Московская гимназия на Юго–Западе № 1543
Кафедра биологии

Исследование морфологической изменчивости представителей рода *Nuphar* в средней полосе России

Отчет о научно-исследовательской работе

Подлесская М. (9Б)

Арутюнян Н. (9Б)

Научный руководитель:

Волкова П. А.

Москва, 2015 г.

Аннотация

Виды рода Nuphar трудно отличить друг от друга из-за гибридизации и незафиксированной внутривидовой изменчивости. Нашей целью было выявить диагностические признаки, позволяющие отличать *N. lutea*, *N. pumila* и *N. x spenneriana*. Для это были проанализированы данные о морфологии популяций кубышек территории Средней России, по признакам, часто встречающихся в определителях как диагностические. В результате мы зафиксировали морфологическую изменчивость *N. lutea* и *N. pumila*, выявили надежные диагностические признаки. В ходе обсуждения мы признали легитимность применения некоторых признаков на все территории Средней России. В качестве главных диагностических признаков мы выделили форму края рыльцевого диска, форму черешка на поперечном срезе. Также *N. lutea* характеризуется более крупной листовой пластинкой с более многочисленными жилками.

Введение

Род Nuphar (Nymphaeaceae) населяет стоячие или слабопроточные водоемы в умеренных районах Северного полушария. Кубышки – многолетние, корневищные, водные растения. Для них характерно наличие желтых цветов с пятью чашелистиками. Есть подводные (нежные) и надводные (кожистые) листья (Губанов и др., 2003).

В России прорастает три вида кубышки: *N. lutea* (L.) Smith, *N. pumila* (Timm) DC и их гибрид *N. spenneriana* Gauidin. *N. lutea* растет по всей Европе, на Кавказе, в Сибири. *N. pumila* растет в Европе, в Сибири, на Дальнем Востоке, на юге Японии и Китая, в центральной Азии. *N. spenneriana* – в пределах Скандинавии, на юге центральной Европы, в Европейской части России и в Западной Сибири (Лисицына, Папченков, 2000; Padgett, 2007). В некоторых регионах местах (Европейская часть России, Западная Сибирь), где совместно прорастают оба родительских вида, они могут скрещиваться, образуя гибрид (рис. 1).

Виды рода Nuphar трудно отличить друг от друга не только из-за их гибридизации, но и из-за высокой внутривидовой изменчивости родительских видов (Padgett, 2007). Кроме того, все приведенные в определителях признаки получены в результате промеров гербарного материала (Padgett, 2003). В результате гербаризации происходит деформация образцов, что особенно сильно выражено у водных растений.

Тем не менее, многие авторы определителей сходятся на том, что *N. lutea* и *N. pumila* различаются по форме рыльцевого диска (цельная и выемчато-зубчатая соответственно), по форме рыльца (вогнутое и плоское соответственно), по числу лучей рыльца (10-20 и 7-10 соответственно), по форме черешка (трехгранная и почти плоская соответственно) и по диаметру цветка (35-60 мм и 15-30 мм

соответственно). Значения двух диагностических признаков (длина листовой пластинки, диаметр рыльцевого диска), приведенные во многих определителях, значительно различаются (табл. 1-3). Гибрид характеризуется комбинацией состояний качественных родительских признаков и промежуточными значениями количественных (Скворцов, 2000). Признаки *N. spenneriana* – цельнокрайняя или зубчатая форма края рыльцевого диска, 11-14 лучей рыльца, диаметр цветка - 30 – 40 мм (табл. 3).

Мы решили провести измерения кубышек на живом материале из разных географических регионов, чтобы получить полную информацию о внутривидовой изменчивости и выявить диагностические признаки, позволяющие уверенно разграничивать *N.lutea* и *N.pumila*, а также гибрид между ними.

Табл.1. Диагностические признаки *N. lutea* по данным разных определителей

Определитель	Рыльце	Форма края рыльцевого диска	Диаметр рыльцевого диска (мм)	Число лучей рыльца	Форма черешка на поперечном срезе	Длина листовой пластинки (мм)	Ширина листовой пластинки (мм)	Диаметр цветка (мм)
Губанов и др., 2003	вогнутое	Цельный		10 -20	трехгранная			до 60
Маевский, 2014	вогнутое	Цельный		10-20	трехгранная	120-300		35-60
Аверьянов и др., 2000	вогнутое		10-13	10 -20	трехгранная	до 350		40-60
Бузунова и др., 2001	вогнутое		10-13	10-20	трехгранная	до 350		40-60
Губанов и др., 1992	вогнутое	цельный		10-20	трехгранная	150 и более		40-60
Скворцов, 2000					трехгранная	120-300		40-60
Лисицына и Папченков, 2000		Цельный или слабоволнистый		10-20	трехгранная		88-300	
Padgett, 2007		цельный	7-19	11-21	трехгранная	165- 300	115-221	30-45(65)

Табл.2. Диагностические признаки *N. pumila* по данным разных определителей

Определитель	Рыльце	Форма края	Диаметр (мм)	Цвет	Число лучей рыльца	Форма черешка на поперечном срезе	Длина листовой пластинки (мм)	Ширина листовой пластинки (мм)	Диаметр цветка (мм)
Губанов и др., 2003	почти плоское	Глубоко-выемчатая							
Маевский, 2014	почти плоское	выемчатая		бледно-оранжево-желтый	8 -10	сплюснутая	50-120		15-25(30)
Аверьянов и др., 2000	выпуклое или почти плоское	выемчато-зубчатый	6-8		7-10	почти плоская	до 170		20-30
Бузунова и др., 2001	Выпуклое или почти плоское	выемчато-зубчатый	6-8		7-10	почти плоская	до 170		20-30
Губанов и др., 1992	выпуклое	зубчатый			8-10	плоская	50-100		20-30
Скворцов, 2000						плоско-ромбическая			
Лисицына и Папченков, 2000	выпуклое	зубчатый			8-10	плоская	45-120	35-90	15-30
Padgett, 2007	выпуклое	лопасто-зубчатое	4 -7.5	желтый, реже слегка красноватый	8-14	от плоской до килеватой	70-115	55-108	23-30

Табл.3. Диагностические признаки *N. x spenneriana* по данным разных определителей

Определитель	Рыльце	Диаметр рыльц. диска (мм)	Форма черешка на поперечном срезе	Форма края рыльц. диска	Число лучей рыльца	Диаметр цветка (мм)	Длина листовой пластинки (мм)
Губанов и др., 2003	почти плоское			почти цельнокрайняя или зубчатая	11 -14	30-40	
Лисицына и Папченков, 2000			в верхней части б.м. сплюснутые до 3-гранных	почти цельнокрайняя или зубчатая	11 -14	30 – 35	80 -180
Padgett, 2007		5-7	сплюснутая	городчатая	9-15	20-30	90-200

Цель и задачи

Цель: Выявить диагностические признаки, по которым можно будет отличить друг от друга *N. lutea*, *N. pumila* и *N. spenneriana*.

Задачи:

1. Исследовать морфологическую изменчивость внутри родительских видов (*N. lutea*, *N. pumila*);
2. Выявить признаки, по которым можно уверенно различать *N. lutea*, *N. pumila* и *N. spenneriana*

Материалы и методы

Мы исследовали кубышки в девяти водоемах в Удомельском районе Тверской области (рис. 2), также нам были предоставлены данные о морфологии кубышек из других регионов России (рис. 1, табл. 4).

В каждом водоеме мы измерили не менее 10 растений (если популяция была достаточно большой), находящихся на расстоянии не менее 10 метров друг от друга (табл. 4).

Таблица 4. Исследованные популяции кубышки

Номер популяции	Дата	Место	Вид[1]	Число раст.	Кто измерял
1. Тверская область, Удомельский район					
2	22.06.2015	2.5 км на ВЮВ от Анисимово, река Гусинка	lutea	20	Волкова
3	29.06.2015	Озеро Белое	lutea	20	Подлесская
4	30.06.2015	Озеро Глубокое	pumila	7	Подлесская
5	30.06.2015	Озеро Молдино	lutea	20	Подлесская
6	01.07.2015	Озеро Гайново	lutea	20	Подлесская
7	01.07.2015	Озеро Гусиное	lutea	20	Подлесская
8	02.07.2015	Озеро Гнилое	lutea	19	Подлесская
9	03.07.2015	Озеро Кезадра	pumila + lutea	20	Подлесская
10	04.07.2015	Озеро Глухое	lutea	20	Подлесская
2. Республика Карелия, Лоухский район					
22	18.07.2015	Озеро Круглое	lutea	20	Абрамова
23	14.08.2015	2 км к востоку от пос. Хетоламбина, озеро Потерянное	lutea	12	Абрамова
38	30.07.2015	1 км на ЮЮЗ от п. Приморский, озеро Верхнее	lutea	18	Борисова
39	31.07.2015	2 км на ЮВ от п. Приморский, озеро Круглое	lutea	10	Борисова
3. Новосибирская область, Чулымский район					
43	19.07.2015	Р. Чулым, рядом с г. Чулым	lutea	10	Киприянова
44	21.07.2015	Р. Чулым, рядом с г. Чулым, недалеко от моста	lutea	10	Киприянова

4. Московская область					
14	30.08.2015	Истринский район, 5 км к югу от станции Истра, озеро Баево	pumila	3	Волкова
16	06.09.2015	Волоколамский район, 3 км к западу от дер. Шитиково, озеро Стекло	pumila	12	Волкова
5. Ярославская область					
15	02.09.2015	Переславский район, 500 м на СЗ от дер. Вашутино, запад. берег озера Вашутинское	lutea + pumila	8	Волкова
33	20.08.2015	Некгоузский район, река Сутка, близ Горький	lutea	13	Чемерис
34	20.08.2015	Некгоузский район, г. Некгоуз, река Ильд	lutea	12	Чемерис
6. Архангельская область, Каргопольский район					
31	25.06.2015	1 км к востоку от п. Тихманьга, река Тихманьга	lutea	11	Чемерис
32	25.06.2015	Южная часть озера Лача	lutea	11	Чемерис
7. Якутия					
37	08.08.2015	Старица на р. Колыма, 35 км на север от пос. Зырянка	pumila	10	Бобров
8. Вологодская область					
30	22.06.2015	Кирилловский район, озеро Воже	lutea	11	Чемерис

1— определение, сделанное измеряющими на основании общего впечатления

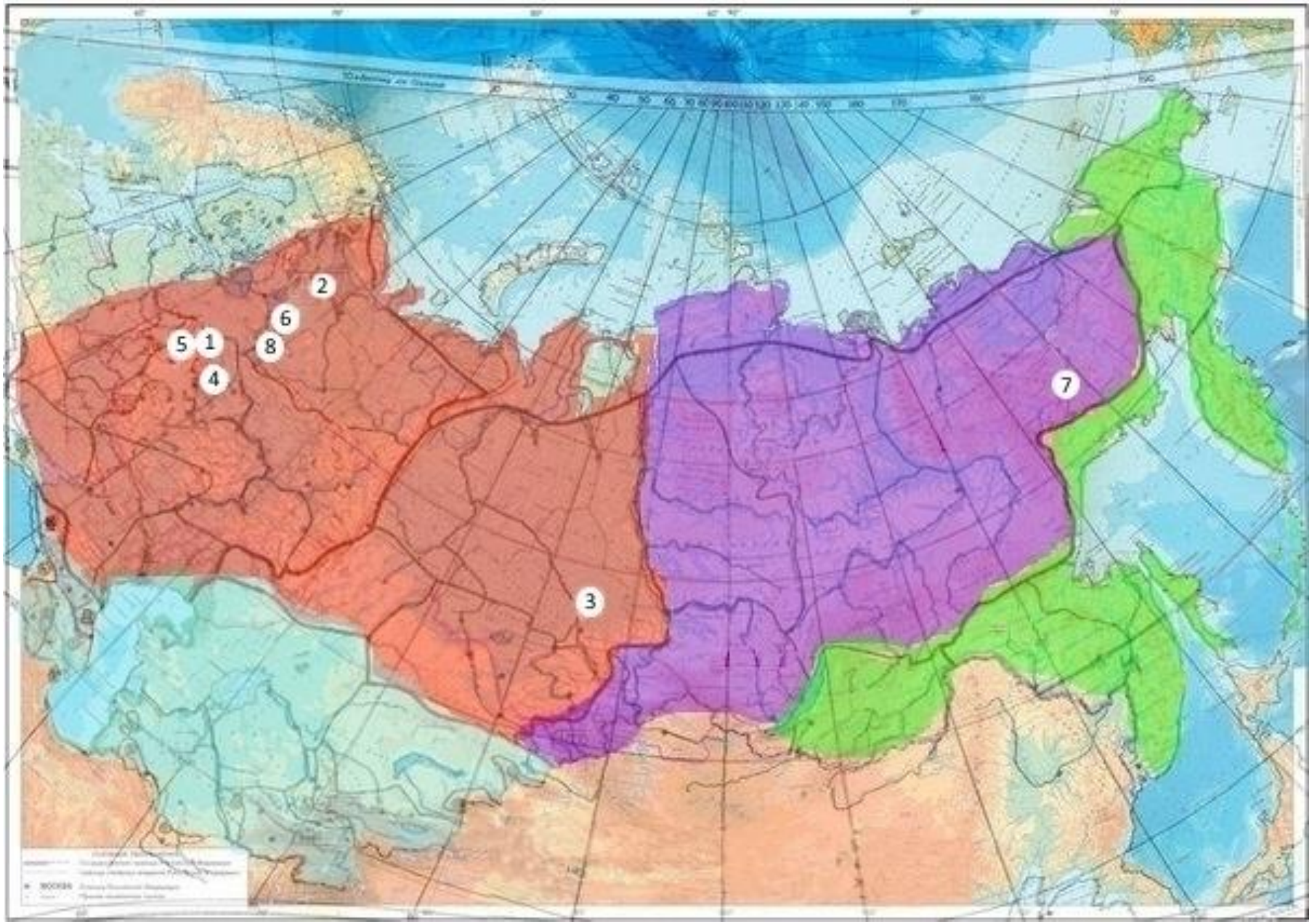
2
6
5
1
8
4
7
3

Рис.1. Местонахождение исследованных популяций и ареалы видов на территории бывшего СССР (по определителям, указанным в списке литературы). Числами обозначены регионы (табл. 4). Ареалы видов обозначены цветами: голубой – *N. lutea*, зеленый – *N. pumila*, фиолетовый – оба родительских вида, красный – оба родительских и гибрид.

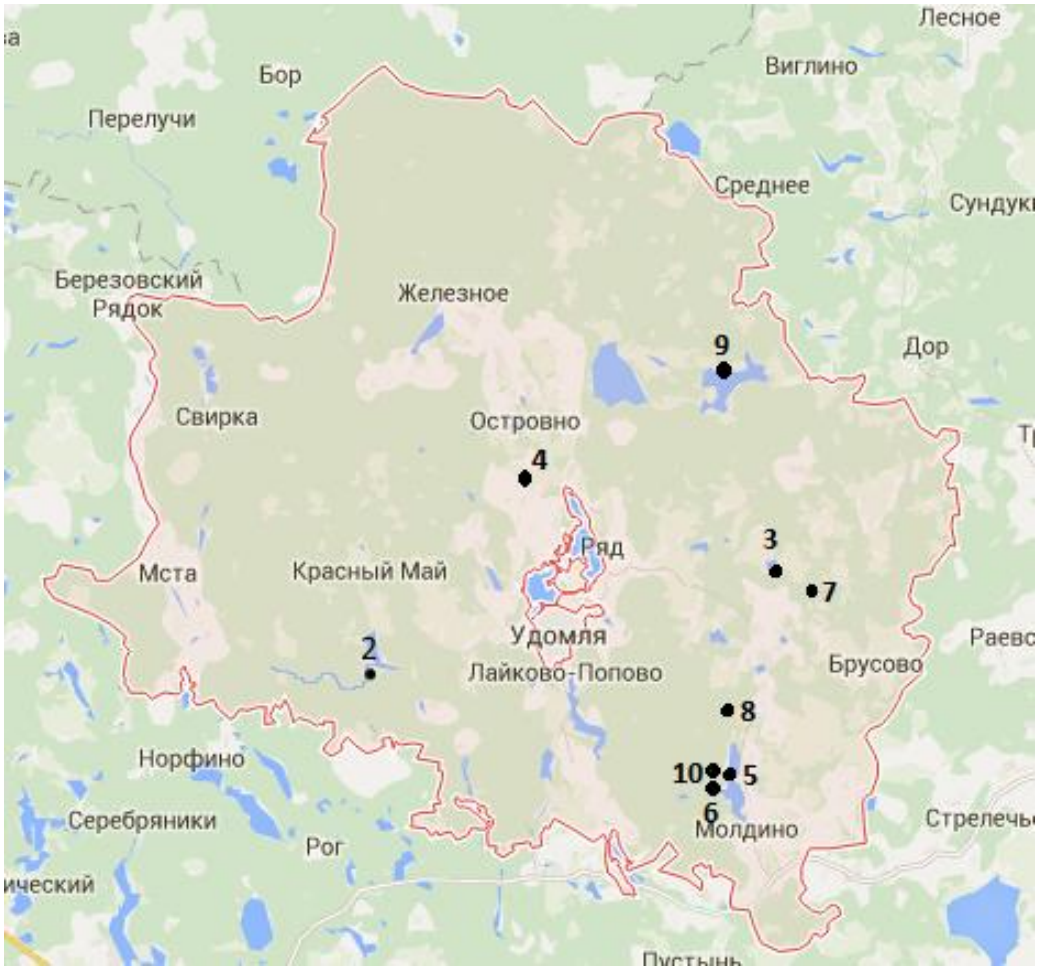

Рис 2. Места сбора кубышек в Удомельском районе Тверской области. Числами обозначены популяции (согласно табл. 4).

После этого у растения мы регистрировали признаки, которые в литературе были указаны как диагностические (табл. 1-3):

Таблица 5. Признаки, использованные в ходе работы

Рыльцевой диск	Форма края - цельный, городчатый, лопастной Диаметр (мм) Цвет - желтый, красный, зеленый Число лучей рыльца
Черешок на поперечном срезе	Форма - трехгранный, сплюснутый, округлый Лакуны – крупная, цельная, окружена мелкими; сетка из мелких
Наибольшая листовая пластинка	Положение - плавает на поверхности, приподнимается Длина (мм), ширина (мм), длина лопасти (мм) Число главных жилок с одной стороны.
Наружная тычинка	Длина пыльника (мм) Длина тычиночной нити (мм)
Форма завязи	Прямая, изогнутая

После измерения часть листа кубышки мы помещали в силикагель, на пакетике с силикагелем мы надписывали номер популяции и номер растения. Это делалось для будущей проверки правильности определения вида с помощью молекулярно-генетических методов. Также мы помещали 1-2 растения из каждой популяции в гербарий, а именно лист и цветки: целый, разрезанный вдоль и отдельно рыльцевой диск; плод, разрезанный поперек, при наличии оного. Часть исследователей, предоставлявших нам данные, путали длину листа и длину лопасти, поэтому от этих признаков пришлось отказаться.

Для статистической обработки данных была использована программа R (R Core Team, 2013).

Результаты

При помощи кластерного анализа были выделены две группы растений, схожих по совокупности исследованных признаков. Мы проанализировали морфологию «чистых» популяций, представленных только растениями, морфология которых была характерна для *N.lutea* или *N.pumila* (табл. 6). При сравнении с таблицей 4 видно, что определение, сделанное измеряющими на основании общего впечатления, подтвердилось для всех популяций, кроме 38.

Для количественных признаков мы вычислили 95% доверительные интервалы. Для качественных признаков вычислена частота встречаемости (табл. 7, рис. 3 - 8).

Одним из главных результатов является таблица со значениями диагностических признаков, при помощи которых можно различать *N.lutea* и *N.pumila* в полевых условиях (табл. 7).

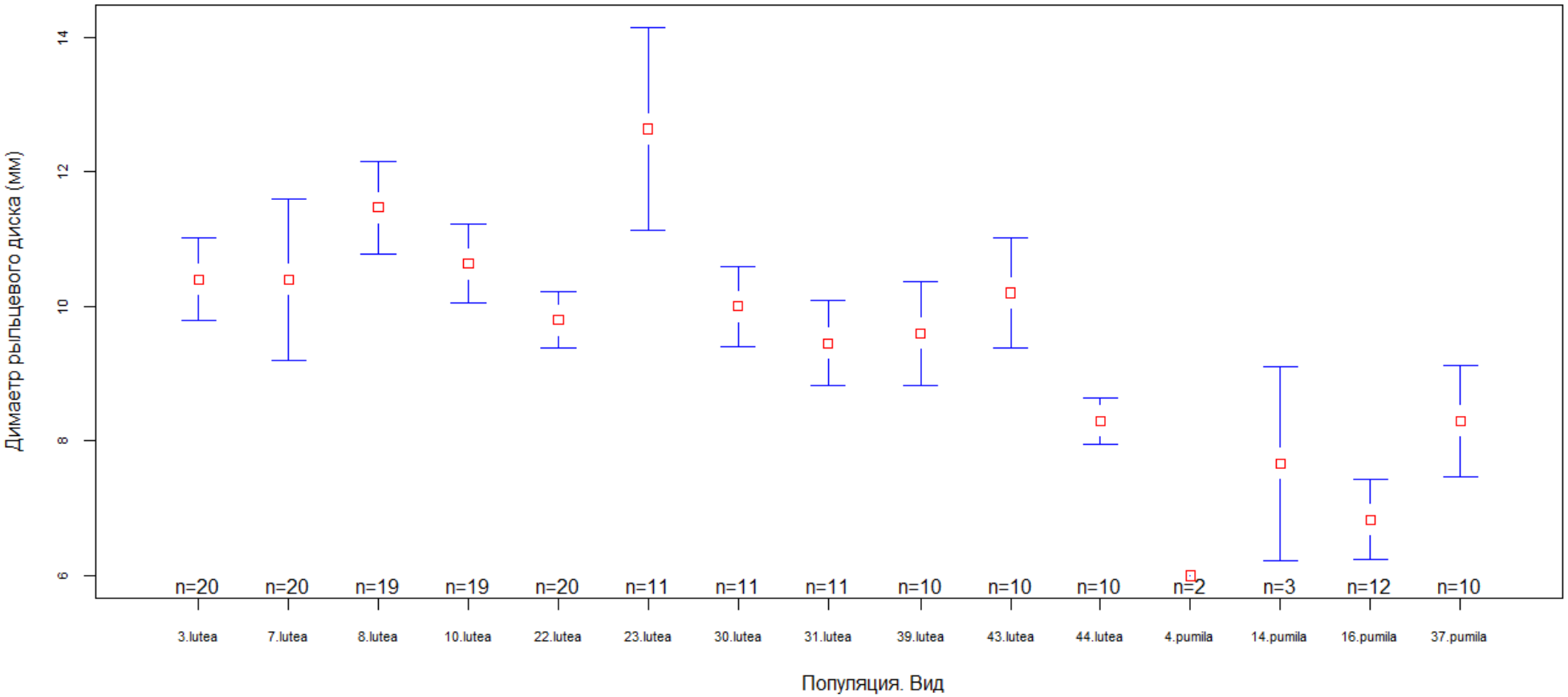

Рисунок 3. Внутрипопуляционная изменчивость диаметра рыльцевого диска.
Указаны среднее и 95% доверительные интервалы признака, для каждой популяции приведено число измеренных растений.

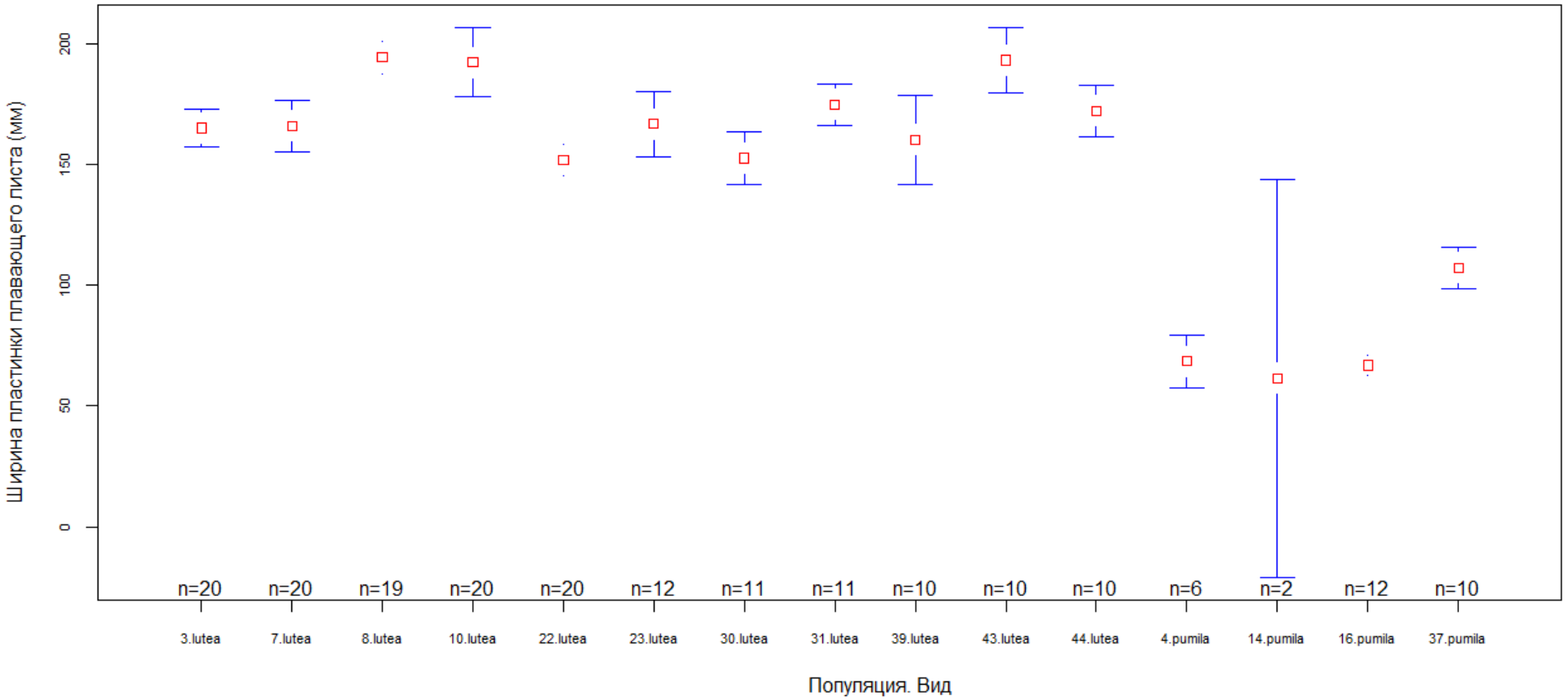

Рисунок 4. Внутрипопуляционная изменчивость ширины пластинки плавающего листа. Указаны среднее и 95% доверительные интервалы признака, для каждой популяции приведено число измеренных растений.

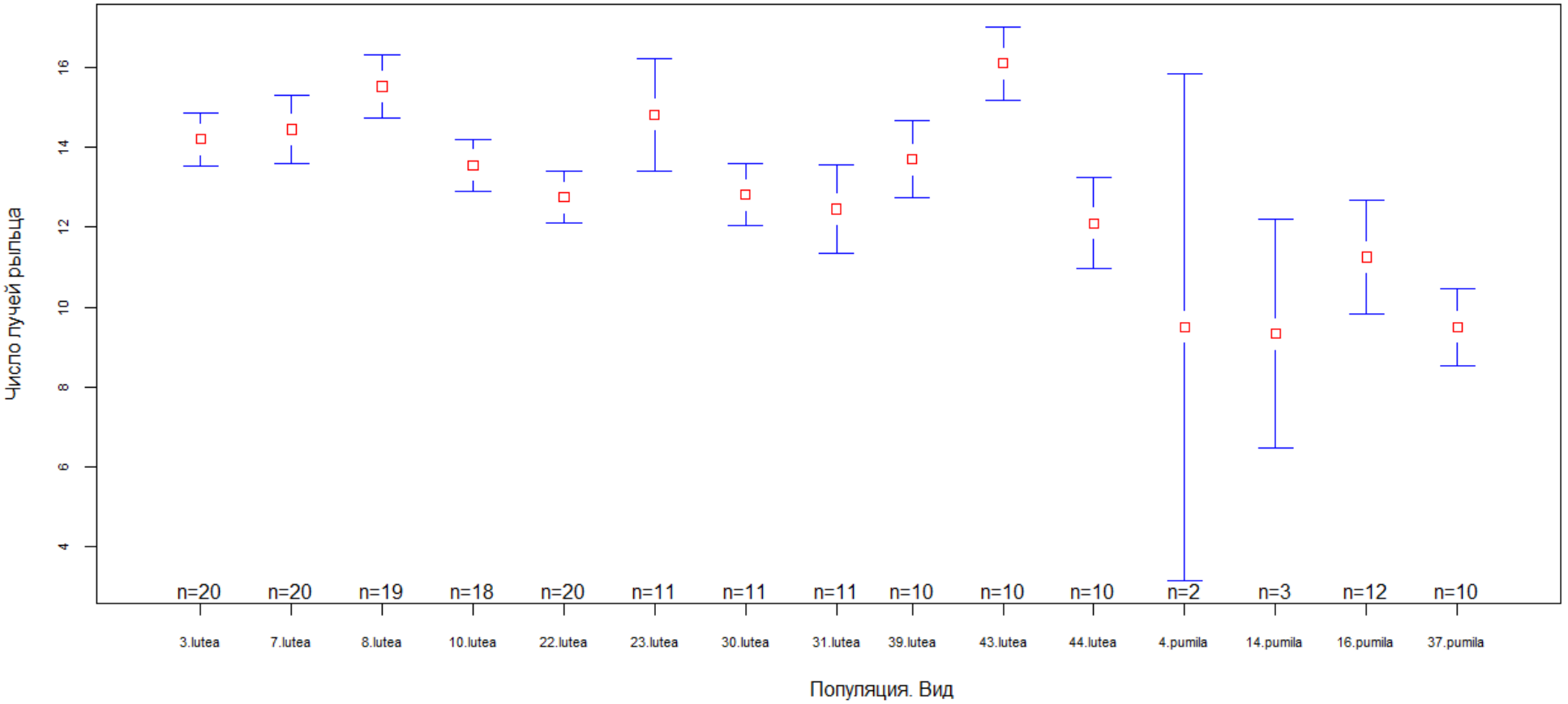

Рисунок 5. Внутрипопуляционная изменчивость числа лучей рыльца. Указаны среднее и 95% доверительные интервалы признака, для каждой популяции приведено число измеренных растений.

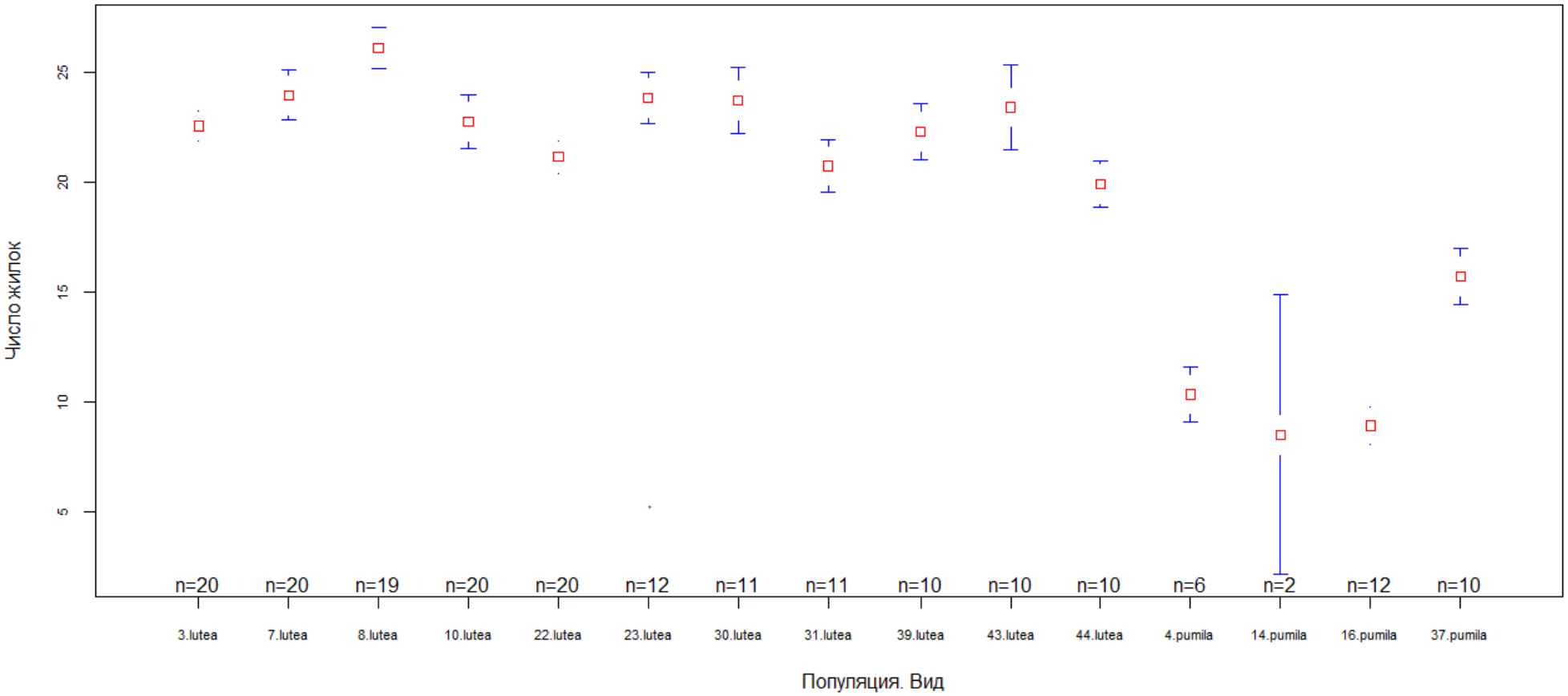

Рисунок 6. Внутрипопуляционная изменчивость числа жилок. Указаны среднее и 95% доверительные интервалы признака, для каждой популяции приведено число измеренных растений.

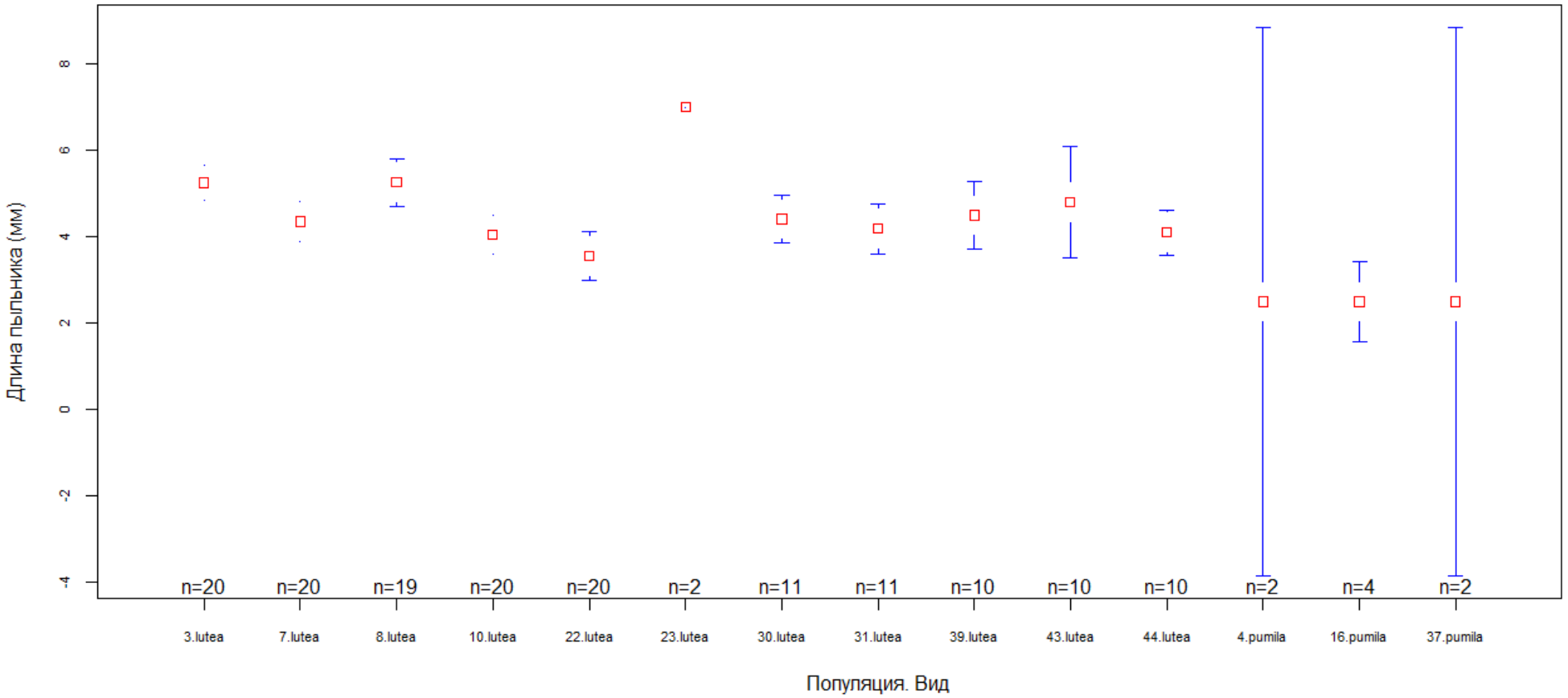

Рисунок 7. Внутрипопуляционная изменчивость длины пыльника. Указаны среднее и 95% доверительные интервалы признака, для каждой популяции приведено число измеренных растений.

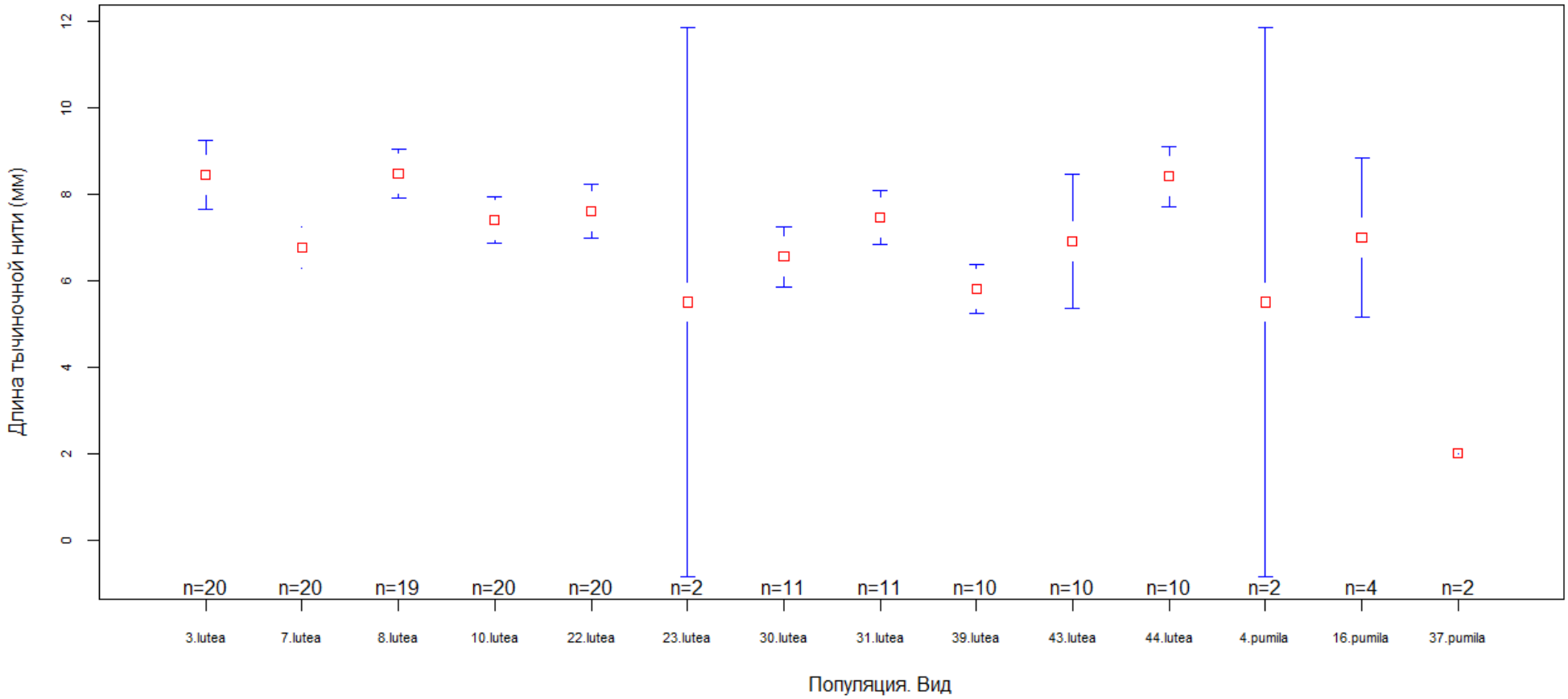

Рисунок 8. Внутрипопуляционная изменчивость длины тычиночной нити. Указаны среднее и 95% доверительные интервалы признака, для каждой популяции приведено число измеренных растений.

Таблица 6. Число растений с морфологией, типичной для *N.pumila* и *N. lutea*, жирным выделены «чистые» популяции.

Популяция	*N. lutea*	*N. pumila*
3	**20**	0
4	0	**2**
5	**20**	0
6	19	1
7	**20**	0
8	**19**	0
9	**12**	0
10	**18**	0
14	0	**2**
15	4	4
16	0	**11**
22	**20**	0
23	**11**	0
30	**3**	0
31	**5**	0
33	9	1
34	8	2
37	0	**10**
38	10	8
39	**10**	0
43	**10**	0
44	**10**	0

Таблица 7. Внутривидовая морфологическая изменчивость двух видов кубышки по нашим данным.

Признак	*N. lutea*	*N. pumila*
Диаметр рыльцевого диска (мм)	(7) 9 - 11(19)	(5)6,5 - 8(10)
Цвет рыльцевого диска (%)	Желтый – 98, зеленый – 2	Желтый – 31, зеленый – 69
Число лучей рыльца	(10) 13 - 15(19)	(7)9 - 11(15)
Форма черешка (%)	Трехгранный – 100	Трехгранный – 3, сплюснутый – 97
Ширина листовой пластинки (мм)	(110)153 - 186(262)	(55)63 - 100(118)
Число главных жилок	(16)21 - 24(30)	(7)9 - 14(18)
Длина пыльника (мм)	(2)4 - 5(8)	2 - 3
Длина тыч. нити (мм)	(4)6 - 8(12)	(2)4 - 6,5(8)
Форма завязи (%)	Прямая – 91, изогнутая - 9	Прямая – 43, изогнутая – 57
Форма края рыльцевого диска (%)	Цельный – 97, городчатый - 3	Лопастной – 52, городчатый – 48

Для качественных признаков указана частота их значений, для количественных – нижняя и верхняя квартили и в скобках минимум и максимум.

Обсуждение

Наши результаты показывают, что наиболее эффективны для различения *N. pumila* и *N. lutea* ширина листовой пластинки, форма края рыльцевого диска, форма черешка и число главных жилок (табл. 7). Полученные нами значения этих признаков совпадают в приведенными в большинстве определителей (табл. 8). Такой широко используемый диагностический признак как число лучей рыльца (табл. 8) не подтвердил свою эффективность. Так, число лучей рыльца у растений *N. pumila*, исследованных нами, часто достигает 11-15, что пересекается со значениями, характерными для *N. lutea* (табл. 7). Предлагаемые некоторыми авторами в качестве эффективных диагностических признаков диаметр рыльцевого диска (Аверьянов и др., 2000; Бузунова и др., 2001; Padgett, 2007) и размер тычинок и цвет рыльца (Padgett, 2007) по нашим данным не позволяют уверенно разграничивать виды, так как значения этих признаков заметно перекрываются (табл. 7).

При рассмотрении морфологически разнородных популяций (табл. 6), в которых встречались растения с совокупностью признаков типичной как для *N.lutea*, так и для *N. pumila,* мы обнаружили, что в целом эти популяции следует отнести к *N.lutea,* как это сделали те, кто измерял их в полевых условиях. По-видимому, то, что в результате кластерного анализа растения из этих популяций были отнесены в разные морфологические группы, объясняется значительной морфологической изменчивостью *N.lutea,* как выявили мы и другие авторы (табл. 8). Например, хотя для *N.lutea* характерен цельный край рыльцевого диска, иногда он может быть волнистым. Единственное исключение – это озеро Вашутинское (местонахождение 15), в котором произрастают оба вида кубышки (табл. 4).

Таблица 8. Итоговое сравнение диагностических признаков

Автор	Вид	Рыльце диаметр	Форма края	Цвет	Число лучей рыльца	Форма черешка на поперечном срезе	Ширина лопасти (мм)
Мы	*N.lutea*	(7) 9 - 11(19)	цельный – 97 %	желтый – 98 %	(10) 13 - 15(19)	трехгранная – 100%	(110)153 - 186(262)
	N.pumila	(5)6,5 - 8(10)	лопастной – 52%, городчатый – 48%	желтый – 31%, зеленый – 69%	(7)9 - 11(15)	сплюснутый – 97 %	(55)63 - 100(118)
Padgett, 2007	*N.lutea*	7-19	цельный		11-21	трехгранная	115-221
	N.pumila	4-7.5	лопасто-зубчатая	желтый, реже красноватый	8-14	от плоской до килеватой	55-108
	N. spenneriana	5-9	городчатая			сплюснутая	
Губанов и др., 2003	*N.lutea*		цельный		10-20	трехгранная	
	N.pumila		глубоко выемчатая				
	N. spenneriana		почти цельнокрайная или зубчатая		11-14		
Маевский, 2014	*N.lutea*				10-20	трехгранная	
	N.pumila		выемчатая	бледно-оранжево-желтый	8-10	сплюснутая	
Аверьянов и др., 2000	*N.lutea*	10-13			10-20	трехгранная	
	N.pumila	6-8	выемчато-зубчатый		7-10	почти плоская	
Бузунова и др., 2001	*N.lutea*	10-13			10-20	трехгранная	
	N.pumila	6-8	выемчато-зубчатый		7-10	почти плоская	
Губанов и др., 1992	*N.lutea*		цельный		10-20	трехгранная	
	N.pumila		зубчатый		8-10	плоская	
Скворцов, 2000	*N.lutea*					трехгранная	
	N.pumila					плоско-ромбическая	
Лисицына и Папченков, 2000	*N.lutea*		цельный (слабоволнистый)		10-20	трехгранная	88-300
	N.pumila		зубчатый		8-10		35-90
	N. spenneriana	5-9	городчатая			сплюснутая	

У *N. lutea* детально изучены европейские популяции, но изменчивость популяций из Новосибирской области укладывается в диапазон морфологической изменчивости европейских популяций. Различия между европейскими и якутскими популяциями *N. pumila* также отсутствуют (рис. 3-8). Это свидетельствует о применимости предлагаемых нами диагностических признаков на всем ареале видов

Выводы

1. Оба исследованных вида (*N. lutea* и *N.pumila*) характеризуются существенной внутривидовой изменчивостью, значения многих диагностических признаков перекрываются.

2. Были выявлены диагностические признаки, по которым можно с наибольшей уверенностью разграничить *N. lutea* и *N.pumila*: форма края (цельная и городчатая соответственно), форма черешка (трехгранная и плоская), также *N. lutea* характеризуется более крупной листовой пластинкой с более многочисленными жилками.
Гибрид же – смесь из разных значений и состояний родительских признаков, слабо пригодная для определения.

Благодарности

Мы благодарим нашего научного руководителя П. А. Волкову за помощь при выполнении работы; С. М. Глаголева и Е. В. Елисееву за организацию практики и за помощь в доставке на озера; Л. Абрамову, А. Боброва, П. Борисову, Д. Захарченко, Л. Киприянову, Е. Черемис за предоставленные данные по морфологии кубышек; Н. Тихомирова за помощь в сборе кубышек.

Литература

Аверьянов Л. Д. и др. 2000. Иллюстрированный определитель растений Карельского перешейка. Под редакцией А.Л. Буданцева и Т.П. Яковлева. СПБ: СпецЛит; Издательство СПХФА. Стр. 186.

Бузунова И. О. и др. 2001. Флора Восточной Европы. Том 10. Издательство Санкт- Петербургской химико- фармацевтической академии. Под редакцией Н. Н. Цвелева. Стр. 29 – 30.

Губанов И. А. и др. 1992. Определитель сосудистых растений. Издательство МГУ. Стр. 180 – 181.

Губанов И. А. и др. 2003. Иллюстрированный определитель растений средней России. Том 2. Москва. Издание товарищества научных исследований КМК, Институт технологических исследований. 665 с.

Лисицына Л. И. и Папченков В. Г. 2000. Флора водоемов России определитель сосудистых растений. Москва: Наука. 237 с.

Маевский П.Ф. 2014. Флора средней полосы Европейской части России. Товарищество научных изданий КМК. Стр. 51.

Скворцов В.Э. 2000. Атлас - определитель сосудистых растений таежной зоны Европейской России. 587 с.

R Core Team 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/

Padgett D. J. 2003. Phenetic studies in Nuphar Sm. (Nymphaeaceae): variation in sect. Nuphar. – Plant Syst. Evol. 239: 187–1.

Padgett D. J. 2007. A monograph of Nuphar (Nymphaceae). – Rhodora, Vol. 109, No. 937, pp. 1-95.