

Московская школа на Юго-Западе №1543

Кафедра биологии

**Изменение размеров и формы листьев липы
(*Tilia cordata* Mill.) и орешника (*Corylus avellana*
Karst.) при их гербаризации**

Отчёт о научно-исследовательской работе

Ли Француза
Омельяненко Варвара
Султановская Александра
Шафранов Марк

Научный руководитель:

к.б.н. П.А. Волкова

Москва

2017

0

Введение

В ботанике для определения вида того или иного растения часто используют гербаризированные растения. Одна из главных удобств гербария – простота использования и долговечность хранения экземпляров.

Однако при гербаризации многие морфологические признаки растений меняются, в частности форма и размер листовой пластинки. Поэтому очень важно знать, как именно изменяются листья при гербаризации для сопоставления гербарных образцов с живыми. Это нужно, чтобы различать в природе близкие виды растений по определителям, которые часто составляют с использованием гербарного материала. Исследовать форму листа удобно с помощью геометрической морфометрии, так как этот метод позволяет анализировать форму как таковую, не учитывая размеры (Bookstein, 1991). Ранее такие исследования уже проводили для некоторых типичных растений средней полосы России (редста пронзеннолистного – *Potamogeton perfoliatus* L., горца земноводного – *Persicaria amphibia* Delarbre, подорожника среднего – *Plantago media* L., подорожника большого – *Plantago major* L. и ланцетолистного – *P. lanceolata* L., горца змеиного – *Bistorta officinalis* Delarbre, смородины черной – *Ribes nigrum* L., смородины колосистой – *Ribes spicatum* E. Robson, ольхи серой – *Alnus incana* Munch. и черной – *A. glutinosa* Gaertn.). На основе полученных результатов можно сказать, что линейные размеры листьев исследованных видов уменьшаются при гербаризации в среднем на 10–20%. Выявить закономерности в изменении формы листьев не удалось (Сафонов, 2010). Деформация листьев при гербаризации исследована и у евразийских кувшинок (*Nymphaea candida* Presl, *N. alba* L. и *N. tetragona* Georgi). Показано, что при гербаризации длина листовой пластинки кувшинок уменьшается на 5–40%, а ширина – на 15–50%, в результате листовые пластинки становятся более продолговатыми, более заостренными на конце; при этом листья одного вида при высыхании становятся похожими на листья другого вида (Волкова, 2008).

Широко распространенные в Европейской России виды родов *Tilia* L. и *Corylus* L. в основном различаются по форме и размеру листовой пластинки. В европейской части России наряду с аборигенным *T. cordata* Mill. широко культивируют *T. platyphyllus* Scop., который часто гибридизирует с *T. cordata*. Гибрид (*T. × europaea* L.) характеризуется промежуточными морфологическими признаками и наряду с родительскими видами широко используется в озеленении (Маевский, 2014). В основном эти виды отличаются по соцветиям и плодам, но растения без генеративных органов с некоторой долей уверенности можно отличить и по листьям. Для *T. europaea* характерны округлые или слегка удлинённые листья с сильно ассиметричным основанием, 5–9 см длиной; листья *T. platyphyllus* у основания слабо ассиметричные (Васильев, Цвелёв, 1996). Липа сердцевидная (*Tillia cordata* Mill.) имеет сердцевидные листья длиной 5–10 см, обычно симметричные.

Произрастающие совместно в Восточной Европе виды лещины тоже различают по листьям. У лещины обыкновенной (*Corylus avellana* H. Karst.), листья широко-

яйцевидные, длиной 6–12 см, у вершины обычно суженные в острие. Листья лещины крупной (*C. taxita* Mill.) округло-сердцевидные, длиной 7–12 см (Осипов, 1986; Цвелёв, 2004).

Мы решили изучить изменения формы и размеров листьев при гербаризации у обычных в Европейской части России видов лещины и липы в Москве и Подмоскowie: *Tillia cordata* Mill. и *Corylus avellana* Karst.

Цель

Исследовать изменение формы и размеров листьев *Tilia cordata* и *Corylus avellana* при их гербаризации.

Материалы и методы

Сбор листьев орешника (*Coryllus avellana*) или липы (*Tilia cordata*) в Московской области или юго-западе г. Москва. Мы выбирали кустарники *Corylus avellana* высотой от двух метров и деревья *Tilia cordata* высотой от трёх метров случайным образом. Листья собирались со всего объёма кроны кустарника или дерева на высоте не более двух с половиной метров, по 10 листьев с каждого дерева (всего 600 с орешника и 610 с липы) случайным образом (табл. 1, часть 1). При этом мы не собирали высохшие, сильно повреждённые и незрелые (менее 50 мм в длину и/или менее 40 мм в ширину) листья. Затем мы измеряли длину, ширину и положение наибольшей ширины (далее ПНШ) у каждого листа (рис. 1). После этого мы сканировали эти листья (В. Омеляненко обводила контуры). Затем мы клали листья примерно по 10 штук между газет, клали сверху груз и ждали, пока листья высохнут. После полного высыхания мы вынимали листья и повторно измеряли их по тем же параметрам, после чего вновь сканировали. В анализе результатов мы измерили в общей сложности 146 листьев орешника и 319 листьев липы; Достоверность различий длины и ширины листьев до и после гербаризации вычисляли при помощи теста Стьюдента для зависимых переменных.

Для исследования изменения формы листьев при гербаризации мы применили геометрическую морфометрию (метод тонких пластин, TPS), так как этот метод позволяет анализировать форму объектов без учета их линейных размеров (Bookstein, 1991). Для фиксации формы листа на контурах листьев *Coryllus avellana* и *Tilia cordata* мы ставили 14 меток: в местах выхода первых четырёх жилок к краю листа с каждой стороны (4 точки * 2 стороны листа), в вершине и в основании листа (2 точки), в крайних снизу и расположенных около верхнего выроста точках (4 точки) (рис. 1). Однако В. Омеляненко ставила точки не по этому алгоритму; она расставляла 50 точек по контуру каждого свежего листа автоматически через равные промежутки. Она делала это потому, что не имела подручных средств для сканирования листьев и ставила метки на их обведённых контурах. Поскольку на контурах листьев было невозможно определить места выхода жилок к краю листа, она не использовала метод 14-ти точек. Обработав свои результаты по отдельности с другим сборщиком *Corylus avellana* также методом геометрической морфометрии, она получила схожие результаты.

Координаты точек мы снимали с изображений и записывали в файл данных при помощи экранного дигитайзера tpsDig (Rohlf, 2001b). Координаты эталонной конфигурации, а также значения трансформаций, характеризующие меру отличия образца от эталона, вычисляли при помощи программы tpsRelw, реализующей идею геометрической морфометрии в форме метода,

аналогичного методу главных компонент (Rohlf, 2001a). Редактирование и конвертирование файлов данных мы производили при помощи вспомогательной программы tpsUtil (Rohlf, 2000).

Для всех вычислений и графического представления результатов использовалась компьютерная статистическая среда R (R Development Core Team, 2004). Каждый обрабатывал свои данные по отдельности, не обобщая их с данными другой повторности, и каждая пара, обрабатывавшая данные по одному и тому же виду, получила схожие результаты, потому после получения результатов было решено их (результаты) обобщить.

Вид	Место сбора	Сборщик	Число листьев*	Дата сбора листьев	Дата окончания высушивания	Примерный вес груза
<i>Tilia cordata</i>	Юго-западная часть г. Москва	Султановская А.	50	08.06.17-27.06.17	03.08.17	3 кг
<i>Tilia cordata</i>	СТ «Топаз» под Звенигородом	Шафранов М.	269	01.07.17-02.07.17	16.07.17	1 кг
<i>Corylus avellana</i>	СНТ «Дружба» под Троицком	Омельяненко В.	43	10.06.17-30.06.17	30.07.17	3 кг
<i>Corylus avellana</i>	Юго-западная часть г. Москва	Ли Ф.	103	16.08.17-09.09.17	17.09.17	0,6 кг

Табл. 1 – Основные условия и особенности сбора материала участниками исследования.

** - Имеются в виду листья, включённые в конечный анализ методом геометрической морфометрии.*

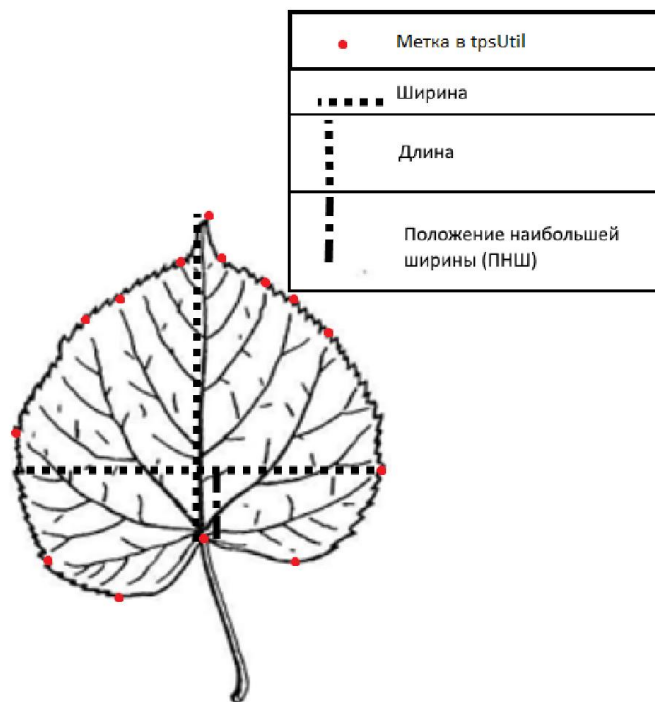


Рис. 1 – Промеры и положение меток на листе для геометрической морфометрии. В. Омеляненко ставила точки не по этому алгоритму; она расставляла 50 точек по контуру каждого листа автоматически через равные промежутки.

Результаты

Длина листа после гербаризации была достоверно (тест Стьюдента: $p\text{-value} < 0,05$) меньше, чем до нее у всех исследованных видов растений. Как правило, после гербаризации длина листа уменьшалась в среднем на 4%. Это значение достигало примерно 5% для одной повторности с *Tilia cordata* и одной повторности *Corylus avellana* и чуть более 3% для одной повторности с *Tilia cordata* и одной повторности *Corylus avellana*. Изменения длины листьев *Corylus avellana* и *Tilia cordata* показаны на рис. 2 и рис. 3.

Ширина листа после гербаризации всегда была достоверно (тест Стьюдента: $p\text{-value} < 0,05$) меньше, чем до нее. В среднем ширина листа при гербаризации уменьшалась на 5-6% у обоих

повторностей *Tilia cordata* и на 8% у обеих повторностей *Corylus avellana*. Изменения ширины листьев *Corylus avellana* и *Tilia cordata* показаны на рис. 4 и рис. 5.

Отношение длины листа к ширине после высыхания достоверно (Тест Стьюдента: p-value < 0,05) увеличивается. Данный показатель увеличивается примерно на 3% у *Corylus avellana* и примерно на 1% у *Tilia cordata*. Изменения отношения длины листа к его ширине *Corylus avellana* и *Tilia cordata* показаны на рис. 6 и рис. 7.

Отношение длины листа к положению наибольшей ширины после высыхания практически не изменяется, статистически значимых различий не выявлено (тест Стьюдента, p-value = 0.66). Изменения данного параметра показаны на рис. 8 и рис. 9.

Мы провели морфометрический анализ формы листа до и после высыхания. Мы не обнаружили закономерностей в изменении формы листа после гербаризации у всех исследованных видов растений (рис. 10).

Данные по изменению размеров листьев после гербаризации представлены в табл. 2.

Сборщик, Ф.И.	Длина листа (Среднее арифметическое ± квадратичное отклонение) в мм		Ширина листа (Среднее арифметическое ± квадратичное отклонение) в мм		Отношение длины листа к его ширине		Отношение положения наибольшей ширины листа к его длине	
	До усушки	После усушки	До усушки	После усушки	До усушки	После усушки	До усушки	После усушки
Султановская С. <i>Tilia cordata</i>	82 ± 13	80 ± 12	76 ± 11	73 ± 10	1.079 ± 0.1	1.096 ± 0.11	3.565 ± 0.45	3.572 ± 0.49
Шафранов М. <i>Tilia cordata</i>	85 ± 15	81 ± 14	79 ± 14	75 ± 14	1.068 ± 0.09	1.073 ± 0.09	3.424 ± 0.42	3.435 ± 0.43
Омельяненко В. <i>Corylus avellana</i>	83 ± 16	79 ± 15	62 ± 14	58 ± 14	1.34 ± 0.12	1.38 ± 0.14	2.097 ± 0.32	2.087 ± 0.27
Ли Ф. <i>Corylus avellana</i>	105 ± 15	102 ± 14	82 ± 14	75 ± 14	1.28 ± 0.13	1.32 ± 0.14	2.146 ± 0.35	2.133 ± 0.33

Табл.2 – результаты измерения основных параметров листьев участниками исследования. Жирным шрифтом выделены недостоверные (тест Стьюдента: $p\text{-value} > 0,05$) различия.

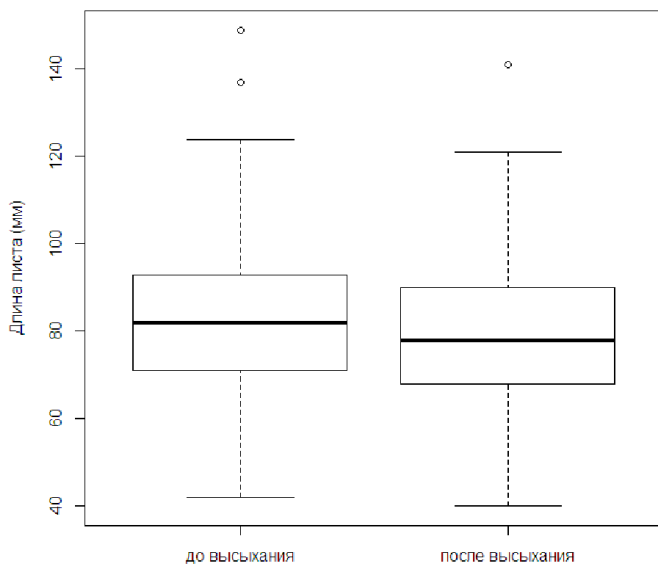


Рисунок 2. Изменение длины листьев *Corylus avellana* до и после высухания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

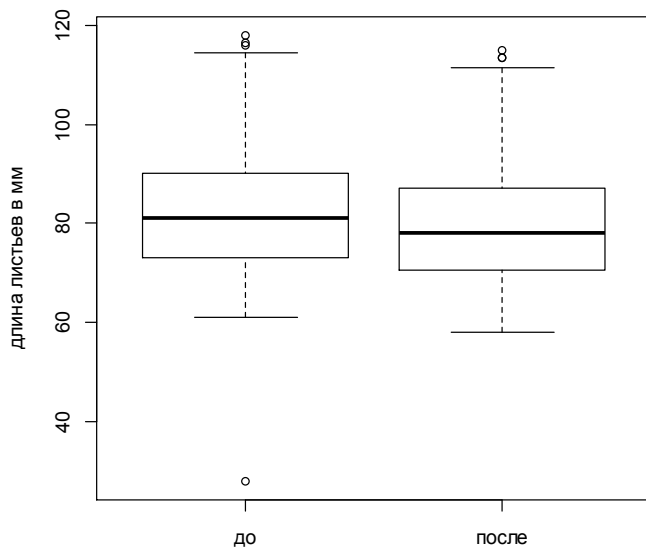


Рисунок 3. Изменение длины листьев *Tilia cordata* до и после высухания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

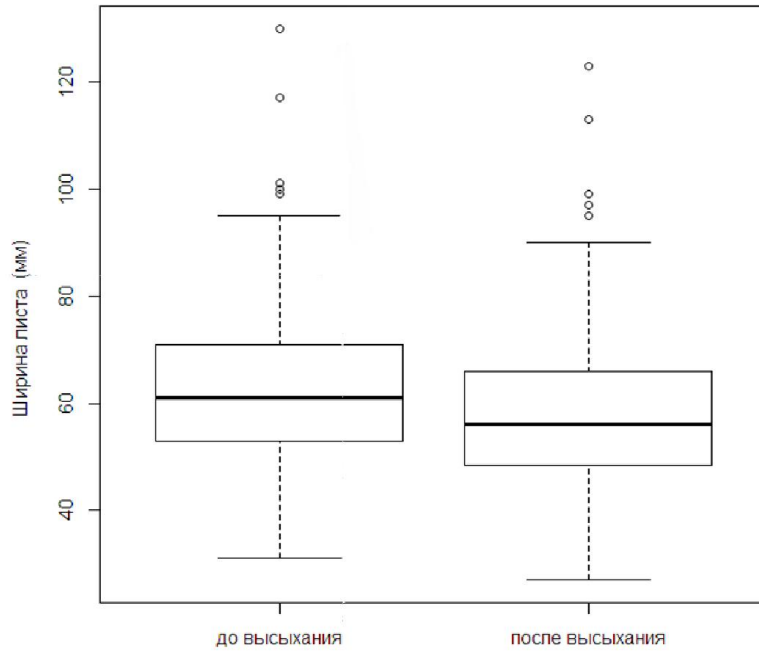


Рисунок 4. Изменение ширины листьев *Corylus avellana* до и после высыхания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

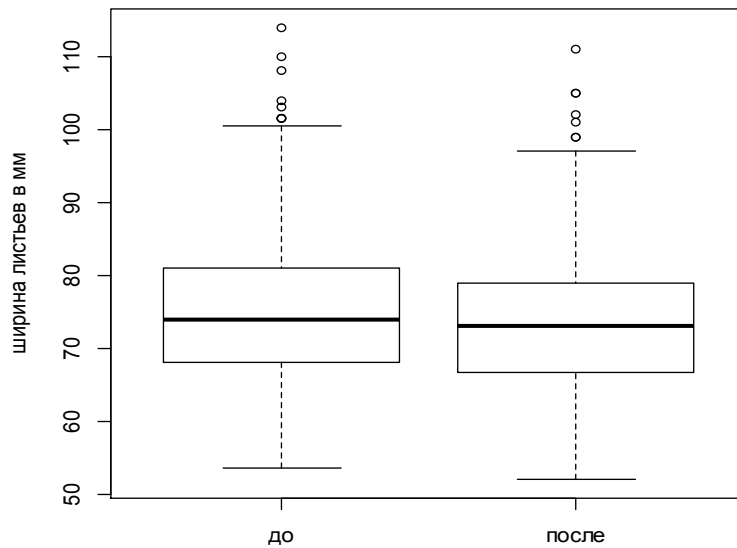


Рисунок 5. Изменение ширины листьев *Tilia cordata* до и после высыхания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

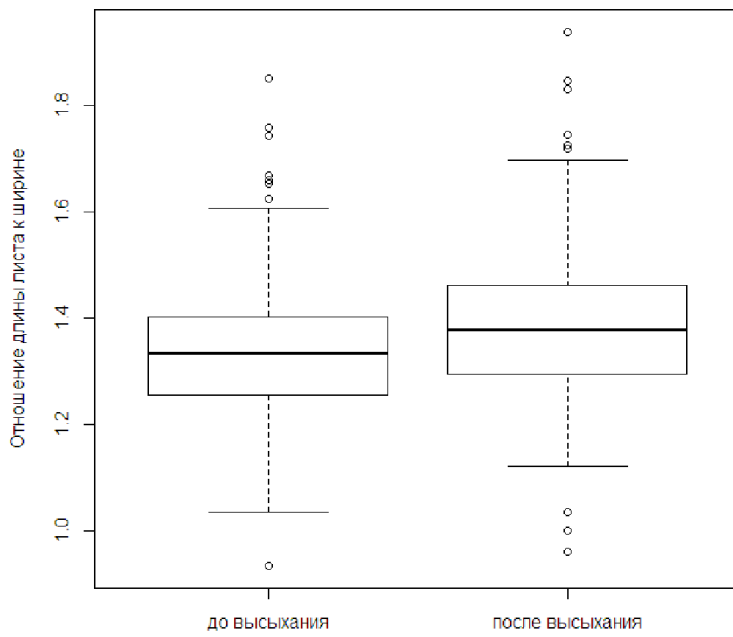


Рисунок 6. Изменение отношения длины листа *Corylus avellana* к ширине до и после высыхания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

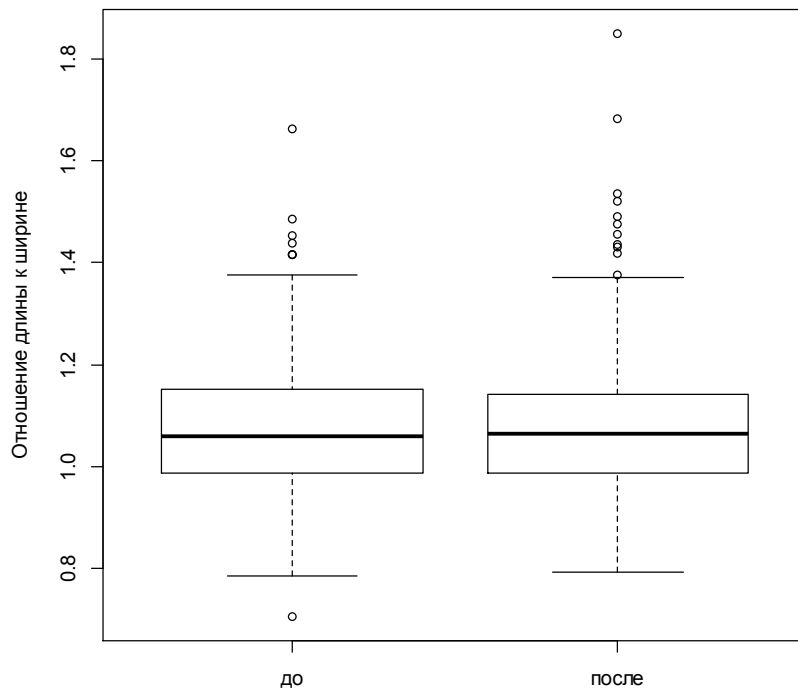


Рисунок 7. Изменение отношения длины листа *Tilia cordata* к ширине до и после высыхания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

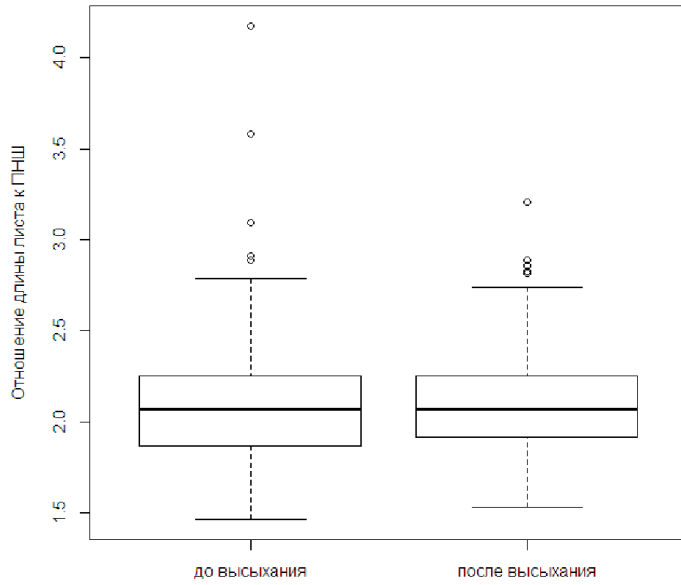


Рисунок 8. Изменение отношения длины листьев *Corylus avellana* к положению наибольшей ширины до и после высухания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

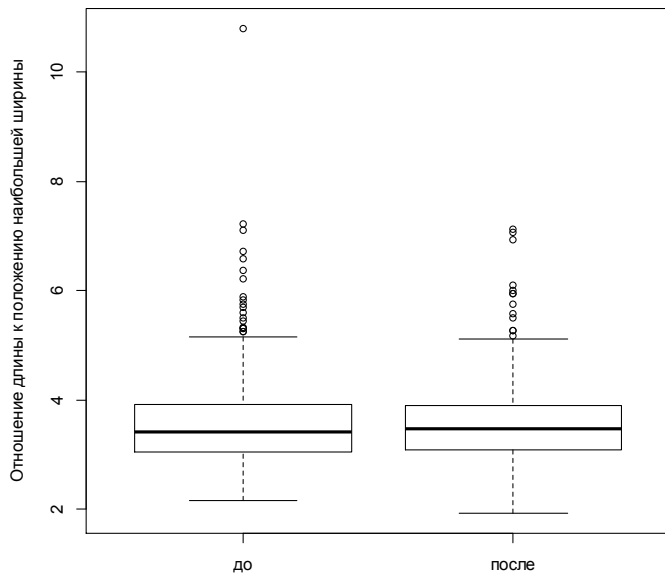


Рисунок 9. Изменение отношения длины листьев *Tilia cordata* к положению наибольшей ширины до и после высыхания. Показаны медиана, верхний и нижний квартили, межквартильный размах и выбросы.

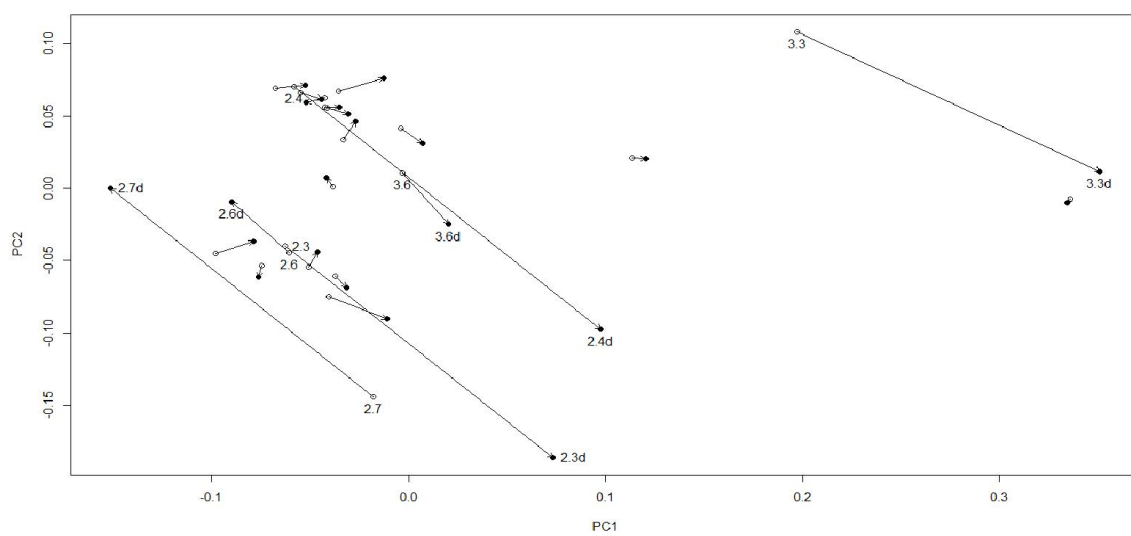
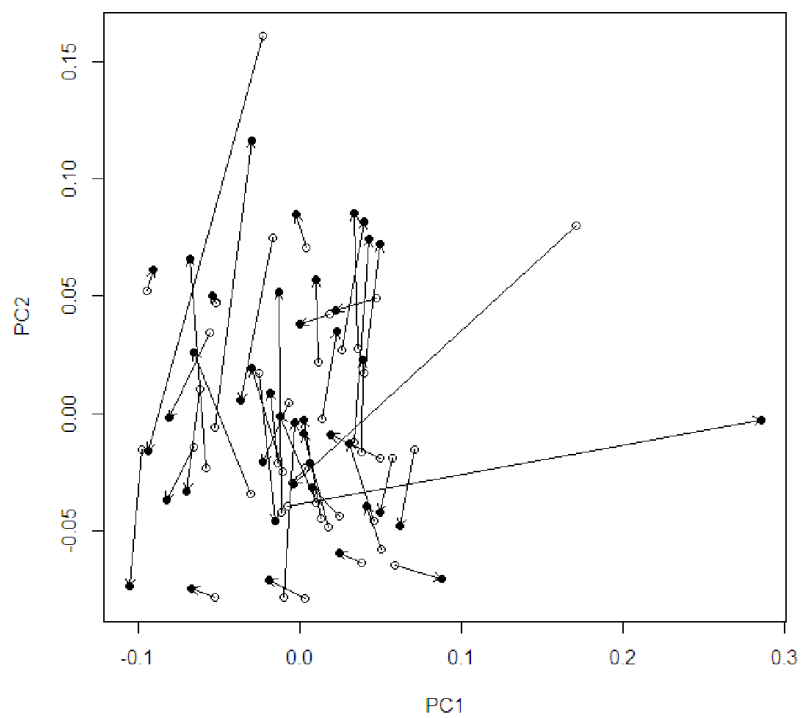


Рисунок 10. Анализ формы листа до и после высыхания (данные геометрической морфометрии), выполненный во вспомогательной программе обработки данных tpsRelw. Соответствия между свежими и сухими листьями показаны стрелками. Светлым показаны свежие листья, темным – сухие.

Обсуждение

Линейные размеры листьев растений видов *Tilia cordata* и *Corylus avellana* уменьшаются после гербаризации.

Размеры листьев вида *Tilia cordata* уменьшилась в среднем на 3-5%

Размеры листьев вида *Corylus avellana* уменьшилась в среднем на 3-8%, но следует отметить, что после гербаризации листья немного вытянулись – отношение длины листа к ширине незначительно увеличилось.

Согласно данным А. Сафонова (2010), размеры листьев растений видов *Plantago media*, *Plantago major*, *Plantago lanceolate*, *Polygonum amphibium*, *Polygonum bistorta*, *Ribes nigrum*, *Ribes spicatum*, *Alnus glutinosa* уменьшаются при гербаризации в среднем на 10-20%.

Согласно данным П.А. Волковой (2008), линейные размеры видов *Nymphaea* (*N. alba*, *N. candida* и *N. tetragona*) при гербаризации уменьшаются в среднем на 30%.

Следуя результатам морфометрического анализа формы листа можно сказать, что все листья после гербаризации изменяют свою форму, однако какая-либо закономерность такого изменения отсутствует. Стоит отметить, что эти изменения крайне невелики, поскольку даже у листьев, наиболее сильно изменивших свою форму, визуальные различия в форме до и после высыхания отсутствуют.

Согласно данным А. Сафонова (2010), у растений исследованных им видов (*Plantago media*, *Plantago major*, *Plantago lanceolate*, *Polygonum amphibium*, *Polygonum bistorta*, *Ribes nigrum*, *Ribes spicatum*, *Alnus glutinosa*, *Alnus incana*, *Potamogeton perfoliatus*) форма листьев после гербаризации изменяется, но хаотично.

Можно предположить, что столь существенные различия между результатами, полученными нами, и результатами наших предшественников (П.А. Волковой) можно объяснить разницей исследуемых объектов. Работа П.А. Волковой посвящена водным растениям рода *Nymphaea*. Возможно, что структура этих листьев достаточно сильно отличается от структуры листьев *Tilia cordata* и *Corylus avellana*, по причине наличия аэренхимы – ткани, состоящей из клеток, соединённых между собой так, что между ними остаются крупные заполненные воздухом пустоты. Возможно при гербаризации из межклетников вышел весь воздух, из-за чего листья

«ужались» почти на треть. Растения, чьи листья мы исследовали, растут на суше, и клетки их листьев менее заполнены воздухом, чем клетки листьев кувшинок. Поэтому процент уменьшения листьев *Tilia cordata* и *Corylus avellana* меньше чем у листьев *Nymphaea*.

Выводы

- 1) Ширина и длина у листьев *Tilia cordata* уменьшается на 3-5%, а у листьев *Corylus avellana* – на 3-8%.
- 2) Отношение длины к положению наибольшей ширины не изменяется при гербаризации у обоих видов. Форма листьев после усушки изменяется хаотично, но незначительно. Однако если брать усреднённое значение длины и ширины листьев до и после гербаризации, листья *Corylus avellana* удлинняются в среднем примерно на 3%.

Благодарности

Мы благодарим нашего научного руководителя П.А. Волкову за терпение и неоценимую помощь в написании нашей первой научной работы, нашего учителя информатики Ю.Н. Клокова за возможность обрабатывать данные в программе R на школьных компьютерах, а также всех, кто помогал нам в сборе и гербаризации материала и верил в наш успех.

Список литературы

- Астрологова Л.Е., Феклистов П.А., Евдокимов В.Н., Бабич Н.А. Оформление природных коллекций // Арханг. гос. ун-т. - Архангельск: Издательский дом «ЭЛПА», 1997. — 44 с.
- Волкова П.А. Изменения размеров и формы пыльцы и листьев *Nymphaea alba*, *N. candida* и *N. tetragona* (Nymphaeaceae) при традиционных способах обработки живого материала // Ботанический журнал. 2008. Т. 93. N 1. С. 145-152.
- Маевский П.Ф. Семейство Tiliaceae Juss. – Липовые // Флора средней полосы европейской части России
- Мурахтанов Е.С. Липа // М.: Лесная промышленность, 1981. – 80 с.
- Осипов В. Е. Лещина. // М.: Агропромиздат, 1986. С. 3–9.
- Сафонов А. Изменение размеров и формы листьев разных видов растений при гербаризации. Изд. 10. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. С. 361.
- Васильев И.В., Цвелёв Н.Н. Семейство Tiliaceae Juss. – Липовые // Флора Восточной Европы. Т. 9. СПб.: Мир и Семья-95, 1996. С. 225–230.
- Цвелёв Н.Н. Семейство Betulaceae, подсемейство Corylaceae, род *Corylus* L. – лещина // Флора восточной Европы. Т.9. М.; СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. С. 92–95.
- Bookstein F. L. Morphometric tools for landmarks data. // New York, 1991.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. 2004.
- Rohlf F.J. tpsDig. Version 1.23 [Electronic resource]. 2001b. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.
- Rohlf F.J. tpsRelw: relative warps. Version 1.23 [Electronic resource]. 2001a. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.
- Rohlf F.J. tpsSuper. Version 1.12 [Electronic resource]. 2003. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.
- Rohlf F.J. tpsUtil – TPS utility program [Electronic resource]. 2000. Mode of access: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.