

ЦВЕТАНКА РАЙЧЕВА

Аграрен университет, Пловдив

E-mail: raicheva@abv.bg

## Сканинг електронномикроскопски анализ на семената при български видове от подрод *Rumex* (*Polygonaceae*)

### Scanning Electron Microscopy Analysis of the Seeds in Bulgarian Species of the Subgenus *Rumex* (*Polygonaceae*)

Ts. Raycheva

Agricultural University, Plovdiv, Bulgaria

#### Abstract

Scanning electron microscopic studies have been carried out on the external seed surface of 8 taxa of subgenus *Rumex* in Bulgaria. Analyzed infraspecific variability of ultra sculptural surface of seeds. An assessment of the taxonomic value in the target species to distinguished morphologically similar taxa. Key to subsection grouping considered in this work, using exclusively seed characters, are provided.

**Key words:** subgenus *Rumex*, scanning electron microscopy, morphology, seeds, key

Според най-новите таксономични изследвания подрод *Rumex* е представен с 14 вида и 11 подвида в българската флора (Raycheva & Dimitrova 2007; Raycheva 2009).

Подрод *Rumex* се характеризира с голяма морфологична изменчивост, която в зависимост от наличната информация и таксономичната концепция на флористичните издания е получавала ранг на вид, подвид или разновидност.

Систематиката на подрода е основана предимно на морфологични белези. Различната степен на значимост на признаците, приемана от различните автори, води до проблема за тяхната обективност. Видовете от рода оформят групи с близки морфологични характеристики, което затруднява диагностицирането им (Rechinger 1949; Mosyakin, 2005). Най-консервативни белези за идентифицирането на таксоните са напълно развитите плодни перигони листчета (валви), които се запазват при плода и опадат заедно с него.

Според Mosyakin (2005) използването на екземпляри с напълно развити плодове е решаващо за надеждното диагностициране на таксоните от рода. Вегетативните белези също имат значение, но само обединени с тези на плодния перигон.

Броят и обемът на подсекциите в различните класификационни схеми на подрода е дискусионен.

Целта на настоящото изследване е сравнително микроморфологично проучване на семенната повърхност на българските видове от подрод *Rumex* за установяване на допълнителни информативни белези и таксономична стойност на белезите.

#### Материал и методи

Изследвани са материали от лични сборове на автора, събрани от естествените местообитания в страната, ваучерните образци са посочени в табл. 1. Флористичните райони са по Йорданов (1966):

Таблица 1. Ваучерни образци на изследваните български видове от подрод *Rumex*

Флористичен район, UTM координати, надморска височина, локалитет, номер на образца
<b><i>R. patientia</i> L.</b> (3) KH-69, 187 m, тревисти места, след гр. Червен бряг, 23.07.2006, SOA 059537 ; (5.1) FN-78, 1200 m, Петрохански проход при с. Гинци, 07.09.2004, SOA 058619; (17.2) LG-10, 973 m, по пътя след с. Чокманово, 22.07.2005, SOA 059237.
<b><i>R. kernerii</i> Borbás</b> (17.2) LG-13, 780 m, тревисти места около с. Югово, 10.07.2003; SOA 56414; (17.2) LG-03, 700 m, над с. Хвойна, в ливади покрай селото, 22.07.2005 SOA 059605.
<b><i>R. cristatus</i> DC.</b> (1.1) NJ-90, 10 m, между курортен комплекс Албена и гр. Балчик, 18.06.2004, SOA 56939; (1.2) NG-76, 20 m, пристанището на гр. Царево, 03.07.2004, SOA 57065.
<b><i>R. confertus</i> Willd.</b> (2) MJ-52, 210 m, около Разград, край слънчогледови ниви, 16.08.2005; SOA 056932; (8) GN-10, 820 m, при местност Щъркелово гнездо, при яз. Искър, 13.09.2005, SOA 056933.
<b><i>R. alpinus</i> L.</b> (5.1) FN-78, 1420 m, Петрохански проход, до х. Варвара, 07.09.2004, SOM 163904; (8) FN-81, 1810 m, Витоша: около х. Алеко, 19.08.2003, SOA 056386.
<b><i>R. conglomeratus</i> Murray</b> (5.2) LH-03, 540 m, в стари лавандулови насаждения до с. Кърнаре, 25.06.2003, SOA 056580; (17.2) LF-19, 820 m, замърсени места по р. Арда при с. Смилян, 22.07.2005, SOM 163949.
<b><i>R. sanguineus</i> L.</b> (1.1) NH-76, 30 m, сенчести места по устието на р. Камчия, 12.08.2005, SOM 163930; (4) LH-3, 270 m, в гората след с. Дряново – Шипченски проход, 20.06.2004, SOA 058644; (5.2) 35TKH63, 1100 m, Златишки проход: над с. Църквище, 03.07.2005, SOM 163933.
<b><i>R. crispus</i> L.</b> (3) FP-75, 50 m, по р. Дунав при Лом, 06.09.2004, SOA 058607; (5.1) FN-78, 1200 m, Петрохански проход, при с. Гинци, около, 07.09.2004, SOA 058613; (19) MH-20, 126 m, пустеещи земи след гр. Нова Загора, 10.08.2005, SOA 059601.

1 – Черноморско крайбрежие (1.1 – Северно, 1.2 – Южно); 2 – Североизточна България; 3 – Дунавска равнина; 4 – Предбалкан (4.1 – западен, 4.2 – източен); 5 – Стара планина (5.1 – Западна, 5.2 – Средна, 5.3 – Източна); 6 – Софийски район; 7 – Знеполски район; 8 – Витошки район; 9 – Западни гранични планини; 10 – Струмска долина (10.1 – северна, 10.2 – южна); 11 – Беласица; 12 – Славянка; 13 – Долината на р. Места; 14 – Пирин (14.1 – Северен, 14.2 – Южен); 15 – Рила; 16 – Средна гора (16.1 – Западна, 16.2 – Източна); 17 – Родопи (17.1 – Западни, 17.2 – Средни, 17.3 – Източни); 18 – Тракийска низина; 19 – Тунджанска хълмиста равнина; 20 – Странджа.

Анализирани са ултраскулптурен релеф на перикарп на плодове (орехчета) и техните размери (табл. 2). За сканинг електронномикроскопското изследване е ползван материал от лични сборове. Обектите са наблюдавани директно без предварителни физични или химични обработки.

Подготвени са за наблюдение непосредствено преди сканирането – следвана е методиката, предложена от Терзийски (1977; 1981). Материалите са дублирани със златно покритие във

вакуум-изпарител за 50 s в аргон йонизираща среда. Закрепването за държателя, осигуряващ контакт, е извършено със сребърна паста. Наблюденето и документирането са проведени с електронен микроскоп със сканираща приставка JEOL, JSM-5500, собственост на Химически факултет – СУ.

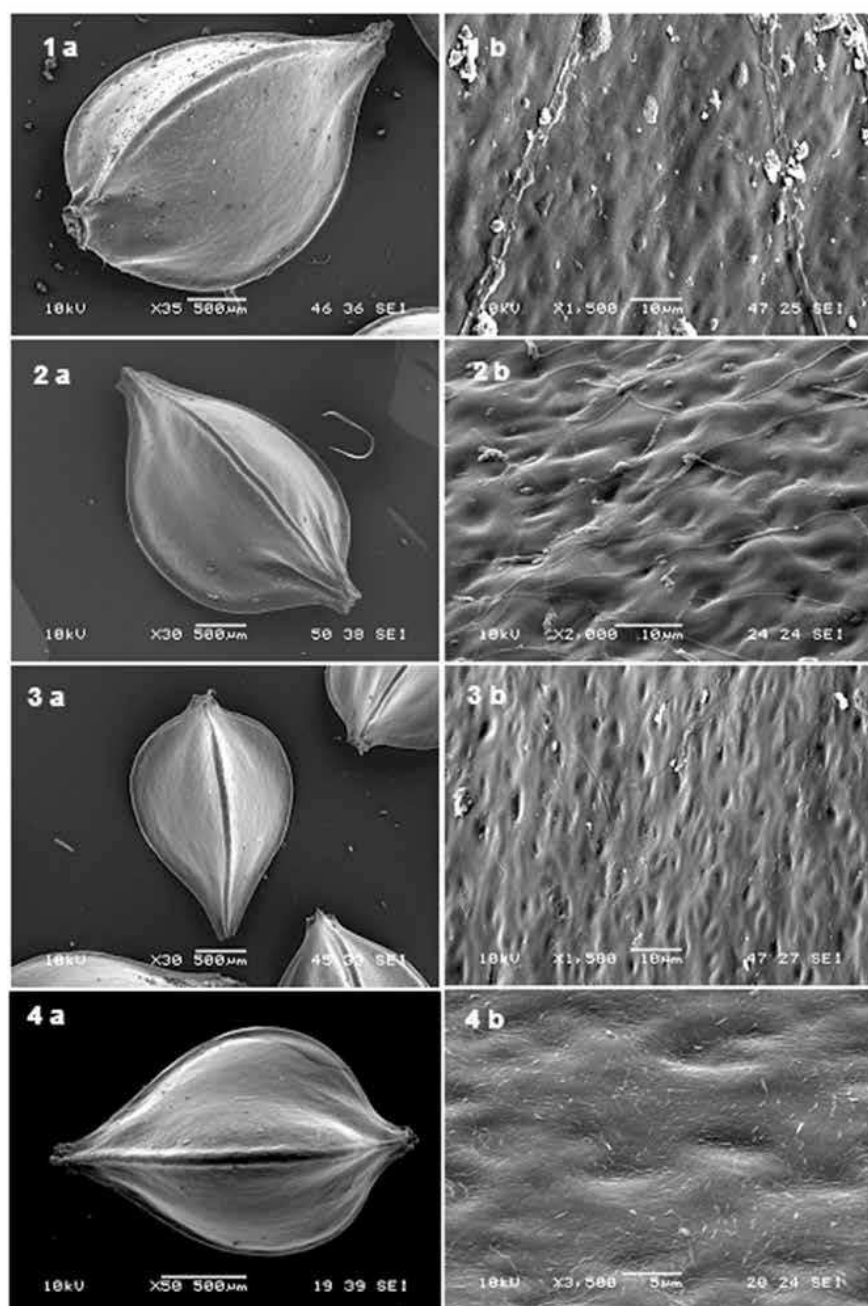
## Резултати и обсъждане

Досега няма данни в известната ни литература за особеностите на SEM повърхност на плодовете. В сравнителното проучване са включени 8 вида от подрода, групирани в 5 подсекции съгласно таксономичната схема на Rechinger (1932) – табл. 2.

Анализът на сканингелектронно-микроскопските фотографии и визуалните наблюдения определят перикарпа на плодната повърхност при българските видовете от типичната подсекция *Rumex* (*R. patientia*, *R. confertus*, *R. kernerii* и *R. cristatus*) като еднороден. Перикарпът на плодната повърхност е с трудноразличими клетки – неправилно ямчесто нагъната (фиг. 1). Наблюдават се стрииции от восъчни формации при видовете от

Таблица 2. Таксономично групирани на изследваните видове от подорд *Rumex*

Изследвани видове	Таксономична структура по Rechinger (1932)	Таксономично групирани в настоящото изследване
<i>R. patientia</i> L.	Subsectio <i>Rumex</i>	Subsectio <i>Rumex</i>
<i>R. cristatus</i> DC.		
<i>R. kernerii</i> Borbás		
<i>R. confertus</i> Willd.	Subsectio <i>Conferti</i> Rech. f.	
<i>R. alpinus</i> L.	Subsectio <i>Alpini</i> Rech. f.	Subsectio <i>Alpini</i> Rech. f.
<i>R. sanguineus</i> L.	Subsectio <i>Conglomerati</i> Rech. f.	Subsectio <i>Conglomerati</i> Rech. f.
<i>R. conglomeratus</i> Murray		
<i>R. crispus</i> L.	Subsectio <i>Crispi</i> Rech. f.	Subsectio <i>Crispi</i> Rech. f.



Фиг. 1. Сканинг електронномикроскопски микрофотографии на перикарп (а) общ план и (б) скулптура: 1 а, б - *R. patientia*; 2 а, б - *R. confertus*; 3 а, б - *R. kernerii*; 4 а, б - *R. cristatus*

групата, най-ясно различими са при *R. patientia* и *R. confertus* (фиг. 1 – 1b, 2b). Този факт провокира интерес поради дискуссионната таксономична позиция на *R. confertus*. В едни таксономични разработки видът е обособен в монотипна подсекция (Rechinger, 1932). Четирите вида от тази група имат най-големи по размери орехчета, дълги от 2,66 до 3,57 mm и валви – над 5,5 mm (табл. 3). Няма съществени различия в архитектурата на семената при *R. confertus*, както и метричните стойности на валвите и орехчета в сравнение с останалите три таксона, принадлежащи към подсекция *Rumex*, поради което е по-целесъобразно видът да бъде включен към нейния обем (табл. 2).

Размерите на плодовете (*орехчета*) при изследваните видове се движат в определени граници и с малки изключения, видовете се групират по този показател с възприетото подсекционно групиране (табл. 3). Този белег корелира с размерите на валвите, а също има връзка и с нивото на плоидност (Raycheva, 2005; 2011). На подсекционно ниво с най-ниски стойности по този признак се обособяват видовете, групирани в подсекция *Conglomerati* – при тях това е във връзка с развитието на най-малки по размери валви в изследваната група. В подкрепа на посекционното групиране на *Conglomerati* са по-слабо изразените ребра на орехчетата в сравнение с останалите, включени в изследването български видове (фиг. 2 – 4a, 5a). Субмикроскопската повърхност на семената при *R. conglomeratus* и

*R. sanguineus* е изградена от повтарящи се симетрични, вълновидни структури.

Монотипната подсекция *Alpini* включва един алпийски вид. По повърхността на семената има ясно различими зърнести восъчни структури. Наблюдават се вгъвания по повърхността на перикарпа, които започват и завършват на различни нива. Метричните параметри на плодовете при *R. alpinus* показват междинни стойности (табл. 3) спрямо останалите, включени в изследването видове. Най-близки стойности има *R. crispus* (подс. *Crispi*), но двата вида са добре обособени морфологично и екологично. При подсекция *Crispi* антиклиналните стени на клетките на перикарпа са хлътнали, равномерно вълновидни, периклиналните – слабо изпъкнали (фиг. 2 – 2a). По отношение на семенната повърхност макроскопски орехчетата са гладки, но при *R. alpinus* са с матирана повърхност, докато при останалите изследвани видове, повърхността е лъскава.

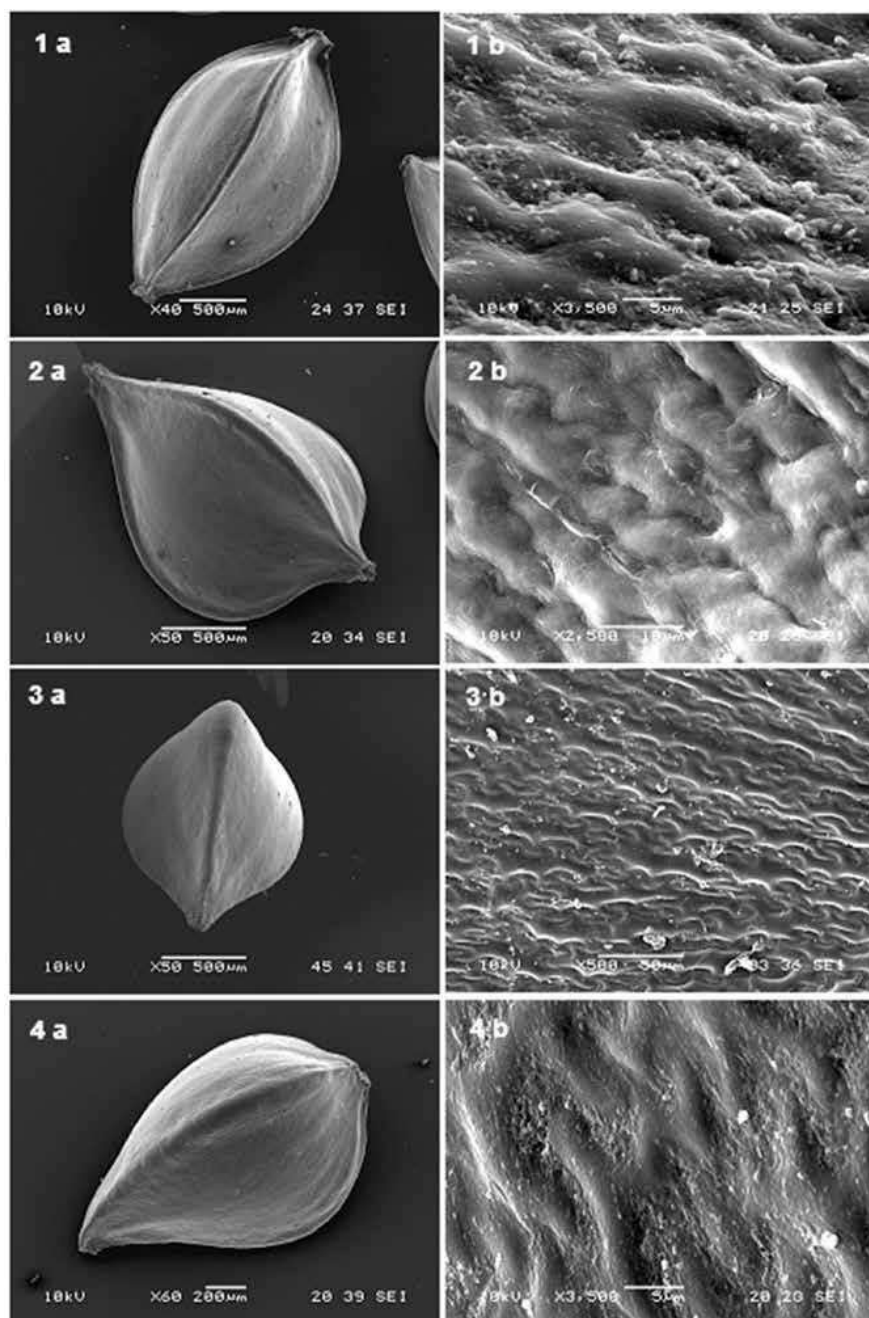
По характера на ултраскулптурната повърхност на семената се различават 4 групи, съответстващи на възприетото подсекционно групиране (табл. 2). Различията в микроморфологията на перикарпа кореспондират с различия по отношение на морфологията на валвите и метричните стойности на орехчетата. Въпреки сравнително високата еднородност в детайлите на микроскопските и субмикроскопските белези на перикарпа се наблюдават различия при някои от проучените видове в подрод *Rumex*.

#### Ключ по микроморфологични белези на плодовете за разграничаване на подсекциите от подрод *Rumex*

1. Перикарпът със слабо изпъкнали външни стени, неясно ямчесто нагънати клетки, често със стриации от восъчни формации. Орехчетата с дължина над 2,6 mm и ясно изразен ребра ..... **subsectio *Rumex***
  - 1\*. Перикарпът със силно изпъкнали външни стени, восъчни формации под формата на зърна или липсват. Орехчетата с дължина под 2,6 mm и ясно или неясно изразени ребра ..... 2
  2. Перикарпът със зърнести восъчни формации, орехчетата дълги около 2,5 mm, с матирана повърхност ..... **subsectio *Alpini***
    - 2\*. Перикарпът без восъчни формации, орехчетата дълги под 2,5 mm, с лъскава повърхност ..... 3
    3. Клетките на перикарпа с хлътнали, слабо вълновидни стени. Орехчетата с ясни ребра, дълги над 2 mm ..... **subsectio *Crispi***
      - 3\*. Клетките на перикарпа с изпъкнали, силно вълновидни стени. Орехчетата с неясно изразени ребра, дълги до 2 mm ..... **subsectio *Conglomerati***

Таблица 3. Метрични показатели на валви и орехчета при български видове от подрод *Rutex*

Таксон	Показател в mm ( $x \pm Sx$ )			
	дължина орехче	ширина орехче	дължина валви	ширина валви
<i>R. patientia</i> L.	$3,24 \pm 0,03$	$1,91 \pm 0,02$	$7,98 \pm 0,1$	$7,48 \pm 0,08$
<i>R. keneri</i> Borbás	$2,66 \pm 0,04$	$1,54 \pm 0,02$	$5,86 \pm 0,05$	$5,46 \pm 0,04$
<i>R. cristatus</i> DC.	$2,92 \pm 0,02$	$1,82 \pm 0,02$	$6,57 \pm 0,05$	$6,18 \pm 0,05$
<i>R. confertus</i> Willd.	$3,57 \pm 0,02$	$1,8 \pm 0,01$	$7,07 \pm 0,05$	$6,49 \pm 0,06$
<i>R. alpinus</i> L.	$2,5 \pm 0,03$	$1,46 \pm 0,02$	$4,89 \pm 0,03$	$4,73 \pm 0,04$
<i>R. conglomeratus</i> Murray	$1,7 \pm 0,01$	$1,26 \pm 0,02$	$3 \pm 0,01$	$1,51 \pm 0,01$
<i>R. sanguineus</i> L.	$1,83 \pm 0,02$	$1,33 \pm 0,02$	$3 \pm 0,01$	$1,43 \pm 0,02$
<i>R. crispus</i> L.	$2,1 \pm 0,02$	$1,45 \pm 0,02$	$4,27 \pm 0,05$	$4,16 \pm 0,05$



Фиг. 2. Сканинг електронномикроскопски микрофотографии на перикарп (a) общ план и (b) скулптура: 1 a, b - *R. alpinus*; 2 a, b - *R. crispus*; 3 a, b - *R. conglomeratus*; 4 a, b - *R. sanguineus*

## Заклучение

Проведеният морфологичен анализ на субмикроскопската структура на външната повърхност на орехчетата (семената) при подрод *Rumex* позволява да се направят следните заключения.

Според характера на епидутикуларните образувания и степента на изпъкналост на клетъчните стени на орехчетата се разграничават дискретни групи, съответстващи на възприетото подсекционно групиране. Установените различия по отношение на микроповърхностните структури кореспондират с различия в метрични и качествени характеристики на плодовете при изследваните таксони.

Резултатите подкрепят тенденцията за по-широкия обем на подсекция *Rumex*, в границите на която е включен *R. confertus*.

## Литература

- Йорданов, Д.** (ред.). 1966. Флора на НР България. Том 3, БАН, София.
- Терзийски, Д.** 1977. Сканинг-електронномикроскопско проучване върху морфологията на полена при български популации на *Cicer arietinum* L. **Фитология**, 7: 51-58
- Терзийски, Д.** 1981. Сканингелектронната микроскопия – проблеми, приложение, перспективи за развитие в биологичните науки у нас. Научни трудове, ВСИ „В. Коларов“ – Пловдив, 26(4): 115-121
- Mosyakin, S.** 2005. *Rumex* L. In: Flora of North America, Vol. 5. (<http://www.efloras.org/florataxon.aspx>)
- Raycheva, Tz.** 2005. Chromosome counts in some Bulgarian taxa of *Rumex* L., subgenus *Rumex* (*Polygonaceae*). In: Gruev, B. et al. (eds). Proceedings Balkan Sci. Conf. Biol., May 19-21, 2005, Plovdiv, p. 397-408
- Raycheva, Ts., & Dimitrova, D.** 2007. Critical reassessment of the distribution of some taxa of subgenus *Rumex* (*Polygonaceae*) in Bulgaria. **Phytol. Balcan.**, 13(2): 141-151
- Raycheva, Ts.** 2009. Critical reassessment of the distribution of some taxa of *Rumex* subgenus *Rumex* (*Polygonaceae*) in Bulgaria – 2. **Phytol. Balc.**, 15(2): 155-169
- Raycheva, Ts.** 2011. *Rumex confertus* (*Polygonaceae*) in the Bulgarian flora. **Bot. Serbica**, 35(1): 55-60
- Rechinger, K. H.** 1932. Vorarbeiten zu einer Monographie der Gattung *Rumex*. I. Beih. Bot. Centralbl., Abt. 2, 49(1): 1-132
- Rechinger, K. H.** 1949. Lines of evolution and geographical distribution in *Rumex* subg. *Lapathum*. **Watsonia**, 1: 19-23.
- Rechinger, K. H.** 1964. *Rumex* L. In: Tutin, T. G. et al. (eds). **Flora Europaea**, Vol. 1, p. 82-89. Cambridge Univ. Press, Cambridge.