales Jard. Bot. Madrid. 1983. T. 39, № 2. P. 389–404.
17. *Олонова М.В.* Морфолого-анатомические признаки сибирских видов рода *Poa* (Poaceae) // Ботанический журнал. 2003. Т. 88, № 11. С. 86–95.
18. *Полякова Е.Н.* Анатомическое строение листьев мятликов флоры УССР // Ботанический журнал. 1966. Т. 51, № 6. С. 841–844.
19. *Girija R.P.* Key to some Kansas (USA) grasses based upon leaf anatomy // Rev. Fac. Sciens. Univ. Lisboa. 1969–1970. P. 16, № 1. P. 281–290.
20. *Галкин М.А.* К использованию анатомических исследований в диагностике и таксономии растений на примере мятликов // Актуальные вопросы фармацеи. Ставрополь, 1974. Вып. 2. С. 329–331.
21. *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. P. 641–671.
22. *Мирославов Е.А.* Некоторые черты ксероморфного строения эпидермиса листа ряда злаков // Ботанический журнал. 1962. Т. 47, № 9. С. 1339–1342.
23. *Мирославов Е.А.* Структура и функция эпидермиса листа покрытосеменных растений. Л.: Наука, 1974. 184 с.
24. *Москалева Г.И.* Анатомические методы исследования культурных растений: Метод. указания. Л.: ВИР, 1989. 76 с.
25. *Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г.* и др. Справочник по ботанической микро-технике. Основы и методы. М.: Изд-во МГУ, 2004. 312 с.
26. *Олонова М.В.* Анатомическая структура эпидермы сибирских мятликов секции *Stenopoa* // Биоморфологические исследования в современной ботанике: Материалы Междунар. конф. (Владивосток, 18–21 сентября 2007). Владивосток, 2007. С. 330–334.
27. *Олонова М.В.* Исследование анатомического строения листьев *Poa palustris* и *Poa argunensis* в популяциях // Труды Междунар. конф. по анатомии и морфологии растений. СПб., 1997. С. 298–299.

Поступила в редакцию 15.06.2010 г.

**Marina V. Olonova, Natalia S. Mezina**

*Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia*

#### **PHYTOLITHS OF SOME MESOMORPHIC SPECIES OF BLUEGRASSES (POA L.) SECTION STENOPOA AND POSSIBILITY OF THEIR USE IN SYSTEMATICS**

*Phytoliths are the amorphous inclusions of a silicon dioxide. They can be found in leaves, interstices and glumes of many plants. Phytoliths of grasses, being in most cases common epidermal cells, impregnated with silicon, can serve for the diagnostic purposes*

in the same measure as the different taxa of grasses differ on a structure of epidermis. The purpose of our research was the specification of diagnostic value of phytoliths characters for bluegrasses systematics at specific and section level and an estimation of possibility of using these characters for differentiation for morphologically close species. Three mesomorphic species of bluegrasses, belonging to closely related sections *Stenopoa* (*Poa palustris* L. and *P. nemoralis* L.) and *Tichopoa* (*P. compressa* L.) have been investigated.

The search of abaxial epidermis of 10 samplings (3–5 samples from each one) haven't revealed essential anatomic distinctions among them. In costal zone all investigated samples had a pricles and hooks. The long cells of costal zone are narrower than of intercostals zone, with parallel sinuous walls. Short cells are short and narrow, in pair or they may be solitary. The cells of intercostals zone are mainly long, but at some samples the special arrangement of long cells occurs: in the middle of intercostals zone the cells to be longer than in marginal part, and short cells and stomata appear. The stomata occur in horizontal rows, usually 2 or 1 (between small veins). The walls of long cells may vary very much, from non-sinuous to markedly sinuous. The pricles may occur on the leave margins as well.

The search of phytoliths has revealed their considerable variety both in form, and in sizes. The search of epidermis allow to assume that they belong both to costal (more narrow and short cells) and intercostals (wide and long ones) areas. By origin the observed phytoliths represent the covering cells of epidermis, filled with silica, and trichomes, presented by pricles and hooks of various shape and form. The observed covering cells of epidermis as a whole belong to 4 types: 1) long cells with sinuous walls; 2) short cells with sinuous walls; 3) long cells with non-sinuous walls; 4) short cells with non-sinuous walls. Nevertheless, researches have shown the division to be quite relative and assured that a lot of intermediate forms between these 4 types occur. All observed phytoliths are characteristic for festucoid grasses. The marked difference in phytoliths of *P. palustris*, *P. nemoralis*, and *P. compressa* and sections *Stenopoa* and *Tichopoa* as well, has not been not revealed, and, in spite of they being significant variable, the unique form, characteristic only for one of the investigated sections or species has not been found. Thus, the authors regard the phytoliths characters as being of limited taxonomical value, but these data can be used for identification of phytoliths, isolated from fossils.

**Key words:** plant anatomy; epidermis; phytoliths; *Poa palustris*; *P. nemoralis*; *P. compressa*.

Received June 15, 2010