

*На правах рукописи*



**МАВЛЕТОВА МАРИЯ ВЛАДИМИРОВНА**

**РЕАКЦИЯ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА КАЗАЦКОГО *JUNIPERUS SABINA L.*  
НА ГЕОХИМИЧЕСКУЮ МОЗАИЧНОСТЬ ПОЧВ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ**

**Специальность 03.02.08 – экология (биология)**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Тольятти 2018**

Работа выполнена в лаборатории экологии и физиологии растений кафедры экологии Нижневартковского государственного университета

**Научный руководитель:** **Щербаков Аркадий Владимирович,**  
кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник ООО НВП «БашИнком» (г. Уфа).

**Официальные оппоненты:** **Габбасова Илюся Масгутовна,**  
доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией почвоведения Уфимского института биологии – обособленного структурного подразделения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (г. Уфа);

**Жиров Владимир Константинович,**  
доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Полярно-альпийского ботанического сада-института им. Н.А. Аврорина Кольского НЦ РАН (г. Апатиты)

**Ведущая организация:** **Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы (г. Уфа)**

Защита диссертации состоится **15 ноября 2018 г. в 12<sup>30</sup> ч.** на заседании диссертационного совета Д 002.251.02 при Институте экологии Волжского бассейна РАН по адресу: 445003, Россия, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10, тел. 8 (8482) 489-977, E-mail: ievbras2005@mail.ru.

Диссертационный совет Д 002.251.02 при ИЭВБ РАН:  
тел. 8 (8482) 489-169, E-mail: dissovetievb@mail.ru.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ИЭВБ РАН [www.ievbras.ru](http://www.ievbras.ru) и на официальном сайте ВАК [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



А.Л. Маленёв

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследований.** Выживание растений определяется их способностью адаптироваться к конкретным условиям того местообитания (экологической ниши), где данное растение укоренилось и функционирует.

В последние годы накопилось много фактов, указывающих на то, что разные факторы – оси экологических ниш – в реальных микроучастках почв могут меняться разнонаправленно в пространстве и в сложной временной динамике. Соли различных металлов мигрируют с разной скоростью в ходе процессов эрозии, выветривания и в результате биологического переноса (Федоровский, 1973; Кабата-Пендиас, 2005; Суюндуков, Семенова, 2010; Хазиев, 2011). Возможность перманентного поддержания пульсирующего независимого перераспределения химических элементов может являться причиной формирования микромозаичности почв. Размеры почвенных микромозаичных структур могут быть сопоставимы с корнеобитаемым объемом отдельного растения. Таким образом, «размываются» представления о наличии одного «главного» лимитирующего фактора в организации корнеобитаемой среды. Более того, в корнеобитаемой зоне в стохастическом режиме могут меняться концентрации факторов, требующие от растений формирования разных адаптивных реакций.

В этом аспекте требует дополнительного изучения сам принцип формирования адаптивного комплекса растений на стохастический режим воздействия множества факторов среды. Известно, что ответная реакция растения на стохастические изменения параметров почвы может реализовываться на морфологическом, физиологическом и биохимических уровнях. В последние годы усилился интерес к изучению адаптивных свойств флавоноидов, в т.ч. и у *Juniperus sabina* L., где флавоноиды также обнаружены в достаточном разнообразии (Emami et al., 2009; Asili et al., 2010; Щербаков, 2009, 2013; Загоскина, 2015; Jun Zhao et al., 2016). По данным этих и других авторов флавоноиды являются мощной составляющей комплекса ответных адаптивных механизмов растений, в том числе и к неблагоприятным почвенным условиям. Установлено, что они могут играть как специфическую, так и неспецифическую антиоксидантную защитную роль, поэтому изучение механизмов их накопления растениями вызывает большой научный и практический интерес.

Поэтому для понимания принципов формирования адаптивного ответа растений потребовалось проведение параллельного анализа почвенных характеристик в точках произрастания и физиолого-биохимических и морфологических характеристик тех же самых растений. Изучение морфологических и биохимических реакций индивидуальных растений *J. sabina* в варьирующей микромозаичности условий корнеобитаемых объемах на Южном Зауралье ранее не проводилось.

**Цель исследования** – анализ формирования variability биохимических и морфологических параметров растений *Juniperus sabina* L. на фоне стохастически изменяющихся параметров корнеобитаемой среды.

### **Задачи исследования.**

1. Проанализировать вариативность и взаимосвязанность изменений отдельных химических элементов в составе почв в пульсирующих экологических нишах.

2. Подтвердить изменчивость морфологических и биохимических параметров растений в зависимости от стохастических изменений почвенных характеристик корнеобитаемой среды.

3. Определить характер зависимости формирования спектров морфологических и биохимических признаков отдельных растений *Juniperus sabina* L. в условиях пульсирующей микромозаичности почв.

**Научная новизна работы.** Впервые в экосистемах Южного Зауралья выявлено многообразие комбинаций почвенных соединений и множественность комбинаций морфофизиологических реакций *Juniperus sabina* на почвенную мозаичность. Отмечен низкий уровень корреляций между массивами почвенных данных и характеристиками растений. Получены доказательства поливариантного характера формирования адаптивного ответа растений на стохастическую мозаичность состава почвенных элементов.

### **Положения, выносимые на защиту.**

1. В почвах Южного Зауралья под влиянием природных и антропогенных процессов происходит стохастическое перераспределение различных химических соединений. В результате формируется почвенная мозаичность, которая меняется во времени и пространстве и не зависит от взаимного влияния элементов. При этом в объемах, сопоставимых с объемом корнеобитаемой среды отдельного растения, могут формироваться режимы, различающиеся концентрациями физиологически активных и ингибирующих соединений.

2. Стохастические режимы изменения концентрации химических элементов в корнеобитаемых объемах почвы вызывают в растениях формирование процессов, которые слабо коррелируют как между собой, так и с почвенными характеристиками.

3. Формирование спектров растительных флавоноидов и родственных соединений весьма вариативно. Хроматографические спектры хвои отдельных растений практически не совпадают между собой и различаются как по числу пиков, их площади и времени выхода, так и по концентрациям регистрируемых соединений.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные результаты расширяют представления об основных принципах формирования адаптивного ответа растений на различные сочетания факторов разной степени оптимальности, вносят вклад в изучение влияния внешних условий на морфологические и физиологические показатели растений. Результаты могут служить теоретической и методической базой для поиска уникальных фенольных соединений для нужд медицины и фармацевтики.

**Личный вклад автора.** Автор провел ряд экспедиционных выездов, в ходе которых собрал образцы почв и растений. Автором проведен весь цикл подготовки и анализов образцов, а сложные анализы (хроматография хвойных экстрактов, анализ почв на атомно-абсорбционном спектрографе) выполнены с

операторами оборудования. В статьях, опубликованных в соавторстве, участие соискателя пропорционально числу соавторов. Текст диссертации и автореферата автором подготовлен самостоятельно по плану, согласованному с научным руководителем.

**Апробация работы.** Основные результаты работы докладывались и обсуждались на конференциях: «Химия и Медицина» (Уфа, 2009), VII Международный симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты (Москва 2009), «Актуальные проблемы химии. Теория и практика» (Уфа, 2010), «Актуальные вопросы фундаментальной и экспериментальной биологии» (Уфа, 2016), «Экология и природопользование: прикладные аспекты» (Уфа, 2017).

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа общим объемом 162 стр. состоит из «Введения», 5 глав («Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», 3 главы с изложением экспериментальных результатов) и «Выводов». Диссертация содержит 32 рисунка и 25 таблиц. Список использованной литературы составляет всего 151 наименование, в том числе 58 - на английском языке. По материалам диссертации опубликовано 17 работ, в т.ч. 8 в изданиях, рекомендованных ВАК.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

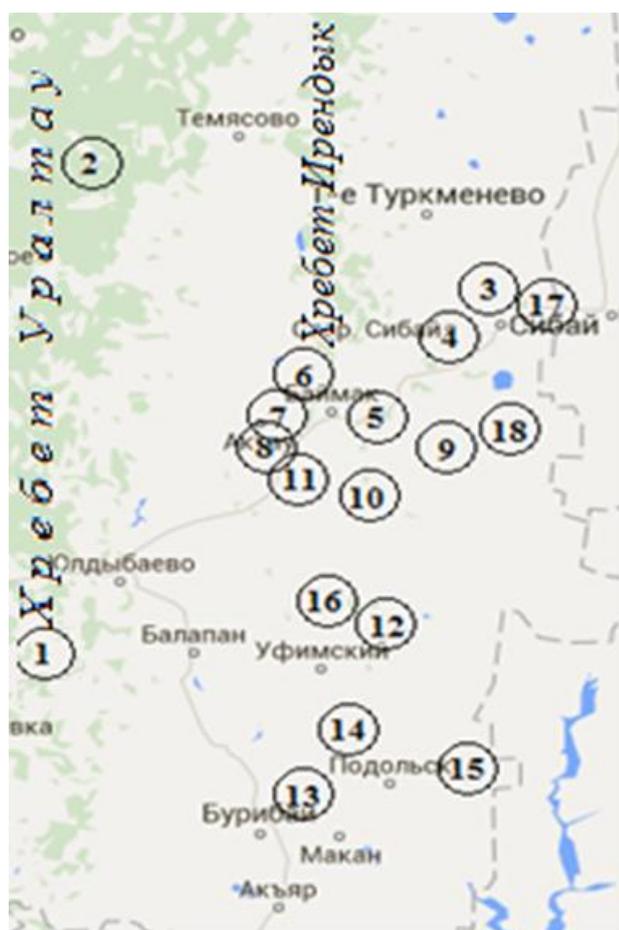
### **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В главе рассмотрены вопросы особенностей формирования экологических ниш растений Южного Зауралья, характерной чертой которых является мозаичность почвенных факторов. Оценен вклад мозаичности почв в формирование местообитания растений. Освещается специфика экологической и физиологической регуляции накопления вторичных метаболитов в условиях Южного Зауралья.

### **ГЛАВА 2. РАЙОН, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2.1. Характеристика объекта исследования.** В качестве модельного вида мы использовали можжевельник казацкий *Juniperus sabina* L.. На Южном Урале можжевельники относятся к реликтовым элементам флоры доледниковой эпохи (Мулдашев, Кучеров, 2005). *J. sabina* включали в Красную Книгу Республики Башкортостан (2001), однако сейчас наблюдается устойчивая тенденция к расселению *J. sabina* по территории Южного Зауралья (Янбаев и др., 2007; Ямалов и др., 2015). По комплексу признаков (скорость роста, репродуктивная стратегия) *J. sabina* может быть отнесен к типичным стресс-толерантам (Grime, 1979). Генетически растения *J. sabina* представляют по своей структуре единую популяцию (Путенихин, 2011, 2013, 2014; Фарушкина, Путенихин, 2016). Растения расселяются контагиозно и при семенном, и при вегетативном размножении. В любом случае спонтанное расселение происходит в экологически эквивалентных местообитаниях с точки зрения оптимума условий существования для растений *J. sabina*.

**2.2. Характеристика района проведения исследований.** Территория, на которой проводили исследования, располагается в Баймакском и Хайбуллинском районах РБ. Почвы с территорий опорных точек представлены черноземами южного типа. Местоположения точек, в которых отбирали образцы, представлены на рисунке 1. Точки отбора проб выбирали исходя из имеющихся сведений о расположении местообитаний растений *J. sabina*, при этом пробные площади (1-4) пронумерованы в порядке убывания их площади.



**Образцы почв:**

опорные точки 4,9,10,12,13,14,15, 16,17,18 -  
 пробная площадь 1,  
 опорная точка 7 - пробная площадь 2,  
 опорная точка 11- пробная площадь 3,  
 опорная точка 9 - пробная площадь 4.

**Образцы растений *Juniperus sabina* L.:**

опорные точки 1, 2, 6, 7, 8, 11 - 2007 год сбора,  
 опорная точка 11 - 2008 год сбора,  
 опорные точки 3, 5, 9, 11 - 2009 год сбора,  
 опорные точки 5, 9, 11 - 2016 год сбора.

**Рисунок 1.** Местоположение и нумерация точек взятия образцов.

**2.3. Растительность исследуемой территории.** Основным классом растительности является класс *Festuco-Brometea* Br.-Bl. et Tx. ex Soó 1947., характерный для ксеротермных и гемиксеротермных степей западной Палеоарктики. Также встречается растительность послелесных лугов - класс *Molinio-Arrhenatheretea* R.Tx. 1937 em. R.Tx. 1970 (Миркин, Наумова, 2012).

**2.4. Анализ химического состава почв.** Усредненные пробы почв отбирали по ГОСТ 17.4.4.02-84, определение рН солевой вытяжки проводили по ГОСТ 26483, определение гидролитической кислотности почв проводили по методике Каппена, сумму поглощенных оснований определяли по Каппену-Гильковицу, валовое содержание  $P_2O_5$  и  $K_2O$  определяли согласно ГОСТ 26261-84, определение подвижных форм калия и фосфора проводили по Мачигину. Содержание гумуса определяли фотоколориметрически с бихроматом калия. Гидролитическую кислотность для органических горизонтов почв определяли по

методу Каппена в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26212), определение валового молибдена проводили по Добрицкой, подвижные соединения меди, цинка и кобальта определяли по методу Крупского и Александровой в модификации ЦИНАО (ГОСТ Р 50683-94, ГОСТ Р 50686-94), определение марганца проводили окислением его соединений с перекисью свинца и азотной кислотой колориметрически. Определение обменного алюминия проводили по методу ЦИНАО (ГОСТ 26485-85) в пересчете на оксид алюминия. Определение оксида кремния проводили желатиновым методом, определение оксидов Са и Mg в пересчете на их оксиды производили титрованием с трилоном Б, оксид титана определяли пероксидным колориметрическим методом, двух и трехвалентное железо определяли колориметрически с дипиридином и трилоном Б, соответственно (Самофалова, Рогизная, 2013). Общую засоленность определяли кондуктометрически (ГОСТ 27753.4-88), рН водной вытяжки почвы определяли по ГОСТ 26423-85.

**2.5. Морфологические и биохимические параметры растений** рассчитывали по сводке (Усманов и др., 2001). Морфологические особенности клонов оценивали по 3 параметрам для 88 растений можжевельника, 10 из которых измеряли в течение 3-х лет. Годичные приросты древесины оценивали по стандартной методике древесно-кольцевого анализа (Тишин, 2011).

Анализ общей суммы флавоноидов в спиртовых экстрактах хвои растений осуществляли спектрофотометрически на сканирующем спектрофотометре СФ 2000 с использованием комплексообразователя ( $AlCl_3$ ) по стандартной методике (Высочина, 2004) при аналитической длине волны 345 нм.

**2.6. Определение спектров флавоноидов** и соединений со схожими физико-химическими свойствами в образцах хвои можжевельника казацкого проводили методом ВЭЖХ. Хроматографирование спиртовых экстрактов образцов хвои проводили в обратно-фазовом режиме на колонке Luna C18 250x4.6 мм, 5 мкм. Стандарты и вещества в образцах детектировали при длине волны 360 нм.

В ходе работ получено 267 хроматограмм хвои растений можжевельника из разных местообитаний.

Статистическую обработку осуществляли в пакетах программ Statistica и Excel. Сходство и различия между хроматограммами оценивали по коэффициенту Коха:

$$Jd=100 \cdot (T-S)/(n-1) \cdot S,$$

где T - сумма веществ в списках ( $S_1+S_2+S_3+...+S_n$ ); S - общее число веществ; n - число списков.

### **ГЛАВА 3. СТОХАСТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПОЧВЕННЫХ ПАРАМЕТРОВ**

В главе рассмотрен диапазон изменчивости почвенных характеристик во времени и пространстве. Исследовали участки разных размеров с расстоянием между опорными точками от 120 км до 10-200 м.

**3.1. Изменчивость параметров почв в опорных точках равнинного Зауралья (пробная площадь 1).** Отбор почв осуществляли в 10 различных

точках на территории Башкирского Зауралья в ареале распространения кл. *Festuca brometea* Br.-Bl. Размер исследуемой площади – 120 км с севера на юг и 15 км с запада на восток. Значения почвенных показателей представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, разброс значений концентраций очень велик и может превышать 10-кратную разницу (см. Zn, FeO, CaO), то есть почвенные показатели способны варьировать в очень широком диапазоне.

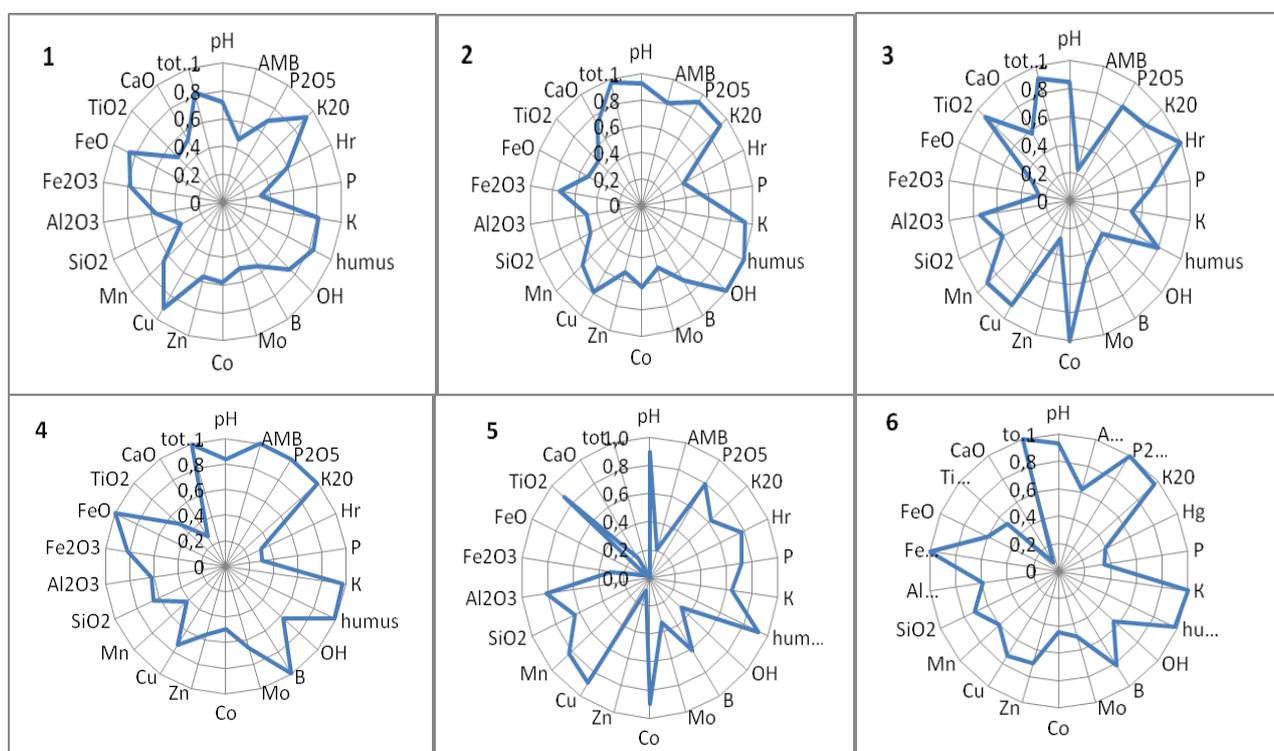
**Таблица 1**

Изменчивость почвенных показателей (пробная площадь 1)

Параметр	pH (KCl)	СПО, мг*экв /100 г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100г	K <sub>2</sub> O, мг/100г	Hr, мг экв/100г	P, мг/100 г	K, мг/100 г	Гумус, %	OH, мг/кг	B, мг/кг	Mo, мг/кг
Минимум	5,01	9,68	73,38	75,90	3,25	14,38	14,25	4,18	1,40	0,33	0,02
Максимум	6,99	49,46	111,90	121,40	10,20	47,41	27,64	6,79	10,10	2,21	0,06
Параметр	Co, мг/кг	Zn, мг/кг	Cu, мг/кг	Mn, мг/кг	SiO <sub>2</sub> , мг/г	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , мг/г	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , мг/100г	FeO, мг/кг	Ti, мг/кг	Ca, мг/кг	Mg, мг/кг
Минимум	0,67	0,04	1,07	33,60	34,07	9,64	1,53	0,05	0,02	1,92	1,38
Максимум	1,49	0,43	1,45	78,10	88,87	19,52	6,12	1,43	0,25	24,35	3,97

**Обозначения:** СПО – сумма подвижных оснований, Hr – гидролитическая кислотность.

На основе данных о содержании элементов в почвах первой пробной площади в десяти опорных точках (ОТ) были построены круговые гистограммы. На рисунке 2 приведены шесть из них.



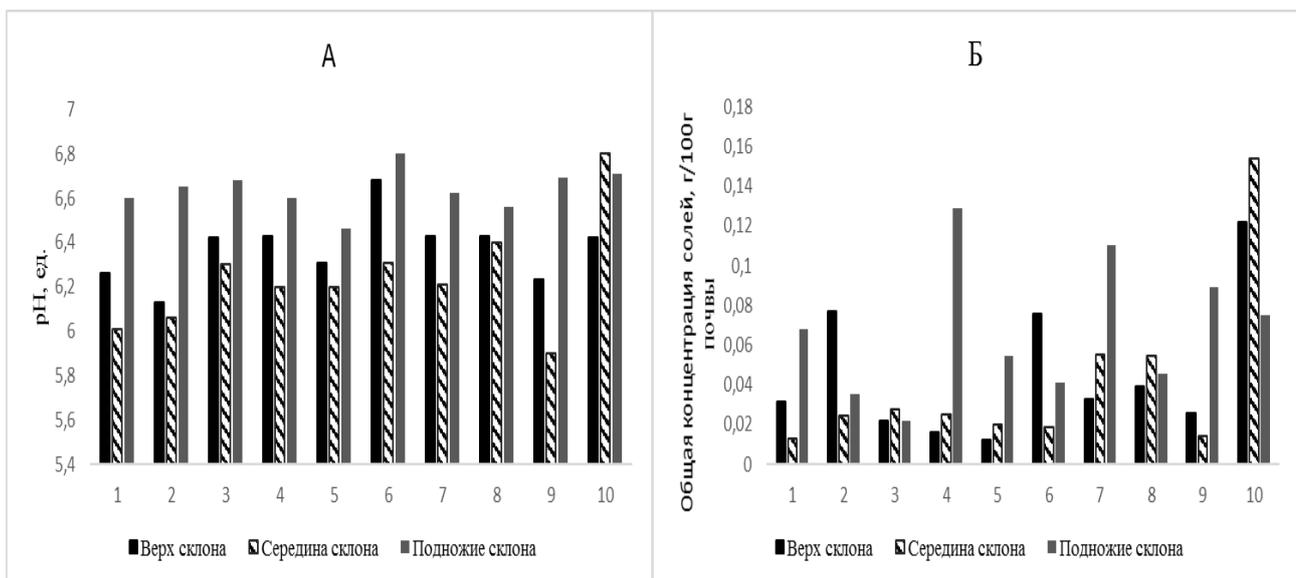
**Рисунок 2.** Содержание химических элементов в образцах почвы (в долях от максимально зарегистрированного значения).

**Обозначения:** 1 - ОТ 14; 2 - ОТ 15; 3 - ОТ 9; 4 - ОТ 10; 5 - ОТ 15; 6 - ОТ 13.

При переходе к круговым гистограммам относительной изменчивости содержания элементов (рис. 2) становится очевидной мозаичность распределения элементов в каждом отдельном местообитании. Таким образом, было установлено, что практически нет одинаковых комбинаций концентраций исследованных элементов, а разброс концентраций от точки к точке варьирует в широких пределах. При этом статистически значимых корреляций между показателями содержания отдельных почвенных показателей было выявлено не более 25%, что свидетельствует о случайном характере накопления элементов в почвах.

### 3.2. Зависимость почвенных характеристик от высоты над уровнем моря (западный склон хребта Ирндык, пробная площадь 3).

Было проанализировано 3 ряда местоположений растений *J. sabina* – у подошвы горы, в середине и верхней трети склона. Исследованные ряды располагались по высоте с шагом в 20 м. В каждом ряду было проанализировано по 10 образцов почв, взятых под растениями *J. sabina*. Тип растительности – горная степь с контагиозно расположенными растениями *J. sabina* (рис. 3).



**Рисунок 3.** Изменчивость почвенных условий в местообитаниях *J. sabina*.

**Примечание:** А – изменение показателя рН почвы по градиенту склона, Б – изменение общей засоленности почвы по градиенту склона. По оси абсцисс: 1-10 – ряды отбора проб почв под куртинами можжевельника.

Как следует из представленных данных, по мере изменения высоты расположения опорных точек, почвенные показатели могут варьировать по-разному. При этом показатель рН почвы более консервативен по сравнению с показателем почвенной засоленности. Установлено, что на фоне высокой изменчивости почвенных условий у растений *J. sabina* слабо и недостоверно меняются ростовые показатели и характеристики хроматограмм, однако сохраняется достаточно сильный разброс в показателях максимум-минимум (таблица 2).

Таблица 2

Значения почвенных характеристик и ростовых показателей растений *J. sabina* в градиенте склона

Положение на склоне	Параметр	рН, ед.		Общая засоленность, г/100 г почвы		Годичный прирост, мм		Площадь, м <sup>2</sup>		Высота растения, м		Количество хроматографических пиков, ед.	
		Мин.	Макс.	Мин.	Макс.	Мин.	Макс.	Мин.	Макс.	Мин.	Макс.	Мин.	Макс.
Верх	Верх	6,13	6,68	0,01	0,12	0,25	0,63	12,01	87,92	0,22	0,67	15	22
	Середина	5,90	6,80	0,01	0,15	0,21	0,61	22,13	98,91	0,24	0,47	15	22
	Подножие	6,46	6,81	0,02	0,13	0,22	0,42	6,59	94,20	0,17	0,48	16	21

**3.3. Изменение кислотности и общего засоления почв по мере зарастания растениями *J. sabina* (пробная площадь 4).** На рисунке 4 представлены диаграммы изменений рН и показателя общего засоления за 2009 и 2016 гг. для ценопопуляции с территории Верхнемамбетово. В диссертации представлены данные о многократном увеличении проективного покрытия клонами *J. sabina*.

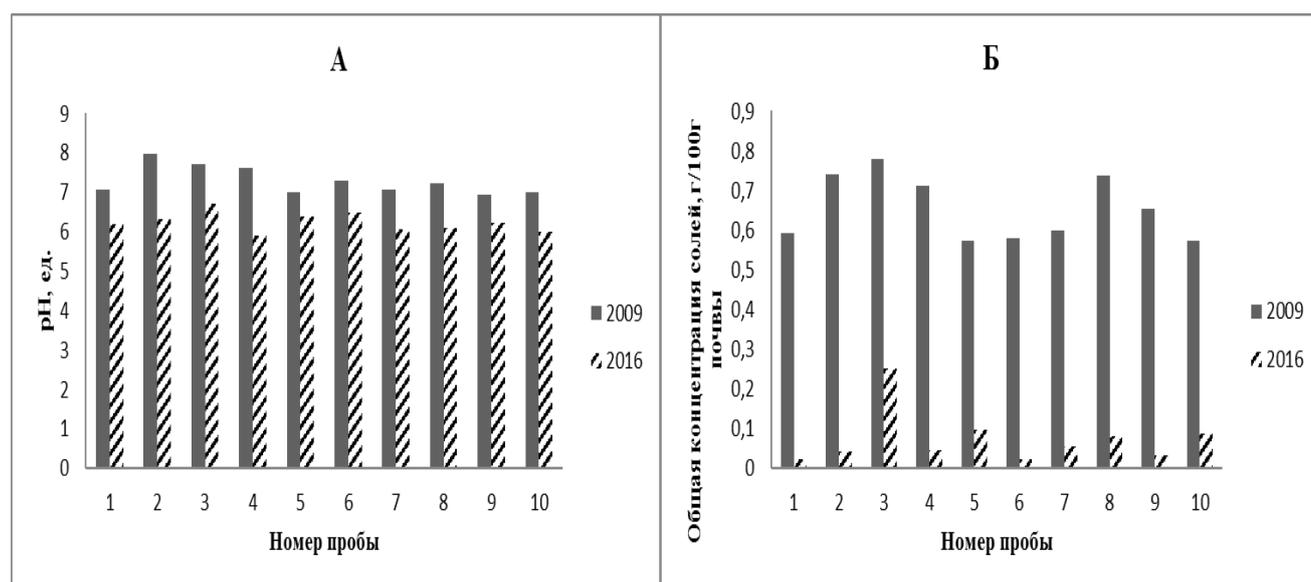


Рисунок 4. Изменения показателей почв. А – рН, Б – засоленность.

За 7 лет, прошедших между двумя замерами на этой территории, уровень рН сдвинулся в более кислую сторону, а общая концентрация солей уменьшилась в 6 – 8 раз. Этот эффект объясняется тем, что на момент отбора проб в 2009 году почвенный слой не превышал нескольких миллиметров над уровнем материнской породы, а к 2016 году опад хвои и растительные остатки сформировали местами слои до нескольких сантиметров. Условия обитания в изменившихся почвах остаются благоприятными для развития *J. sabina*.

### **3.4. Оценка возможных комбинаций изменений физиологически значимых параметров почв.**

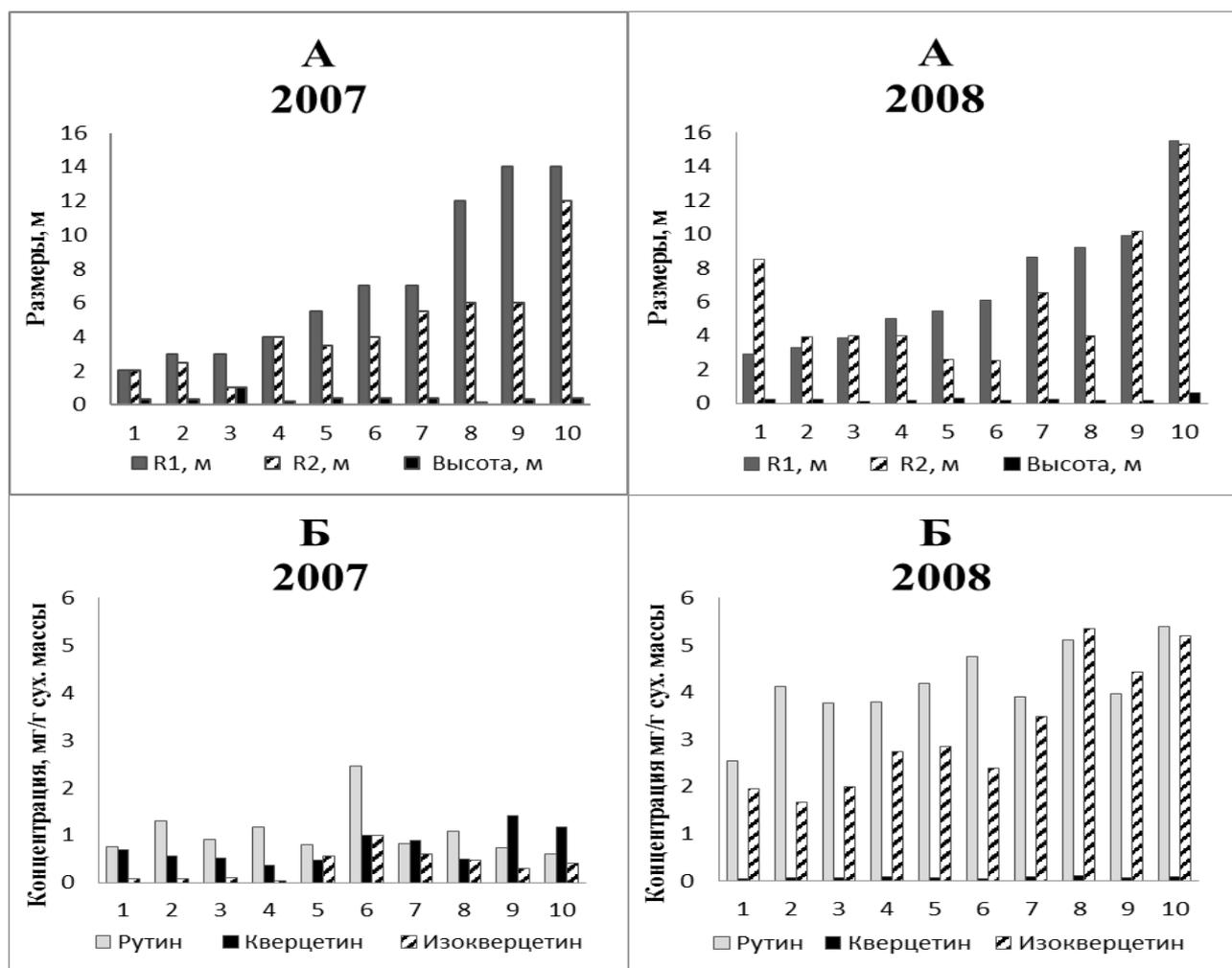
Если при анализе состава почв уйти от «усредненных» проб, получаемых в результате смешивания нескольких образцов, то можно выявить, что каждый из этих параметров в соседних пробах может меняться в 5 – 10 – 100 раз (Федоровский, 1979; Caniego et al., 2005; Golovin et al., 2008; Усманов и др., 2014). На нескольких пробных площадях нами зарегистрирована широкая изменчивость концентраций солей в почвах Южного Зауралья. Таким образом, диапазон природной изменчивости их концентраций можно интерпретировать как физиологический дефицит, так и избыток их содержания (таблицы 1, 2).

Совокупность разнонаправленных механизмов перераспределения почвенных элементов в реальных условиях проявляет все признаки стохастического процесса. При этом показатели содержания отдельных элементов слабо коррелируют между собой. В итоге почвенные соединения могут составлять любые комбинации, при которых положение каждого элемента относительно границ (лимитов) толерантности к нему растений может варьировать в диапазоне «дефицит – норма - токсический избыток». Ранее мы приводили расчеты (Усманов и др., 2014), показывающие, что количество вариантов сочетаний лимитов возрастает в геометрической прогрессии от числа проанализированных параметров. В целом, можно утверждать, что каждое местообитание отдельных растений может представлять собой неповторимую индивидуальную многомерную нишу с большим разнообразием как абсолютных показателей содержания элементов, так и оптимальности этих показателей для жизни растений.

## **ГЛАВА 4. ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И ФЛАВОНОИДНОГО СОСТАВА РАСТЕНИЙ *JUNIPERUS SABINA L.***

### **4.1. Динамика параметров куртин и накопления флавоноидов.**

У растений внутри одной популяции с течением времени изменялись параметры не только в сторону увеличения размеров куртин, но и в сторону уменьшения в результате дробления куртин на две и более, за счет отделения частей побегов, усыхания центрального корня и прочих процессов (рисунок 5А). Содержание флавоноидов в ряду: кверцетин → изокверцетин → рутин менялось как в сторону увеличения концентрации отдельных флавоноидов, так и в сторону изменения их соотношения (рисунок 5Б).



**Рисунок 5.** Морфологические параметры и содержание флаваноидов *J. sabina*.  
**Примечание:** А - морфологические параметры, Б – флаваноиды, R1, R2 – радиусы куртин. По оси абсцисс 1 – 10 обозначены индивидуальные экземпляры растений.

**Таблица 3**

Реализованные корреляции морфологических и биохимических параметров *J. sabina* (2007 и 2008 гг.)

2007 г								2008 г							
	1	2	3	4	R1, м	R2, м	H, м		1	2	3	4	R1, м	R2, м	H, м
1								1							
2	0,4							2	0,8						
3	0,5	0,4						3	0,6	0,5					
4	0,4	0,4	-					4	0,4	-	-				
R1, м	-	0,7	-	-				R1, м	-	0,8	-	-			
R2, м	-	-	-	0,7	-			R2, м	-	0,5	-	-	-		
H, м	-	-	-	-	-	-		H, м	-	-	-	-	-	-	

**Примечания:** R1 – большой радиус куртины; R2 – малый радиус куртины; H – высота куртины; 1 – рутин; 2 – изокверцетин; 3 – кверцетин; 4 – сумма флаваноидов. [ - ] – нет корреляции.

При сравнении корреляционных картин заметно, что зависимости между накоплением веществ и морфологическими параметрами, установленные внутри одной популяции для разных лет, не повторяются полностью (таблица 3). При аналогичных измерениях в 2009 г. получена одна достоверная корреляция между  $R_1$  и  $R_2$ .

#### **4.2. Хроматографический анализ экстрактов хвои.**

Более детальное рассмотрение хроматографических профилей экстрактов по идентифицированным соединениям показало, что растения в каждом индивидуальном случае имеют собственное сочетание флавоноидов и их концентраций, различающееся для каждого года исследования уровнем накопления и балансом концентраций внутри исследованной группы. Методика хроматографического определения веществ была специально разработана для определения флавоноидов.

Анализ 267 отдельных хроматограмм экстрактов *J. sabina* из четырех пространственно изолированных ценопопуляций показал, что во всех случаях сохраняются существенные различия по всем параметрам: числу пиков, их размеров (площади) и времени выхода.

Таким образом, на основании нескольких независимых наблюдений на разных местообитаниях можно утверждать, что три основных параметра хроматограмм – число пиков, их площадь и время выхода – слабо связаны с почвенными условиями местообитания и морфологическими параметрами данного растения. Ниже рассмотрен характер связи между стохастическими пульсирующими свойствами химического состава почв и особенностями формирования хроматографического профиля.

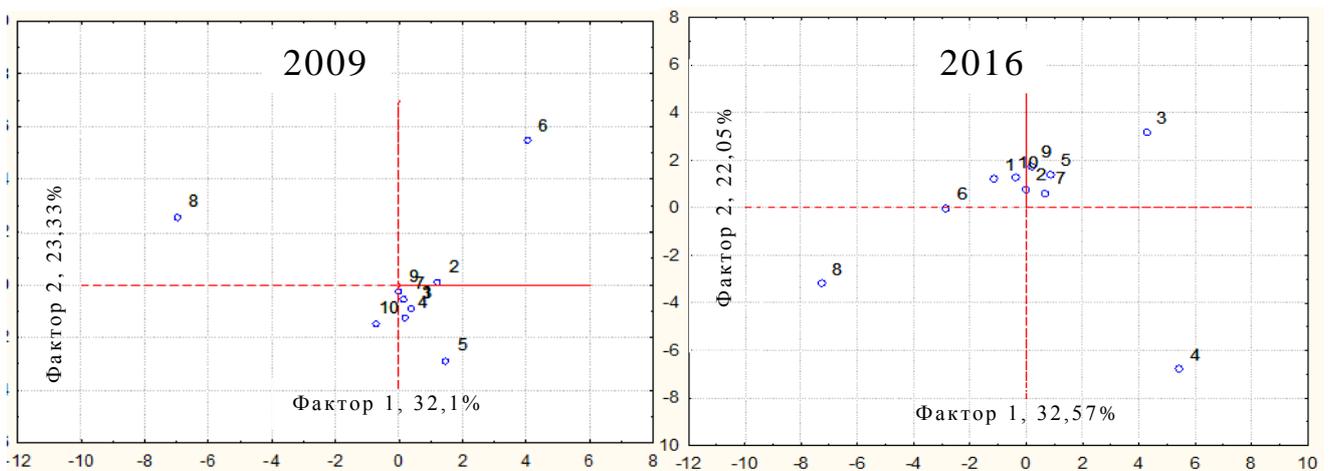
### **ГЛАВА 5. ФОРМИРОВАНИЕ СПЕКТРОВ ФЛАВОНОИДОВ В УСЛОВИЯХ ПУЛЬСИРУЮЩИХ СТОХАСТИЧЕСКИХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ**

Анализ показал, что хроматограммы различаются по трем независимым характеристикам: числу пиков отдельных соединений, площадью отдельных пиков (концентрацией веществ) и характерным временем выхода каждого вещества. Как было установлено в исследованиях 2009 года, в растениях первой из четырех ценопопуляции синтезируется более 107 различных соединений (таблица 24, приведена в диссертации). В то же время ни в одной из хроматограмм не обнаружены все 100 соединений – число пиков варьирует от 19 до 45. При этом было выявлено всего 8 соединений, которые обнаружены во всех растениях.

Анализ хроматографических данных по индексу разнообразия Коха выявил, что значения этого показателя варьировали от 300 до 600 и выше. Это указывает на низкое сходство, как между индивидуальными образцами, так и между отдельными ценопопуляциями. Аналогичные результаты получены и для остальных выборок хроматограмм. Все это позволяет предположить, что каждая хроматограмма кардинально отличается от других. Поскольку подавляющее большинство соединений не идентифицировано, пока трудно говорить о физиологической роли таких различий в составе хроматограмм.

Состав хроматограмм обладает очень низкой повторяемостью, поэтому исследователи все чаще склоняются к идее о том, что анализ химического состава растений на основе отслеживания единичных метаболитов является только одним из возможных путей исследования. В литературе, посвященной хроматографическому анализу растений, для пула низкомолекулярных соединений был предложен термин «chromatographic fingerprint», подчеркивающий индивидуальность химического состава отдельно взятого образца (Wagner et al., 2011). Другими авторами (Смоликова, Медведев и др., 2015) обсуждается введенный в 1998 г. Оливером термин «метаболом» - совокупность низкомолекулярных метаболитов, выработанных обладателем того или иного генотипа при попадании в то или иное местообитание. Флавоноиды являются низкомолекулярными метаболитами, состав которых также является частью фенотипа растений. Для метаболомного подхода непринципиальным является определение каждого отдельного соединения (Grotewold, 2006).

Мы оценили степень сходства-различия индивидуальных хроматограмм 2009 и 2016 годов методом главных компонент. Единицей сравнения служили целостные индивидуальные хроматограммы с меняющимся числом веществ. В результате анализа было обнаружено, что 10 исследованных образцов распределились в факториальной плоскости с разной степенью сходства (рис. 6). При этом данные 2009 г. существенно отличались от данных 2016 г.



**Рисунок 6.** Распределение хроматограмм *J. sabina* в пространстве признаков метода главных компонент. 1 - 10 – отдельные хроматограммы с разным числом и распределением пиков.

Таким образом, на фоне очень низкой повторяемости величины и расположения отдельных пиков в разных хроматограммах, методом главных компонент показано формирование различий между хроматограммами как условными группами стохастически распределенных пиков (соединений).

В зависимости от условий года совокупности отличительных признаков хроматограмм (количество и площадь пиков) перемещаются в факторном пространстве, что, вероятно, является проявлением адаптации к меняющимся параметрам вариативных экологических ниш.

Приведенные данные позволяют в первом приближении обозначить особенности экологических ниш и реакции на них у растений Южного Зауралья. В реальных почвенных условиях постоянно происходят изменения напряженности сразу многих факторов, что позволяет констатировать непрерывный процесс смены параметров корнеобитаемой среды.

Совокупность разнонаправленных механизмов перераспределения почвенных элементов в реальных условиях проявляет все признаки стохастического процесса, т.е. анализируемые параметры почвы независимо меняются в широких пределах и могут составлять любые комбинации высоких и низких концентраций. Это значит, что количество возможных комбинаций факторов в отдельных местообитаниях возрастает в геометрической прогрессии от числа проанализированных параметров. Учитывая стохастический характер смены лимитов – осей многомерной экологической ниши (рис. 3, 4, 5, 6) – для каждой индивидуальной ниши растения должны реализовать соответствующий набор морфологических, физиологических и биохимических адаптаций (табл. 3, рис. 5, 6).

Участие флавоноидов и соединений с близкими физико-химическими свойствами в формировании адаптивного ответа растений к таким условиям тоже поливариантно, оно напрямую не связано ни с показателями содержания почвенных элементов, ни с морфологическими параметрами растений. Кроме того, картина накопления метаболитов различается также и по годам (рис. 6). Поэтому можно предположить, что каждый отдельный пик случайным образом выбирается из генеральной совокупности заложенных в геноме веществ данного класса. Метаболическая сеть биосинтеза организована таким образом, что имеется возможность биосинтеза одного и того же соединения несколькими альтернативными путями. Сеть биосинтеза флавоноидов позволяет растению в любых условиях иметь в наличии достаточно широкий их спектр, вне зависимости от того, какую защитную функцию они обеспечивают – специфическую или неспецифическую.

Полученные данные ставят вопрос об организации адаптивного потенциала растений, который обеспечивал бы выживание растений в пульсирующих многомерных экологических нишах. В дальнейшем предстоит определить, каков характер связи между регулируемыми сигналами со стороны индивидуальной экологической ниши и ответом растения. Особенно важным представляется установление принципов формирования адаптивного ответа растений: является ли этот ответ строго детерминированным некими управляющими сигналами, или у растений всегда имеется возможность выбора из нескольких равновероятных вариантов.

Отсутствие устойчивых корреляций между рядами изменчивости почвенных параметров и характеристиками растений позволяет предположить, что механизм нейтрального выбора одного из многих возможных ответов у растений *J. sabina* реализуется в условиях многомерных варьирующих индивидуальных экологических ниш, как в условиях Южного Зауралья, так, возможно, и в других местообитаниях.

## ВЫВОДЫ

1. В экологически эквивалентных местообитаниях *Juniperus sabina* L. в Южном Зауралье наблюдается стохастическое независимое перераспределение соединений металлов и основных макроэлементов. Во всех исследованных выборках независимость проявляется в том, что: а) концентрация каждого из исследованных соединений (в наших опытах 21) меняется в широком интервале, иногда достигая 10-кратных различий; б) изменения отдельных элементов протекают независимо одного от другого. Во всех выборках отмечена низкая доля достоверных корреляций между рядами концентраций. Высокая изменчивость отдельных элементов и их низкая взаимозависимость позволили рассматривать почвенный режим как пульсирующие стохастические многомерные экологические ниши, где в отдельных точках могут формироваться значительно различающиеся комбинации почвенных условий.

2. В условиях стохастической неопределенности почвенных условий выявлена множественность морфофизиологических комбинаций признаков растений *Juniperus sabina*, обеспечивающих приспособление растений к условиям стохастически изменяющихся многомерных экологических ниш.

3. Накопление флавоноидов и соединений со сходными физико-химическими свойствами проявило ряд стохастически формируемых характеристик: а) в каждой отдельной хроматограмме разное число пиков; б) суммарное число пиков, регистрируемых для совокупности хроматограмм всех исследуемых ценопопуляций всегда в 2-3 раза больше, чем в любой отдельной хроматограмме; в) время выходов соединений (пиков) в разных хроматограммах не совпадает; г) размеры пиков (площадь) индивидуальны для каждой хроматограммы. В результате сравнение хроматограмм при расчётах коэффициента Коха показало чрезвычайно низкое сходство между хроматограммами.

4. Низкий уровень зависимости выхода флавоноидов и веществ со сходными физико-химическими свойствами от конкретной комбинации почвенных соединений позволяет предположить, что выбор (биосинтез) того или иного вещества носит нейтральный характер и определяется всей совокупностью стимулирующих и ингибирующих воздействий среды на систему биосинтеза веществ. Слабая взаимозависимость между совокупностью показателей среды и совокупностью ответных реакций растений указывает на возможность стохастического формирования ответа в результате случайного выбора из нескольких альтернативных вариантов.

## Публикации Мавлетовой М.В. по теме диссертации

### Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Чистякова М.В.** Вариабельность содержания вторичных метаболитов у *Juniperus sabina* L. в экологических условиях Южного Урала / А.В. Щербаков, М.В. Чистякова, Г.Х. Аминев, С.П. Иванов, И.Ю. Усманов // Башкирский химический журнал. – 2009. – Т. 16, № 2. – С. 132-138.
2. **Чистякова М.В.** Эколого-биохимические аспекты пластичности состава флавоноидов у можжевельника казацкого *Juniperus sabina* L. в условиях Южного Урала / А.В. Щербаков, М.В. Чистякова, З.Ф. Рахманкулова, И.Ю. Усманов // Вестник ОГУ. – 2009. – №6. – С. 458-460.
3. **Чистякова М.В.** Экологические аспекты регуляции пластичности накопления флавоноидов на Южном Урале / А.В. Щербаков, М.В. Чистякова, И.Ю. Усманов // Вестник Башкирского государственного университета. – 2011. – Т. 16, № 4. – С. 1198-1205.
4. **Чистякова М.В.** Физиологические аспекты регуляции пластичности накопления флавоноидов на Южном Урале / А.В. Щербаков, М.В. Чистякова, И.Ю. Усманов // Вестник Башкирского государственного университета. – 2012. – Т. 17, №2. – С. 931-942.
5. **Чистякова-Мавлетова М.В.** Изменчивость антиоксидантной активности можжевельника казацкого в градиенте содержания ионов меди на Южном Урале / А.В. Щербаков, С.Р. Рахматуллина, М.В. Чистякова-Мавлетова, И.Ю. Усманов // Вестник Башкирского государственного университета. – 2013. – Т. 18, №4. – С. 1081-1084.
6. **Мавлетова М.В.** «Пульсирующая многомерная экологическая ниша растений»: расширение объема понятия / И.Ю. Усманов, А.В. Щербаков, М.В. Мавлетова, Э.Р. Юмагулова, В.Б. Иванов, В.В. Александрова // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2016. – Т. 18, №2(2). – С. 525-529.
7. **Mavletova-Chistyakova M.V.** Physiological Barriers for Adventitious Species Invasion in Oligotroph Ecosystems of the Middle Ob Area [электронный ресурс] / I. Yu. Usmanov, E.R. Yumagulova, A.V. Scherbakov, V.B. Ivanov, N.A. Ivanov, V.V. Aleksandrova, M.V. Mavletova-Chistyakova // Vegetos. – 2017. – Vol. 30:4. – P. 81-85. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.4172/2229-4473.1000338>.
8. **Мавлетова-Чистякова М.В.** Пульсирующая мозаичность параметров почв Южного Зауралья / **М.В. Мавлетова-Чистякова**, А.В. Щербаков, В.Б. Иванов, Э.Р. Юмагулова, И.Ю. Усманов // Вестник Нижневартковского государственного университета. – 2017. – № 4. – С. 124-133.

### Патент по результатам диссертационной работы:

9. Усманов И.Ю., Щербаков А.В., **Мавлетова М.В.**, Иванов С.П., Хафизова Р.Р., Иванов В.Б., Юмагулова Э.Р. База данных «Хроматография спиртовых экстрактов *Juniperus sabina* L. (можжевельник казацкий) // Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2016621095. Дата поступления 16 июня 2016, Дата государственной регистрации в Реестре баз данных 10 августа 2016.

**Материалы конференций и прочие публикации:**

10. **Чистякова М.В.** Хроматографический анализ некоторых флавоноидов в экстрактах можжевельника казацкого (*Juniperus sabina* L) / М.В. Чистякова, А.В. Щербаков, С.П. Иванов // Тезисы конференции «Химия и Медицина». – Уфа: Гилем, 2009. – С. 312-313.
11. **Чистякова М.В.** Физиологические основы пластичности содержания флавоноидов на примере можжевельника казацкого *Juniperus sabina* L. в условиях Южного Урала / А.В. Щербаков, М.В. Чистякова, З.Ф. Рахманкулова, С.П. Иванов, И.Ю. Усманов // Тезисы конференции «Химия и Медицина». – Уфа: Гилем, 2009. – С. 319-320.
12. **Чистякова М.В.** Влияние меди на накопление флавонолов группы кверцетина растениями можжевельника казацкого в условиях Башкирского Зауралья / А.В. Щербаков, М.В. Чистякова, З.Ф. Рахманкулова, С.П. Иванов, И.Ю. Усманов // VII Международный симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты. – М.: Институт физиологии растений, 2009. – С. 288-289.
13. **Чистякова М.В.** Определение флавоноидов в корнях солодки Коржинского методом ВЭЖХ./ А.В. Щербаков, Р.Р. Багишаева, М.В. Чистякова, С.П. Иванов // Материалы Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы химии. Теория и практика». – Уфа: БашГУ, 2010. – С. 27.
14. **Чистякова-Мавлетова М.В.** Оценка применимости фрактального анализа для оценки динамики морфофизиологических показателей растений / Г.Ф. Фаезова, М.В. Чистякова-Мавлетова, А.В. Щербаков // Актуальные вопросы фундаментальной и экспериментальной биологии: Материалы студенческой научной конференции. – Уфа: БашГУ, 2016. – С.188.
15. **Мавлетова М.В.** Корреляционные связи параметров почвенной мозаичности и признаков адаптивности растений Южного Зауралья. I. *Glycyrrhiza korshinskyi*/ А.В. Щербаков, М.В. Мавлетова, И.Ю. Усманов, Г.Я. Биктимерова // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2016. – Т. 25, № 4. – С. 71-78.
16. **Мавлетова М.В.** Корреляционные связи параметров почвенной мозаичности и признаков адаптивности растений Южного Зауралья. II. *Juniperus sabina* L. / А.В. Щербаков, М.В. Мавлетова, И.Ю. Усманов, Г.Я. Биктимерова // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2016. – Т. 25, № 4. – С. 79-88.
17. **Мавлетова М.В.** Адаптация *Juniperus sabina* L. к почвенным условиям Южного Зауралья / М.В. Мавлетова // Материалы VII Международной науч.-практ. конф. «Экология и природопользование: прикладные аспекты». – Уфа: Аэтерна, 2017. – С. 412.