

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА В СТРУКТУРЕ БИОМАССЫ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *RHAPONTICUM CARTHAMOIDES* (WILLD.) ILJIN В УСЛОВИЯХ АГРОЦЕНОЗА (РЕСПУБЛИКА КОМИ)

© Н. П. Тимофеев, В. В. Володин, Ю. М. Фролов

В настоящее время в медицине, ветеринарии и животноводстве все большее внимание уделяется использованию природных адаптогенов, способствующих повышению сопротивляемости организма человека и животных к различным неблагоприятным факторам внешней среды (Иванченко, 1984). Одним из перспективных источников адаптогенных средств является рапонтикум сафлоровидный *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin из сем. *Asteraceae*, экстракт из корневищ с корнями которого используется в народной и официальной медицине в качестве тонизирующей пищевой и кормовой добавки, стимулирующего средства при функциональных расстройствах нервной системы, при мышечном утомлении, при ослаблении функций разных органов (Ахрем, Ковганко, 1989; Растительные..., 1993). Выделенный из корневищ 20-гидроксиэкдизон (20E) ответствен за физиологическую активность данного растения и входит в состав тонизирующего препарата экдистен (Куракина, Булаев, 1990). В настоящее время на предприятиях по производству экстрактов из рапонтикума и экдистена в качестве сырья используются только корневища, собираемые преимущественно в дикорастущих популяциях, площадь которых в настоящее время катастрофически сокращается. Установлено, что в результате интенсивных нерегламентированных заготовок, проводимых в течение последних 10—15 лет, запасы подземных органов рапонтикума в Горном Алтае и Кузнецком Алатау сократились на 60—90 % (Некратова, 1992). Технология заготовки корневищ основана на ручном труде и является весьма трудоемкой и малопродуктивной.

Начиная с 50—60-х гг. ботаническими садами АН СССР, опытными станциями Всесоюзного института лекарственных и ароматических растений и другими учреждениями проводились работы по интродукции рапонтикума (Моисеев и др., 1979). В настоящее время он рекомендован для культивирования как новое кормовое растение в ряде регионов России (Новосибирской, Томской и Ленинградской областях, Алтайском крае, Республике Коми и Карелии), в Белоруссии и Казахстане. Выращиванием рапонтикума занимаются в Болгарии, Польше, Чехии и других странах Восточной Европы. К сожалению, проблема выживаемости рапонтикума в агрофитоценозе, снижение содержания экдистероидов в получаемом сырье, трудоемкость заготовки подземных органов, низкие закупочные цены не позволяют перейти к крупномасштабному производству этого ценного растительного сырья. В связи с обнаружением экдистероидов не только в корневищах, но и в надземной части рапонтикума (Абубакиров, 1984) представляло интерес оценить возможность использования последней в качестве лекарственного сырья и источника фитостероидов.

За все сорок лет интродукционных исследований рекомендации по выращиванию и уборке надземной массы рапонтикума разрабатывались вне их связи с особенностями накопления биологически активных веществ и принципиально не отличались от агротехники других крупнотравных видов, используемых непосредственно на корм, травяную муку и силос (Моисеев и др., 1979). Очевидно, что для производства растительного сырья как источника экдистероидов необходимо знание динамики их содержания в отдельных органах в онтогенезе растений, структуры и массовой доли отдельных элементов биомассы, оптимальных сроков заготовки лекарственного сырья, теоретического выхода 20E. Изучению этих вопросов и была посвящена наша работа.

МЕТОДИКА

В качестве объектов исследования, проведенного в 1994 и 1995 гг., использовались растения рапонтникума сафлоровидного, выращиваемые на производственной плантации подсобного хозяйства АО «Котласский ЦБК» (Архангельская обл., г. Коржма) площадью 0.77 га. Участок представляет собой моноэдикаторный агроценоз с плотностью 27 540 особей на гектар. Для исследования не использовались растения с краевых участков общей площадью 0.27 га. В режиме хозяйственного использования ежегодно после сбора семян проводилось однократное отчуждение урожая надземной биомассы. Почва участка легкого механического состава с содержанием гумуса 1.0—1.6 %. Минеральные удобрения вносили в дозе $N_{90}P_{90}K_{90}$.

В структуре биомассы надземной части растений выделяли следующие элементы: генеративный побег, состоящий из стебля, корзинки и стеблевых листьев; вегетативный побег, включающий розеточные листья различного возраста. По возрастному состоянию розеточных листьев выделяли молодые неразвернутые, имеющие белесую окраску; светло-зеленые полуразвернутые; взрослые темно-зеленые; старые желтеющие и отмершие листья желтовато-бурого цвета и почерневшие. Стеблевые листья — верхние (молодые), средние (взрослые) и нижние (старые). Для определения структуры биомассы срезали 5—6 кустов на 30-й и 77-й дни вегетации соответственно в начале интенсивного среднесуточного роста и его замедления. Выборку производили методом случайного отбора при диагональном проходе через участок. В каждой выборке исследовали 275—302 укороченных вегетативных побегов, содержащих 1100—1500 розеточных листьев и 30—35 генеративных побегов, содержащих 750—1000 стеблевых листьев.

Растительный материал, сгруппированный по составляющим элементам биомассы, сушили при температуре 23—25 °С, относительной влажности воздуха 30—40 %. Сушка сырья проводилась в тени, слоем 2—3 см на стеллажах с ячеистой сетью, располагающихся на высоте 40—60 см от уровня пола. Воздухообмен естественный со скоростью движения 0.5—1.0 м/сек. Материал высушивали в цельном виде, за исключением наиболее толстых черешков и цветоносов, которые расщепляли на две части. Остаточная влажность воздушно-сухого сырья, определенная методом ускоренной сушки при 130 °С, составляла 10—12 %.

Образцы для определения 20Е формировали из воздушно-сухого сырья методом квартования. Содержание 20Е в растительных образцах определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии: на колонке Диасорб 130 С16Т, 8 (БиоХимМак, Россия) (150 × 4 мм), элюент вода—ацетонитрил—тетрагидрофуран 100 : 16 : 4, скорость элюирования 0.7 мл/мин, насос НРР 4001 (ЧСФР), детектор UV-VIS LCD 2536 (ЧСФР), $\lambda = 254$ нм. В работе приводятся средние арифметические значения двух биологических и трех аналитических повторностей. Ранее нами в рапонтникуме сафлоровидном был обнаружен 20-гидроксиэкидизон как мажорный компонент (Володин и др., 1993).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Качество лекарственного сырья определяется содержанием в нем ценных биологически активных соединений. Однако, как правило, их содержание в отдельных органах лекарственных растений не постоянно, а меняется как с возрастом растений, так и по фазам развития. Предполагается, что накопление тех или иных продуктов вторичного метаболизма в определенных органах растений тесно связано с их физиологическими функциями и определяется биологическими особенностями растений-продуцентов (Dinan, 1995). Возрастная и сезонная динамика содержания экидистероидов в рапонтникуме уже изучалась ранее нами и другими авторами (Вересковский и др., 1983; Володин и др., 1993). Однако эти исследования касались распределения экидистероидов в индивидуальных растениях. Полученные данные

трудно экстраполировать для оценки содержания целевых веществ в структуре урожая и, следовательно, использовать в практических целях. Теоретический выход 20Е из надземной части рапонтикума нам удалось рассчитать при изучении распределения экидистероидов в растениях в условиях агроценоза.

Возрастной спектр ценопопуляции отражается на структуре лекарственного сырья в виде массовых долей его отдельных элементов от растений, имеющих одинаковый абсолютный возраст, но находящихся в различном индивидуальном возрастном состоянии. Наши шестилетние результаты наблюдений, как оказалось, в целом соответствуют установленным ранее закономерностям онтогенеза рапонтикума на Европейском северо-востоке России (Головки и др., 1996). Однако проявились и некоторые особенности. Так, продолжительность предгенеративного периода у плантационных растений по сравнению с особями модельных опытов увеличивается. В первые два года жизни подавляющее большинство особей находилось в вегетативном состоянии. Переход растений, составляющих данный агроценоз, в генеративный период наблюдался начиная с третьего года жизни. Поэтому в первые два года структура растительного сырья была представлена только розеточными листьями укороченных вегетативных побегов. Массовая доля генеративных побегов в структуре биомассы надземной части растений третьего года жизни составляла 5 %, в таковой растений четвертого года жизни их доля возрастала до 16 %, а в таковой шестилетних растений вначале возрастала до 36 % на 30-й день вегетации, однако из-за того что часть генеративных побегов отмирала, не достигая фазы бутонизации, ко времени массового цветения их доля несколько снижалась (табл. 1).

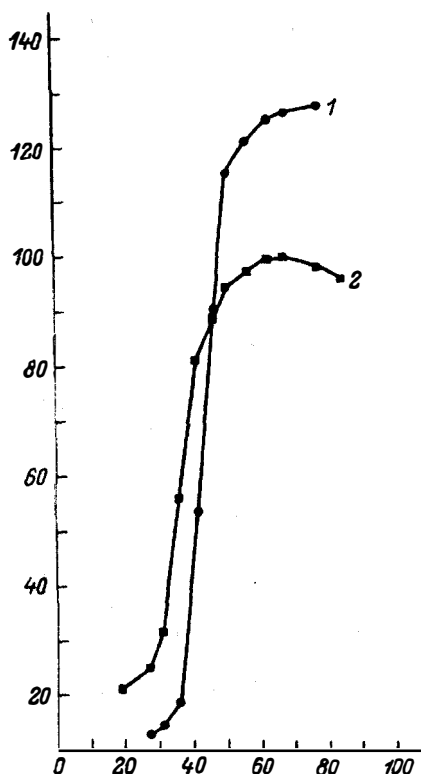
Для определения оптимальных сроков заготовки надземной части рапонтикума имело большое значение изучение динамики роста побегов. В изучаемых условиях рапонтикум ведет себя как быстрорастущая культура (см. рисунок). В первые 30 дней вегетации он растет медленно. В этот период среднесуточный прирост вегетативных побегов, фиксируемый через каждые 4—7 дней, составлял от 0.49 до 1.67 см. Затем темпы роста резко увеличиваются до 4.92 см/сут (30—36-й день) и до 5.02 см/сут (37—41-й день вегетации). В дальнейшем темп роста постепенно снижается и примерно к 70-му дню вегетации приобретает отрицательное значение (–0.16 см/сут). Такая же тенденция характерна и для генеративных побегов: медленный рост 0.25—1.05 см/сут в первые 30 дней вегетации; пики максимального прироста, составляющие 6.92 и 7.44 см/сут, наблюдались на 30—36-й и 36—41-й дни вегетации, а затем сменялись замедлением и полной приостановкой роста на 70—77-й день вегетации. Следует отметить, что в начале отрастания наблюдается усиленный рост вегетативных побегов. Скорость роста вегетативных и генеративных побегов уравнивается примерно в период с 35 по 38-й день вегетации. В дальнейшем на фоне замедления прироста розеточных листьев происходит стремительное удлинение цветоносов. Во второй половине вегетации замедление роста более значительно выражено у вегетативных побегов, чем у генеративных, что связано, по всей видимости, с перераспределением ассимилятов между побегами обоих типов.

Полученные данные позволили нам исследовать структуру сырья и содержание 20Е в отдельных его элементах в наиболее значимые сроки вегетации растений —

ТАБЛИЦА 1

Массовая доля элементов биомассы надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin в условиях агроценоза (% от сухого вещества)

Тип побега	Год культивирования (период вегетации, сут)					
	1-й (60)	2-й (60)	3-й (60)	4-й (30)	6-й (30)	6-й (77)
Генеративный			5	16	36	24
Вегетативный	100	100	95	84	64	76



Динамика роста генеративного (1) и вегетативного (2) побегов *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin в условиях агрофитоценоза.

По оси абсцисс — дни вегетации; по оси ординат — длина побега, см.

в начале интенсивных ростовых процессов (30-й день вегетации) и их замедления, совпадающего с началом фазы плодоношения (77-й день вегетации).

Генеративные побеги. Большое количество 20Е содержится в бутонизирующих и цветущих корзинках — 0.40 %. В этом элементе биомассы генеративных побегов содержание 20Е остается постоянным независимо от срока заготовки сырья. Достаточно высокое содержание 20Е наблюдается в стеблевых листьях генеративных побегов в период интенсивного роста (0.28 %), однако к периоду плодоношения оно резко падает (до 0.02 %). Аналогичная тенденция характерна и для содержания 20Е в стеблях генеративных побегов (соответственно 0.16 и 0.01 %) для двух рассматриваемых периодов вегетации. Самое высокое содержание 20Е оказалось в семенах — 0.57 % (табл. 2).

Вегетативные побеги. Для оценки содержания 20Е в структуре биомассы, образованной вегетативными побегами, мы не делали различий между листьями первичной и вторичной розеток, как это делают некоторые авторы (Головки и др., 1996), для описания структуры побегов рапontiкума. Мы рассматривали формирование вегетативных побегов как непрерывный процесс генерации молодых розеточных листьев: их разворачивание, интенсивный рост, достижение зрелости, постепенное старение и отмирание. Следует отметить, что достижение зрелости листа не связано напрямую со временем жизни листа и его линейными размерами. Например, погибшие листья на вегетативных побегах появляются уже через несколько дней вегетации растений, их длина около 3 см и масса сухого вещества несколько

ТАБЛИЦА 2

Содержание 20-гидроксизидизона (20Е) в элементах биомассы генеративных побегов *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin и теоретический выход продукта из 1 т сырья

Элемент биомассы	Период вегетации растений, сут					
	30			77		
	Мас. доля, %	Содержание 20Е, %	Выход 20Е, г	Мас. доля, %	Содержание 20Е, %	Выход 20Е, г
Цветонос:	29.5	0.21	227	79.6	0.05	92
стебель	78.0	0.16	133	90.0	0.01	15
корзинки	22.0	0.40	94	10.0	0.40	77
семена				4.8	0.57	52
Листья стеблевые:	70.5	0.28	709	20.4	0.02	11
верхние	53.0	0.28	376	—	—	—
средние	13.0	—	92	8.0	0.03	1
нижние	34.0	—	241	92.0	0.02	10
Всего:	100.0	0.26	936	100.0	0.04	103

ТАБЛИЦА 3

Содержание 20-гидроксизидиона (20E) в биомассе листьев вегетативных побегов *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Цjin и теоретический выход продукта из 1 г сырья

Возрастной состав листьев	Размеры, см		Масса, г	Мас. доля, %	Содержание 20E, %	Выход 20E, г
	длина	ширина				
Молодые неразвернутые	3.0–23.0	0.3–1.0	0.10	9.1	0.43	250
	3.0–26.0	0.3–1.0	0.07	0.9	0.38	26
Молодые полуразвернутые	14.0–28.0	1.0–2.0	0.30	13.5	0.35	302
	18.0–68.0	1.5–8.0	0.57	11.1	0.31	261
Взрослые развернутые	20.0–37.0	3.0–12.0	0.37	51.2	0.28	917
	58.0–98.0	10.0–26.0	2.51	23.2	0.19	335
Старые	13.0–23.0	3.0–5.0	0.20	14.2	0.15	136
	77.0–102.0	13.0–24.0	3.53	29.6	0.11	248
Отмершие	3.0–26.0	0.5–5.0	0.05	12.0	0.10	77
	5.0–91.0	2.0–22.0	0.58	35.2	0.03	80

Всего: $\frac{1682}{950}$

Примечание. Над чертой приведены данные на 30-й день вегетации, под чертой — на 77-й день.

десятков миллиграммов. Вместо пожелтевших и погибших листьев постоянно появляются новые, длительность вегетации и линейные размеры которых увеличиваются. Мы определили, что через 30 дней после начала вегетации доля молодых (неразвернутых и полуразвернутых) листьев составляет 23 % от общей массы вегетативных побегов, доля взрослых (развернутых) листьев — 51 %, остальные 26 % приходятся на долю старых и отмерших листьев. В структуре сырья, собранного в фазу плодоношения (на 77-й день вегетации), основная доля приходится на старые и отмершие листья (64.8 %), массовая доля взрослых листьев составляет 23 %, на долю молодых листьев приходится 12 % (табл. 3).

При изучении содержания 20E в листьях вегетативных побегов оказалось, что наибольшее его количество содержится в молодых неразвернутых, причем оно не зависит от фенологической фазы растений и составляет 0.43 и 0.38 % соответственно на 30-й и 77-й дни вегетации (табл. 3). У полуразвернутых листьев содержание 20E снижается незначительно (соответственно 0.35 и 0.31 %), при этом масса листьев данного возраста увеличивается соответственно в 3.5 и 8.0 раз по сравнению с неразвернутыми листьями.

У развернутых листьев содержание 20E намного меньше, чем у молодых листьев, причем оно изменяется в течение вегетационного периода. Если на 30-й день вегетации содержание 20E составляет 0.28 %, то на 77-й день оно резко падает на 0.19 %. В старых листьях содержание 20E еще ниже (соответственно 0.15 и 0.11 %). В отмерших листьях содержание 20E незначительно (соответственно 0.10 и 0.03 %).

Зная массовую долю различных элементов биомассы растений в разные сроки вегетации, мы смогли определить, какие элементы являются перспективными по содержанию в них экидистероидов. Так, из одной тонны растительного сырья, собираемого в период интенсивного роста (30-й день вегетации), теоретически можно получить 930 г 20E из генеративных побегов общей массой 360 кг, причем основная часть 20E будет извлечена из стеблевых листьев (710 г). Использование сырья генеративных побегов в более поздний срок вегетации делает его практически непригодным для извлечения экидистероидов (ожидаемый выход 20E около 100 г). Следует также отметить, что, несмотря на относительно высокое содержание 20E в бутонизирующих и

цветущих корзинках (0.43 %), выход его будет относительно невелик (92 и 77 г) независимо от фенофазы из-за относительно небольшой массовой доли этого элемента биомассы в структуре лекарственного сырья. Из семян, содержащих, как отмечалось выше, наибольшее количество 20Е, можно получить лишь 52 г. Таким образом, генеративные побеги рапонтникума как источник для получения 20Е имеют значение лишь в ранний срок сбора сырья.

На 30-й день вегетации масса вегетативных побегов в одной тонне сырья составляет 640 кг. Ожидаемый выход 20Е — 1680 г, причем из общей массы молодых листьев возможно получить 550 г экдистероидов. Несмотря на относительно более низкое содержание 20Е в развернутых листьях по сравнению с молодыми листьями, наибольший его выход (920 г) можно ожидать именно из данного элемента сырья за счет его большой массовой доли в структуре биомассы. Вклад старых и отмерших листьев в общий выход 20Е незначителен. Как уже отмечалось, содержание 20Е сохраняется на высоком уровне в молодых листьях независимо от фенологической фазы, однако на 77-й день вегетации ожидаемый выход 20Е из этого элемента сырья незначителен (всего 26 г) из-за его относительно низкой массовой доли. Наибольший вклад в выход 20Е вносят также взрослые развернутые листья, хотя ожидаемое количество 20Е несколько меньше, чем выход из данного элемента сырья, собираемого на 30-й день вегетации (табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение содержания 20-гидроксиэкдизона (20Е) в различных органах *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin в условиях агроценоза в Республике Коми показало следующее. Наибольшее количество 20Е обнаружено в семенах (0.57 %). Высокое содержание характерно для бутонизирующих и цветущих корзинок и молодых листьев генеративных и вегетативных побегов. Оптимальным сроком сбора биомассы надземной части для получения источника экдистероидов является период начала интенсивных ростовых процессов. В условиях Европейского северо-востока России этот срок, как правило, ограничен второй декадой мая. Теоретический выход экдистероидов из одной тонны биомассы надземной части составляет немногим более двух с половиной килограммов. Дополнительное количество экдистероидов можно получать из семян.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абубакиров Н. К. Гормоны линьки насекомых в растениях Средней Азии // Изв. АН КазССР. Сер. хим. 1984. № 4. С. 49—53.
- Ахрем А. А., Ковганко Н. В. Экдистероиды: химия и биологическая активность. Минск, 1989.
- Вересковский В. В., Чекалинская И. И., Пашина Г. В. Динамика содержания экдистерона у видов рода *Rhaponticum* Ludw. // Раст. ресурсы. 1983. Т. 19, вып. 1. С. 60—65.
- Володин В. В., Мишуров В. П., Колегова Н. А., Тюкавин Ю. А., Портнягина Н. В., Постников Б. А. Экдистероиды растений семейства *Asteraceae*. Сыктывкар, 1993.
- Головкин Т. К., Гармаш Е. В., Куренкова С. В. и др. Рапонтник сафлоровидный в культуре на Европейском северо-востоке (эколого-физиологические исследования). Сыктывкар, 1996.
- Иванченко В. А. Растения и работоспособность. М., 1984.
- Куракина И. О., Булаев В. М. Экдистен — тонизирующее средство в таблетках по 0.005 г // Новые лекарственные препараты. 1990. Вып. 6. С. 16—18.
- Моисеев К. А., Соколов В. С., Мишуров В. П. и др. Малораспространенные силосные культуры. Л., 1979.
- Некратова Н. А. Изучение ценокомплексов дикорастущих сырьевых растений как одна из задач ботанического ресурсосведения (на примере *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin) // Раст. ресурсы. 1992. Т. 28, вып. 2. С. 1—13.

Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство *Asteraceae* (*Compositae*). СПб., 1993.

Dinan L. Distribution of phytoecdysteroids within individual plants of species of the *Chenopodiaceae* // *Eur. J. Entomol.* 1995. Vol. 92, N 1. P. 295—300.

АО «Котласский целлюлозно-бумажный комбинат»
Коряжма

Поступило 18 II 1998

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН
Сыктывкар

DISTRIBUTION OF 20-HYDROXYECDYSONE IN THE STRUCTURE
OF THE ABOVE-GROUND BIOMASS OF *RHAPONTICUM CARTHAMOIDES*
(WILLD.) ILJIN UNDER CONDITIONS OF AGROCOENOSIS
IN KOMI REPUBLIC

N. P. Timofeev, V. V. Volodin, Yu. M. Frolov

SUMMARY

The study of the ecdysteroid distribution in above-ground parts of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin showed that seeds contain maximum amount of 20-hydroxyecdysone (0.6 %). Colathid and young leaves (upper stem's leaves of generative shoots — 0.3 %, and rolled leaves of vegetative shoots — 0.4 %) also contain heightened concentration of 20-hydroxyecdysone irrespective of the phase of plant development. Maximal yield of 20-hydroxyecdysone may be obtained from the above-ground parts of *Rhaponticum carthamoides*, collected in the period of ending of the plant shoot intensive growth. Under the condition of European North-East Russia it is going on in the first part of June.