

МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ HELLEBORUS CAUCASICUS И HELLEBORUS ABCHASICUS

Гулиа В.О.¹, Орловская Т.В.¹

¹ *Институт ботаники АН Абхазии, Сухум, e-mail: tvorlovskaya@mail.ru*

В данной работе приведены результаты морфолого-анатомические исследования м. абхазского и м. кавказского, интродуцированных в Сухумском Ботаническом саду Института ботаники АН Абхазии. Признаки генеративной сферы видов рода *Helleborus* варьируют незначительно и независимо от видовой принадлежности на очень низком, низком, реже среднем уровне изменчивости. Верхняя и нижняя эпидермы представлена многоугольными клетками. Устьица имеются на обеих сторонах, но обильнее снизу. Над крупными жилками эпидермальные клетки вытянутые – прямоугольные, с четковидными утолщениями стенок. Устьичный аппарат аномоцитного типа. По всей поверхности расположены железистые булавовидные волоски на одноклеточной ножке, с желтым содержимым. Форма пыльцы у обоих видов округлая, поверхность экзины шероховатая, трехбороздная. На поперечном срезе семени выделяются трехслойная семенная кожура в виде темно-бурой полосы и эндосперм. По всей поверхности на семенной кожуре встречаются одноклеточные волоски. Исследования проводились с использованием общепринятых методик.

Ключевые слова: *Helleborus caucasicus*, *Helleborus abchasicus*, цветки, семена, микроскопия, биометрия

MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STUDIES OF THE GENERATIVE ORGANS HELLEBORUS CAUCASICUS AND HELLEBORUS ABCHASICUS

Guliya V.O.¹, Orlovskaya T.V.¹

¹ *Institute of Botany of Abkhazia, Sukhumi, e-mail: tvorlovskaya@mail.ru*

This paper presents the results of morphological and anatomical studies of *Helleborus caucasicus* and *Helleborus abchasicus*, introduced in Sukhumi Botanical Garden Institute of Botany of Abkhazia. Signs generative sphere species *Helleborus* vary significantly and independently of the species belonging to very low, low, less the average level of volatility. The upper and lower epidermis is represented by polygonal cells. Stomata are present on both sides, but more abundant below. Over large veins elongated epidermal cells - rectangular, with beaded wall thickening. Stomatal apparatus anomotsitnogo type. Across the surfaces are clavate glandular hairs on unicellular stalk, with yellow contents. The shape of pollen in both species rounded surface exine rough, trehborozdnaya. A cross section of the seed-layer stand testa as a dark-brown stripes and endosperm. Over the entire surface on the testa found unicellular hairs. Studies were carried out using conventional techniques.

Keywords: *Helleborus caucasicus*, *Helleborus abchasicus*, flowers, seeds, microscopy, biometrics

С точки зрения промышленного возделывания основными задачами при интродукции, в частности, для медицинских целей является получение видов накапливающих наибольшее количество биологически активных соединений.

Широкий спектр полиморфизма, который отмечается у представителей рода *Helleborus*, как раз и обеспечивает их существование в различных условиях среды и дает основу для появления новых видов и форм с ценными свойствами, что является одним из путей решения актуальных проблем в экологии и лекарственном растениеводстве.

Сложная генотипическая структура, отчасти обусловленная гибридогенными процессами, приводит к тому, что многие виды *Helleborus* отличаются друг от друга очень тонкими, трудноуловимыми признаками. Для некоторых подвидов характерна неустойчивость морфотипа. Довольно высок размах индивидуальной изменчивости, что

нередко маскирует видовые признаки. Поэтому род *Helleborus* (Морозник) достаточно труден для систематической обработки и самостоятельность вида *Helleborus abchasicus* A. Br. (морозника абхазского) признается не всеми ботаниками. Существует мнение, что на Кавказе обитает всего один полиморфный вид – *Helleborus caucasicus* A. Br. (морозник кавказский) [6]. Полиморфизм видов рода *Helleborus* объясняется весьма обширными ареалами, где отдельные популяции попадают в различные условия произрастания. Другой причиной может быть также способность образовывать множество переходных, весьма изменчивых форм в зонах их совместного произрастания. Эти факты свидетельствуют об интенсивных микроэволюционных процессах в пределах рода, приводящих к образованию новых внутривидовых единиц, а в дальнейшем и новых видов [3].

Проблема таксономических отношений видов рода *Helleborus* до сих пор остается открытой и требует рассмотрения на популяционном уровне, так как связана с тем, что различные вариации довольно близки между собой, как по морфологическим, так и по географическим и экологическим признакам. Данная проблема связана с отсутствием надежных диагностических признаков. Таким образом, актуальным представляется критический пересмотр видового состава рода *Helleborus* с учетом новых данных.

В связи с этим возникает необходимость наряду с другими методами, подробного сравнительного изучения морфолого-анатомических особенностей представителей этого рода. Ранее приводились данные морфолого-анатомического исследования вегетативных органов, в результате которых были выявлены различия в строении корня, корневища и листовой пластинки между морозником кавказским и морозником абхазским [10].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении изменчивости морфолого-анатомических признаков различных видов и их вариаций *Helleborus*, произрастающих в одинаковых природно-климатических и экологических условиях, для возможности выявления наиболее стабильных и лабильных признаков генеративных органов, с помощью которых можно расширить признаки в политомических ключах для определения видовой принадлежности, определить степень дифференциации признаков в зависимости от видов и внести ясность в таксономию рода.

Материал и методы исследования. Объектом исследования служили семена и цветки различных вариаций морозника кавказского и морозника абхазского, заготовленные в период 2005-2014 гг. от культивируемых растений в Сухумском ботаническом саду Института ботаники АН Абхазии.

При описании биоморфологических особенностей интродуцентов *Helleborus* использовали методические подходы И.Г. Серебрякова (1952, 1962) [8, 9]. Морфологические исследования сводились к следующему: выявление качественных и количественных

признаков вегетативных и генеративных органов растений; сравнение этих признаков и установление средних значений по результатам биометрических измерений всех исследуемых форм; выявление дополнительных, стойких диагностических признаков.

Микроскопический анализ проводили на свежем, фиксированном в 70% этиловом спирте, и высушенном, но предварительно размоченном в системах спирт-глицерин-вода (1:1:1) и раствор хлоралгидрата, растительном материале. Временные микропрепараты фиксировали в растворе глицерина. Микропрепараты изучали с помощью микроскопа «Биолам». Микрофотографии выполнены с помощью цифрового фотоаппарата марки «Panasonic Lumix DMC-FS30» с разрешением 640x480 пикселей. Фотоснимки обрабатывали на компьютере с помощью программы «Adobe Photoshop CS» и «Corel DRAW X3». Исследования проводились с использованием общепринятых методик [7].

Для сопоставления изменчивости морфологических признаков применялся коэффициент вариации, оценка которого проводилась по эмпирической шкале уровней изменчивости, предложенной С.А. Мамаевым (1975) [5]. Уровень изменчивости считается очень низким при $CV \leq 7\%$, низким при $CV = 8-12\%$, средним при $CV = 13-20\%$, высоким при $CV = 21-40\%$ и очень высоким при $CV > 40\%$.

Все числовые показатели морфологического и анатомического анализа были подвергнуты биометрической обработке, при этом применяли методики Б.М. Владимирского (1983), Г.Ф. Лакина (1990), В.П. Боровикова, И.П. Боровикова (1997) и др. [1, 2, 4]. Статистический анализ данных проводился с использованием программы *Statistica v.6.0*.

Результаты исследования и их обсуждение. *Морфологическая характеристика цветка и семян.* Как показали наши исследования, диаметр цветка колеблется от 75,5 до 97,5 мм, при этом как наибольший, так и наименьший встречается у вариаций *Helleborus caucasicus*. Число цветков в среднем составляло от 2 до 4. Длина цветоножки варьирует от 1,75 до 2,50 см, самые маленькие цветоножки характерны для вариаций *Helleborus caucasicus* (1,75-1,82 см). Согласно морфологическому анализу уровень полиморфизма параметров цветка внутри каждого вида варьирует в основном от очень низкого до низкого значения коэффициента изменчивости. На среднем уровне выявлена изменчивость только для числа цветков (*H. caucasicus* var. *albo-virens* и *H. abchasicus* var. *atropurpureus*) (табл. 1).

Все показатели внутривидовой изменчивости морфологических признаков семян у особей *Helleborus* находятся в области очень низких значений изменчивости ($CV < 7$). Самыми крупными являются семена *H. abchasicus* var. *atropurpureus* (табл. 1).

Морфометрические параметры различных вариаций *Helleborus caucasicus* и *Helleborus abchasicus*

Признак	Вид, вариация						
	<i>Helleborus caucasicus</i>		<i>Helleborus abchasicus</i>				
	<i>var. guttatus</i>	<i>var. albo-virens</i>	<i>var. atropurpureus</i>	<i>var. roseus</i>	<i>var. zebrinus</i>	<i>var. roseo-punctatus</i>	<i>var. nervosus</i>
Цветок (n=15)							
Диаметр цветка, мм	97,50±4,14* 8,59**	72,50±2,87 4,67	95,01±3,58 8,63	85,11±1,20 2,94	78,00±1,00 2,56	84,57±2,35 3,49	90,12±1,02 2,22
Ширина чашелистика, мм	47,50±3,50 7,57	35,05±2,05 5,71	39,33±4,33 7,79	41,55±1,67 4,57	36,62±2,02 5,56	35,11±2,01 5,71	40,05±2,52 6,64
Длина чашелистика, мм	45,01±2,73 8,44	38,11±1,31 5,26	38,67±2,44 8,97	39,57±0,84 2,79	37,67±1,02 3,90	41,18±0,67 1,73	44,67±3,78 9,39
Длина цветоножки, см	1,75±0,15 2,14	1,82±1,02 4,73	2,13±0,04 0,13	2,15±0,05 0,14	2,50±0,10 0,80	2,01±0,11 1,15	2,03±0,11 1,16
Число цветков в соцветии, шт.	2,5±0,5 12,0	3,5±0,5 14,29	3,0±0,5 14,29	3,67±0,44 8,99	3,83±0,28 4,35	3,33±0,44 7,11	3,17±0,28 5,26
Форма листочков околоцветника	округлая	почти округлая	округлая	округлая	почти округлая	округло-яйцевидная	округло-яйцевидная
Окраска чашелистиков	светло-зеленая	белая	темно-красная	розовая	розовая	темно-бордовая	фиолетовая
Наличие и цвет крапинок на чашелистиках	темно-бордовые	отсутствуют	почти черные	отсутствуют	темно-пурпуровые	темно-пурпуровые	темно-розовые
Семена (n = 20)							
Ширина, мм	2,43±0,02 2,64	2,38±0,03 4,18	3,30±0,03 4,16	2,15±0,01 2,51	3,45±0,05 3,12	3,02±0,01 3,21	3,45±15 3,18
Длина, мм	5,15±0,03 2,77	5,17±0,02 3,01	5,41±0,03 2,41	4,45±0,03 4,13	4,49±0,02 4,01	5,01±0,01 2,48	5,12±0,01 2,48
Масса 100 шт., г	1,09±0,87	1,05±0,82	1,55±0,82	0,81±0,26	1,36±0,61	1,25±0,41	1,49±0,87

Примечание: * Хср ± ΔX (граничные значения доверительного интервала среднего значения); ** CV, % (коэффициент вариации)

Анатомическая характеристика фрагментов цветка. В строении чашелистиков имеется большое сходство с листом, за исключением наличия палисадных клеток. Верхняя и нижняя эпидермы слагаются из крупных, полигональных клеток с зигзагообразными стенками, образуя по контуру многоугольные клетки. Складчатость кутикулы менее выражена, чем на листовых пластинках. Устьица имеются на обеих сторонах, но обильнее снизу (рис. 1). Над крупными жилками эпидермальные клетки вытянутые – прямоугольные, с четковидными утолщениями стенок. Устьичный аппарат аномоцитного типа. Устьичные клетки ладьевидные. По всей поверхности, а особенно вдоль жилок расположены железистые булавовидные волоски на одноклеточной ножке, с желтым содержимым, окраска под воздействием реактива Судан III становится интенсивнее (рис. 2).

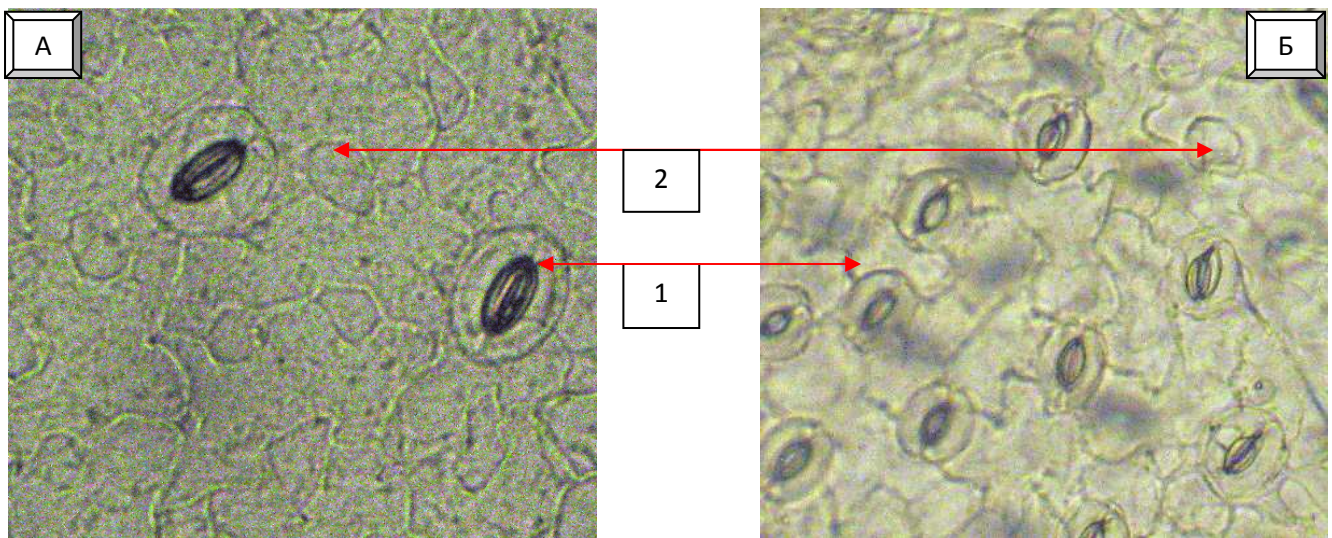


Рис.1. Микрофотография фрагмента нижней эпидермы чашелистика с поверхности:
 А – морозника кавказского, Б – морозника абхазского (ув. $\times 125$);
 1 – устьице, 2 – воздухоносная полость

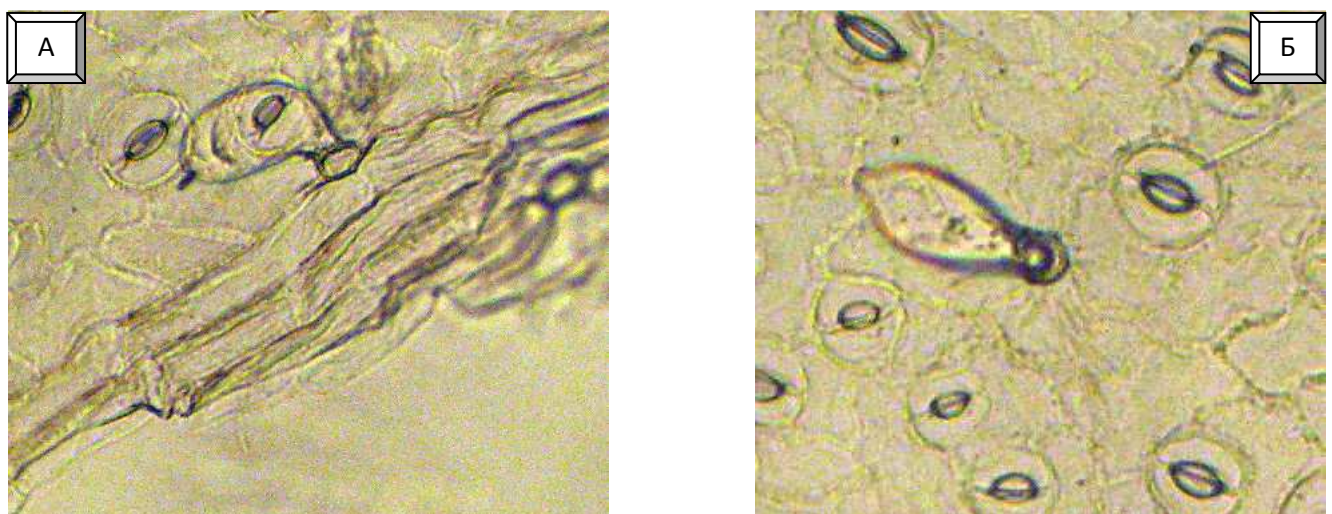


Рис. 2. Микрофотография волоска с поверхности (ув. $\times 250$):
 А – вид сбоку, Б – вид сверху

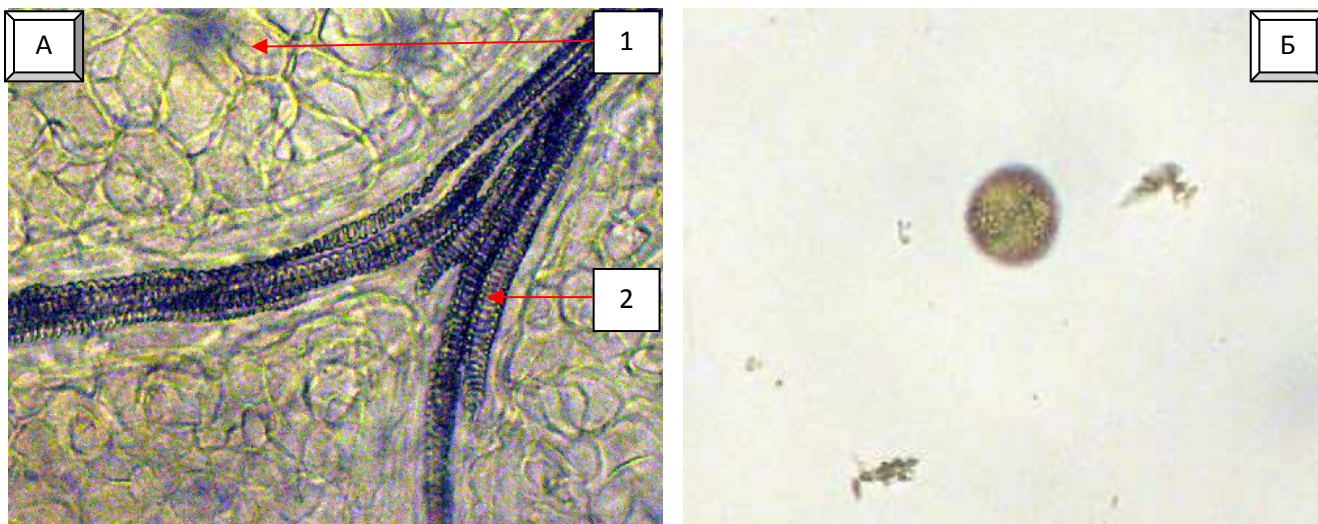


Рис. 3. *Микрофотография фрагмента чашелистика (А) и пыльцы (Б) с поверхности морозника кавказского (ув. x250):* 1 – губчатая ткань, 2 – жилка

Мезофилл плотный состоит из толстостенных округлых клеток губчатой паренхимы. Проводящая система представлена жилками, состоящими из трахеид со спиральным утолщением оболочек (рис. 3 А).

Форма пыльцы у обоих видов округлая, поверхность экзины шероховатая, трехбороздная (рис. 3 Б).

Анатомическая характеристика семян. На поперечном срезе семени выделяются семенная кожура в виде темно-бурой полосы и эндосперм. По всей поверхности на семенной кожуре встречаются одноклеточные волоски (рис.4).

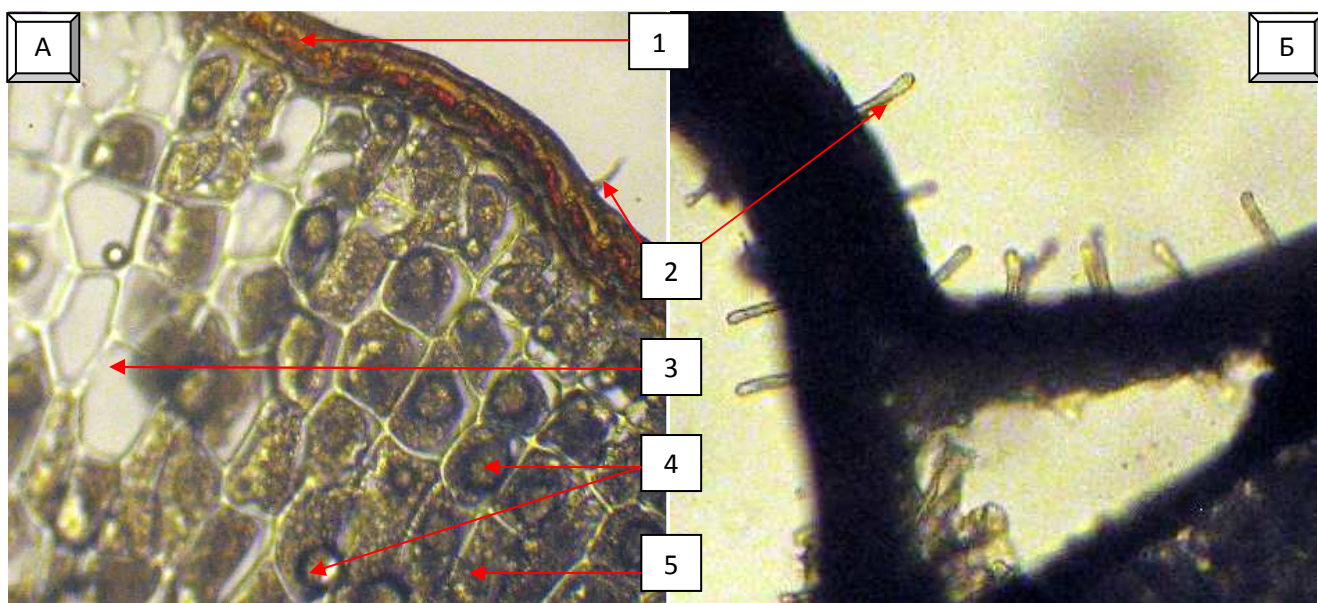


Рис. 4. *Микрофотография фрагмента поперечного среза семени:*
 А – морозника кавказского (ув. x40), Б – морозника абхазского (ув. x500);
 1– семенная кожура, 2 – волоски, 3 – эндосперм, 4 – клетки с жирным маслом,
 5 – клетки с алейроновыми зёрнами

При большом увеличении различаются слои семенной кожуры (рис. 5).

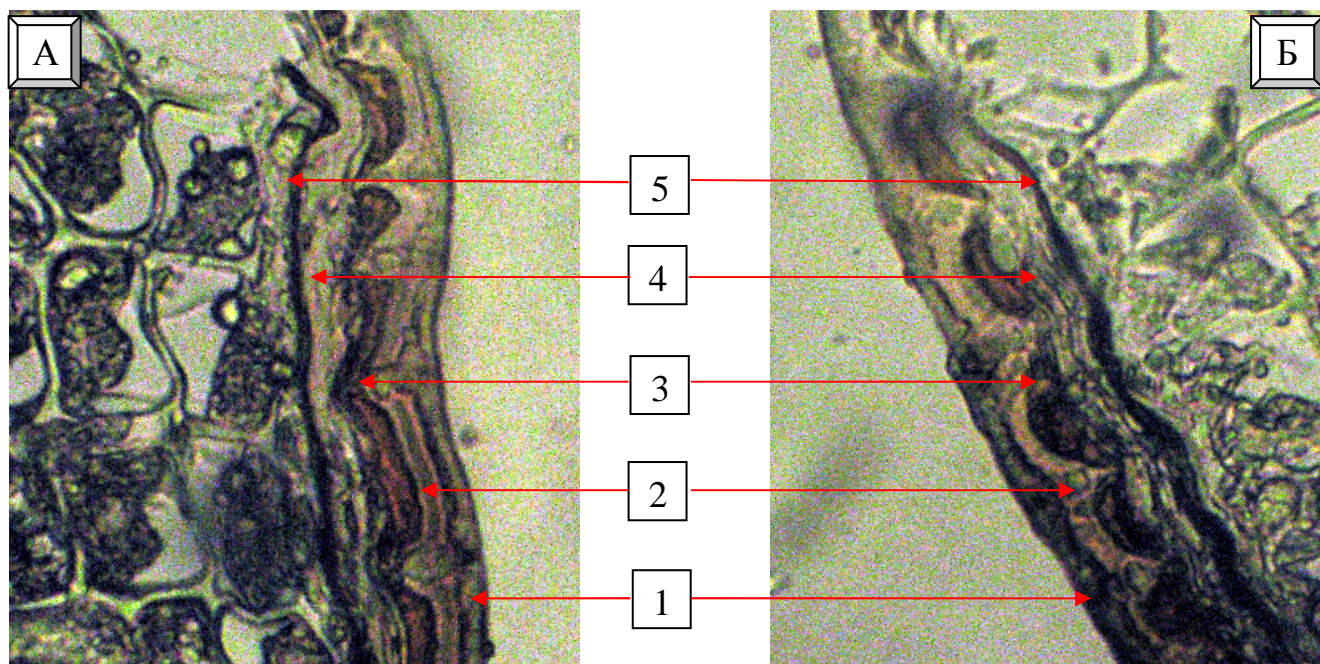


Рис.5. *Микрофотография фрагмента поперечного среза семени (ув. x250):*

А – морозника кавказского, Б – морозника абхазского;

1 – кутикула, 2 – эпидермис, 3 – пигментный слой, 4 – бесструктурный слой, 5 – перисперм

Первый слой представлен однослойным эпидермисом, состоящим из плотно сомкнутых, прямоугольных, тонкостенных клеток покрытых толстым слоем кутикулы.

Эпидермис подстилается одним рядом тангентально вытянутых вдоль семени толстостенных клеток, стенки которых и их содержимое коричневого цвета – это пигментный слой. Третий слой – бесструктурный, состоит из тонкостенных паренхимных бесцветных палисадоподобных спавшихся клеток.

Остаток перисперма представлен узким бесструктурным слоем. Эндосперм хорошо выражен. Клетки эндосперма четырех- и пятиугольные, тонкостенные, содержат алейроновые зерна и капли жирного масла (рис. 4). Реакция с раствором Судан III положительная, с раствором Люголя отрицательная.

Выводы:

1. Признаки генеративной сферы видов рода *Helleborus* варьируют незначительно и независимо от видовой принадлежности (очень низкий, низкий, реже средний уровень изменчивости).
2. В отличие от вегетативных органов (корень, корневище, стебель, лист) в анатомическом строении цветков и семян различий между морозником кавказским и морозником абхазским не установлено.

3. Диагностическими признаками семян может служить трехслойное строение семенной кожуры и простые одноклеточные волоски.
4. Диагностическими признаками цветков – строение пыльцы: округлая форма, поверхность экзины шероховатая, трехбороздная.

Список литературы

1. Боровиков В.П., Боровиков И.П. STATISTICA. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. – 2-е изд., стереотипное. – М.: ФИЛИНЪ, 1998. – 608 с.
2. Владимирский Б.М. Математические методы в биологии. – Ростов на Дону: РГУ, 1983. – 303 с.
3. Кирий П.В. Эколого-биологические особенности *Helleborus caucasicus* A.Br. флоры Сочинского Причерноморья: дис. канд. биол. наук. – Краснодар, 2006. – 171 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – 4-е изд. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. Мамаев С.А. Основные принципы методики исследования внутривидовой изменчивости древесных растений // Индивидуальная и эколого-географическая изменчивость растений. – Свердловск, 1975. – С. 3-14.
6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 1. Семейства *Magnoliaceae – Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabiaceae, Urticaceae* / отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – С. 47.
7. Самылина И.А., Аносова А.Г. Фармакогнозия. Атлас. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т. 1. – 192 с.
8. Серебряков И. Г. Экологическая морфология растений. – М.: Высш. шк., 1962. – 378 с.
9. Серебряков И.Г. Морфология вегетативных органов высших растений. – М.: Совет. наука, 1952. – 391 с.
10. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование двух видов морозника (*Helleborus*) семейства лютиковые (*Ranunculaceae*) / З.В. Ищенко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6; URL: www.science-education.ru/106-8078

Рецензенты:

Бебия С.М., д.б.н., профессор, зав. кафедрой Лесное хозяйство и ботаника БГФ АГУ, зав. отделом интродукции растений Института ботаники Академии наук Абхазии, г.Сухум;
Челомбитько В.А., д.фарм.н., профессор, нештатный сотрудник Института ботаники АН Абхазии, г.Сухум.