**Кирий Петр Васильевич. Эколого-биологические особенности Helleborus caucasicus A. Br. флоры Сочинского Причерноморья : Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 Краснодар, 2006 171 с. РГБ ОД, 61:06-3/1010**

61**:**06**-**3/1010

КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

*На правах рукописи*

**КИРИЙ Пётр Васильевич**

**ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *HELLEBORUS CAUCASICUS* A. BR. ФЛОРЫ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ**

03.00.16- экология

Диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Научный руководитель - кандидат биологических наук,

профессор Сергеева В.В.

Краснодар - 2006

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

Глава 1. КРАТКИЙ ОЧЕРК ИСТОРИИ ИЗУЧЕНИЯ РОДА *HELLEBORUS* L. И ЕГО ВИДОВ

1. История таксономического изучения кавказских представи­телей рода *Helleborus* L
2. История фармакологического изучения рода *Helleborus* L. и, в частности, *Helleborus caucasicus* А. Вг

Глава 2. ФИЗИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СО­ЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ

* 1. Рельеф и геологическое строение
  2. Климатические условия района исследования
  3. Почвенный покров
  4. Растительный покров

Глава 3. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Материал исследования
2. Статистические методы исследования
3. Методы выявления и оценки лекарственного сырья
4. Метод выделения жирных кислот в липидах листьев, корне­вищ и семян

Глава 4. ВНУТРИВИДОВАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *HELLEBO­RUS CAUCASICUS* A. BR

* 1. Эколого-генетическая структура популяций морозника и

критерии выделения его форм

* + 1. Роль экологической генетики в изучении полиморф­ных видов
    2. Сравнение популяций морозника по количественным признакам
    3. Сравнение экотипов морозника кавказского по каче­ственным (номинальным) и количественным (дискрет­ным) признакам
  1. Биоморфологические и анатомические критерии выделения форм
  2. Краткое описание трёх выделенных форм морозника кав­казского

Глава

Глава

1. ЭКОЛОГО-ФИТОЦЕНОТИЧЕСКАЯ И РЕСУРСНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРОЗНИКА КАВКАЗСКОГО И ЕГО ФОРМ
2. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ, КОРНЕВИЩ И СЕМЯН МОРОЗНИКА КАВКАЗСКОГО ....
   1. Биологически активные вещества
   2. Определение жирнокислотного состава липидов и динамика их накопления

ВЫВОДЫ

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ ПРИЛОЖЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. При решении проблемы изучения и со­хранения биологического разнообразия, а также выявления растительных ресурсов огромное значение как в практическом, так и в теоретическом отношении, имеют работы монографического характера, касающиеся изу­чения дифференцировки отдельных таксонов в ранге рода, вида, а также роли отдельных видов и их форм в сложении растительного покрова ис­следуемых территорий.

Наиболее актуальным в разработке вопросов сохранения видов в при­роде является изучение особенностей биоморфологии, экологии и анатомии каждого отдельно взятого вида. Большое значение имеет изучение видов, об­ладающих широким спектром полиморфизма, как наиважнейшего явления в жизни растения, обеспечивающего существование вида в различных экото- пах и дающего основу для появления новых видов и форм путём диверген­ции признаков отдельных особей полиморфного вида.

Одним из таких полиморфных видов семейства Лютиковых (*Ranuncu*- *laceae* L.) является морозник кавказский - *Helleborus caucasicus* А. Вг., до­вольно широко распространённый на территории Сочинского Причерномо­рья.

Род Морозник интересен тем, что по ряду примитивных признаков, в том числе вечнозелёности, может претендовать на положение исходного, предкового таксона в подсемействе *Helleboroideae* (Хохряков, 1975). Изуче­ние морозников важно и с практической точки зрения. Многие виды отли­чаются высокой декоративностью и давно используются в фитодизайне, а некоторые ценны как лекарственные растения.

В народной медицине морозник кавказский используется значительно шире, чем в научной. В его состав входят такие биологически активные ве­щества как сердечные гликозиды, стероидные сапонины, фитонциды, алка­лоиды, жирные масла и витамин С. Препараты из вегетативных органов это­го растения применялись при сердечно-сосудистой недостаточности II и III степени, в качестве мочегонного, глистогонного, обезболивающего средства, а также при нервных заболеваниях, нарушении обмена веществ, доброкаче­ственных и злокачественных опухолях, ревматизме и т.д. В середине XX в. наступил почти 50-летний период забвения этого ядовитого и, в то же время, полезного растения.

В настоящее время морозник кавказский в очередной раз привлекает к себе пристальное внимание как ботаников, экологов, так и фармацевтов. Од­нако, несмотря на то, что из различных органов морозника выделен ряд био­логически активных веществ, этот вид до сих пор считается ещё до конца не изученным, как в экологическом, фитоценологическом, химическом, так и в ресурсном аспекте.

В результате микроэволюционных процессов, идущих внутри вида

*Н. caucasicus* А. Вг., в природе появляются всё новые формы, разновидности, экотипы, которые обладают рядом ценных свойств.

Выявление экотипов в природных сообществах, комплексное изучение их свойств, рациональное использование и охрана является одной из акту-

**і**

альных проблем современной систематики, экологии, ресурсоведения.

Цель и задачи исследования. Целью данного исследования явилось комплексное эколого-биологическое изучение *Helleborus caucasicus* А. Вг. и его форм флоры Сочинского Причерноморья.

Для реализации этой цели нами были поставлены следующие задачи:

1. Обобщение сведений по истории таксономического и фармакологи­ческого изучения рода *Helleborus* L. и, в частности, *Н. caucasicus* А. Вг.
2. Изучение эколого-генетической структуры популяций морозника и

установление критериев выделения его форм.

1. Изучение морфолого-анатомических признаков вегетативных и ге­неративных органов 3 форм морозника кавказского.
2. Проведение эколого-ценотического анализа морозника и его форм, уточнение приуроченности их к определённым экотопам и типам растительности.
3. Определение урожайности'и эксплуатационного запаса сырья (кор­ней и корневищ) *Н. caucasicus* А. Вг.
4. Определение жирнокислотного состава липидов корней, листьев и семян 3 форм морозника и динамики их накопления.

Научная новизна. Впервые изученаэколого-генетическая струк­тура вида - *Н. caucasicus* А. Вг. Анализ комплекса размерно-весовых призна­ков (длина черешка, длина и ширина листа и др.) позволил провести класси­фикацию выборок растений из 7 популяций на 4 группы. Сходство морфост- руктур особей внутри каждой группы и наличие межгрупповых различий по­зволяет выдвинуть предположение о разном действии факторов естественно­го отбора в группах и определить статус 4 разных экотипов (форм) в преде­лах изучаемого ареала: *Helleborus caucasicus* А. Вг. var. *roseo-virens -* фор­ма I; *Н. caucasicus* А. Вг. var. *flavo-punctatus -* форма II; *Н. caucasicus* А. Вг. var. *flavo-guttatus -* форма III, выделенная, помимо этого, переходная IV форма имеет признаки, характерные для предыдущих 3-х форм.

Изучены и уточнены морфоструктуры вегетативных и генеративных органов особей разных форм морозника кавказского, не отмеченные или ис­пользовавшиеся ранее исследователями в целях систематики: диаметр цвет­ка, длина цветоножки, степень зубчатости края листочков и т.д. Впервые вы­явлен ряд дополнительных диагностических анатомических признаков: чис­ло рядов клеток пластинчатой колленхимы, количество проводящих пучков в стебле и корне и т.д.

Проведены фенологические наблюдения 3-х форм морозника кавказ­ского, выявлены различия в сроках прохождения фенофаз по сезонам и го­дам (2002-2004 гг.).

Впервые для изучаемой территории проведён эколого- фитоценотический анализ популяций разных форм морозника кавказского. Выявлено 56 ценопопуляций морозника, установлена его фитоценотическая роль в травянистом ярусе различных типов растительных сообществ. Изуче­ны экологические особенности и закономерности поясно-зонального распре­деления ценопопуляций исследуемого вида.

Установлено, что в пределах территории Сочинского Причерноморья популяции морозника кавказского занимают значительные площади, поэто­му впервые проведены таксационные описания его зарослей и определён эксплуатационный запас сырья (корней и корневищ) на этой площади.

Впервые проведён биохимический анализ корневищ, листьев и семян 3-х форм морозника кавказского по определению жирнокислотного состава липидов и динамики их накопления. В семенах впервые выделены жирные кислоты - бегеновая и арахиновая, которые ранее из этого растения учёными не были выявлены.

Теоретическая и практическая значимость рабо­ты. Пополнение сведений о биологических и экологических особенностях вида и его форм, уточнения географического распространения представляет определённый интерес для таксационных, лесоустроительных работ, а также для выявления биологического разнообразия и восстановления общей исто­рии развития оригинальной и многообразной флоры Сочинского Причерно­морья. Выявленные особенности морфо- и микроструктуры вегетативных органов вида и его форм необходимы для определения растений как в гене­ративном, так и в вегетативном состояниях, а также позволяют расширить знания о структурных изменениях и приспособлениях растений к различным экотопам. Детальное исследование внутривидовой изменчивости морозника необходимо использовать для разработки в целом системы семейства *Ranun- culaceae* и решения практических вопросов интродукции растений. Площади выделов морозника кавказского, определение урожайности сырья на каждой конкретной заросли и возможной ежегодной заготовки растительного сырья позволит правильно спланировать заготовку и сохранить те популяции, ко­торые несут повышенную антропогенную нагрузку. Результаты биохимиче­ских исследований по выделению липидов и определению их жирнокислот­ного состава позволят вызвать интерес к незаслуженно забытому морознику как перспективному источнику многих биологически активных веществ.

Результаты исследования нашли применение в учебном процессе био­логического факультета Кубанского госуниверситета при чтении спецкурсов «Местная флора», «Экология растений», «Геоботаника» и «Ресурсоведение».

Апробация работы. Материалы диссертационной работы док­ладывались на заседаниях Краснодарского отделения ВБО (2001-2005 гг.), на ежегодных межреспубликанских научно-практических конференциях «Актуальные вопросы экологии и охраны природы экосистем южных регио­нов России и сопредельных территорий» (Краснодар, 2001, 2002, 2004, 2005, 2006). Отдельные положения и материалы диссертации были доложены на заседании кафедры биологии и экологии растений (2003 г.) и на научно­методическом совете КубГУ и в ФГУ НИИ горного лесоводства и экологии леса (г. Сочи).

Личный вклад соискателя. Основным материалом для дис­сертации послужили авторские гербарные сборы, описания и наблюдения, проведённые в период с 1999 по 2004 гг., а также материалы гербариев и сборы коллег, любезно предоставленные для работы. Обработка собранного материала, подготовка оригинальных рисунков и фотографий, карт местона­хождения изучаемого вида и его форм, статистический анализ полученных результатов выполнены автором самостоятельно. Биохимические исследова­ния проведены в Испытательном Центре ФГУ «Краснодарский ЦСМ», в ла­боратории по испытаниям лекарственной, пищевой продукции, продоволь­ственного сырья, продукции нефтеперерабатывающей и химической про­мышленности ведущим научным сотрудником, заведующей испытательной лабораторией, кандидатом химических наук О.Н. Хмеленко, за что мы при­носим ей огромную благодарность.

выводы

1. На территории Сочинского Причерноморья нами были выявлены 3 чётко обособленные формы морозника кавказского: *Helleborus caucasicus* A. Br. var. *roseo-virens* (форма I), *Н. caucasicus* A. Br. var. *flavo-punctatus* (форма И), *Н. caucasicus* A. Br. *vzr. flavo-guttatus* (форма III), а также IV-ая - переходная форма, которая имеет ряд признаков, характерных для предыду­щих 3-х форм. Изученные формы отличаются друг от друга по морфологиче­ским и анатомическим признакам.
2. Изучение эколого-генетической структуры вида Я. *caucasicus* А. Вг. показало, что вид является генетически неоднородной системой. В природных популяциях интенсивно идут микроэволюционные процессы, ко­торые при избирательном действии внешней среды привели к дифференциа­ции вида на 4 формы (или экотипы).

Анализ комплекса размерно-весовых признаков (длина цветка, длина цветоножки, длина черешка, длина листа, ширина листа, вес корней) позво­лил провести классификацию выборок растений морозника из 7 популяций на 4 группы. Сходство морфологического облика растений внутри каждой группы и наличие межгрупповых различий позволили выдвинуть предполо­жение о разном действии факторов естественного отбора в группах и опре­делить статус групп 4 разных экотипов в пределах изучаемого ареала.

Результаты кластерного анализа показали, что первый экотип (популя­ции 4 и 5) соответствует форме I, второй экотип (популяция 2) - форме II, третий экотип (популяции 1, 6, 7) - форме III, что касается четвёртого экоти­па (популяция 3), то он является переходным.

Сравнение выборок растений из 4 экотипов по фенам - качественным признакам показало наличие достоверных различий, что свидетельствует о генотипическом преобразовании вида на элементы внутривидовой структу­ры, например, экотипы, под действием средовых факторов в разных экото- пах.

1. Выявлены и уточнены следующие морфологические признаки особей различных форм *Н. caucasicus* А. Вг., не отмеченные или использо­вавшиеся ранее исследователями в целях систематики: длина и форма лис­точков околоцветника; длина цветоножки; количество и форма листочков прикорневого листа; длина черешка, степень зубчатости края листочков.

Из 3 выявленных форм наиболее мощной по степени развития как над­земной, так и подземной части, оказались особи формы III, у которых длина репродуктивного побега достигала 65,6±3,89 см, диаметр листьев - 41,2±2,05 см, количество листочков, слагающих лист - 8-13 (у других форм значительно меньше от 4 до 7). По диаметру и окраске цветков, числу цвет­ков в соцветии и их форме, длине цветоножки и черешка листа, массе корней и корневищ (сухой вес) - особи формы III также преобладали над остальны­ми формами.

1. Эколого-анатомический анализ вегетативных надземных и под­земных органов 3 форм *Н. caucasicus* А. Вг. позволил выявить ряд дополни­тельных диагностических анатомических признаков: количество устьиц нижнего эпидермиса листочка на 1 мм2; число рядов клеток первичной коры стебля; количество проводящих пучков в стебле и корне; число рядов клеток пластинчатой колленхимы в стебле (черешке); число рядов мезодермальных клеток и др.

Количественные показатели микроструктуры листа, стебля и корня варьируют в зависимости от экологических типов (форм). Так, у формы I (экогруппа - ксеромезофит), обитающей в более сухом климате, число ано- моцитных устьиц листа на 1 мм наибольшее - 103,6±2,45; число рядов хло- ренхимы - 34,8±1,75; пластинчатая колленхима из 8,2±0,99 рядов клеток. Иногда у особей этой формы наблюдается развитие второго слоя клеток па­лисадной паренхимы; количество трахеальных элементов в радиальной це­почке ксилемы листа также выше, чем у других форм - 23,0± 1,06.

Анализируя микроструктуру стебля и корня 3 форм, установлено, что количественные анатомические показатели также наибольшие у формы I: число рядов хлоренхимы - 34,8±1,75; пластинчатая колленхима из 6-8 пери­ферических рядов (у формы I - 8,2±0,99, у других форм меньше) и т.д. У форм II и III анатомические показатели листа, стебля и корня - характерные для типичных мезофитов. .

1. В результате проведённых фенологических наблюдений 3-х форм морозника кавказского и установлено, что особи форм II и III показали почти одинаковую продолжительность периода от массовой бутонизации до начала цветения (5-6 дней), от начала цветения (февраль 2002-2003 гг.) до конца цветения (середина апреля 2002-2003 гг.). Продолжительность цвете­ния у них длилась 1,0-1,2 месяца. В ноябре - декабре 2003-2004 гг., из-за очень тёплой и влажной зимы особи этих форм начали повторную вегетацию и цветение. Ритм сезонного развития особей формы I несколько отличается от предыдущих - фазы вегетации, цветения и созревания плодов были почти равны и колебались от 18-20 до 30-35 дней (без повторного цветения), что связано с климатическими особенностями места обитания: меньшим выпа­дением осадков, повышенной температурой и т. д.
2. Установлено, что для исследуемого вида характерна широкая амплитуда условий мест обитания: от широколиственных колхидских до пихтовых лесов. Это теневыносливые ксеромезофиты (форма I) или мезофи­ты (формы II и III).

Наиболее значительные по площади и продуктивности заросли мороз­ника кавказского расположены в предгорных районах Сочинского Причер­номорья в пределах от 150-200 до 600-700 м над у. м. и приурочены в ос­новном к дубовым, реже к буковым лесам, которые в данном регионе зани­мают низкогорную часть лесного пояса.

В смешанных дубовых лесах (дубняк кизиловый, лещиновый, орляко- вый и др.) морозник (формы I и II) является важным ценообразователем и занимает наиболее обширные площади (10-22 га), где выступает эдификато- ром или доминантом. В дубняках популяции морозника распространены на хорошо освещённых склонах южных экспозиций, где развиты перегнойно­карбонатные (или бурые лесные) почвы. Постоянные спутники морозника кавказского: *Paeonia caucasica, Epimedium colchicum, Ruscus colchicus,* реже

. **Л**

* *Tamus communis* и др. Количество товарных экземпляров на 1 м в среднем
* 11,5±1,42. Продукция надземной массы колебалась в пределах от 127,5±5,63 до 451,8±14,02 г/м . Эксплуатационный запас воздушно-сухого сырья - от 240,3 кг до 2 300,0 кг.

Важную фитоценотическую роль морозник кавказский играет в соста­ве травянистого яруса букняков: ясенево-грабовом, лавровишнёвом, грабово­самшитовом. Площадь выделов от 2,5 до 15 га. В этих лесах морозник редко бывает эдификатором или доминантом, чаще - в роли субдоминанта или ас- сектатора. Заросли приурочены к слабо освещённым склонам, в основном, северных экспозиций, где развиты бурые лесные почвы. Постоянные спут­ники морозника: *Epimedium colchicum, Festuca drymeja, Sanicula europaea* и

**<>**

др. Количество товарных экземпляров на 1 м в среднем 8,4±1,82. Продукция подземной массы варьирует в зависимости от типа леса - от 68,3±2,83 до 225,7±9,09 г/м . Эксплуатационный запас воздушно-сухого сырья - от 130,0 кг до 1 510,2 кг.

Общая площадь дубовых и буковых лесов, в которых возможна заго­товка корней морозника, по данным таксационных описаний, составляет 140 га. Запас сырья на этой площади составляет около 21,5т (воздушно­сухого). Возможность ежегодной заготовки составляет 1,07 т сырья.

1. Результаты биохимического анализа показали, что в процессе онтогенеза динамика накопления липидов в корневищах, листьях и семенах сильно варьирует. Так, в корнях и корневищах максимальная сумма липидов накапливается в период окончания фазы плодоношения у всех 3 форм. У формы III, этот показатель выше, чем у других форм, и составлял (в процен­тах) в июне 2003 г. - 22,4±1,81, а в июле 2004 г. - 21,6±1,89. Сумма липидов в листьях у форм I и II максимальная в конце плодоношения (15,2±0,62 и 12,3±1,13), а у формы III - в период цветения (19,8±0,93, 2003 г.) и в конце плодоношения (19,4±0,43, 2004 г.). Наибольшая сумма липидов выделена из семян формы III (июнь 2003, 2004 гг.) - 11,2±1,00 и 12,8±1,20, в фазу созре­вания и высыпания семян, а также в период вегетации. У других форм выход масел несколько ниже.
2. Жирнокислотный состав масел 3-х форм морозника отличается как количественным, так и качественным соотношением отдельных классов. Форма I синтезирует в корнях наибольшее количество жирных кислот -11, причём сумма насыщенных кислот наибольшая, а сумма ненасыщенных - наименьшая, по сравнению с другими формами - в июле 29,2± 1,81 и 70,8±2,63, а в августе 27,6±1,6 и 72,4±3,33. Из насыщенных в большей степе­ни идёт накопление пальмитиновой и стеариновой кислот (от 13,8±0,60 до 14,0±1,21 у формы I), а из ненасыщенных - линолевой (78,2±2,13 у форм II и III).

В липидах листьев морозника сумма насыщенных и ненасыщенных кислот наибольшая у формы III (соответственно 37,4± 1,71 и 78,2±3,15 - июль 2004 г.), а наименьшая у формы I (29,2±2,22 и 70,8±1,26). Из насыщен­ных кислот в большей степени также идёт накопление пальмитиновой ки­слоты (форма II - 18,0±1,70), а из ненасыщенных - линолевой (форма III - 55,3±2,80).

В семенах жирнокислотный состав значительно изменяется: выпадают лауриновая, изолауриновая, миристиновая, миристинолеиновая, тридецило- вая, пентадециловая и гептадециловая кислоты, появляются бегеновая и ара- хиновая. Ненасыщенные жирные кислоты в значительном количестве синте­зируются в липидах формы I (до 27,8±2,10).

Исследования по изучению качественных изменений жирнокис­лотного состава липидов морозника показали, что в процессе сезонного рит­ма и развития под влиянием ряда экологических факторов происходит изме­нение течения маслообразовательного процесса в растении, смещается поря­док появления жирных кислот, идёт формирование продуктов с изменённым составом и свойствами. Во всех образцах жирных кислот главной составной частью являются пальмитиновая, олеиновая и линолевая кислоты (в корнях и листьях). Перед вторым цветением и после плодоношения (IX-XII) в липи­дах корней появляются миристиновая, пентадециловая и гептадециловая ки­слоты. Перед бутонизацией (III—IV) появляется изолауриновая, а исчезает лауриновая кислоты. Соотношение жирных кислот в листьях несколько иной, чем в корнях, но порядок появления и исчезновения кислот сходен. В липидах семян многие кислоты выпадают, появляются новые: бегеновая - 9,6% (V, 2004 г.) и арахиновая (IV-V, 2004 г.) - от 1,4 до 1,9%. В семенах ко­личество линоленовой кислоты увеличивается в 10-40 раз и достигает - 45,6% (май, июнь, 2004 г.). Перед высыпанием семян (VIII, 2004 г.) содержа­ние некоторых жирных кислот падает (пальмитиновой с 27,8 до 19,2%), дру­гих - увеличивается (олеиновой с 8,4 до 13,0%, бегеновой с 2,5 до 2,6%), что связано с изменением течения обменных процессов в растении.