Московская школа на Юго-западе №1543

Кафедра биологии

Биология цветения *Melampyrum pratense* L., семейства Orobanchaceae

Работу выполняли:

Величанская Мария (9Б)

Шульгина Екатерина (9Б)

Научный руководитель:

Волкова Полина Андреевна

Москва, 2021

Введение

Марьянник луговой *(Melampyrum pratense* L.*)*, сем. Заразиховые (Orobanchaceae) – однолетний корневой гемипаразит. Распространён в европейской части России. Растет в преимущественно полузатененных местах, по опушкам лиственных лесов, кустарниковых зарослей (Раделов С., 2008).

Цветки двугубые, зигоморфные, светло-жёлтые, обоеполые (тычинки и один пестик). Способны к автогамии, но опылители так же играют важную роль в завязывании семян и плодов (в эксперименте с изоляцией цветков от опылителей семенная продукция падала) (Jennersten et. al., 1990).

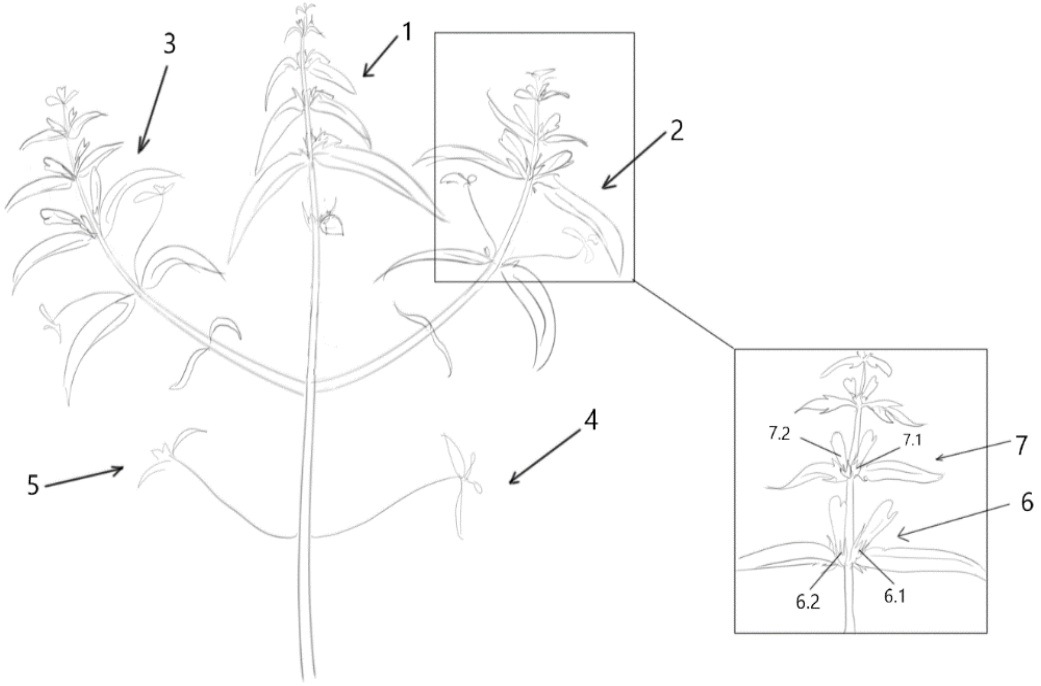

Рис 1. Схема строения Melampyrum pratense (рис. М. Величанской). *1 – главный побег; 2- боковой побег №2; 3 – боковой побег №3; 4- боковой побег №4; 5 – боковой побег №5; 6 – узел бокового побега №1; 7 – узел бокового побега №2; 6.1 – цветок первого узла №1; 6.2 - цветок первого узла №2; 7.1 - цветок второго узла №1; 7.2 – цветок второго узла №2.*

Цветёт *M. pratense* с июня по сентябрь. Продолжительность периода цветения (в том числе времени его начала) варьирует у других видов растений (Primack, 1980; Primack, 1985). Так же может различаться продолжительность отдельных стадий цветения (Марко, 2018; Mudiana, 2021; Зубарев и др., 2021).

Длительность стадий цветения зависит, например, от климата (Каменева, 2018; Марко, 2000) или абиотических условий отдельного биотопа, а так же растительного сообщества, если рассматривается гемипаразитарное растение (Haug, 2017). Индикатором того, насколько условия благоприятны для растения, может служить качество пыльцы: процентное соотношение фертильных и стерильных зёрен (Паушева, 1988), так как в благоприятных условиях, или условиях к которым растение адаптировалось, будет высокая семенная продукция и большой процент фертильной пыльцы. Так же влияние может оказывать активность опылителей, посещающих растение. Это исследуется в работе Коваленко (2009), где для растений Люцерны (Medicágo) искусственно создавались условия, в которых опылители посещали цветки с заданной частотой.

Цели и задачи:

Цель: изучить особенности цветения популяций M. pratense в Ярославской области и их приспособленность к условиям биотопа.

Для достижения поставленной цели мы сформулировали следующие задачи:

1. Разделить цветение на стадии и обосновать данное разделение;
2. Собрать данные по продолжительности разных стадий цветения *M. pratense* и выявить внутри- и межпопуляционную изменчивость;
3. Определить опылителей M.pratense, характерных для данной местности и биотопов, а так же их активность;
4. Определить качество пыльцы M.pratense;

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Наблюдения проводили в Некоузском районе Ярославской области (стационар «Сунога», окр. посёлка Борок) в период с 30 июня по 5 июля 2021 года.

Рис. 2. Спутниковый снимок района исследований (Google maps) и местоположение исследованных популяций Melampyrum pratense

Выбрали две популяции, из которых взяли случайным образом по 15 растений. Первая популяция находится в смешанном лесу (N 58.04604° E 038.24534°; рядом произрастают: *Sorbus aucuparia*, *Pinus sylvestris*, *Betula pendula*, *Oxalis acetosella*, *Fragaria vesca*), вторая – на дамбе, с кустами и деревьями по обочине (N 58.04131° E 038.24826°; рядом произрастают: *Betula pendula*, *Populus tremula*, *Sorbus aucuparia*, *Lupinus polyphyllus*., *Trifolium sp*.).

Ориентируясь на внешние морфологические признаки, выделили четыре наиболее различающиеся стадии цветения: бутон, цветок молодой, цветок распустившийся и плод (таблица 1). Далее каждое наблюдение записывали, на какой стадии находится каждый цветок. Наблюдали за всеми цветками на 30 растениях в двух популяциях, по 15 в каждой.

стадия	описание	схемы	фотографии
Бутон	Зелёный, прямоугольной формы. Как правило, ширина в основании венчика не отличается от ширины зева венчика.		
Молодой	Светло-жёлтый цветок, готовящийся к распусканию. Зев закрыт, его ширина внешне отличается от ширины основания венчика.		
Распустившийся	Цветок с открытым зевом, готовый к опылению. Внутренняя сторона нижней губы жёлтая. Ширина венчика в основании сильно отличается от ширины зева венчика.		
Плод	Заострённая плоская коробочка.		

Таблица 1. Стадии цветения M. pratense (рис. и фото М. Величанской)

Первую популяцию посещали два раза в сутки (утром – в промежутке с 9:00 до 10:00, и вечером – в промежутке с 18:00 до 18:40), за исключением 30 июня, когда данные фиксировали только во второй половине дня. Посещение второй популяции начали на следующий день, 1 июля, данные так же зафиксировали один раз, после чего записывали стабильно дважды в день. Погодные данные о температуре, влажности, облачности и осадках записывали каждый раз с началом наблюдения с помощью данных с ближайшей метеостанции. Наблюдения закончили вечером пятого июля. Даты записывали таким образом: Когда мы записывали стадии цветения, то начинали с центрального побега, потом правый сверху, потом левый сверху, затем следующий правый и т. д. На самих побегах узлы записывали сверху вниз. В узлах сначала всегда записывали правый, потом левый.

Цветки срывали с растений и измеряли по ряду параметров (рис. 3), с использованием обычной линейки (цена деления – 0,1 мм). В последствии полученные данные сравнивали между стадиями при помощи теста Краскела-Уоллиса. Если значение p оказывалось меньше 0.05, дополнительно проводили тест Манна-Уитни, сравнивая отдельно каждую пару стадий: молодой с бутоном, молодой с распустившимся и

распустившийся с бутоном. Чтобы компенсировать «проблему множественных сравнений», с помощью поправки Холма-Бонферрони скорректировали полученные значения p. Уровень значимости остался 0.05.

Параллельно проводили наблюдения за опылителями. Насекомых, посещающих цветки *M. pratense* по возможности отлавливали и помещали в отдельные морилки, после чего определяли до надсемейства. Наблюдения так же проводились с 30 июня по 5 июля.

Несколько раз определяли фертильность и стерильность пыльцы, с использованием свежих цветов *M. pratense*. Для этого брали предметное стекло с небольшой каплей воды, куда помещали пыльцу с помощью иголки. Потом добавляли йод, для отделения типов пыльцы. В результате, фертильная пыльца окрашивается в темный цвет, а стерильная практически не изменяется.

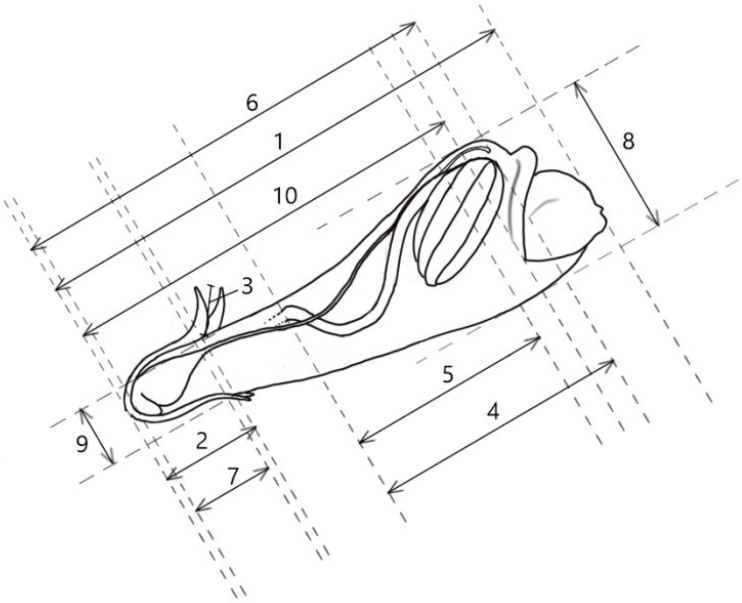

Рис. 3. Параметры измерения цветков (рис. М. Величанской). 1 – длина венчика, 2 – длина трубки чашечки, 3 – длина зубцов чашечки, 4 – длина тычинки, 5 – длина тычиночной нити, 6 – длина пестика, 7 – длина завязи, 8 – ширина зева венчика, 9 – ширина венчика в основании, 10 – длина трубки венчика.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравниваемые данные	Объём выборки
Морфология цветка	30 цветков
Время цветения	48 цветков. По 24 из каждой популяции

Таблица 2. Объёмы выборок для каждой группы данных

Морфология цветка

(значение p по тестам Манна-Уитни указано сразу с учётом корректировки)

Длина венчика статистически значимо различается цветка (тест Краскела-Уоллиса: $p = 2.3\times10^{-6}$) на разных стадиях развития цветка (для молодого и бутона p=0.00384, для молодого и распустившегося p=0.00384, для бутона и распустившегося p=0.00384). Чем «старше» цветок, тем венчик длиннее.

Длина чашечки (рис. 5) практически не изменяется (тест Краскела-Уоллиса: p = 0.43).

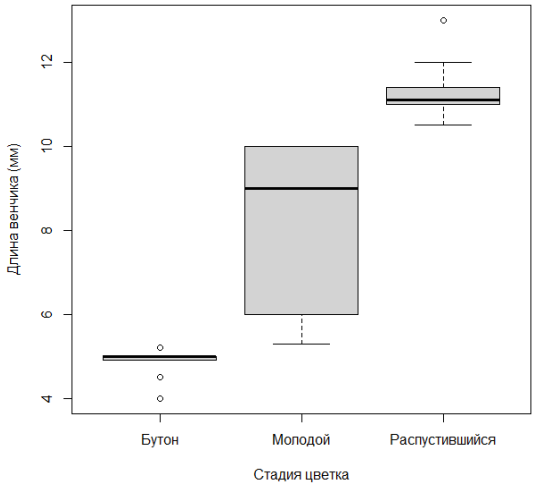

Рис. 4. Длина венчика *M. pratense* на разных стадиях цветения

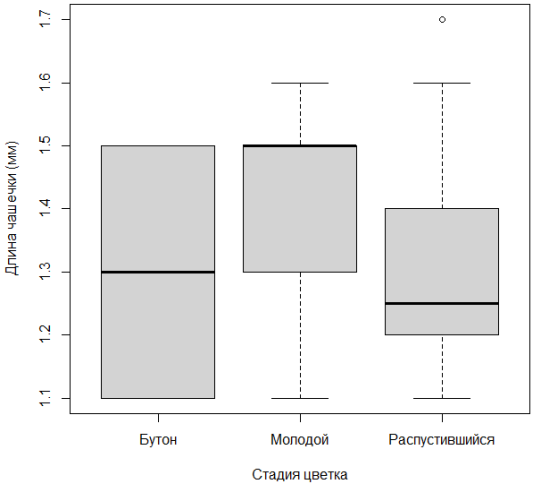

Рис. 5. Длина чашечки *M. pratense* на разных стадиях цветения

Длина зубцов чашечки (рис. 6) статистически значимо различается у бутона и распустившегося цветка (p = 0.0184), а так же у бутона и молодого цветка (p = 0.0184). Между молодым и распустившимся цветками различий нет (p = 0.6). Длина зубцов чашечки у молодых цветков имеют промежуточные значения.

Чем «старше» цветок, тем длиннее пестик (тест Краскела-Уоллиса: $p = 1.32\times10^{-5}$). Различия присутствуют для всех стадий (для молодого и бутона p=0.024, для молодого и распустившегося p=0.00384, для бутона и распустившегося p=0.00384) (рис. 7).

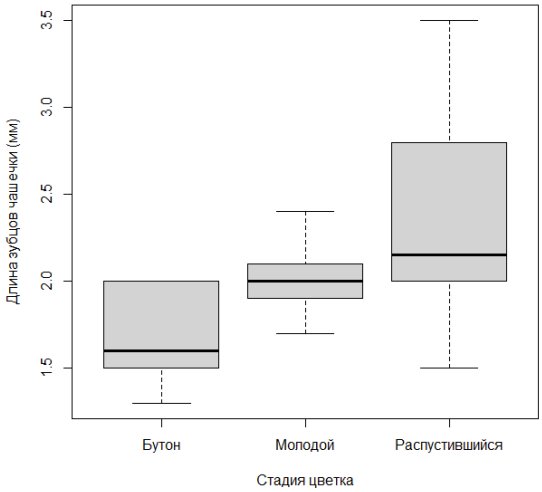

Рис. 6. Длина зубцов чашечки *M. pratense* на разных стадиях цветения

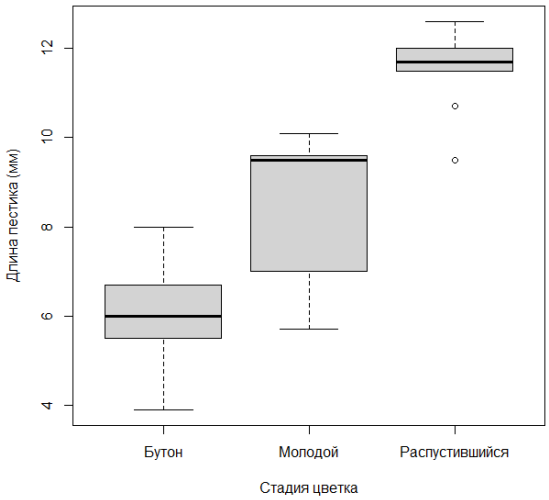

Рис. 7. Длина пестика *M. pratense* на разных стадиях цветения

Длина завязи (рис. 8) на стадиях бутона и молодого цветка значимо не различается (p = 0.6), но на стадии распустившегося цветка заметно увеличивается (для бутона и распустившегося p = 0.0154, для молодого и распустившегося p = 0.0052).

Длина тычинок (рис. 9) по мере развития цветка увеличивается (тест Краскела-Уоллиса: $p = 3\times10^{-5}$). Различия найдены для всех трёх стадий (для молодого и бутона p=0.0052, для молодого и распустившегося p=0.049, для бутона и распустившегося p=0.00384)

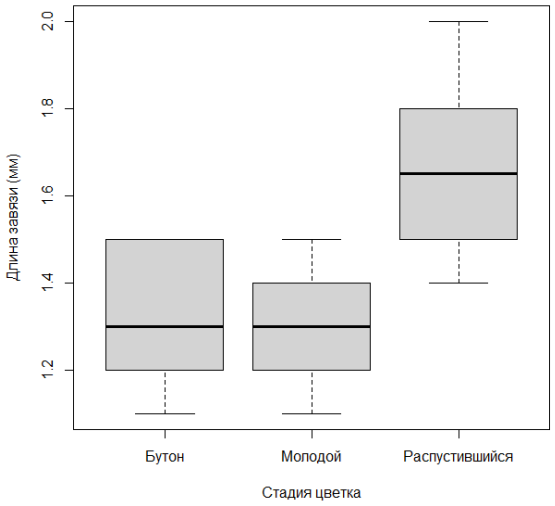

Рис. 8. Длина завязи *M. pratense* на разных стадиях цветения

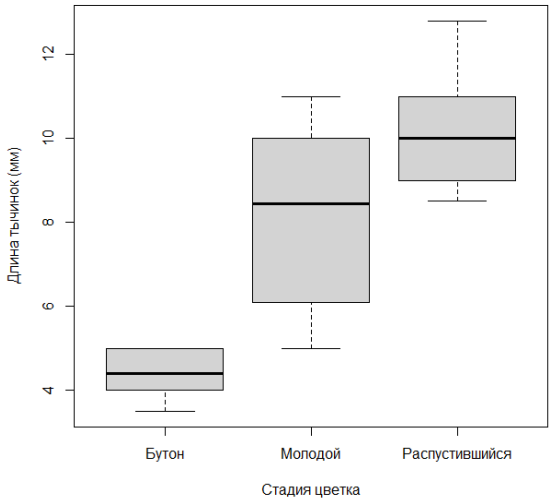

Рис. 9. Длина тычинок *M. pratense* на разных стадиях цветения

Со временем длина тычиночной нити увеличивается (тест Краскела-Уоллиса: p = 0.00013). Это работает для каждой из стадий (для молодого и бутона p=0.037, для молодого и распустившегося p=0.048, для бутона и распустившегося p=0.004)

Длина трубки венчика (рис. 11) по мере развития цветка увеличивается (тест Краскела-Уоллиса: $p = 3.07\times10^{-6}$)(для молодого и бутона p=0.00384, для молодого и распустившегося p=0.0042, для бутона и распустившегося p=0.00384)

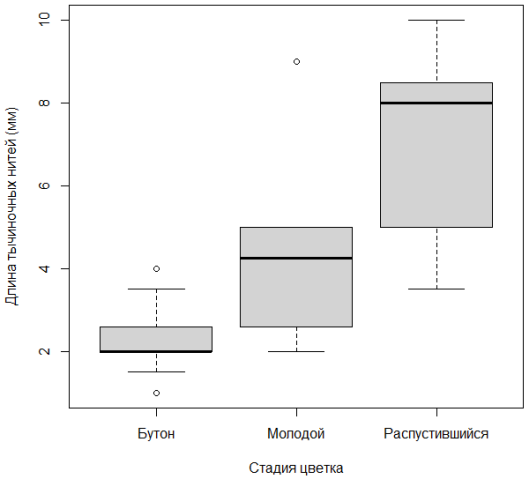

Рис. 10. Длина тычиночных нитей *M. pratense* на разных стадиях цветения

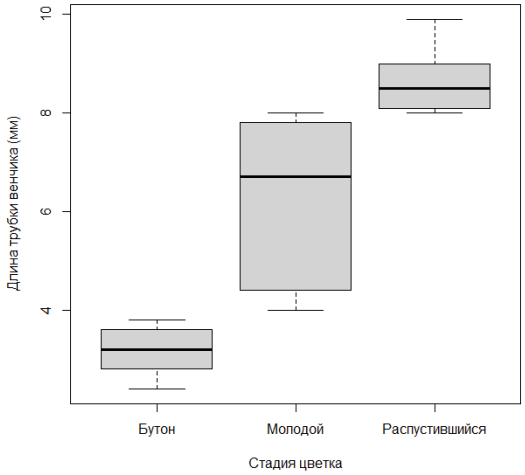

Рис. 11. Длина трубки венчика *M. pratense* на разных стадиях цветения

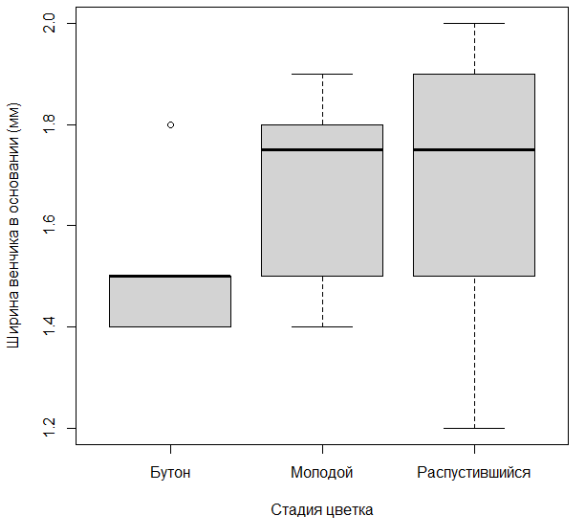

Рис. 12. Ширина венчика в основании *M. pratense* на разных стадиях цветения

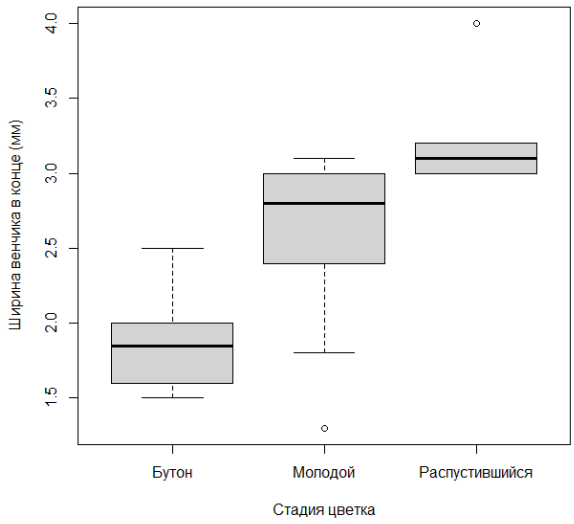

Рис. 13. Ширина зева венчика *M. pratense* на разных стадиях цветения

Ширина венчика в основании (рис. 12) по мере развития цветка значимо не изменяется (тест Краскела-Уолиса: p=0,06).

Ширина зева венчика (рис. 13) статистически значимо увеличивается (тест Краскела-Уоллиса: $p = 6\times10^{-5}$). Все стадии различаются между мобой (для молодого и бутона p=0.048, для молодого и распустившегося p=0.027, для бутона и распустившегося p=0.00384).

Продолжительность стадий цветения *M. pratense*

Продолжительность стадий цветения в двух популяциях значимо не различается (рис. 14-15; тест Вилкоксона: p > 0,05)

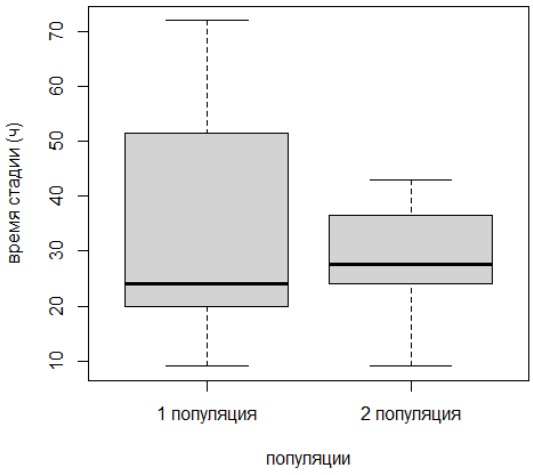

Рис. 14. Время цветения молодых цветков между популяциями

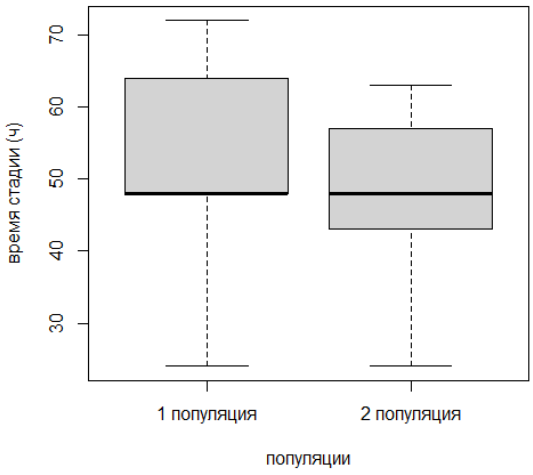

Рис. 15. Время цветения распустившихся цветков между популяциями

В обеих популяциях цветки дольше находятся на стадии «распустившийся», чем на стадии «молодой» (рис. 16-17). В первой популяции эти различия были на грани достоверности (тест Вилкоксона p = 0, 035), а во второй – высоко достоверные (тест Вилкоксона p = 0,0033).

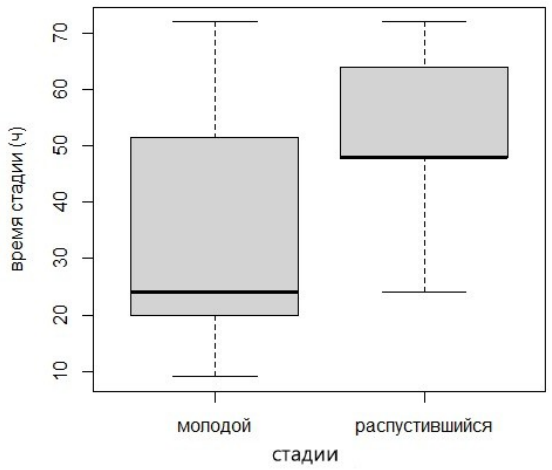

Рис. 16. Время цветения стадий внутри первой популяции

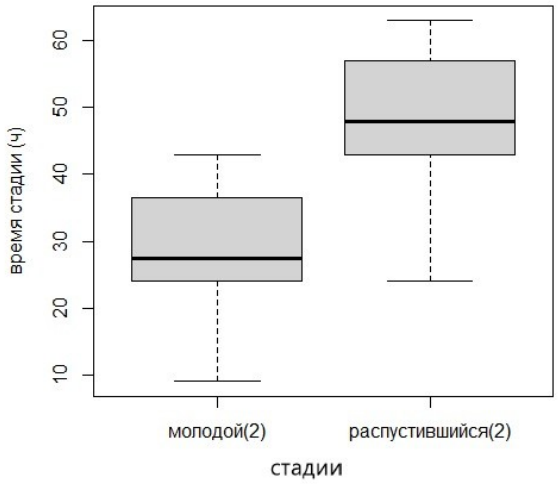

Рис. 17. Время цветения стадий внутри второй популяции

Кластерный анализ данных

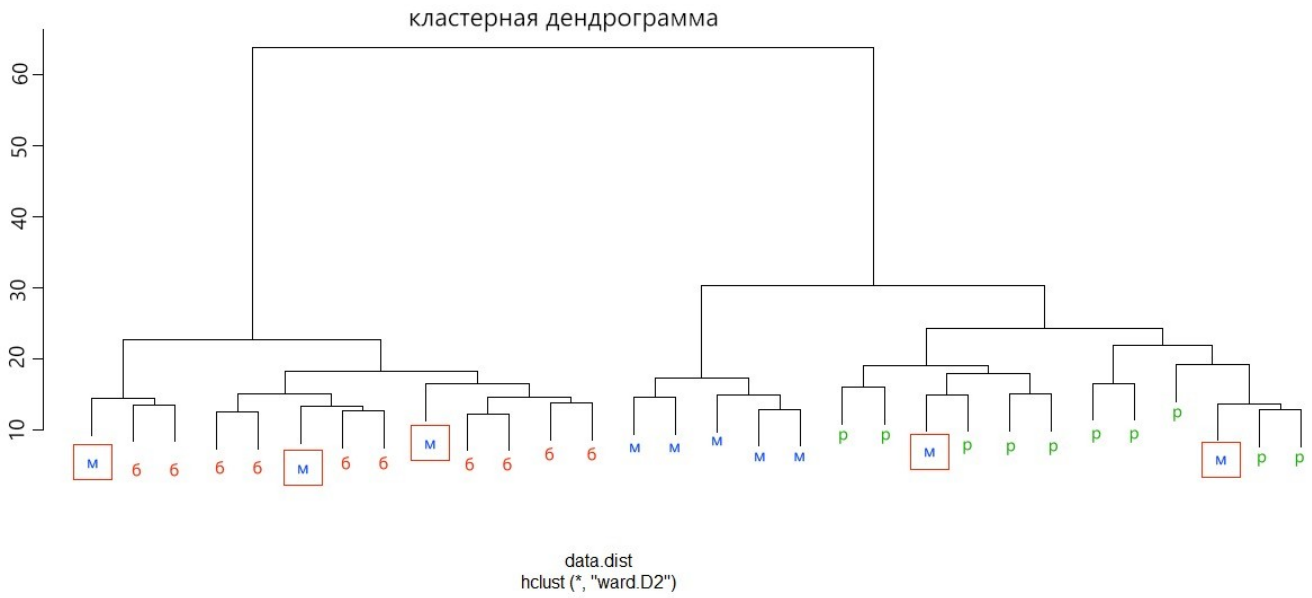

Рис. 18. Кластерная дендрограмма. б – бутон, м – «молодой» цветок, р – «распустившийся» цветок. Красным ободком выделены «переходные формы».

На кластерной дендрограмме (рис.18) видно, что цветков на выделенных стадиях значительно больше, чем переходных форм. Сами переходные формы представлены цветками, которые изначально отнесли к «молодым».

Опылители M. pratense

день	время	опылитель
1 июля	15:40	Шмель (Bombus)
1 июля	15:47	Шмель (Bombus)
1 июля	15:53	Шмель (Bombus)
1 июля	16:00	Шмель (Bombus)
1 июля	16:30	Шмель (Bombus)
2 июля	10:17	Шмель (Bombus)
2 июля	11:31	Шмель (Bombus)
4 июля	15:50	Шмель (Bombus)
4 июля	16:25	Шмель (Bombus)
4 июля	19:31	Шмель (Bombus)
5 июля	15:43	Шмель (Bombus)
5 июля	16:30	Шмель (Bombus)

Таблица 3. Время и дата прилёта опылителей

На протяжении всего времени наблюдения, *M. pratense* посещали только шмели. Большая часть посещала цветки в промежутке примерно с 15:00 до 16:30, но некоторые прилетали значительно раньше (10:00 – 11:00) или позже (около 19:00 – 19:30). Так же на цветках были найдены трипсы (*Thysanoptera*).

Исследования пыльцы

В свежих цветках *M. pratense* была обнаружена и стерильная, и фертильная пыльца. Попытки сбора с гербарных растений окончились неудачно.

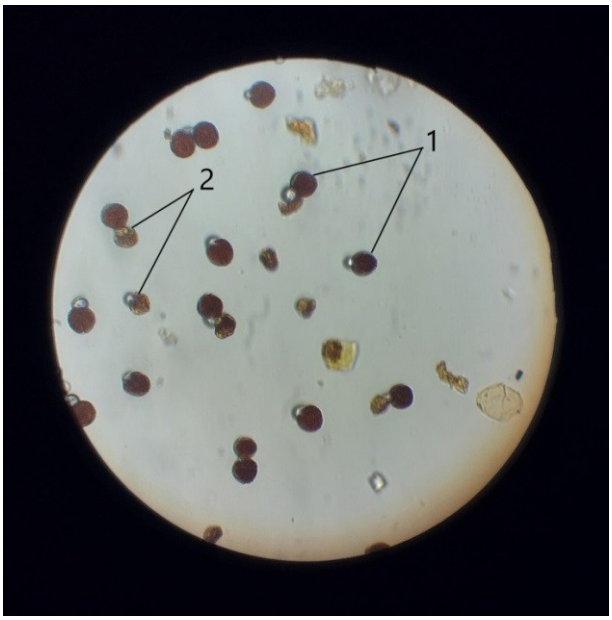

Рис. 19. Пыльца с растения *M. pratense* под микроскопом (1 – фертильная пыльца, 2 – стерильная пыльца)

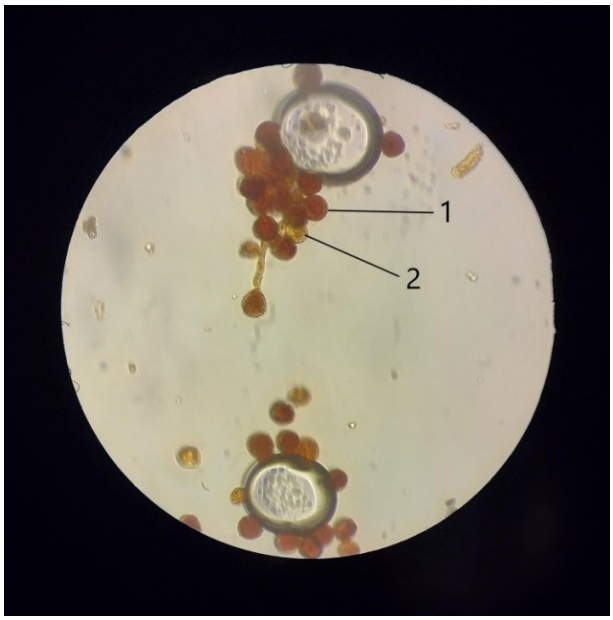

Рис. 20. Пыльца с растения *M. pratense* под микроскопом (1 – фертильная пыльца, 2 – стерильная пыльца)

ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение таких стадий цветения как бутон, молодой цветок и распустившийся цветок оправдано, так как различие большинства параметров между этими стадиями статистически верно. Мы считаем, что для выделения стадий цветения у *M. pratense* больше всего подходят такие параметры как: длина венчика, длина пестика, длина тычинок, длина тычиночной нити, длина трубки венчика и ширина зева венчика.

Продолжительность стадий «молодой цветок» и «распустившийся цветок» между популяциями не различается. Рассмотренные популяции *M. pratense* находятся в разных биотопах: первая расположена в лесу, в затенённой местности с обилием древесных растений, а вторая – на дамбе, где преобладают травянистые растения, а сама местность плохо защищена от солнечного света. Исходя из исследований Harris (2019) и Humpage (2004) можно утверждать, что наиболее благоприятные условия для Марьянника лугового – полутень и средний или высокий процент полога, что мы видим в месте произростания первой популяции. Подобные результаты видны и в работе Haug (2017). Поэтому мы предполагали, что время цветения *M.pratense* между популяциями будет различаться, а именно, что продолжительность стадий растений первой популяции будет явно короче продолжительности стадий второй, так как семена завяжутся быстрее за счёт более благоприятных условий. Возможно, на результатах сказались другие параметры, такие как показатель кислотности почвы (по данным работы E.Humpage, марьянник луговой – ацидофил, т.е. предпочитает высокую кислотность, порядка 4-5 pH), или растительное сообщество. Нашей ошибкой было то, что мы не измеряли показатели температуры воздуха, влажности и прч. отдельно для каждой популяции, а брали общие для территории данные с метеостанции. Мы видим смысл в том, чтобы провести повторное исследование, выделив не две, а три или более популяций в наиболее разнообразных (с точки зрения абиотических факторов и растительного сообщества) биотопах, и в процессе наблюдения фиксировать данные по влажности воздуха, температуре, влажности и кислотности почвы отдельно для кажой.

В обеих популяциях продолжительность стадий цветения уменьшается в сторону стадии молодого цветка. Причём, в рамках данной выборки, для растений второй популяции найдено высоко значимое различие.

В результате наблюдения за опылителями *M. pratense* мы наблюдали в основном шмелей (Bombus). Их сравнительно большую часть обнаружили на цветках растений второй популяции. Это можно объяснить растительным сообществом: в лесу (первая популяция) оно представлено древесными растениями (*Sorbus aucuparia*, *Pinus sylvestris*, *Betula pendula*) и травами с мелкими, бледными цветками (*Oxalis acetosella*, *Fragaria vesca*) , на дамбе (вторая популяция) – в основном травянистые, причём с крупными яркими цветками (*Lupinus polyphyllus*., *Trifolium sp*.). Не обнаружили пчёл и мух, о которых говорится во многих статьях (Meidell, 1944; Haug, 2017). Предположительно, это может быть связано с недостаточным временем и территориальным охватом наблюдений.

Из-за нехватки времени провели крайне мало замеров по пыльце, и только в пределах первой популяции, из-за чего сравнение по этому параметру со второй популяцией невозможно. На цветках, как уже было сказано, обнаружили как фертильную, так и стерильную пыльцу, причём на фотографиях 18-19 видно, что большую часть составляет фертильная, но данных не так много чтобы делать окончательные выводы.

ВЫВОДЫ

1. Линейные размеры составляющих цветка M. pratense в большинстве своём заметно коррелируют со стадиями его цветения.
2. Продолжительности стадий цветения между «молодым цветком» и «распустившийся цветком» внутри популяций марьянника лугового статистически значимо различаются. Стадия «распустившийся» длится дольше, чем «молодой». Продолжительности стадий цветения «молодой цветок» и «распустившийся цветок» не имеют достоверных различий между популяциями.
3. Основная масса опылителей M. pratense в Ярославской области – шмели, другие же встречаются значительно реже, и для получения данных по ним требуется увеличить выборку.
4. В цветках растений первой популяции есть как фертильная, так и стерильная пыльца. Предположительно (исходя из полученных данных), процент фертильной выше.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы благодарим С. М. Глаголева, Е. В. Елисееву и П. А. Волкову за организацию биологической практики на территории стационара «Сунога», А. В. Крылова, директора Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина за предоставление места для проведения практики и наших научных работ. Благодарим научного руководителя П. А. Волкову, Л. А. Абрамову и Е. В. Елисееву за помощь при сборе данных, П. Н. Петрова за предоставление оборудования для проведения исследований. А также благодарим наш коллектив за моральную поддержку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зубарев Ю.Н, Нечунаев М.А, Заболотнова М.В. Особенности прохождения фенологических фаз развития черноголовника многобрачного Poterium polygamum waldst. Et kit. В агрометеорологических условиях среднего Предуралья // Известия ОГАУ. – 2021. – № 87. – С. 90-94
2. Каменева Л.А, Кокшеева И.М, Творогов С.П, Богачёв И.Г. Фенологический ответ Magnolia sieboldii K. Koch. На климатические изменения // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. – 2018. – Т. 123, № 1. – С. 57-64
3. Коваленко В.И. Особенности динамики цветения растений люцерны при разных режимах опыления // Сельскохозяйственная биология. – 2009. – Т. 44, № 3. – С. 93-97
4. Марко Н.В. Биологические особенности и накопление эфирного масла у растений Ruta graveolens l. В Никитском ботаническом саду // Сборник научных трудов государственного Никитского ботанического сада. – 2018. – Т. 146. – С. 81-89
5. Раделов С.Ю. Всё о цветах лесов, полей и рек // СПБ : ООО "СЗКЭО", 2008. – С. 121
6. Haug S. Flower visitation and seed set in Melampyrum; effects of elevation and Rubus idaeus // Institute of Biology, University of Oslo. – 2017.
7. Harris S. Investigating local distribution and abundance of common cow-wheat Melampyrum pratense in the Blean Woods National Nature Reserve, Kent // Masters Thesis Canterbury Christ Church University School of Psychology and Life Science. – 2019.
8. Humpage E. The Ecology of Melampyrum pratense, Common Cow-wheat in the Blean // Imperial College London. – 2004
9. Kwak M., Jennester O. Bumblebee visitation and seedset in Melampyrum pratense and Viscaria vulgaris: heterospecific pollen and pollen limitation // Oecologia. – 1991. – № 86. – С. 99-104
10. Meidell O. Notes on the pollination of Melampyrum pratense and the honey stealing of bumble bees and bees // Bergen Meuseum Arbok - Maturvitensk rekke. – 1944. – Т. 11, № 1. – С. 12.
11. Mudiana D. Ariyanti E. Syzygium myrtifolium Walp. flowering stages and its visitor insects // Biodiversitas. – 2021. – Т. 22, № 8. – С. 3489-3496.
12. Primack R.B. Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand // Journal of Ecology. – 1980. – №68. – С. 849–862.
13. Primack R.B. Patterns of flowering phenology on communities, populations, individuals, and single flowers // Dordrecht: Dr W. Junk Puplishers. – 1985. – С. 571–593.