

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности «6D061300 – Геоботаника»

Избастина Клара Сержанқызы

«Оценка состояния ценопопуляций редкого вида *Anthemis troztkiana* Claus ex Bunge в Актюбинской области с использованием ботанических и молекулярно-генетических методов»

Общее описание работы. Диссертационная работа посвящена оценке состояния ценопопуляций редкого вида *Anthemis troztkiana* Claus ex Bunge в условиях Актюбинской области с применением ботанических и молекулярно-генетических методов.

Актуальность темы. Исчезновение определенного биологического вида на земле нарушает устойчивость экосистем и целостность биосферы. На сегодняшний день, это одно из самых опасных и быстро происходящих изменений в природе. Сокращение и исчезновение популяций растений в экосистеме во многом обусловлено антропогенными факторами. 387 видов растений, численность которых сокращается, находятся под защитой государства и занесены в последнее издание Красной книги Республики Казахстан (2014 г.). Для сохранения популяции исчезающих видов растений проводится мониторинг, защитные и восстановительные работы. Тем не менее список редких видов растений постоянно обновляется, так как в настоящее время методы точного определения численности и ареала определенных видов все еще требуют углубленного изучения. В связи с этим, совершенствование различных методов оценки и сохранение редких видов на уровне популяции в разных регионах страны является актуальным.

Актюбинская область расположена на стыке Европы и Азии, где образованы горные хребты мелового периода мезозоя. В меловых известняках встречается один из древнейших видов растений *Anthemis troztkiana* Claus. Редкий вид, требующий особой охраны, занесен в Красную книгу Казахстана и является Поволжско-западноказахстанским эндемиком. Популяции вида, собираемые за их целебные свойства, уменьшились из-за выпаса скота и производства мела. Актуальность работы обусловлена тем, что до настоящего времени не изучены состояние популяций, почва, химический состав и генетическое разнообразие вида. Работы, проводимые в этом направлении, требуют использования широкого набора ботанических, фитохимических, молекулярно-генетических методов.

Научно обоснованными методами изучены характеристики и генетические признаки ценопопуляций *A. troztkiana*, которые позволяют выработать принципы охраны и пути сохранения редких видов.

Цель работы – комплексное исследование современного состояния ценопопуляций вида *Anthemis troztkiana* Claus Актюбинской области с применением ботанических и молекулярно-генетических методов, на основе полученных результатов разработать рекомендаций по сохранению и охране редкого вида.

Задачи исследования:

1. Изучение флористического и экобиоморфологического состава растительных сообществ, в которых встречаются ценопопуляций *A. trotzkiana*;
2. Определить возрастную структуру и онтогенетическое состояние ценопопуляций редкого вида *A. trotzkiana*;
3. Охарактеризовать физико-химические свойства мелового почвенного покрова, в котором произрастает pupavka Корнух-Троцкого;
4. Изучить влияние почвы на всхожесть и интенсивность роста семян исследуемых растений;
5. Выявить морфологические и анатомические особенности растения *A. trotzkiana*;
6. Провести молекулярно-генетический анализ популяций редкого вида *A. trotzkiana* в Актюбинской области;
7. Изучить фитохимический состав pupavki Корнух-Троцкого;
8. Оценить современное состояние ценопопуляций изучаемого вида.

Объекты исследования. Природные популяции *Anthemis trotzkiana* в условиях Актюбинской области (Акшатау, Бестау, Ишкарагантау).

Научная новизна исследования.

- Впервые проведено комплексное исследование трех популяций и 9 ценопопуляций редкого вида *Anthemis trotzkiana* в Актюбинской области;
- В растительном сообществе с участием *A. trotzkiana* на территории Ишкарагантау найден вид *Pimpinella titanophila*, ранее не вошедший в список флоры растений Актюбинской области, и впервые было выявлено его новое географическое расположение;
- Впервые определен флористический состав, возрастная структура, онтогенетическое состояние и основной спектр растительных сообществ, в которых встречается *A. trotzkiana*;
- Впервые проведен рентгенодифрактометрический и рентгеноспектральный анализ для определения содержания влаги, pH, солености, гумуса меловых почв, на которых произрастает *A. trotzkiana*;
- Было изучено прорастание семян исчезающего вида *A. trotzkiana* в лабораторных условиях, отмечено положительное влияние растворов наносеры на прорастание семян в теплице;
- Выявлены морфологические и анатомические особенности вегетативных и генеративных органов вида;
- Впервые на основе маркеров ISSR проведен молекулярно-генетический анализ особенностей структуры популяций *A. trotzkiana* и межпопуляционного и внутривидового разнообразия;
- Впервые определен состав биологически активных веществ, химических элементов и эфирных масел в структуре *A. trotzkiana*.

Научная и практическая значимость диссертационной работы.

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что получена новая научная информация на основе комплексной оценки особенностей популяций редкого вида *A. trotzkiana*, которые позволяют оценить современное состояние ценопопуляций *A. trotzkiana*, и дополнить

базу данных Управления экологии и биоресурсов Актыобинской области. Гербарные образцы видов растений из трех популяций редкого вида *A. trozskiana*, произрастающие в Актыобинской области, были переданы в гербарный фонд Института Ботаники и Фитоинтродукции (Приложение Э). В целях сохранения генофонда исчезающего вида *A. trozskiana* был получен акт о внесении семян, собранных из трех популяций в 2017 и 2018 годах, в банк семян Института Ботаники и Фитоинтродукции (Приложение Б). Представлены качественные и количественные результаты, технология выделения основных групп биологически активных веществ из *A. trozskiana* (Приложение В). Получена новая информация о составе эфирных масел растения.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Флористическое описание растительных сообществ, с участием *A. trozskiana*;
2. Возрастная структура и демографические показатели редких ценопопуляций *A. trozskiana*;
3. Физико-химические показатели меловых слоев почвы популяций *A. trozskiana*, качественное и количественное содержание кальцита и химических элементов;
4. Интенсивность роста и всхожесть семян в почве исчезающего растения пулавки Корнух-Троцкого в лабораторных условиях;
5. Морфологические и анатомические особенности вегетативных и генеративных органов растения *A. trozskiana*;
6. На основе ДНК-маркеров ITS по филогенетической древе Neighbor Joining был установлен филогенетический статус вида *A. trozskiana* в трибе *Anthemideae*;
7. Результаты анализа структуры и разнообразия популяций *A. trozskiana* на основе маркеров ISSR;
8. Качественные и количественные результаты фитохимического состава, химических элементов и эфирных масел *A. trozskiana*;
9. Лечебно-профилактические свойства основных биологически активных веществ и эфирных масел в растениях.

Основные результаты исследований и выводы:

1. Выявлены местонахождения и координаты трех популяций, 9 ценопопуляций редкого вида *A. trozskiana* в меловых хребтах Актыобинской области: Акшатау, Бестау, Ишкарагантау. Число видов в флористическом составе растительных сообществ, где встречаются ценопопуляции, невелико: 40 видов, относящихся к 36 родам, 18 семействам. В популяции найдены *Crambe tatarica*, *Linaria cretacea* и *Tulipa biebersteiniana*, которые занесены в Красную книгу Казахстана наряду с редким видом *A. trozskiana*. Установлено, что 8 видов: *Allium globosum*, *Gypsophila diffusa*, *Zygophyllum macropterum*, *Trinia hispida*, *Linaria cretacea*, *Anthemis trozskiana*, *Artemisia salsoloides*, *Centaurea sibirica* встречаются в 3 популяциях. В растительном сообществе с участием *A. trozskiana* на территории Ишкарагантау найден вид *Pimpinella titanophila*, ранее не вошедший в список флоры растений Актыобинской области, и впервые отмечено новое географическое место данного вида. В

природной популяций преобладают многолетние растения, из них 11 видов (55%), встречаются в популяции Акшатау, 12 видов (63.1%) в Бестау и 14 видов (66.6%) в Ишкарагантау. Далее по встречаемости полукустарники занимают второе место, адаптированные к условиям локальных меловых массивов. Количество однолетних травянистых растений невелико, деревья и кустарники не выявлены. Встречаются гемикриптофитные, хамефитные, криптофитные и терафитные типы по классификации К. Раункиера. Все популяции характеризуются обильными гемикриптофитами, в то время как однолетние терофиты встречаются очень редко. Мезоксерофиты, встречающиеся на территориях популяций в местах временного влагодефицитного характера, составляют свыше 50%. *Ephedra distachya*, *Anabasis cretacea*, *Camphorosma monspeliaca*, *Kochia prostrata*, *Nanophyton erinaceum*, *Zygophyllum pinnatum*, *Linaria cretacea*, *Artemisia salsoloides* были обнаружены в карбонатной почве наряду с *A. trotziana*.

2. Растение *A. trotziana* имеет относительно средние показатели в популяции 1 – Акшатау (1 – ЦП 11.8 особей/м², 2 – ЦП 11 особей/ м², 3 – ЦП 12,1 особей/м²). Изобилие растений наблюдалось во второй популяции – Бестау (4 – ЦП 13 особей / м², 5 – ЦП 13.3 особей / м², 6 – ЦП 12.7 особей/ м²) и реже в популяции 3 – Ишкарагантау (7 – ЦП 8.9% особей / м², 8 - ЦП 9% особей/м², 9 - ЦП 8.4% особей/м²). Ювенильные и имматурные особи были обнаружены не во всех ценопопуляциях. Возраст и индекс энергоэффективности ценопопуляций аналогичны. По преобладанию числа генеративных деревьев базовые спектры сосредоточены и относятся к созревшему типу. Низкий индекс смещения и показатель старения 7, 8 и 9 ЦП обусловлены преобладанием особей в субсенильных и сенильных состояниях и показателями почвенного покрова.

3. Содержание гумуса в меловых почвах трех популяций составляет 3.15%-4.90%. Высокое содержание органических веществ (4.90%) в почве популяции Ишкарагантау связано с большим количеством осадков. Содержание влаги черенков на глубине 0-100 см стабильно, влага хорошо сохраняется в нижнем карбонатном слое. Концентрация соли на уровнях популяций и горизонтов составляет 0.14%-0.63%. При том, что в природе высокая щелочность почвенной среды растений является одним из показателей, сдерживающих рост растений, высокощелочная почва (рН > 7.49 - 8.41) не влияет на развитие *A. trotziana*; Определены базифильные растения характерные для меловых отложений. Почва содержит следующие элементы: С, О, Mg, Al, Si, К, Са, Fe, Cl. Основной фазой минерального состава является кальцит (93-98%), смесью – кварц (1-6%). Массовая доля минерала почвенных образцов, встречающихся в *A.trozkiana*, составляет чистый природный бор СаСО₃. Вид является надежным индикатором для меловых почв, а ареал распространения на 95% зависит от почвы, богатой кальцием.

4. Интенсивность роста и всхожесть семян редкого вида в чашке Петри в лабораторных условиях выше 90% (Акшатау 93.3%, Бестау 96.2% и Ишкарагантау 92.3%), а всхожесть семян *A. trotziana*, выращенный на естественной почве составляет 50-70%. Для нормальной жизнедеятельности

вида меловая почва является важным фактором и доказывает, что вид является облигатным кальцефитом. При интродукции в другую почву на рост и продуктивность вида хорошо повлиял 0.2% - ный раствор полисульфида кальция.

5. *A. trotzkiana* представляет собой полукустарник. Признаки ксероморфизма наблюдались в морфологическом и анатомическом строении растения, которые возникают в результате адаптации к засухе. Анатомические особенности ксероморфного строения корней, стеблей и листьев виргинильных и генеративных особей, собранных с территории популяций №1 и №2, сходны. Установлено различная анатомическая структура и относительно низкие биометрические параметры виргинильных и средних генеративных особей популяции №3, что связано с уровнем изоляции между популяциями.

6. Филогенетическое древо Neighbor Joining, основанное на внутренних транскрибируемых спейсерах (ITS) ядерной рибосомальной ДНК, показало, что *A. fruticulosa*, *A. calcarea*, *A. marschalliana* тесно связаны и генетически близки с видом *A. trotzkiana*. На основании маркеров ISSR наибольшее значение генетического полиморфизма среди популяций *A. trotzkiana* наблюдалось у популяции Бестау (63.41%). Популяция Бестау имеет самые высокие значения индекса Шеннона – 0.283 и разнообразие генов – 0.181. Парная матрица генетических расстояний PhiPT и Nei показала, что популяции 1-Акшатау и 2-Бестау были близки в генетическом пространстве, 0.172 и 0.181 соответственно, и отмечено, что популяция 3-Ишкарагантау была изолирована (0.129). В результате анализа AMOVA была определена разница между популяциями и внутри популяций *A. trotzkiana*: значение $F_{PT} = 0.283$, $P = 0.001$. Установлено, что у *A. trotzkiana* в Актюбинской области, по сравнению с межпопуляционным генетическим полиморфизмом, имеется более высокий внутрипопуляционный генетический полиморфизм. Генетическое разнообразие составляет 72% внутри популяций и 28% между популяциями.

7. Эфирные масла, спирты, фенолы, углеводы, альдегиды и кетоны были обнаружены в корнях, листьях и цветках *A. trotzkiana*. Листья содержат 36.02% эфирных масел, 26.89% кетонов и 11.51% фенольных соединений. Уточнены лечебные свойства 14 фитохимических соединений, обнаруженных в листьях, в традиционной и народной медицине. В эфирных маслах из цветков и листьев были обнаружены 51 монотерпен и 35 сесквитерпеноидных соединений. Содержание эфирных масел в листьях выше, чем в цветах, 90.2% в 1-й популяции, 72.2% во 2-й популяции и 55.6% в 3-й популяции. Преобладание природных соединений камфоры, 1,8-цинола, камфена, борнеола, широко используемых в медицине, может служить основанием для применения их в качестве лекарственного средства. Для сохранения и рационального использования редкого исчезающего вида, достаточно использовать только лист, не повреждая корни и цветки.

8. Из-за близости природных популяций *A. trotzkiana* к населенным пунктам в регионе, мы можем сделать вывод, что выпас скота, производство мела и вытаптывание являются основными угрозами для вида, которые

вливают на среду его обитания и приводят к уменьшению его популяции. Результаты исследований показали, что морфологические характеристики и генетическое разнообразие вида *A. trotzkiana* в популяции Бестау выше, чем в других популяциях. В связи с этим, мы рекомендуем охранять популяцию Бестау как особо охраняемую зону.

Личный вклад автора в работе. При выполнении цели и задач исследования, автор работы самостоятельно и в полной мере проанализировал научную литературу, изучил объект исследования в полевых и лабораторных условиях, обобщил и обработал результаты, написал и оформил диссертацию.

Связь работы с исследовательской программой. Диссертационная работа выполнялась в рамках проектов РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» О.0860 «Реализация Государственными ботаническими садами приоритетных для Казахстана научно-практических задач Глобальной стратегии сохранения растений как устойчивой системы поддержания биоразнообразия» и РГП на ПХВ «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» О.0898 «Разработка и апробация технологий получения новых серосодержащих нанокompозитов и препаратов» (2018-2020).

Апробация работы. Основные принципы и результаты диссертации были обсуждены на научном семинаре кафедры Биоразнообразия и биоресурсов КазНУ им. аль-Фараби. Основные идеи и результаты работы были представлены и доложены на международных научных конференциях: «Сохранение биоразнообразия и рациональное использование биоресурсов» республиканская научная конференция (Алматы, Казахстан, 2016 г.); «Проблемы изучения и сохранения биоразнообразия устойчивого использования биоресурсов» Международная научная конференция (Алматы, Казахстан, 2016 г.); PlantGen 2017, IV Международная конференция (Алматы, Казахстан, 2017); Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экологической генетики и экспериментальной биологии» (Алматы, Казахстан, 2018); IV (XII) Международная ботаническая конференция молодых ученых в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, Россия, 2018); 2-я Международная конференция «Smart Bio» 2018 (Каунас, Литва, 2018); Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі» (Алматы, Казахстан, 2018, 2019).

Публикации. Результаты исследований опубликованы в 13 научных трудах, в том числе 1 статья в рецензируемом научном издании, индексируемый в базе данных Scopus, 4 статьи в республиканских научных журналах, из перечня Комитета по контролю в сфере образования и науки Республики Казахстан, 2 статьи и 6 тезисов в международных научных конференциях.

Структура диссертации. Диссертация включает в себя определения, обозначения, сокращения, введение, обзор литературы, объект и методы исследования, обсуждение результатов, заключения, список использованных источников, включающего 330 наименований и 4 приложения. Объем работы составляет 148 страниц, включает в себя 30 таблиц, 11 формул и 57 рисунков.