

УДК 581.9

**П.В. Веселова², Г.Т. Ситпаева², Г.М. Кудабоева², С.Т. Нуртазин¹,
И.Д. Илларионова³, С.К. Мухтубаева²**

РЕДКИЕ ВИДЫ ФЛОРЫ ИЛЕ-БАЛХАШСКОГО РЕГИОНА

Казахский национальный университет им. аль-Фараби¹,
Институт ботаники и фитоинтродукции² (Алматы, Казахстан),
Ботанический институт им. В.Л. Комарова³ (Санкт-Петербург, Россия)

В статье приводятся новые данные по редким видам флоры Иле-Балхашского региона. Уточнены ареалы следующих редких и занесенных в Красную книгу видов - *Tschulaktavia saxatilis* Bajt., *Ligularia songarica* (Fisch.) Ling, *Iridodictyum kolpakowskianum* Regel, *Tulipa behmiana* Regel, *Tulipa ostrowskiana* Regel, *T. brachystemon* Regel, *T. alberti* Regel, *Tulipa kolpakowskiana* Regel.

Редкие виды, как особые элементы флоры требуют постоянного мониторинга. Результаты изучения этой группы растений показали особенности их современного состояния. Для отдельных видов (*Tschulaktavia saxatilis* Bajt., *Ligularia songarica* (Fisch.) Ling, *Iridodictyum kolpakowskianum* Regel, *Tulipa behmiana* Regel, *Tulipa ostrowskiana* Regel, *T. brachystemon* Regel, *T. alberti* Regel, *Tulipa kolpakowskiana* Regel) приводятся новые данные по их распространению в пределах Иле-Балхашского региона.

Материалы и методы

В процессе исследования использованы классические методы: маршрутно-рекогносцировочный – в полевых исследованиях, морфолого-географический – при анализе видов.

Результаты и их обсуждение

Проанализирован гербарный материал по редким видам флоры Иле-Балхашского региона, собранного в течение полевых сезонов 2010-2011 гг.

Tschulaktavia saxatilis Bajt. (*Silva saxatilis* Bajt.) – Чулактавия скальная

Встречается среди петрофитной растительности в низкогорьях.

Редкий, узкоэндемичный вид, встречающийся в Чулацких горах (Джунгарского Алатау). Занесен в Красную книгу Казахстана (1981).

По данным М.С. Байтенова [1] популяция Чулактавии скальной «очень незначительна». К сожалению, этикетка образца по которому был описан этот вид, имела достаточно общий характер, без указания конкретной точки сбора в пределах Чулацких гор. Кроме того, имеющиеся экземпляры не имели плодов. Для уточнения местообитания *Tschulaktavia saxatilis* в начале сентября 2011 г. совместно с российскими коллегами (д.б.н. Пименовым М.Г., к.б.н. Ключковым Е.В. – сотрудниками Главного ботани-

ческого сада МГУ им. М.В. Ломоносова) был осуществлен экспедиционный выезд в Алтын-Эмельский ГНПП.

В итоге поисков описываемый вид был найден в расщелинах скал ущ. Талдысай. На момент фиксации вид находился в фазе плодоношения. Таким образом, произрастание *Tschulaktavia saxatilis* в южных отрогах Джунгарского Алатау подтвердилось. Других точек произрастания этого растения в Джунгарском Алатау до сих пор не обнаружено.

Ligularia songarica (Fisch.) Ling - Бузульник джунгарский

Встречается среди луговой растительности в предгорьях и низкогорьях.

Ligularia songarica был описан Фишером в 1841 г. из Джунгарского Алатау. Это луговое растение, наиболее типичным местообитанием которого являются пойменные луга, а также высокие травянистые заросли по берегам озер, окраинам болот, чиевые и тростниковые заросли, влажные засоленные луга. Он свойственен главным образом предгорьям и нижнему степному поясу гор, хотя местами заходит и в пределы пояса хвойных лесов. По долинам рек, особенно таких крупных, как реки Или и Чу, этот вид проникает, хотя и неглубоко, в равнинную часть Казахстана и Кыргызстана.

Распространен описываемый вид от Южного Алтая в Казахстане и до Киргизского хребта в Кыргызстане. Восточная граница ареала *Ligularia songarica* находится в самой западной части Монголии и в Синьцзян-Уйгурском автономном округе Китая. В Казахстане этот вид встречается в восточной части хребта Южный Алтай, в Зайсанской и Алакульской низменности, на Тарбагатае и Джунгарский Алатау. Но, несмотря на относительно широкий ареал, этот вид бузульника распространен спорадически. На тер-

ритории Казахстана известно только 15 местонахождений.

Для уточнения местообитания *Ligularia songarica* в пределах проектируемой территории в конце июля 2011 г. был осуществлен экспедиционный выезд в Энбекши-Казахский и Уйгурский районы (левобережье р. Или). Исследовали одно из классических местонахождений этого редкого вида – солонцеватый саз в долине Или около поселка Чилик (Шелек). К сожалению, не обнаружено ни одного экземпляра *Ligularia songarica*. Вероятно, что со времени сбора этого вида в 1937 г. произошло изменение экологических условий, в частности нарушение гидрологического режима. Такие выводы в той или иной мере подтверждаются и результатами ранее произведенных поисков вида *Ligularia songarica* в Кыргызстане, где в настоящее время местообитания этого вида сильно нарушены вследствие осушения и распашки.

Для сохранения этого вида в Казахстане необходимы дальнейшие исследования уже известных местонахождений и поиск новых его популяций последующим мониторингом их состояния и введением мер охраны.

***Iridodictyum kolpakowskianum* Regel** – Иридодиктиум Колпаковского

В основном входит в состав растительных сообществ низко- и среднегорий. Встречается от полупустынных предгорий до среднего пояса гор (2200 м над уровнем моря) включительно, произрастая в полынно-эфемеровых полупустынных сообществах, на степных участках и среди зарослей кустарников низкогорий, а также на полянах среди арчевников.

Ранее считалось, что ареал вида простирается лишь на все хребты Западного и некоторые (Чу-Илийские горы и Заилийский Алатау) Северного Тянь-Шаня. Однако в 2001 г. этот вид впервые был найден в южных отрогах Джунгарского Алатау [2]. Ботаническое обследование южной оконечности этой горной системы, а именно перевала Архарлы одноименного хребта в апреле 2011 г. подтвердило наличие иридодиктиума Колпаковского в Джунгарском Алатау. На момент сбора растение находилось в фазе окончания цветения. Одиночно и небольшими группами экземпляры этого вида произрастали в нижней и средней частях негусто закустаренных склонов восточной экспозиции невысоких гор хребта Архарлы (в районе перевала, неподалеку от автомобильной трассы Алматы-Сары-Озек).

У подножья склонов в месте сбора *Iridodictyum kolpakowskianum* нами было обнаружено

еще одно луковичное растение не совсем характерное для горных территорий. Речь идет о таком высокодекоративном виде с достаточно продолжительным (до 18 дней) периодом цветения, как тюльпан Бема или Бемовский тюльпан.

***Tulipa behmiana* Regel** – Тюльпан Бемовский

Встречается в основном в составе растительных сообществ равнинных (пустынных) и предгорных (полупустынных) экосистем. Этот тюльпан является эндемичным для Южного Прибалхашья растением, встречающимся массово лишь от предгорий Заилийского Алатау до южного берега оз. Балхаш. Часть ареала *Tulipa behmiana*, охватывающего Балхаш-Алакольскую котловину, а также восточную часть пустыни Бетпак-Дала, охраняется в пределах национального парка Алтын-Эмель. Находка *Tulipa behmiana* на перевале хребта Архарлы (относящегося к системе хребтов Джунгарского Алатау) - на сравнительно больших для этого растения высотах с более мезофитными условиями обитания - расширяют наши представления об экологической пластичности этого вида.

Весной 2010-2011 гг. популяция тюльпана Бемовского была зафиксирована нами на плато Карой, расположенного в «зоне» первой ступени подгорных северотяньшаньских равнин. Они произрастали в нижней части пустынных низкогорий и на относительно высоком песчаном берегу р. Или. Примечательно, что среди подавляющего большинства желтоцветных форм *Tulipa behmiana* было отмечено всего два экземпляра этого вида, имеющих песро-оранжевую окраску.

***Tulipa ostrowskiana* Regel** – Т. Островского

Встречается в составе растительных сообществ предгорий и низкогорий.

Тюльпан Островского занесен не только в Красную книгу Казахстана (1981), но и наряду с *Tulipa greigii*, *T. regelii* и *T. alberti*, входит в перечень редких видов флоры СССР [3].

Кроме того, изредка встречаются гибридные особи (*Tulipa ostrowskiana* x *Tulipa kolpakowskiana*), характеризующиеся ярким желто-оранжево-красным цветом лепестков. «Массивы таких гибридных популяций очень красочны своей пестротой во время цветения» [4].

Tulipa ostrowskiana встречается в предгорьях и ущельях центральной части Заилийского Алатау. Между тем данные последних лет показали, что ареал тюльпана Островского несколько шире. В апреле 2008 г. его популяция была обнаружена и в западной части Заилийского Алатау (близ пос. Сулутор), а в мае 2010 г.

и 2011 г. отдельные особи этого вида были зафиксированы в Балхаш-Алакольском флористическом районе (Алматинская обл., плато Карой, южнее Капшагайского водохранилища) [5].

***T. brachystemon* Regel** – Т. короткотычиночный

Встречается в составе петрофитной растительности нижнего пояса гор.

Редкий узкоэндемичный вид Джунгарского Алатау, предпочитающий селиться на каменистых и щебнистых склонах нижнего и среднего поясов гор. Зацветает в апреле, а начинает плодоносить в июне.

Малочисленность популяции высокодекоративного тюльпана короткотычиночного послужила причиной включения его в Красную книгу Казахстана (1981). Часть ареала вида охраняется на территории Алтын-Эмельского национального природного парка. Так, в апреле 2011 г. небольшая популяция этого тюльпана была отмечена в ущ. Тайгак (Чулакские горы).

***T. alberti* Regel** – Т. Альберта

Встречается в составе растительных сообществ равнин (пустынных) и предгорий (полупустынных).

Широким спектром окраски лепестков – от красного и малинового до ярко-желтого – отличается, описанный также Э.Л. Регелем тюльпан Альберта. Являясь эндемиком юго-восточного Казахстана, *Tulipa alberti* встречается в Южном Прибалхашье, Джунгарском Алатау, Чу-Илийских горах, Сырдарьинском Каратау и южной части пустыни Бетпак-Дала.

Этот редкий тюльпан, обладающий высокими декоративными качествами, был занесен в Красные книги СССР (1984) [3] и Казахстана [6]. Вместе с *Tulipa brachystemon* тюльпан Альберта охраняется на территории Алтын-Эмельского национального природного парка (в горах Чулак). Так, наряду с т. короткотычиночным, этот вид был отмечен нами весной этого года в ущ. Тайгак Чулакских гор. В отличие от *Tulipa brachystemon* т. Альберта, произрастая по более пологим склонам, занимал и более низкие высоты.

***Tulipa kolpakowskiana* Regel** – Т. Колпаковского

Встречается в составе растительных сообществ предгорий и низкогорий.

Тюльпан Колпаковского, занесенный в Красную книгу Казахстана [6], обладает однотонной – желтой окраской лепестков, иногда наружные лепестки околоцветника имеют фиолетовый оттенок. Казахстанская часть ареала вида прости-

рается от Джунгарского до Киргизского Алатау. Наиболее широко он представлен в Заилийском Алатау и Чу-Илийских горах, встречаясь, как правило, по глинистым, реже щебнистым склонам степных и пустынных предгорий.

Часть популяции этого вида охраняется в Алматинском заповеднике, в Национальных парках - Алтын-Эмель и Иле-Алатауском. Следует отметить, что в апреле – мае в пригородах Алматы из рассматриваемых тюльпанов можно увидеть только т. Колпаковского и то в незначительном количестве.

В 2011 году массовое цветение тюльпана Колпаковского было отмечено также во время весенних полевых работ в районе плато Карой.

Исследования выполнены при финансовой поддержке проектов «Оценка современного состояния экосистем Иле-Балхашского региона и совершенствование принципов и методов их классификации и картирования» (КазНУ НИИ Проблем экологии) и «Видовое разнообразие, систематика и таксономия высших сосудистых растений, грибов и водорослей Казахстана» (РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК).

Литература

1. Байтенов М.С. В мире редких растений. Алма-Ата, 1986. 175 с.
2. Ивашенко А.А., Лайман Дж., Ишков Л.Е. Новые и редкие для Джунгарского Алатау цветковые растения // Матер. междунар. науч. конф. «Итоги и перспек. разв. ботан. науки в Казахст. Алматы, 2002. С. 60-63.
3. Красная книга: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений. - Т. 2. - М., 1984.
4. Ивашенко А.А. Тюльпаны и другие луковичные растения Казахстана. Алматы, 2005. 191 с.
5. Веселова П.В., Кудабаяева Ш.М., Ахметова Н.Е. К распространению краснокнижного вида *Tulipa ostrowskiana* Regel (Liliaceae) // Межд. научно-практ. конф. «Современные проблемы экологии и устойчивое развитие общества». – Алматы, 2010. - С. 95.
6. Красная книга Казахской ССР. Часть 2. Растения. Алма-Ата: Наука КазССР, 1981. 260 с.

Мақалада, Іле-Балқаш аймақтары флорасының сирек түрлері бойынша жаңа нақтылықтар берілген. Төмендегі сирек және Қызыл кітапқа кіргізілген түрлердің ареалдары нақтыланды - *Tschulaktavia saxatilis* Bajt., *Ligularia songarica* (Fisch.) Ling, *Iridodictyum kolpakowskianum* Regel, *Tulipa behmiana* Regel, *Tulipa ostrowskiana* Regel, *T. brachystemon* Regel, *T. alberti* Regel, *Tulipa kolpakowskiana* Regel.

The paper presents new data on rare species of flora of Іle-Balkhash region. Specified areas of the following rare and red-listed species - *Tschulaktavia saxatilis* Bajt., *Ligularia songarica* (Fisch.) Ling, *Iridodictyum kolpakowskianum* Regel, *Tulipa behmiana* Regel, *Tulipa ostrowskiana* Regel, *T. brachystemon* Regel, *T. alberti* Regel, *Tulipa kolpakowskiana* Regel.

УДК 152.3.577.

*M.K. Gilmanov, S.A. Ibragimova, N.G. Riger,
D.P. Safonov, A.N. Begzat, Sh.M. Nurmoldin*

THE STUDY OF THE FUNCTIONS OF THE PLANT CELL ORGANELLE – SPHEROSOME

Laboratory of the enzymes structure and regulation, RSE M.A. Aytkhozhin's Institute
of molecular biology and biochemistry KS MES Almaty, Kazakhstan.

E-mail: baltakay@mail.ru

It was developed the new effective methods of purification of spherosome from ripend wheat seeds by chromatography on "Nanocarbosorb". It was shown that the spherosomes contain very active NADPH –glutamate dehydrogenase. It was established that the spherosome is very important plant cell organelle which plays key role in assimilation in ammonia.

INTRODUCTION

Investigation of structure and functions of cell organelles is the main priority of cell biology. Among all cell organelles only spherosome remains insufficiently studied. So far cell morphologists arguing about whether the spherosomes are organelles of cell inclusions [1-3]. That is, some researchers do not know the difference between spherosomes and oleosomes, which are lipid droplets because they are similar in size and shape. It is clearly, that the microscopic methods of investigation can not give an answer on this question. Therefore, for solving of this question necessary to isolate spherosomes and study their properties by other methods. As it is absence of effective method of spherosome purification. In this reason the aims of our investigation are next:

1. The development of method of isolation of the spherosomes.
2. Investigation of properties of the isolated plant spherosome.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

The object of our investigation were matured seeds of wheat (*Triticum aestivum*) "Kazakhstanskaya - 10" cultivar.

Determination of activity of GDh

Determination of activity of GDH we have carried out by standard spectrophotometric method by measuring absorbance at 340 nm on Ultrospec-1100 pro, Amersham Bioscience (UK) [4]. Reaction mixture contains: 15mM 2 - oxoglutarate, 130mkM NADPH, 10mkM ammonium sulphate, 0.05M morfoline ethane sulfonate buffer pH~8.3 to a final volume of 2 ml. Concentration of proteins was determined by Bailey.

RESULTS AND DISCUSSION

Spherosomes were isolated from ripened wheat (*Triticum aestivum*) "Kazakhstanskaya -10" cultivar. The seeds were collected in the milk wax phase. The general procedure of isolation of spherosomes described in [5]. The collected seeds was unembryonated and they were grinded in chilled porcelain mortar in ratio 1:4(w/v) in 0,05M –MES buffer (pH~7.4) which is contained 0.1 mg/ml of reduced glutation. Then homogenate was centrifuged at 10000g during 10 min.

The cell free extract was put into column (size $\varnothing 3\text{cm} \times 20\text{cm}$) filled with nanostructured carbon sorbent (nanocarbosorb) which was synthesized in the Institute of burning problems (Almaty).

Column was eluted by the same buffer. the first peak after separation contains the spherosomes. This fraction was used for investigation.

The study of the activity of GDH of the spherosomes revealed that it shows a strict specificity with coenzyme NADPH only. First of all, it was necessary to study the dependence of the activity of GDH of the spherosomes on the concentrations of ammonium ions.

It should be noted that the kinetics of the depending on the activity NADPH-GDH on the concentration of ammonium ions had an interesting feature. After achieving the optimum of activity equal to 10-15 mkM the higher concentrations of ammonium ions inhibited the enzyme activity. So that all researchers who study this enzyme is necessary to strictly monitor the concentration of ammonia in the reaction medium. It should not exceed 10-15 mkM. It was determined the Michaelis constant, which is proved equal 0.19 mkM. The value of Michaelis constant of NADPH-GDH of the spherosomes for ammonium ions shows very high

affinity of this enzyme to ammonia. Thus, we are established the very important function of spherosomes – the active participation in assimilation of nitrogen in ripening grains of the cereals.

Investigation of spherosome structure

Earlier we were investigated chemical composition of spherosomes. It was shown that spherosome consists of only glutamate dehydrogenase (GDH) 68.35±0.3% and phosphatidylinositol (PI) 30.82±0.1%. [6] It was studied the molecular mass of subunit of the GDH of the spherosome by SDS-electrophoresis by Laemmli which was equal 53 kDa [7]. But the literature analysis of nucleotide sequence of GDH genes from higher plants has shown that existing only two genes which supervise of synthesis of polypeptides with molecular masses 42.5 kDa and 43 kDa [8]. The difference between of molecular masses of GDH about 10 kDa. These data pointed to presence of essential non-protein part in composition of GDH. As it shown earlier by us GDH from wheat plants has in its composition arabinose, rhamnose, glucosamine, mannose and galactose [9]. Protein of spherosome could be released from spherosome only by PI specific phospholipase C from *Clostridium welchii* [10]. There is only one opportunity for explanation of this phenomenon. GDH attached to PI membrane of spherosome by its own covalently - bound glycosylphosphatidylinositol anchor [11]. Thus by composition GDH undoubtedly related to typically arabinogalactan GPI proteins [12]. From obtained data it can conclude that, the spherosome has compact inner bilayer PI vesicle – PI-core and to its surface are attached through own GPI anchors and glycan chains the numerous protein molecules of GDH. The protein molecules form the dense massive of outer layer of spherosome – protein covering of spherosome.

In this reason it is necessary to find the mechanism of activation of spherosomes GDH.

We carried out the investigation of the regulation of spherosome GDH. It is well known that genes of GDH of Arabidopsis and rice were completely sequenced and established that GDH has the region between aspartate 265 and glutamate 276 which called “*EF-hand loop motif*” [13]. A lot of important regulatory proteins such as calmodulin, centrin and many others Ca^{2+} - dependent proteins have such “*EF-hand loop motif*” too.

The intact spherosomes from dormant seed have not any GDH activity. In this case, the spherosomes serve for storage GDH and PI.

After binding Ca^{2+} with spherosome appears equal high NADPH-GDH and NAD-GDH activities. Our study shows that spherosome has the next functions:

1. The storage of the GDH in inactive condition.
2. The storage of the biochemically very active PI in inaccessible for water and other agents conditions. (that is storage the PI in spherosome in canned condition in seeds for several years).
3. The spherosomes participated in PI cycle and Ca^{2+} ions cell metabolism regulations.
4. The spherosomes play very important role in assimilation of nitrogen in ripening grains of the cereals. Thus, our study definitely proves that spherosomes of plant cell is a very important organelle which performs very important functions in plant metabolism.

REFERENCES

1. Gurusamy Chinnasamy, Philip James Davis, Arya Kumar Bal / Seasonal changes in oleosomic lipids and fatty acids of perennial root nodules of beach pea / [Journal of Plant Physiology Volume 160, Issue 4](#), 2003, P. 355-365
2. Paresh Chandra Dutta, Lars - Stefan Gunnarsson, Angelica von Hofsten Lipid bodies in tissue culture, somatic and zygotic embryo of *Daucus carota* L.: a qualitative and quantitative study [Plant Science Volume 78, Issue 2](#), 1991, P. 259-267
3. L. Y. Yatsu, T. J. Jacks, and T. P. Hensarling / Isolation of Spherosomes (Oleosomes) from Onion, Cabbage, and Cottonseed Tissues / *Plant Physiol.* 1971 December; 48(6): P. 675-682
4. Gilmanov M.K., Fursov O.V., Frantsev A.P. / Purification and study of the plant enzymes 1981 ‘Nauka’ 91 p. (in Russian)
5. Gilmanov M.K., Kerimkylova A.R., Sabitov A.N., Ibragimova S.A. The phosphatidylinositol-protein nanocomplex as a new biosensor for ecological monitoring and clinical diagnostic // *Journal Biosensor and Bioelectronics*, 24(2009) P. 1490-1492.
6. Al-Suhaymi S.A. The study of the chemical composition of the plants spherosome // *Biotechnology. "Theory and Practice."* - 2004. - № 3. - P. 38-41 (in Russian)
7. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. // *Nature.* -1970.- 277- p. 680-685.
8. Turano, F.J., Thakkar, S.S., Fang, T., Weisemann, J.M. Characterization and expression of NAD(H)-dependent glutamate dehydrogenase genes in Arabidopsis. // *Plant Physiol.* -1997.-113. -P.1329-1341
9. Tsvetkova B.M., Gilmanov M.K., Frantsev A.P. // The glycoprotein nature of NAD(P) - glutamate dehydrogenase of wheat roots // Republic scientific conference dedicated to the memory and jubilee of professor M.A. Aitkhozhin: “Modern problems of physics-chemical biology and biotechnology” September 21-23, 1989. Alma-Ata: Nauka of the Kazakh SSR. 1989, 85 p.
10. Gilmanov, M.K., Dilibarkanova, R., Darkanbaev, T.B. (1982). The Latent form glutamate dehydrogenase, located in spherosomes similar structures in wheat grain. Reports AS the USSR, 264, № 3, P. 737-739.