

ОТЧЕТ ЗА 2008 ГОД ПО ПРОЕКТУ РФФИ 08-04-98840-р_север_а

Статус отчета: зарегистрирован

Дата подписания: 22.12.2008

Подписал: Тимофеев Николай Петрович

Дата регистрации: 23.12.2008

Отчет распечатан: 24.12.2008

Форма 501. КРАТКИЙ НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

- 1.1. *Номер проекта*
08-04-98840
- 1.2. *Руководитель проекта*
Тимофеев Николай Петрович
- 1.3. *Название проекта*
Управление продуктивностью, накоплением действующих веществ и биологической активностью важнейших лекарственных растений Европейского Севера
- 1.4. *Вид конкурса*
р_север_а - Региональный конкурс СЕВЕР
- 1.5. *Год представления отчета*
2009
- 1.6. *Вид отчета*
этап 2008 года
- 1.7. *Аннотация*
Проект направлен на разработку научных основ создания и управления функционированием искусственных экосистем лекарственных растений, связанных с синтезом ценных биологически активных веществ – фитостероидов, и необходимых решения задач сохранения здоровья человека – лечения и профилактики сердечно-сосудистых и раковых заболеваний, повышающих адаптации к действию неблагоприятных факторов среды обитания.

Исходя из необходимости выявления факторов, регулирующих рост, развитие и максимальную продуктивность эдистероид продуцирующих растений с улучшенным содержанием целевых веществ, безопасностью и высокой биологической активностью лекарственного сырья, в проекте на 2008 год ставились следующие задачи:

1. Изучить особенности жизнедеятельности и закономерности формирования надземной и корневой системы видов левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) и серпухи венценосной (*Serratula coronata*) в связи с биохимическими процессами синтеза эдистероидов в течение 20-летнего жизненного цикла.
2. Установить ответ растений (среднесуточный рост, продуктивность) на внешние воздействия, толерантность к природным (уровень освещения, водный стресс, высокие и низкие температуры) и антропогенным факторам (отчуждение продукции).
3. Выяснить внутренние механизмы (возраст, фаза развития, полицикличность) формирования системы динамической связи в разрезе корня-надземная часть растений, обеспечивающих синтез и накопление действующих веществ (фитостероиды).
4. Исследовать роль внутренних и внешних факторов в регуляции биосинтеза и качественного состава эдистероидов.

Исследования проводили на юго-востоке Архангельской области, входящей в подзону средней тайги. Для выполнения проекта начиная с 1989 г., была создана исследовательская база из 12 агропопуляций изучаемых видов в возрасте 1-20 лет, расположенных на основных почвах Европейского Севера, каждая на площади 1-4 га (г. Коряжма, Архангельская область, научное производственное предприятие "КХ БИО", 62° с.ш.). Кроме того, в условиях Польши в 2003 г. были заложены 2 агропопуляции *carthamoides* по 2 га (г. Быгдош, с/х фирма "Fitostar"; 53° с.ш.). В течение 2008 г. проведен широкий комплекс научных исследований. Работа велась согласно общего плана выполнения работ по проекту в полевых и лабораторных условиях. Использовались популяционные, модельные, анатомо-морфологические, биохимические и статистические методы исследования. Проведен анализ продуктивности *R. carthamoides* и *S. coronata* в различных природно-климатических условиях, изучено влияние географической зоны возделывания в ходе 4-х летнего культивирования в условиях Польши и европейского Севера. Исследованы ростовые процессы изучаемых видов в условиях агропопуляции и их связь с продуктивностью фитомассы и биосинтезом эдистероидов в течение 19-и и 17-летнего онтогенеза видов, и т.д..

По результатам комплексных исследований в условиях европейского Севера впервые установлены новые природные закономерности развития эдистероид синтезирующих видов растений в онтогенезе, механизмы формирования продуктивности накопления и перераспределения действующих веществ по различным органам, динамические связи между надземными и подземными органами; выявлены корреляционные связи между ростом, продуктивностью и биосинтезом эдистероидов; показана сезонная и возрастная динамика биосинтеза и изменчивость биохимического состава фитостероидов в растениях, зависимость от внутренних и внешних факторов. Установлены факторы внешней среды, лимитирующие рост побегов (диапазон ростовых реакций к освещенности, температуре и влажности), устойчивость к отрицательным температурам, влияние стрессовых факторов на накопление эдистероидов в листовых органах.

В рамках проекта был представлен развернутый доклад "Биологические основы промышленного возделывания левзеи сафлоровидной и серпухи венценосной в условиях агропопуляций" на X Международном симпозиуме "Эколого-популяционный анализ полезных растений: интродукция, воспроизводство, использование" и сессии Совета Ботанических садов Севера, Урала Поволжья (г. Сыктывкар, Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 04-08 августа 2008 г.). Подготовлено и сдано в печать 8 научных публикаций, из которых опубликованы 4, в т.ч. 1 в центральном научном журнале.

Результаты исследований могут быть использованы в фармацевтической промышленности, в отраслях биотехнологии и агропромышленного комплекса – при разработке и производстве новых препаратов, лекарственных средств, БАДов и кормовых добавок. Следствием изменчивости биохимического состава фитостероидов в растениях может быть неоднозначное проявление биологической активности в медицине, что важно для их стандартизации с целью последующего использования в

1.8. Полное название организации, где выполняется проект
Крестьянское хозяйство "БИО"

"Исполнители проекта согласны с опубликованием (в печатной и электронной формах) научных отчетов и перечня публикаций проекту"

Подпись руководителя проекта

Форма 502. КРАТКИЙ НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ НА АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКЕ

2.1. *Номер проекта*
08-04-98840

2.2. *Руководитель проекта*
Timofeev Nikolay Petrovich

2.3. *Название проекта*
Control of productivity, accumulation working substances and biological activity of major medicinal plants on European North

2.4. *Год представления отчета*
2009

2.5. *Вид отчета*
этап 2008 года

2.6. *Аннотация*
The project is directed on working out of scientific bases of building and control of functioning of artificial ecosystems medicinal plants, valuable active agents bound to synthesis biologically - phytoecdysteroids, balanced by quantity, a qualitative compound, an anthropoc load and problems of conservation of health of the person necessary for the decision - treatment and prophylaxis of cardiovascular and cancer diseases, increase of its acclimatisation to action of unfavorable ecological factors of a habitation.

Proceeding from necessity of revealing of factors, growth-regulating, development and the maximum productivity ecdysteroid producing plants with the enriched content of target materials, safety and a high biological potency in medicinal raw materials, within 2008 in the project following problems were investigated:

1. To study features of vital activity and law of formation above-ground and a rootage of species in connection with synthesis biochemical processes ecdysteroids during 20-year-old life cycle of species *Leuzea - Rhaponticum carthamoides* and *Serratula coronata*.
2. To establish the answer of plants (daily average growth, productivity) on external actions, tolerance to connatural (illumination level, water stress, high and low temperatures) and to anthropogenous factors (production alienation).
3. To find out inner mechanisms (age, a development phase, polyrecurrence) formations of system of dynamic communication in a cut roots-elevated a part of the plants providing synthesis and accumulation of working substances (phytoecdysteroids).
4. To investigate a role inner and external factors in regulation of a biosynthesis and a qualitative compound ecdysteroids.

Researches spent in the southeast of the Arkhangelsk area, entering into a subband of an average taiga. For project performance, since 1989, the research base of populations at the age of 1-20 years - only 12 agropopulations on the basic soil species of the European Nc 1-4 hectares everyone on the area has been created (Koryazhma, the Arkhangelsk region, Research-and-Production Enterprise "CF BIC 62° northern latitude). Besides, in the conditions of Poland in 2003 2 agropopulations *R. carthamoides*, by the area on 2 hectares (Bygdosh, agricultural firm "Fitostar"; 53° northern latitude).

Within 2008 the wide complex of scientific researches. Work was led according to a general plan of performance of works under the pr in field and laboratory conditions. Population, modelling, biochemical, anatomo-morphological and statistical methods of researches were used. Analysis of productivity *R. carthamoides* and *S. coronata* is carried out in various natural-climatic regions, influence of geographic region of cultivation in a course of 4 summer cultivations in the conditions of Poland and the European North is studied.

Processes of growth *R. carthamoides* and their communication with a biosynthesis ecdysteroids - intensity of a vernal after growing, th environmental factors limiting growth of propagules and a biosynthesis ecdysteroids (a range of growth responses to light exposure, temperature and humidity, resistance to negative temperatures, an hour gain in a daily cycle, a daily average gain), influence of stress factors on accumulation ecdysteroids in sheet organs are investigated.

By results of complex researches in the conditions of the European North new connatural laws of development of species in an ontogenetic dynamic communications between above-ground and underground organs for the first time are established; mechanisms of formation productivity, accumulation and redistribution of working substances on various members; correlation communications between growth, efficiency and a biosynthesis ecdysteroids in the conditions of the European North are revealed; it is shown seasonal both age variability a biosynthesis and dynamics of a qualitative compound phytoecdysteroids in plants.

Within the limits of the project the developed report "Biological bases of industrial cultivation *Rhaponticum carthamoides* and *Serratula coronata* in the conditions of agropopulations" on X International symposium "Ecologo-phytocenotic analysis of beneficial plants has been introduced: an introduction, reproduction, use" and sessions of Council of Botanic gardens of the North, Urals and the Volga region (Syktyvkar, the Institute of biology of Komi of Centre of Science the Russian Academy of Sciences, on August, 04-08th, 2008). By which results 8 scientific publications from which are published 4 are prepared and sent for the press, including 1 in the central scientific journal.

2.7. *Полное название организации, где выполняется проект*
Крестьянское хозяйство "БИО"

Подпись руководителя проекта

Форма 503. РАЗВЕРНУТЫЙ НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

- 3.1. *Номер проекта*
08-04-98840
- 3.2. *Название проекта*
Управление продуктивностью, накоплением действующих веществ и биологической активностью важнейших лекарственных растений Европейского Севера
- 3.3. *Коды классификатора, соответствующие содержанию фактически проделанной работы*
04-120
- 3.4. *Объявленные ранее (в исходной заявке) цели проекта на 2008 год*
Проект направлен на разработку научных основ создания и управления функционированием искусственных экосистем лекарственных растений, связанных с синтезом ценных биологически активных веществ – фитостероидов, и необходимых решения задач сохранения здоровья человека – лечения и профилактики сердечно-сосудистых и раковых заболеваний, повышением адаптации к действию неблагоприятных факторов среды обитания.

Исходя из необходимости выявления факторов, регулирующих рост, развитие и максимальную продуктивность эдистероид продуцирующих растений с улучшенным содержанием целевых веществ, безопасностью и высокой биологической активностью лекарственного сырья, в проекте на 2008 год ставились следующие задачи:

1. Изучить особенности жизнедеятельности и закономерности формирования надземной и корневой системы видов левзеи сафлоровидной (*Rharrhion carthamoides*) и серпухи венценосной (*Serratula coronata*) в связи с биохимическими процессами синтеза эдистероидов в течение 20-летнего жизненного цикла.
 2. Установить ответ растений (среднесуточный рост, продуктивность) на внешние воздействия, толерантность к природным (уровень освещения, водный стресс, высокие и низкие температуры) и антропогенным факторам (отчуждение продукции).
 3. Выяснить внутренние механизмы (возраст, фаза развития, полицикличность) формирования системы динамической связи в разрезе корня-надземная часть растений, обеспечивающих синтез и накопление основных действующих веществ (фитостероиды).
 4. Исследовать роль внутренних и внешних факторов в регуляции биосинтеза и качественного состава эдистероидов (влияние возраста и фазы развития, температуры, влажности).
- 3.5. *Степень выполнения поставленных в проекте задач*
Исследования проводили на юго-востоке Архангельской области, входящей в подзону средней тайги. Для выполнения проекта начиная с 1989 г., была создана исследовательская база из 12 агропопуляций изучаемых видов в возрасте 1-20 лет, расположенных на основных почвах Европейского Севера, каждая на площади 1-4 га (г. Корьяжма, Архангельская область, наукопроизводственное предприятие "КХ БИО", 62° с.ш.). Кроме того, в условиях Польши в 2003 г. были заложены 2 агропопуляции *carthamoides* по 2 га (г. Быгдош, с/х фирма "Fitostar"; 53° с.ш.).

В течение 2008 г. проведен широкий комплекс научных исследований. Работа велась согласно общего плана выполнения работ проекту в полевых и лабораторных условиях. Использовались популяционные, модельные, анатомо-морфологические, биохимические и статистические методы исследований. Проведен анализ продуктивности *R. carthamoides* и *S. coronata* в различных природно-климатических условиях, изучено влияние географической зоны возделывания в ходе 4-х летнего культивирования в условиях Польши и европейского Севера. Исследованы ростовые процессы изучаемых видов в условиях агропопуляции и их связь с продуктивностью фитомассы и биосинтезом эдистероидов в течение 19- и 17-летнего онтогенеза видов.

По результатам комплексных исследований в условиях европейского Севера впервые установлены новые природные закономерности развития эдистероид синтезирующих видов растений в онтогенезе, механизмы формирования продуктивности накопления и перераспределения действующих веществ по различным органам, динамические связи между надземными и подземными органами; выявлены корреляционные связи между ростом, продуктивностью и биосинтезом эдистероидов; показана сезонная и возрастная динамика биосинтеза и изменчивость биохимического состава фитостероидов в растениях, зависимость от внутренних и внешних факторов. Установлены факторы внешней среды, лимитирующие рост побегов (диапазон ростовых реакций к освещенности, температуре и влажности), устойчивость к отрицательным температурам, влияние стрессовых факторов на накопление эдистероидов в листовых органах.

В рамках проекта был представлен развернутый доклад "Биологические основы промышленного возделывания левзеи сафлоровидной и серпухи венценосной в условиях агропопуляций" на X Международном симпозиуме "Эколого-популяционный анализ полезных растений: интродукция, воспроизводство, использование" и сессии Совета Ботанических садов Севера, Урала и Поволжья (г. Сыктывкар, Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 04-08 августа 2008 г.). Подготовлено и сдано в печать 8 научных публикаций, из которых опубликованы 4, в т.ч. 1 в центральном научном журнале.

Результаты исследований могут быть использованы в фармацевтической промышленности, в отраслях биотехнологии и агропромышленного комплекса – при разработке и производстве новых препаратов, лекарственных средств, БАДов и кормовых добавок. Следствием изменчивости биохимического состава фитостероидов в растениях может быть неоднозначное проявление биологической активности в медицине, что важно для их стандартизации с целью последующего использования в качестве лекарственных средств, или в молекулярной генетике в системах экспрессии генов. Данные по качественному составу действующих веществ *R. carthamoides* и *S. coronata*, после дополнительного расширенного изучения в 2009 году, могут быть использованы при идентификации видов, комплексной оценке подлинности препаратов и БАДов из растений, введенных в официальную фармакопею, или же их фальсификации.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТ, ВЫПОЛНЕННЫХ В 2008 ГОДУ:

1. Анализ продуктивности *R. carthamoides* и *S. coronata* в различных природно-климатических зонах
Влияние географической зоны возделывания
Сравнительная оценка продуктивности 4-х летнего культивирования в условиях Польши и европейского Севера

- 2.2. Факторы внешней среды, лимитирующие рост побегов и биосинтез экидистероидов
- 2.2.1. Диапазон ростовых реакций к освещенности, температуре и влажности
Устойчивость к отрицательным температурам
Часовой прирост в суточном цикле
Среднесуточный прирост
- 2.2.2. Влияние стрессовых факторов на накопление экидистероидов в листовых органах
3. Система динамических связей между надземными и подземными органами
- 3.1. Развитие побегов *R. carthamoides* в онтогенезе и формирование продуктивности
Вегетативные побеги
Генеративные побеги
- 3.2. Формирование продуктивности *S. coronata* в онтогенезе
- 3.3. Влияние отчуждения урожая на формирование продуктивности и накопление экидистероидов
4. Сезонная динамика содержания экидистероидов в листовых органах
Розеточные листья *R. carthamoides*
Розеточные и стеблевые листья *S. coronata*
5. Возрастная динамика накопления экидистероидов в онтогенезе
Биосинтез фитоэкидистероидов в онтогенезе *R. carthamoides*
Биосинтез фитоэкидистероидов в онтогенезе *S. coronata*
6. Изменчивость качественного состава фитоэкидистероидов в растениях
Состав экидистероидов в фитомассе *R. carthamoides*
Состав экидистероидов в фитомассе *S. coronata*

1. АНАЛИЗ ПРОДУКТИВНОСТИ *R. CARTHAMOIDES* И *S. CORONATA* В РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОНАХ

Влияние географической зоны возделывания

Исследования биологических особенностей роста и развития *R. carthamoides* были начаты различными научными учреждениями СССР в середине 60-х годов прошлого века: вначале в Сибири, на европейском Северо-Востоке и Дальнем Востоке, а затем, с конца 70-х годов – в республиках Средней Азии, Прибалтики и государствах Восточного блока. К середине 80-х годов *R. carthamoides* был интродуцирован в Центральные Ботсадах и коллекционных питомниках научных учреждений Белоруссии, Украины, Молдовии, Карелии, Коми, Башкирской и Марийской Республики; Московской, Ленинградской, Новосибирской, Тюменской, Саратовской, Смоленской и Тамбовской областях; Польше, Болгарии, Венгрии, Чехословакии; а в начале 90-х – Архангельской, Вологодской и Пензенской области, Финляндии [1].

Исходя из сравнительных результатов культивирования в различных географических регионах, не наблюдается закономерности преимущественном влиянии климатических условий, в первую очередь теплообеспеченности и плодородия почвы, на формирование продуктивности *R. carthamoides*. Например, различия в обеспеченности теплом (суммы активных температур св 10 °С) на широтах 52, 55-57 и 61-62° с.ш. для Прибалтики, Томской и Новосибирской областей, Карелии и Коми Республики составляют 1.5-1.8 раза (2100-2300...1400-1500°С). Различие в содержании гумуса достигает 2-3 раз (2-3 % против 5-9 %) [2]. Продуктивность же надземных и подземных органов в этих зонах мало различается и находится в пределах 55-60...81-86 и 58-76-91 г соответственно на 3...4-й годы жизни (табл. 1). В целом, в условиях европейского Севера, на обедненных подзолистых почвах, фитомасса *R. carthamoides* не уступает растениям более теплообеспеченных регионов на черноземах.

Данные по продуктивности *S. coronata* в различных климатических условиях произрастания в литературе единичны. В типичных местах произрастания в природе, которыми являются почвы с повышенной влажностью [9], масса надземных частей особей в условиях Новосибирской области варьирует в пределах от 29-34 до 56-67 г [10]. По данным Н.П. Тимофеева [11], в условиях Архангельской области на 6-8-й годы жизни фитомасса достигала 118-265 г для надземной и 103-83 г для подземной сферы. Т. образом, в условиях Европейского Севера, на обедненных подзолистых почвах, фитомасса экидистероид содержащих растений *carthamoides* и *S. coronata* не уступает растениям более теплообеспеченных регионов на черноземах.

Таблица 1

Продуктивность фитомассы *R. carthamoides* по географическим зонам (литературные данные), г/особь

Годы жизни	Надземная часть	Подземная часть
52° с.ш. 57° с.ш. 57° с.ш. 61° с.ш. 62° с.ш. 52° с.ш. 55° с.ш. 61° с.ш. 62° с.ш. 62° с.ш.		
Почва	подзолистая	лесная
	серая	черно-земная
	подзолистая	подзолистая
	подзолистая	черноземная
	подзолистая	подзолистая
	подзолистая	подзолистая
2-й год	... 24 43 ...	37 20-60 45 29 75-80
3-й год	70 55 82 200 89 60 ...	58 60 87-112
4-й год	81 60 69 86 126 91 76 125
Литература	[3] [4] [4] [5] [6] [3] [7] [5] [6] [8]	

Сравнительные результаты 4-х летнего культивирования вида в условиях Польши и европейского Севера

Для установления значимости влияния фактора теплообеспеченности на жизнедеятельность *R. carthamoides*, нами в течение 4 лет изучались сравнительные особенности роста и развития вида в двух географически отдаленных зонах – в условиях агропопуляций Польши (г. Быгдош, агрофирма "Fitostar"; 53° с.ш.) и на Европейском Севере России (г. Корьяжма, Архангельская область: 62° с.ш.). Все популяции происходят из семян, выращенных в одной местности: площадь каждой из них 1-3 га. Для от

Выводы. *R. carthamoides* характеризуется более высокими темпами прироста в ранневесенний период по сравнению с летним, зависит от накопления суммы тепла и опережает другие культуры в развитии, что свидетельствует о большой роли и вкладе корневой системы в обеспечение максимального прироста побегов. Полученные результаты позволили нам начать подробное исследование зависимости норм реакции исследуемого вида от взаимного сочетания основных абиотических факторов внешней среды: освещенности, температуры и влажности.

2.2. Факторы внешней среды, лимитирующие рост побегов и биосинтез экидистероидов

Изучение норм реакции к экстремальным и быстроизменяющимся значениям условий внешней среды, выявление природных факторов, лимитирующих биосинтез биологически активных веществ в фитомассе представляет большую практическую ценность. В целом для лекарственных растений справедливо, что стрессовые ситуации приводят к изменению содержания биологически активных веществ в растительных тканях [14].

2.2.1. Диапазон ростовых реакций к освещенности, температуре и влажности

На взрослогенеративных растениях *R. carthamoides* 6-7-го года жизни мы изучали нормы реакции ростовых процессов к непрерывно изменяющимся факторам среды обитания, исходя из освещенности, температуры и влажности вегетационного периода. На Европейском Севере резкие перепады высоких и низких температур наблюдаются во время весенних и осенних заморозков (апрель-май, сентябрь-октябрь), влажности и высоких температур – во время летнего засушливого сезона (с середины июня по август). Продолжительность светлого времени суток в начале вегетации равна 16-17 часам, в середине мая – 18 часов первой-второй декаде июня – 20 часам. Относительная влажность воздуха в вечерние и утренние часы высокая (78-93 %) и снижается до минимума в полуденное время (54-62 %). В отдельные засушливые периоды влажность днем опускается до 25-3 % и ниже (9-21 %); в ночные и утренние часы выпадает роса.

Устойчивость к отрицательным температурам. В ходе полевых исследований выявлено, что к началу момента вегетации почки возобновления *R. carthamoides* увеличиваются в размерах 1.5-2.0 раза, еще находясь под снежным покровом. Начало массового отрастания вегетативных побегов, в зависимости от климатических особенностей последних 17 лет (1990-2008 гг.), наблюдалось между 17 апреля и 12 мая. Через 5-7 дней начинается видимый рост генеративных побегов из укрупненной флоральной почки, дифференцированной с осени прошлого года на составные элементы (зачаточный стебель со стеблевыми листьями и соцветием).

В этот период часто бывают возвраты холодов с повторным выпадением снега и многократные заморозки. Установлено, что отрицательные температуры до -5°C *R. carthamoides* выдерживает без видимых последствий. При температурах $-8\text{...}-10^{\circ}\text{C}$ наблюдается повреждение апикальной зоны роста у листовых органов (верхушки листовых пластинок) размерами около 1.5 х см. Через 4-5 дней поврежденные участки восстанавливаются, заменяясь новообразованной тканью. У генеративных побегов в заморозках $-7\text{...}-10^{\circ}\text{C}$ апикальные части (соцветия) необратимо повреждаются, чернеют и отмирают. Осенние заморозки с температурами $-2\text{...}-3^{\circ}\text{C}$ в сентябре-октябре не причиняют вреда вегетирующим розеточным листьям.

Часовой прирост в суточном цикле

Ростовые процессы высокочувствительны к колебаниям напряженности элементов погодных факторов, среди которых основными влияющими на скорость роста растений, являются свет, температура и влажность [15]. В мелкоделяночных опытах нами была исследована корреляционная зависимость часового прироста побегов в суточном цикле с уровнем освещенности, во время весенней фазы отрастания (12-25 мая, 17-18-часовой световой день).

Установлено, что в безоблачную погоду в течение ночного времени суток полное отсутствие освещенности не наблюдается, минимальная величина рассеянного света приходится на 1-2 часа утра и составляет 10-20 лк (рис. 1). К 3-4 часам утра освещенность возрастает до 2-9 тыс. лк, к 5-6 часам – до 29-43 тыс. лк, и достигает в 9-10 утра 91-109 тыс. лк. Максимальная величина освещенности – в полдень (12-14 часов дня) и равна 156-164 тыс. лк, снижаясь при легкой и средней облачности до 110 тыс. лк. К 17-18 часам вечера освещенность снижается до 125-112 тыс. лк; к 20 часам – до 70 тыс. лк, а после захода солнца в 21 и 22 часа вечера, составляет соответственно 24 и 7 тыс. лк.

Рис. 1. Динамика суточного цикла параметров внешней среды во время весеннего отрастания *R. carthamoides*

Рис. 2. Часовой прирост вегетативных побегов *R. carthamoides* в суточном цикле

Примечание. Линии на рис. 1, 2, 5-8 – сглаженные (приближенные) кривые аппроксимации экспериментальных данных, уравнения R^2 – величина их достоверности (Архангельская обл., подзона средней тайги европейского Севера, супесь; 2003-2004 гг.).

Параметры температуры и относительной влажности воздуха меняются в соответствии с интенсивностью солнечной радиации течение суточного цикла, характеристикой которого служит освещенность. Линия графика температуры следует за освещенностью (см. рис. 1), но сдвинута вправо, т.е. она является инерционной по отношению к уровню солнечной радиации. Корреляционная связь двух исследуемых параметров в суточном цикле равна 0.92; при этом в ночное время она отрицательная $-0.84\text{...}-1.0$, а с 9 часов утра приобретает положительную величину, становясь в дневное время (с 9 утра) почти прямолинейной ($r = 0.94-0.97$).

Минимальные показатели температуры приходятся на раннее утро (3-5 часов) и равны $6-10^{\circ}\text{C}$. В 9 утра температура воздуха поднимается до 17°C , в 10-11 часов до $22-25^{\circ}\text{C}$. Максимального значения – $28-30^{\circ}\text{C}$, в травостое она достигает в 13-14 часов полуденное время температура постепенно начинает снижаться, составляя в 19 часов вечера 20°C , а после захода солнца, с 24 часов ночи – $13-11^{\circ}\text{C}$.

Динамика относительной влажности воздуха противоположна динамике солнечной радиации и температуры; корреляционная зависимость от уровня освещенности в суточном цикле отрицательная и составляет -0.98 , от температуры – -0.67 . Максимальные показатели относительной влажности (88-90 %) приходятся на раннее утро – с 2 до 8 часов, а минимальные (31-33 %) на полуденное время – с 14 до 18 часов. В период с 9 до 12 часов дня влажность уменьшается с 83 до 42 %, с 19 до 23 часов вечера увеличивается с 37 до 81 %.

процессы в условиях высокой влажности не прекращаются даже в ночное время суток, составляя около 1 мм/час у растений 3-го года жизни, 1.2-1.8 мм/час у 9-летних. В условиях сумеречного света в 3 часа утра (2 тыс. лк) прирост возрастает в 2 раза (2.3 мм/час). С 4 до 10 часов утра, после восхода солнца, на фоне яркой освещенности, наблюдалась тенденция к замедлению прироста, более выраженная у растений молодого возраста (1.3-1.8 против 1.5-2.0 мм/час).

Экстремальные значения освещенности (150-160 тыс. лк) и температуры (28-30 °С) в полдень (13-14 часов) ингибировали прирост побегов до уровней значений, сопоставимых с ночными – до 1.0-1.1 мм/час у 3-летних и 1.6-1.8 мм/час у 9-летних растений. В целом полученные данные согласуются с результатами Т.К. Головки с соавторами [6], что *R. carthamoides* имеет очень низкий уровень светового компенсационного пункта (баланс углекислого газа между фотосинтезом и дыханием), который лежит в диапазоне 4.4-6.7 Вт/м², а интенсивность радиации приспособления составляет 30-50 Вт/м² или около 6-10 % от максимальной величины освещения.

Максимальные приросты в суточном цикле наблюдаются в вечернее время (от 17 до 22-23 часов) – 2.1-2.6 и 3.0-3.8 мм/час дл. и 9-летних растений. Условия внешней среды в этот период суток характеризуются следующими параметрами: температура 24 °С, атмосферная влажность воздуха 31-81 %, освещенность 125-7 тыс. лк.

Анализ корреляционных связей между значениями прироста и факторами внешней среды показывает, что 3-х летние растения сильнее нуждаются в свете ($r = 0.84$ в суточном цикле) по сравнению с 9-летними ($r = 0.54$). Ростовые процессы 9-х летних не лимитированы освещенностью, реализация потенциала зависит от оптимальной влажности ($r = 0.96$ против 0.91 у 3-х летних) температуры ($r = 0.92$ против 0.81). Зависимость роста побегов от атмосферной влажности наиболее сильно проявляется в 13-часов, и связано с последствиями действия высокой температуры.

Среднесуточный прирост

Подробное исследование зависимости среднесуточного прироста розеточных побегов *R. carthamoides* от значений температур влажности во время прохождения вегетационного периода проведено нами у 6-летних растений (табл. 4). В условиях агропопуляции в начале фазы отрастания наблюдались значительные суточные перепады температуры – от 15-18 °С в дневное время до 2-7 °С в вечерние и ночные часы. Влажность в дневное и вечернее время высокая (56-87 %). Среднесуточный прирост вегетативных побегов в этот период составляет 2.1 см. На фоне низких дневных температур (7-10 °С), но при близких параметрах влажности (62-73 %), прирост снижается, но незначительно – до 1.7 см/сутки.

Максимальный среднесуточный прирост – 5.1 см/сутки в течение 10-дневного интервала, зафиксирован нами при температуре 25 °С и влажности 50-65 %. В условиях экстремальных факторов – повторного выпадения снега и многократных заморозках на почве с интенсивностью -2...-6 °С, рост растений полностью не прекращался и составлял около 0.5 см/сутки, что было обусловлено использованием растениями краткосрочного подъема дневной температуры до 3-5 °С. Данная величина близка к показателям прироста во 2-3-й декаде июня, когда температура воздуха находится в пределах оптимальных 20-25 °С. Если в первом случае рост побегов был ограничен очень низкой (минимальной) температурой, то во втором случае тормозящим фактором явилось снижение влажности воздуха с 78-93 % до 23-26 %, приведший к истощению влаги в корнеобитаемом слое почвы (2.5-3.0 % влажности).

Таким образом, с прохождением сроков вегетации, с уменьшением запасов влаги в почве и снижением относительной влажности воздуха до минимальных значений, средняя скорость роста розеточных побегов у *R. carthamoides* снижается более чем в 10 раз (5.1 до 0.4-0.5 см/сутки). Аналогичные данные были получены и для условий Белоруссии – на 4-м году жизни линейный прирост вегетативных побегов во 2-й декаде мая был равен 4.4 см/сутки, в начале июня он снизился до 0.8 см/сутки [16].

Таблица 4

Реакция среднесуточного роста вегетативных побегов *Rhaponticum carthamoides* на температуру и влажность воздуха, см/сутки (супесь, 6-й год жизни)

Показатели Календарные даты

24.04 14.05 18.05 28.05 06.06 12.06 18.06 23.06

Сроки вегетации, дней 7 27 31 41 50 56 62 67

Интервал, суток 7 20 4 10 9 6 6 5

Температура дневная, °С 15-18 3-5* 7-10 20-25 7-10 15-18 20-25 23-30

Влажность воздуха, % 56-87 78-93 62-73 50-65 46-58 42-48 27-32 23-26

Прирост побегов, см/сутки 2.1 0.5 1.7 5.1 1.5 0.5 0.4 0.1

Примечание: * – выпадение снега и 5-кратные заморозки на почве (-2...-6 °С).

Выводы. *R. carthamoides* характеризуется широким диапазоном адаптивных ростовых реакций в ответ на критические параметры условий внешней среды. В условиях Европейского Севера ростовые процессы не имеют периода покоя в суточном цикле, рост продолжается даже в ночное время. Параметры среды, оптимальные для максимального роста, включают определенное сочетание факторов внешней среды: температура 24-12 °С, атмосферная влажность воздуха 31-81 %, освещенность 125-7 тыс. лк. Максимальные приросты побегов в суточном цикле наблюдаются в вечернее время – от 17 до 22-23 часов. Отрицательная зависимость прироста от влаги наиболее сильно проявляется в 13-15 часов, и связано с ингибирующим действием высокой температуры.

Среднесуточный прирост побегов не прекращается в условиях повторного выпадения снега и многократных заморозках с интенсивностью -2...-6 °С, а также при снижении относительной влажности воздуха и почвы до минимальных значений. Оптимальным для корнеобитаемого слоя является влажность почвы, равная 9-16 %. При уменьшении запасов влаги в почве (4 %) и снижении относительной влажности воздуха до минимальных значений (23-26 % и менее), средняя скорость роста розеточных побегов у *R. carthamoides* снижается более чем в 10 раз (с 5.1 до 0.4-0.5 см/сутки).

2.2.2. Влияние стрессовых факторов на накопление экидистероидов в листовых органах

Известно, что направленность действия стрессовых факторов на накопление вторичных метаболитов является неоднозначным однократное действие дистоингибирующих факторов в предуборочный период может привести к их возрастанию. а

ингибирующим рост побегов, явилась низкая температура. Снижение дневных температур воздуха с 12-15 до +5 °С, чередующимся с ночными и утренними заморозками интенсивностью до -6 °С, привело к торможению величины прироста фитомассы (табл. 5). Сухая масса 1 розеточного листа в этот период практически не возрастает (с 0.12 до 0.14 г на 12-й день вегетации). Концентрация же фитостероидов (ФЭС) увеличивается в 1.13 раз (с 0.30 до 0.34 %), а валовое их содержание в расчете на 1 лист – в 1.16 раз (с 0.36 до 0.48 мг).

После временного прекращения заморозков и снятия ростоингибирующего фактора, валовое содержание экидистероидов в листе возросло в 2.06 раза (с 48 до 99 мг/лист). Концентрация ФЭС при этом, на фоне 3-х кратного увеличения массы листьев (с 0.14 до 0.37 г/лист), несколько снизилась (с 0.34 до 0.31 %). Повторные заморозки и понижение ночных температур до -6-8 °С вновь привели к существенному повышению концентрации экидистероидов в листовых органах. Содержание ФЭС в этом случае возросло до 0.31 до 0.43 %, а валовый прирост в 1.61 раза, хотя сухая масса 1 листа увеличилась только в 1.16 раза.

Таблица 5

Накопление экидистероидов во взрослых розеточных листьях *Rhaponticum carthamoides* в зависимости от условий внешней среды (7-й год жизни)

Показатели	Сроки вегетации (сут)	и фазы развития растений
отрастание	2 10 12 22 30 37 41 57 77	бутонизация цветение
Масса 1 листа, г	0.02 0.12 0.14 0.32 0.37 0.49 0.60 1.43 2.11	плодо-ношение
Содержание экидистероидов, %	0.25 0.30 0.34 0.31 0.43 0.33 0.28 0.11 0.07	
Валовое содержание ФЭС на 1 лист, мг	0.05 0.36 0.48 0.99 1.59 1.62 1.68 1.57 1.48	
Коэффициент прироста (количество раз):		
- массы листа	6.00 1.17 2.28 1.16 1.32 1.22 2.38 1.47	
- пула экидистероидов	7.20 1.33 2.06 1.61 1.02 1.04 0.93 0.94	
Условия внешней среды:		
- температура воздуха, °С	8-10 12-15 -6...+5 3-10 -10...+5* 15-25 20-30 25-32** 20-25	
- влажность воздуха, %	65-90 56-87 78-93 56-78 62-73 46-58 42-48 27-32 23-26	
- влажность почвы, %	23.4 17.3 16.4 14.7 12.8 12.7 9.4 2.5 6.3	

Примечание: * многократные заморозки до -6-8 °С; ** засуха, с температурой до 48-52 °С на поверхности почвы.

В дальнейшем, после повышения дневной температуры воздуха вначале до 15-25, а затем до 20-30 °С (на 37-й и 41-й день вегетации соответственно), начался интенсивный рост генеративных побегов. Накопление ФЭС в вегетативных побегах прекращалось, о чем свидетельствует линейный уровень пула экидистероидов в расчете на 1 лист (1.59-1.62-1.68-1.57 мг/лист). Синтезируемые экидистероиды, по всей вероятности, перераспределялись в пользу генеративных побегов, концентрируясь в их апикальных частях [18].

В отличие от низкой температуры, действие другого сильного стрессового фактора - дефицита влагообеспеченности, не привело к повышению содержания экидистероидов в розеточных листьях. Концентрация ФЭС резко падает с 0.28 до 0.11 % (после 57-го дня вегетации), когда снижение относительной влажности воздуха с 42-48 до 27-32 %, вызванное засушливыми условиями погоды одновременно сопровождается водным дефицитом в корнеобитаемом слое почвы. Воздействие водного стресса на растениях проявляется в виде потери тургора молодыми розеточными листьями, пожелтения и засыхания апикальных частей генеративных побегов. Нижняя граница влагообеспеченности, с которой зафиксировано увядание взрослых листьев, близка к показателям наименьшей влагоемкости и разрыву капилляров пахотного слоя супесчаной почвы [19], и составляет 2.5-3.0 % от ее сухой массы.

Как следствие, коэффициент накопления экидистероидов становится отрицательным (0.93-0.94), а валовое содержание их в листе постепенно убывает (с 1.68 до 1.57-1.48 мг/лист). Биохимический анализ подземных органов на содержание ФЭС показал, что концентрация их в придаточных корнях также снизилась – с 0.14 % до 0.11 %. Установление единой концентрации экидистероидов (0.11 %) в пределах вертикального профиля (надземные органы/корни) может свидетельствовать о прекращении биосинтеза и начале процесса оттока экидистероидов из надземной сферы в подземную и, возможно, сброс их в почву.

Аналогичные результаты разнонаправленного действия температурного и водного стресса были получены с алкалоидсодержащими лекарственными растениями на опытных станциях ВИЛАР, расположенными в Московской области, Краснодарском крае и Казахстане [14]. В условиях полевых опытов в листьях маклеи сердцевидной (*Macleaya cordata*) содержание действующих веществ – суммы сангвинарина и хелеритрина после действия многократных осенних заморозков в ноябре не уменьшалась по сравнению с более ранними сроками уборки в сентябре. Кратковременное же снижение влажности почвы за 7 суток до уборки урожая в 2.5 раза (до 40 % от полной влагоемкости) у мачка желтого (*Glaucium flavum*) приводило к снижению общего сбора алкалоида глауцина на 16 %. У кассии остролистной (*Cassia acutifolia*) длительное воздействие водного стресса (засуха в течение 20 дней) приводило к снижению содержания антрацен-производных действующих веществ на 55 %.

Выводы. Таким образом, однофакторное действие низких или отрицательных температур приводит к повышению концентрации накопления экидистероидов в листовых органах *R. carthamoides*. Многофакторное же действие водного стресса, сочетающееся с истощением влаги в корнеобитаемом слое почвы и низкой относительной влажности воздуха, на фоне высокой температуры, имеет противоположный эффект, приводя к прекращению биосинтеза и снижению концентрации ФЭС. Выявленные закономерности свидетельствуют о существовании динамических связей между надземными и подземными органами, взаимно влияющими друг на друга.

3. СИСТЕМА ДИНАМИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ НАДЗЕМНЫМИ И ПОДЗЕМНЫМИ ОРГАНАМИ

3.1. Развитие побегов *R. carthamoides* в онтогенезе и формирование продуктивности вегетативных побегов.

Продолжительность жизненного цикла аглопопльи *R. carthamoides* на супесчаных почвах составляет более 19 лет

перехода в ювенильное возрастное состояние в течение 30-40 сут формировался розеточный побег из 5-7 настоящих листьев, зоне гипокотыля которого закладываются почки возобновления.

После отмирания первых листьев из их основания начинался рост пазушных почек (их число примерно соответствует числу отмерших за вегетацию листьев). Развития пазушных почек в боковые побеги на 1-м году жизни не происходило из-за короткого вегетационного периода (у единичных растений 1-2 почки успевают дать самостоятельные побеги обогатения).

Фаза кущения у иматурных растений начиналась ранней весной следующего года, в конце апреля-начале мая. При этом зимующая терминальная почка укороченного побега трогалась в рост и формировала новую, вторичную розетку. Через 7-10 сут начиналось разворачивание наиболее зрелых пазушных почек, которые образуют побеги 2-го порядка. Процесс развития боков побегов полностью повторял развитие материнского побега и длился до поздней осени, а из пазух отмирающих листьев начинали расти почки побегов следующего, 3-го порядка.

Все пазушные почки прошлогодней закладки (4,1 шт./растение) на 2-м году постепенно достигали стадии зрелости и формировали вегетативные побеги. В зоне сближенных междоузлий вегетативных побегов непрерывно, с ранней весны и до поздней осени, закладывались новые почки, из которых в последующий год развивались побеги младшего порядка. Появление новых розеточных листьев из побегов, их взросление и отмирание не приурочено к определенным фазам развития. Розеточные листья продолжают вегетировать с ранней весны до поздней осени - перехода среднесуточной температуры через 0 °С во второй декаде октября, постепенно уменьшаясь в размерах и численности. Длительность вегетации и масса листьев возрастает до фазы цветения и убывает после плодоношения.

Взрослые вегетативные растения (виргинильное возрастное состояние) в начале 3-го года жизни характеризовались наличием порядковой системы побегов. Побеги 1-го зародышевого порядка (у 43 % особей) в третий раз формируют вегетативную розетку. Цикл монопоидального нарастания осей 1-го порядка может повторяться и на 4-5-й сезон вегетации, пока побеги не достигнут генеративного состояния, то есть для них характерна полициклическая ветвление главного апикального побега на боковые пазушные (процесс кущения), развитие которых происходит одновременно с осевым, но со сдвигом календарного срока разворачивания из почки. С начала сентября отрастание новых листьев и их рост замедляются, а после на постоянных заморозков надземные побеги отмирают и все растительные остатки переходят в опад.

Начиная с 4-го года, большинство особей вступает в генеративный период, где они находятся по 12-й год жизни (4-5-й годы ж - молодое, 6-8-й - зрелое, 9-12-й - старое генеративное возрастное состояние). Надземная часть растений при этом представляется сложной системой побегов. По способу нарастания в ней одновременно присутствовали моно-, ди- и полициклические побеги; функциональной роли - укороченные вегетативные (розеточные) и удлиненные генеративные (стеблевые). По долевым участкам преобладают монопоидально нарастающие полициклические побеги, разветвленные на 2-3 порядка и несущие до 20-25 (37) листьев по сравнению с 9-12 у дициклических.

Максимум накопления надземной биомассы в вегетационном периоде приходится на начало июля, совпадая во времени с достижением наибольшей высоты розеточных побегов. Накопление продукции подземных органов сдвинуто относительно надземной - оно возрастает после отмирания последней; наибольшая величина приходится на сроки завершения вегетации. Например, у растений 2-го года жизни к концу вегетации масса корневой системы увеличивается против летнего уровня в два раза, а относительно первого года в 15,7 раза. Другими словами, существует динамическая связь между развитием надземной и подземной сферы - на начальном этапе вегетации почки возобновления на корневище разворачиваются в надземные побеги, а отмиранием листьев происходит отток органических веществ в корневище, используемых для заложения и развития новых почек возобновления и многочисленных придаточных корней на корневище.

В зоне сближенных междоузлий вегетативных побегов непрерывно закладывались пазушные почки, из которых в последующие годы развивались побеги младшего порядка. Число побегов на 4-й год по сравнению с 3-м утроилось, надземная масса возросла в 3 раза (56.8 против 16.4 г). На 5-м году вегетативная сфера состояла из 35.4 побегов и 198.6 розеточных листьев (общая фитомасса 210.7 г), высота побегов достигала 89.8 см (вегетативные) и 114.0 см (генеративные).

На 6-7-м году жизни среднестатистические особи достигали максимума количественных показателей развития в онтогенезе (р - надземная фитомасса 354.0 г, число побегов - 60.8, средняя высота у вегетативных побегов 119.1 (при ширине листовой пластинки 28-38 см), у генеративных - 143.1 см. 8-й год жизни (переход от зрелого к старому генеративному возрастному состоянию) сопровождался снижением фитомассы до 282.3 г (на 20 %), числа побегов до 52.0 шт.

У старых генеративных растений на 9-12-м году наблюдали начало дезинтеграционных процессов: в первичном центре и боковых ветвях корневища образовывались зоны отмерших тканей. Как следствие, возрастало число побегов, отмерших за вегетационный период, и перестало увеличиваться число пазушных почек. Среднее число розеточных листьев на 1 побег в период с 6-го по 9-й год снижалось с 6.5 до 3.9 шт., величина фитомассы - на 41.2 % и составляла 208.7 г.

Сенильный период в целом по агропопуляции с 13-го по 19-й годы жизни не наблюдали - большинство особей находилось в субсенильном возрастном состоянии. У стареющих растений продолжались дезинтеграционные процессы - общая численность побегов на 15-16-й год жизни уменьшалась до 24.3-26.0 шт., высота вегетативных побегов - до 71.3-78.6 см, генеративных - до 119.6-120.8 см. Фитомасса снижалась до 95.1-118.0 г на 1 особь и близка к показателям молодых генеративных растений.

Было замечено, что процессы старения на 14-16-й годы культивирования ускорялись при 2-х кратном отчуждении фитомассы (1-й раз - во время бутонизации, 2-й - во время плодоношения). В дальнейшем, после прекращения отчуждения надземных частей на 19-й год, высота вегетативных побегов возрастала и достигала 78.7-85.5 см, генеративных - 127.3 см, а фитомасса увеличилась до 188-193 г. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важности органического вещества, поступающего из надземных органов в подземные, для формирования более мощных побегов.

Рис. 3. Продуктивность надземных и подземных органов *R. carthamoides* в онтогенезе (супесь)

Рис. 4. Продуктивность надземных и подземных органов *S. coronata* в онтогенезе (торфяник)

Генеративные побеги. У небольшой части дициклических побегов *R. carthamoides* терминальная почка ранней весной 2-го года развития трогалась в рост и формировала розетку, а затем репродуктивные органы, развивающиеся в удлиненный ортотропный побег.

прегенеративном возрасте в течение 5-8 лет [20].

В условиях агропопуляции на 3-м году жизни у 17 % особей сформировались зачаточные соцветия, основная часть которых отмирала в начале отрастания, а зацветающие не завязывали семян. Завершить фазу репродукции были способны менее 0.1 % особей агропопуляции. На 4-й год 80 % растений имели в среднем по 1.2 генеративных побега, из которых каждый седьмой достигал фазы плодоношения, на 5-й год жизни число генеративных побегов увеличивалось до 4.2 шт. (плодоносящие – 0.84 шт.). Максимальное число генеративных побегов, тронувшихся в рост, отмечали в начале 6-й вегетации (9.8 шт.), в фазе цветения находились 7.0; число побегов с полным циклом развития до плодоношения равнялось 1.1 шт. В дальнейшем число растений с развитыми соцветиями уменьшалось по годам, массовыми были вегетативные побеги.

Видимый рост генеративных побегов начинался через 5-7 сут после начала отрастания вегетативных побегов из укрупненной флоральной почки, дифференцированной с осени прошлого года на составные элементы (зачаточный стебель со стеблевыми листьями и соцветием). Вначале отрастания генеративные побеги уступали вегетативным по темпам роста. Скорость роста побегов обоих типов уравнивалась примерно с 35-х по 38-е сут вегетации, после чего преимущество в развитии получали генеративные побеги. В периоды выпадения осадков (дождей) прирост генеративных побегов увеличивался до 3.7-4.4 см в сутки у 3-х летних и 6.2-6.9 см/сутки для 9-х летних растений.

Прирост побегов обоих типов после 62-68-х суток вегетации полностью прекращался, а с началом плодоношения, сопровождающегося засыханием верхней части стебля, его величина приобретала отрицательные значения. Такая корреляция сохранялась во все годы при значительной разнице в сроках отрастания (17 апреля, 1-3 и 12 мая). Все побеги после формирования удлиненных генеративных побегов полностью отмирали. Также отмирали почки возобновления, располагающиеся на участке прошлогоднего годового прироста корневища, а в некоторых случаях и боковые вегетативные побеги. Розеточные листья продолжали вегетировать до перехода среднесуточной температуры через 0 °С.

Выводы. На европейском Севере онтогенез *R. carthamoides* в условиях агропопуляций длится свыше 19 лет. Потенциал продуктивного долголетия закладывается в прегенеративном возрасте и базируется на системе вегетативных полициклически побегов, разветвленных на 2-3 порядка и включающих в себя 20-25 розеточных листьев. Пик накопления фитомассы у особей онтогенезе приходится на зрелое генеративное возрастное состояние. Вегетативные побеги функционируют в течение всего вегетационного периода, генеративные после формирования репродуктивных органов отмирают. Появление новых розеточных листьев, их рост и отмирание не приурочены к определенным фазам развития. Существует динамическая связь между развитием надземной и подземной сферы – на начальном этапе вегетации почки возобновления из корневищ разворачиваются в надземные побеги. После отмирания розеточных листьев происходит отток органических веществ в подземные органы, используемое для заложения и развития новых почек возобновления и многочисленных мелких придаточных корней на корневище.

3.2. Формирование продуктивности *Serratula coronata* в онтогенезе

В целом процессы развития *S. coronata* в первые 2-3 года жизни, до вступления в генеративный период, аналогичны *R. carthamoides*. В первый год жизни почки возобновления закладываются в основании пазух розеточных листьев вегетативных побегов, а на следующий год из них формируются генеративные побеги, т.е. они являются дициклическими. Вторая генерация почек возобновления закладывается на 2-й год в основании генеративных побегов, но рост их ингибирован. Они начинают развитие только после репродукции и отмирания генеративных побегов – т.е. на следующий, 3-й год жизни, в качестве вегетативных побегов. В отличие от *R. carthamoides*, вегетативно развивающиеся полициклические побеги у *S. coronata* отсутствуют.

Молодые особи *S. coronata* состоят из 3-7 вегетативных побегов и достигают высоты 35-40 см. В генеративном периоде значен вегетативных побегов теряется, они присутствуют только в начальных фаз развития. Взрослые особи *S. coronata* образуют куст диаметром 100-150 см и высотой 140-190 см, состоящий из прямостоячих или растущих под небольшим углом стеблей репродуктивных побегов. Число их колеблется в пределах 12-34 шт на особь во взрослом и 5-14 шт в старом генеративном возрастном состоянии. Вегетативные побеги в меньшинстве (1-8 шт); развитие их длится до фазы бутонизации, после вступления в фазу цветения они постепенно отмирают. Начало цветения *S. coronata* совпадает с завершением этой фазы у *R. carthamoides* (в начале июля) и продолжается в два-три раза дольше, по причине формирования боковых генеративных побегов. В случае холодного лета сроки массового цветения *S. coronata* значительно отстают от среднемноголетних дат, сдвигаясь со второй декады июля на начало августа. В целом начало отрастания и цветения *S. coronata* происходит на две-три недели позже *R. carthamoides* завершения вегетации на 1.0-1.5 мес. раньше, сразу после первых осенних заморозков.

Динамика формирования продуктивности *S. coronata* в онтогенезе схож с таковым у *R. carthamoides* (рис. 4) – пик приходится на взрослогенеративное возрастное состояние. Однако величина фитомассы, особенно у подземных органов, значительно ниже, чем у *R. carthamoides*, что может быть связано со сравнительно меньшей длительностью существования надземных органов, снабжающих корневище продуктами фотосинтеза. Максимальные уровни надземной фитомассы на Европейском Севере у *S. coronata* достигают 235-271 г на супеси, 197-252 г на торфяниках. Фитомасса подземных органов в этом возрасте составляет соответственно 83-103 г.

Выводы. Жизнедеятельности *S. coronata* обеспечивается дициклическим развитием побегов, полициклические побеги отсутствуют. Вегетативные побеги немногочисленны, развитие их длится до фазы бутонизации, во время цветения они постепенно отмирают. Генеративные побеги отмирают после цветения. Пик формирования фитомассы в онтогенезе приходится на взрослогенеративное возрастное состояние. Величина фитомассы, особенно у подземных органов, значительно ниже, чем у *R. carthamoides*, что может быть связано со сравнительно меньшей длительностью существования надземных органов, снабжающих корневище продуктами фотосинтеза.

3.3. Влияние отчуждения урожая на формирование продуктивности и накопление экдистероидов

До молодого генеративного возрастного состояния продуктивность корневой системы *R. carthamoides* и *S. coronata* (рис. 3, 4) нарастает вслед за надземной фитомассой, а в зрелом она находится в состоянии обратной динамической связи с развитостью репродукционного процесса в надземной сфере и степенью отчуждения урожая человеком.

Отчуждение надземной биомассы (уход) приводит к изъятию органических веществ из надземных органов, и как следствие, недостаточному снабжению корневой системы продуктами фотосинтеза, используемых растениями для последующего развития (табл. 6). Например, у растений 6-го года жизни 1-кратное отчуждение урожая в начале фазы бутонизации (через 38 дней

недостаточному снабжению корневой системы продуктами фотосинтеза, используемых растениями для последующего развития (табл. 6). Например, у растений 6-го года жизни 1-кратное отчуждение урожая в начале фазы бутонизации (через 38 дней вегетации) привело к повторному отращанию отавы из почек возобновления на корневище и формированию новой фитомассы состоящей из вегетативных побегов.

Однако, после завершения вегетации осенью, при сравнении величины массы подземных органов с контрольным вариантом без отчуждения, было обнаружено, что при отчуждении надземной части она оказалась на 23.3 % меньше, чем в варианте без отчуждения. Еще более значительным оказалось снижение уровня концентрации экдистероидов в корневище – падение в 2 ра (0.063 % против 0.120 %), что свидетельствует о роли корневой системы в запасании экдистероидов для последующего разви побегов.

Выводы. Продуктивность подземных органов нарастает вслед за надземной фитомассой, и находится в состоянии обратной динамической связи со степенью отчуждения урожая человеком. Отчуждение надземной биомассы (укос) приводит к снижению оттока углеводов в подземные органы, используемых растениями для последующего развития. Также наблюдается снижение уровня концентрации экдистероидов в корневище, что свидетельствует о необходимости подробного исследования пределов изъятия (сроки, величина и интенсивность укосов), не влияющих отрицательно на биосинтез экдистероидов.

Таблица 6

Влияние отчуждения надземных органов *R. carthamoides* на продуктивность и накопление экдистероидов в подземных органах (6-й год жизни, супесь)

Варианты	Надземная часть	Подземная часть	Содержание ФЭС в корневище, %
03 июля	12 октября	03 июля	12 октября
Срок вегетации:	77 дней	179 дней	77 дней 178 дней
Без отчуждения	354.0	186.4	270.6 338.7
С отчуждением 24 мая (38-й день)	354.0	111.8	270.6 274.7
			0.063

4. СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ В ЛИСТОВЫХ ОРГАНАХ

Розеточные листья *R. carthamoides*. Известна изменчивость абсолютной величины содержания экдистероидов в растительных тканях в течение вегетационного сезона [21-22]. Розеточные листья *R. carthamoides* занимают 84-91 (100) % в структуре фитомассы [23], и вегетируют с ранней весны до поздней осени, поэтому выявление пределов такой изменчивости во фракции листьев практически значимо. Розеточные листья у взрослых генеративных растений крупные черешковые, более или менее глубоко перисто-рассеченные на 15-22 (0-27) доли; по окраске светло-, темно- или желто-зеленые; образуют розетку диаметра 55-90 (37-112) см. В молодом возрасте размеры у неразвернутых листьев – 3-23 см по длине и 0,3-1,0 см по ширине, у полуразвернутых – 18-68 и 2-8 см, взрослых в фазу цветения – 60-80 (100-120) и 10-25 (35-43) см. При морфологическом анализе структуры фитомассы отдельные фракции розеточных листьев различаются по окраске в соответствии с их возрастом.

Листья разных физиологических возрастов дифференцированы по содержанию действующих веществ (табл. 7). В фазу бутонизации максимальное содержание экдистероида 20-гидроксиэкдизона 20E (0.38-0.43 %) в составе вегетативных побегов обнаружили в наиболее молодых по физиологическому возрасту фракциях без выраженной функции фотосинтеза – в неразвернутых белесых листьях с сильной опушенностью. У молодых полуразвернутых листьев содержание 20E снижалось, но незначительно (0.31-0.35 %), при увеличении массы в 3-8 раз. Во взрослых листьях содержание 20E было значительно меньше чем у молодых, в старых – еще ниже, в отмерших составляло только 0.05-0.02 %. Масса 1 листа в последних фракциях примерно соответствовала массе неразвернутых и полуразвернутых листьев, потому отмеченное уменьшение количества 20E на порядок может быть связано с оттоком экдистероидов из старых в более молодые развивающиеся органы.

Таблица 7

Содержание фитоэкдистероидов (20E, %) во фракциях листьев разного возраста у вегетативных побегов *Rhaponticum carthamoides* 6-8-го года жизни (фаза бутонизации)

Физиологический возраст розеточных листьев	Сухая масса 1 листа, г	Концентрация 20E, %	Относительное накопление 20E, %
Молодые: неразвернутые белесые	0.07 – 0.18	0.43	100.0
- полуразвернутые светло-зеленые	0.35 – 0.57	0.35	81.4
- полуразвернутые темно-зеленые	0.37 – 1.10	0.31	72.1
Взрослые: темно-зеленые	1.35 – 2.12	0.28	65.1
- зеленые	2.43 – 2.51	0.23	53.5
- светло-желто-зеленые	2.10 – 2.56	0.19	44.2
Старые: желто-зеленые	1.80 – 3.76	0.16	37.2
- пожелтевшие	1.00 – 2.11	0.11	25.6
Отмершие: желто-бурые	0.58 – 1.63	0.05	11.6
- почерневшие	0.26 – 0.69	0.02	4.6

В молодых листьях розеточных полициклических побегов (неразвернутых и полуразвернутых) в начале фазы отращивания содержание 20E достигало 0.45-0.55 %, через 20 сут вегетации – составляло 0.35-0.40 % (рис. 5). В этот период влажность

Во взрослых листьях падение содержания 20E также приходилось на засушливый период, а разница показателя за период вегетации была 3-кратной – 0.12-0.38 %. В старых листьях наблюдалось практически равномерное падение содержания 20E, которое не зависело от фазы или календарных сроков развития растений (от 0.15 до 0.02 %, то есть в 7-8 раз).

Розеточные и стеблевые листья *S. coronata*. У *S. coronata* 2 типа листьев – розеточные на вегетативных и стеблевые на генеративных побегах. В структуре фитомассы преобладают генеративные побеги [23], долевое участие вегетативных побегов незначительное – 3-12 (15 %). Розеточные листья функционируют только в начальных фазах развития; ко времени начала цветения они отмирают и более не разворачиваются из почек возобновления. Во время массового цветения начинают отмирать стеблевые листья нижних метамеров, а ко времени плодоношения – листья средних и верхних метамеров.

Сезонная динамика содержания экидистероидов в немногочисленных розеточных листьях очень высокая в начале отрастания (%), но во время развития генеративных побегов наблюдается почти линейное, резкое снижение – ко времени начала фазы стеблевания до 1.5 %, бутонизации – 1.1 %, цветения – 0.7 % (рис. 6). В стеблевых листьях, наоборот, в начале отрастания содержание ФЭС невысокое – 0.7 %. Ко времени начала бутонизации она возрастает до 2.1 % (при одновременном резком снижении ФЭС в розеточных листьях), но после начала цветения концентрация начинает снижаться – вначале до 1.2 %, а к ее завершению – до 0.5 %. В отмерших листьях, в зависимости от их физиологического состояния, содержание ФЭС варьирует от 0.5 до 0.03-0.10 %.

Рис. 5. Сезонная динамика содержания фитоэкидистероидов в розеточных листьях *R. carthamoides*

Рис. 6. Сезонная динамика содержания фитоэкидистероидов в листьях *S. coronata*

Выводы. Динамика содержания экидистероидов в отдельных элементах и фракциях фитомассы *R. carthamoides* согласуется с процессом перераспределения биологически активных веществ от старых органов к растущим и развивающимся: максимальные показатели выявлены в неразвернутых белесых, паутинисто-опушенных листьях. Падение содержания экидистероидов до минимальных значений совпадает с наступлением засушливых условий в летний период (июль-август). Относительное восстановление показателей происходит в начале осени в молодых и взрослых листьях – при снижении дневной температуры возрастании относительной влажности почвы. Динамика содержания экидистероидов в розеточных и стеблевых листьях *S. coronata* также согласуется с процессом перераспределения их от старых органов к растущим и развивающимся. Максимальные показатели выявлены у розеточных листьев в начале фазы вегетации-стеблевания, у стеблевых листьев – во время бутонизации-начала цветения.

5. ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ЭКИДИСТЕРОИДОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Биосинтез фитоэкидистероидов в онтогенезе *R. carthamoides*.

Согласно нашим многолетним исследованиям, содержание экидистероидов в фитомассе изучаемых видов в онтогенезе коррелирует с динамикой прохождения возрастных состояний (рис. 7). В вегетационном периоде максимальные концентрации экидистероидов обоих видов наблюдаются в фазе бутонизации-начале цветения. Во взрослых листьях вегетативных побегов содержание ФЭС оказалось минимальным в 1-й год жизни, увеличивалось с возрастом растения и после наступления генеративного периода, относительно стабилизировалось. В ювенильном возрастном состоянии этот показатель был равен 0.06-0.11, иматурном – 0.1-0.19 (1-2-й годы жизни), виргинильном – 0.22 % (3-й год), в начале генеративного – 0.27-0.28 (4-5-й годы), во взрослом и старом генеративном (до 12-го года) – 0.32-0.44 %. У субсенильных растений содержание ФЭС несколько снизилось и составило 0.39-0.44 % (13-15 год), а на 16-й год достигало значений для виргинильных растений – 0.19 %, совпадаемый во времени с интенсификацией укусов (2-х кратное отчуждение).

В генеративных побегах (семенах) в онтогенезе наблюдали аналогичную динамику. Максимум содержания экидистероидов в семенах (0.57 %) совпадал с пиком продуктивности в онтогенезе на 6-й год жизни. У зрелых генеративных растений на 6-8-й г массовое плодоношение и последующее снижение продуктивности сочеталось с одновременным уменьшением содержания ФЭС в семенах (с 0.57 до 0.47-0.41 %). На 9-10-й год, после перерыва в плодоношении у значительной части особей, содержание экидистероидов достигало исходного уровня (0.55 % на 10-й год), что свидетельствует о напряженности донорно-акцепторных отношений между вегетативными и генеративными побегами у старовозрастных растений. Еще более значительное (7-кратное) подавление репродукционных процессов на 11-й год приводило к возрастанию содержания экидистероидов в вегетативных поб. с 0.32-0.33 до 0.44 %.

В целом, в период от молодого до зрелого генеративного возрастного состояния, концентрация ФЭС возрастает в 3.2 раза (от 0.38 % до 0.57 %), остается относительно стабильной до конца старогенеративного (0.55 %) и снижается в субсенильном от 0.55 % до 0.23 % на 16-й год. После прекращения укусов на 17-й год отмечено повышение концентрации – до 0.25 % у вегетативных поб. с 0.30 % у генеративных побегов. Имелась сильная положительная зависимость между содержанием ФЭС в семенах и интенсивностью репродукционных процессов у молодых и взрослых генеративных растений *R. carthamoides* ($r = 0,99-0,96$ при $p < 0,999$). В свою очередь, формирование генеративных побегов и плодоношение зависят от продуктивности фитомассы [18]. В вегетативных побегах содержание экидистероидов коррелировало с продуктивностью надземной массы ($r = 0,78-0,81$, $p = 0,99$).

Биосинтез фитоэкидистероидов в онтогенезе *S. coronata*. Содержание экидистероидов в вегетативных побегах *S. coronata*, в отличие от *R. carthamoides*, возрастает только до молодого генеративного возрастного состояния (рис. 8) и составляет во время фазы бутонизации: у ювенильных растений (через 1-2 месяца после всходов) – 0.03-0.05 %, иматурных – 0.12-0.25 % (1-2-й годы жизни), виргинильных – 0.34 % (2-й год), молодых генеративных – 0.89-1.20 % (3-4-й годы жизни). В дальнейшем, с доминированием в структуре фитомассы генеративных побегов, концентрация во взрослых листьях вегетативных побегов резко снижается – вначале до 0.81 % (5-й год), затем до 0.30 % (6-й год).

Рис. 7. Динамика накопления фитоэкидистероидов в разных органах *R. carthamoides* во время онтогенеза

Рис. 8. Динамика накопления фитоэкидистероидов в разных органах *S. coronata* во время онтогенеза

Примечание. 20E – экидистероид 20-гидроксиэкидизон, In – инокостерон, E – экидизон. Возраст растений в разделе «Методика».

$r = 0.95$). Корреляция концентрации ФЭС между генеративными и вегетативными побегами взаимно исключаящая, что

которые снижаются к началу старого генеративного до 2.32 %. У старых растений субсенильного возрастного состояния (12-1! годы) содержание экидистероидов было близким содержанию его у молодых генеративных растений – 2.03-1.80 %. Достоверна связь между содержанием ФЭС в вегетативных побегах и продуктивностью существует только в молодом генеративном возраст состоянии, до начала доминирования репродуктивных побегов в структуре фитомассы. Концентрация ФЭС в апикальных частях генеративных побегов является зависимым от продуктивности на высоком уровне значимости ($r = 0.99-0.92$,

Выводы. Таким образом, накопление фитоэкидистероидов (ФЭС) в онтогенезе положительно коррелирует с величиной продуктивности надземных органов и находится в прямой или относительной зависимости от ростовых процессов, обусловлены многолетним развитием видов в онтогенезе и взаимоотношениями типов побегов в структуре фитомассы. Максимальные величины содержания ФЭС коррелируют с пиком максимальной продуктивности видов в онтогенезе. Градиент концентрации ФЭС в генеративных побегах возрастает от нижних метамеров к апикальным: у *R. carthamoides* – от 0.10 % в нижней части стебля до % в апикальной части; у *S. coronata* – от 0.1 % в нижней части до 2.0-2.8 % в апикальной зоне.

6. ИЗМЕНЧИВОСТЬ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ФИТОЭКДИСТЕРОИДОВ В РАСТЕНИЯХ

Всего из растений мировой флоры выделено около 330 индивидуальных экидистероидов, в т.ч. у *R. carthamoides* известно около у *S. coronata* – 20 экидистероидов [25]. Состав мажорных (основных по массовой доле) ФЭС обоих видов одинаков, ими являются 20-гидроксиэкидизон (20-hydroxyecdysone, сокращенно 20E), инокостерон (inokosterone, In), экидизон (ecdysone, E). Известно, что биологическая активность индивидуальных соединений сильно различается: активность 20-гидроксиэкидизона в биотестах высока и равна 7.5×10^{-9} М, инокостерон сравнительно малоактивен – $1.1-2.0 \times 10^{-7}$ М, экидизон является слабоактивным – 1.1×10^{-6}

Состав экидистероидов в фитомассе *R. carthamoides*. Исходя из результатов наших исследований, качественный состав ФЭС и соотношение между индивидуальными экидистероидами в фитомассе растений не является постоянным и меняется как в ходе жизненного цикла, так и во время прохождения вегетационного периода. У *R. carthamoides* до вступления в генеративный период состав мажорных экидистероидов представлен только высокоактивным 20-гидрокси-экидизоном (табл. 8).

В вегетативных побегах молодых генеративных растений появляется малоактивный инокостерон, а у средне- и старогенеративных – слабоактивный экидизон. Долевое участие экидизона резко возрастает во время развития репродуктивных органов – с 1.5 % до % во время фазы бутонизации, и далее до 13.3 % во время фазы цветения у стареющих растений.

В генеративных побегах качественный состав ФЭС меняется аналогичным образом. В стеблевых листьях при отрастании содержатся следовые количества инокостерона (1.6 %), во время цветения массовая его доля увеличивается до 18.2-20.7 %. Экидизон в начале вегетации не обнаружен, во время цветения долевое участие составляет 9.1 %, увеличиваясь во время наливания семян и плодоношения до 17.8-18.7 %. Состав ФЭС в семенах отражает закономерности возрастной их изменчивости в листьях молодых генеративных растений присутствует только 20-гидроксиэкидизон, у стареющих появляются инокостерон и экидизон. Массовая доля последних значительно возрастает у старых субсенильных растений (с 1.9 до 22.4 % для инокостерона, с 0.6 до % для экидизона).

Во время возрастных изменений в онтогенезе и сезонного развития при прохождении вегетационного периода в генеративных побегах уменьшается долевое участие наиболее активных и накапливаются слабо- и малоактивные соединения. Органы взрослых генеративных растений *R. carthamoides* содержат следовые количества экидистероида инокостерона (0.9-2.5 % долевого участия) не был обнаружен экидизон. В репродуктивных побегах в онтогенезе происходит накопление инокостерона и экидизона (табл. 8). Соотношение 20-гидроксиэкидизона к экидизону (20E/E) при этом изменяется следующим образом: у отрастающих растений оно близко к 1000 : 1, ко времени цветения убывает и сужается до 20-6 : 1, а к началу плодоношения до 3-4 : 1.

Таблица 8

Изменчивость состава фитоэкидистероидов в надземных органах *Rhaponticum carthamoides*

Фаза развития растений Дата вегетации Возраст биологический¹

Состав ФЭС², % Соотношение 20E, In/E

20E In E

Листья розеточные:

- вегетация 14.IX im 100.0 -- >1 000 : 0 : 0

- вегетация 31.VIII v 100.0 -- >1 000 : 0 : 0

- вегетация 28.VIII g1 99.1 0.9 – 990 : 10 : 0

- отрастание 26.V g2 97.5 2.5 – 975 : 25 : 0

- отрастание 26.V ss 98.0 2.0 – 980 : 20 : 0

- вегетация 31.VIII g3 94.3 4.2 1.5 60 : 3 : 1

- бутонизация 01.VI g2 93.9 1.4 4.7 20 : 0.3 : 1

- цветение 18.VI g3 84.0 2.7 13.3 6 : 0.2 : 1

Листья стеблевые:

- отрастание 25.V g2 98.4 1.6 – 980 : 16 : 0

- цветение 21.VI g1 72.7 18.2 9.1 8 : 2 : 1

- отцветание 29.VI g1 61.5 20.7 17.8 3 : 1 : 1

- плодоношение 17.VII g1 75.0 6.8 18.7 4 : 0.4 : 1

Семена:

- плодоношение 15.VII g1 100.0 -- >1 000 : 0 : 0

- плодоношение 17.VII g2 100.0 -- >1 000 : 0 : 0

- плодоношение 18.VII g3 97.5 1.9 0.6 160 : 3 : 1

- плодоношение 14.VII ss 74.1 22.4 3.5 21 : 6 : 1

Примечания к табл. 8-10. ¹Возрастные состояния: im – имматурное; v – виргинильное; g1, g2, g3 – молодое, взрослое и старое генеративное; ss – субсенильное. ²ФЭС – фитоэкидистероиды: 20E – 20-гидроксиэкидизон. In – инокостерон. E – экидизон.

Изменчивость состава ФЭС в генеративных побегах *Serratula coronata*

Фаза

развития растений Дата

вегетации Возраст

биологи-ческий Состав ФЭС, % Соотношение

20E, In/E

20E In E

Апикальные метамеры:

- стебление 11.VII v 84.0 16.0 – 840 : 16 : 0
- бутонизация 24.VI g1 98.5 1.5 – 985 : 15 : 0
- бутонизация 11.VII g1 86.3 13.7 – 860 : 14 : 0
- бутонизация 24.VI g1 90.3 8.0 1.7 53 : 5.0 : 1
- стебление 25.V g3 85.6 10.1 4.3 20 : 2.4 : 1
- стебление 27.V g3 84.4 10.4 5.2 16 : 2.0 : 1
- стебление 29.V g3 75.4 16.7 7.9 10 : 2.1 : 1
- стебление 03.VI g3 84.4 6.3 9.3 9 : 0.7 : 1
- бутонизация 18.VI g2 82.3 11.3 6.4 12 : 1.8 : 1
- бутонизация 19.VI g3 71.5 16.8 11.7 6 : 1.4 : 1
- цветение 08.VII g3 76.3 14.3 9.4 8 : 1.5 : 1
- Семена 03.IX g3 81.3 9.8 8.9 9 : 1.1 : 1

Состав экидистероидов в фитомассе *S. coronata*. У *S. coronata* изменчивость состава ФЭС в генеративных побегах также связана возрастными изменениями (табл. 9). Как и у *R. carthamoides*, в стеблевых листьях наряду с экидистероидом 20-гидроксиэкидизон присутствует инокостерон. Экидизон начинает синтезироваться в начале генеративного периода, долевое участие его увеличивается во время развития в онтогенезе с 1.7 % (у молодых генеративных) до 11.7 % (у стареющих растений). У однолетних растений концентрация экидизона увеличивается во время прохождения вегетационного периода. Например, в период с 25 мая по 03 июня, во время перехода генеративных побегов к фазе стебления, массовая доля слабоактивного эсдусона в апикальных метамерах возрастает с 4.3 % до 9.3 %. Соотношение 20-гидроксиэкидизон к экидизону (20E/E) по фазам развития изменяется следующим образом:

- во время отрастания оно близко к 1000 : 1;
- во время стебления-бутонизации уменьшается до 20-9 : 1;
- во время цветения-плодоношения составляет 9-6 : 1.

Вызревающие семена являются акцепторами экидистероидов из донорных органов, при котором происходит транспорт и перераспределение их из листовых органов через стебли. Как следствие, состав ФЭС и долевое участие экидизона в семенах (8 %), во время плодоношения в начале сентября был подобен составу и соотношению экидистероидов в генеративных побегах во время бутонизации-цветения в июне-июле.

Выводы. Наблюдается взаимосвязь между возрастом растений и биохимическим составом растений по содержанию мажорных экидистероидов. Качественный состав фитоэкидистероидов и соотношение между индивидуальными экидистероидами в фитомассе меняется как в ходе жизненного цикла, так и во время прохождения вегетационного периода. С прохождением фенофаз и возрастных состояний в онтогенезе уменьшается долевое участие наиболее активных и накапливаются мало- и слабоактивные соединения (инокостерон в 15 раз, экидизон в 148 раз менее активны, чем 20-гидроксиэкидизон).

В регенеративном периоде у *R. carthamoides* присутствует только высокоактивный экидистероид 20-гидроксиэкидизон, у *S. coronata* в небольших количествах синтезируется и малоактивный инокостерон. У среднegenеративных растений начинает синтезироваться слабоактивный экидизон. Долевое участие экидизона резко возрастает во время формирования и развития репродуктивных органов особенно у старогенеративных растений во время фазы цветения и плодоношения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в изучении биологии лекарственных растений *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin *Serratula coronata* L. (Обзор) // Сельскохозяйственная биология. Серия "Биология растений", 2007, 3, 3-17.
2. Справочник агронома Нечерноземной зоны (Под ред. Гуляева Г.В.). М.: Агропромиздат, 1990, 575с.
3. Skiba A., Weglard Z. Accumulation of the biomass and some polyphenolic compounds in *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin // *Hortic. Land. Architecture*, 1999, 20, 19-25.
4. Свиридова Т.П. Опыт выращивания *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin на юге Томской области // *Растительные ресурсы*, 16(4), 536-541.
5. Холопцева Н.П., Михкиев А.И. Введение в культуру маральего корня в Карелии. Петрозаводск, Карельский НЦ РАН, 1993, 23с.
6. Головки Т.К., Гармаш Е.В., Куренкова С.В., Табаленкова Г.Н., Фролов Ю.М. Рапонтик сафлоровидный в культуре на Европейском Севере-Востоке (эколого-физиологические исследования) // Сыктывкар, Коми научный центр УрО РАН, 1996, 140 с.
7. Постников Б.А. Маралий корень и перспективы его использования в народном хозяйстве // *Растительные ресурсы*, 1969, 5(2), 247-254.
8. Моисеев К.А., Соколов В.С., Мишуев В.П., Александрова М.И., Коломийцева В.Ф. Малораспространенные силосные растения Колос, 1979, 328 с.
9. Мишуев В.П., Волкова Г.А., Портнягина Н.В. Интродукция полезных растений в подзоне средней тайги Республики Коми (И работы Ботанического сада за 50 лет. Т. 1). СПб.: Наука, 1999, 216с.
10. Постников Б.А. Видовой состав и ресурсные запасы стеринсодержащего сырья Сибири – нового компонента кормовых добавок премиксов и лечебных препаратов // *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты*. Сб. науч. трудов. М.: РАЕН, 2003, 9, 87-103.
11. Тимофеев Н.П. Сравнительная продуктивность *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin и *Serratula coronata* L. в генеративном возрасте // Тр. VI Междунар. симп. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». М.: РУДН, 2005с, 2, 179.

Политерра, 2008а, 264-267.

13. Ларин Л.Г. Агрометеорологическое обоснование возделывания рапонтника сафлоровидного в Нечерноземной зоне РСФСР: Автореф. канд. геогр. наук. М.: Гидрометеиздат, 1982.
14. Шаин С.С. Биорегуляция продуктивности растений. М.: Изд-во "Оверлей", 2005, 218 с.
15. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Колос, 1992, 594 с.
16. Борейша М.С., Семенов Б.Я., Чекалинская И.И. Маралий корень (рапонтникум сафлоровидный). Минск: Ураджай, 1985, 40 с.
17. Шаин С.С. Экзогенная регуляция накопления биологически активных веществ лекарственными и эфиромасличными растениями как способ формирования максимальной биопродуктивности в онтогенезе // Сельскохозяйственная биология, 1996, 3, 68-82.
18. Тимофеев Н.П. Накопление и изменчивость содержания действующих веществ (экдистероидов) в лекарственном сырье лее сафлоровидной // Сельскохозяйственная биология. Серия "Биология растений", 2008b, 5, 14с.
19. Кулаковская Т.Н. Оптимизация агрохимической системы почвенного питания растений. М.: Агропромиздат, 1990, 219 с.
20. Постников Б.А. Маралий корень и основы введения его в культуру. Новосибирск: СО РАСХН, 1995, 276с.
21. Алексеева Л.И., Тетерюк Л.В., Володин В.В. Динамика содержания экдистероидов у *Ajuga reptans* L. на северной границе ее ареала // Растительные ресурсы, 1998, 34(4), 56-62.
22. Zibareva L. Distribution and levels of phytoecdysteroids in plants of the genus *Silene* during development // Arch Insect Biochem Physiol, 2000, 43(1), 1-8.
23. Тимофеев Н.П. Структура лекарственного растительного сырья *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin и *Serratula coronata* L. Основные итоги и приоритеты научного обеспечения АПК Евро-Северо-Востока // Киров, Зональный НИИСХ Северо-Востока им Н.В. Рудницкого, 2005b, 2, 390-396.
24. Тимофеев Н.П. Возраст и динамика плотности агропопуляций *Rhaponticum carthamoides* и *Serratula coronata* (Asteraceae) на европейском Севере // Растительные ресурсы, 2005а, 41(3), 1-13.
25. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в области изучения, использования и прогнозирования биологической активности экдистероидов (Обзор) // Бутлеровские сообщения, 2006, 8(2), 7-34.
26. Природно-климатический очерк Котласского района Архангельской области. М., ТСХА, 1994, 32с.
27. БСЭ (Большая советская энциклопедия). 3-е изд., в 30т. М., Сов. Энциклопедия, 1975, 20, 608с.

3.6. Полученные за отчетный период важнейшие результаты

По результатам комплексных исследований в условиях европейского Севера впервые установлены новые природные закономерности развития экдистероид синтезирующих видов растений в онтогенезе, механизмы формирования продуктивности накопления и перераспределения действующих веществ по различным органам, динамические связи между надземными и подземными органами; выявлены корреляционные связи между ростом, продуктивностью и биосинтезом экдистероидов; показана сезонная и возрастная динамика биосинтеза и изменчивость биохимического состава фитозкдистероидов в растениях, зависимость от внутренних и внешних факторов:

1. Сравнительный анализ продуктивности *R. carthamoides* и *S. coronata* в различных природно-климатических зонах, результат нашего 4-х летнего культивирования *R. carthamoides* в двух географически отдаленных зонах показывают, что в условиях прохладного климата Европейского Севера, на обедненных подзолистых почвах, фитомасса *R. carthamoides* и *S. coronata* не уступает растениям более южных регионов на черноземах. Для формирования продуктивности и биосинтеза экдистероидов теплообеспеченность района возделывания и плодородие почвы не имеют решающего значения, а иные природные закономерности и механизмы, исследование которых приводится в настоящем проекте.

2. *R. carthamoides* характеризуется широким диапазоном адаптивных ростовых реакций в ответ на критические параметры условий внешней среды. В ранневесенний период наблюдаются более высокие темпы прироста побегов по сравнению с летними; ростовые процессы не имеют периода покоя в суточном цикле и продолжаются даже в ночное время. Параметры среды, оптимальные для максимального роста, включают следующее сочетание факторов внешней среды: температура 12-24 °С, атмосферная влажность воздуха 31-81 %, освещенность 7-125 тыс. лк, влажность почвы 9-16 %. Максимальные приросты побегов в суточном цикле наблюдаются в вечернее время – от 17 до 22-23 часов. Экстремальные значения освещенности (150-160 тыс. лк) и температур (28-30 °С) ингибируют рост побегов.

3. Среднесуточный прирост побегов не прекращается в условиях повторного выпадения снега и многократных заморозках с интенсивностью -2...-6 °С, а также при снижении относительной влажности воздуха и почвы до минимальных значений. Темп роста взрослых растений 9-го года жизни в 1.5-1.7 раза выше по сравнению с молодыми 3-х летними. Молодые растения сильнее нуждаются в свете; реализация потенциала взрослых не лимитирована освещенностью, а зависит от наличия оптимальной влажности и температуры.

4. Устойчивость растений к низким температурам связана с возрастанием роли корневой системы и сопровождается повышенным синтезом и накоплением экдистероидов в листовых органах *R. carthamoides* (в 1.3-2.1 раза). Водный стресс, сочетающийся с истощением влаги в почве и низкой относительной влажностью воздуха на фоне высокой температуры, приводит к прекращению биосинтеза и оттоку фитозкдистероидов из надземных органов. Нижняя граница влагообеспеченности (влажность завядания почвы), при котором зафиксировано резкое (в 2.5 раза) снижение содержания фитозкдистероидов у взрослых листьев, составило 2.5-3.0 %. Выявленные закономерности свидетельствуют о существовании динамической связи между надземными и подземными органами, взаимно влияющими на биосинтез экдистероидов.

5. Потенциал продуктивного долголетия *R. carthamoides* (свыше 19 лет на Севере) закладывается в прегенеративном возрасте базируется на системе вегетативных полициклических побегов, разветвленных на 2-3 порядка и включающих в себя до 20-25 розеточных листьев. Вегетативные побеги функционируют в течение всего вегетационного периода, генеративные после формирования репродуктивных органов отмирают. Появление новых розеточных листьев, их рост и отмирание не приурочены к определенным фазам развития. Существует динамическая связь между развитием надземной и подземной сферы – на начальном этапе развития почки возобновления из корневищ разветвляются в надземные побеги. После отмирания розеточных листьев происходит отток органических веществ в подземные органы, используемое для заложения и развития новых почек возобновления и многочисленных мелких придаточных корней на корневище.

Жизнедеятельность *S. coronata* обеспечивается дициклическим развитием побегов, полициклические побеги отсутствуют. Вегетативные побеги немногочисленны, развитие их длится до фазы бутонизации, во время цветения они постепенно отмирают. Генеративные побеги отмирают после цветения. Величина фитомассы, особенно у подземных органов, значительно ниже, чем у *carthamoides*, что может быть связано со сравнительно меньшей длительностью существования надземных органов, снабжающих

формируется в первой половине вегетации, увеличение массы корней и корневищ наблюдается после отмирания надземной части поздней осенью. Поэтому продуктивность подземных органов нарастает вслед за надземными, и находится в состоянии обратной связи со степенью отчуждения урожая человеком. Отчуждение надземной биомассы (укос) приводит к снижению продуктивности подземных органов. Одновременно наблюдается снижение уровня концентрации экидистероидов в корневище, что свидетельствует о необходимости подробного исследования пределов изъятия (сроки, величина и интенсивность укосов), не влияющих отрицательно на биосинтез и накопление экидистероидов.

7. Динамика содержания экидистероидов в отдельных элементах и фракциях фитомассы согласуется с процессом перераспределения биологически активных веществ от старых органов к растущим и развивающимся. У *R. carthamoides* максимальные показатели выявлены в неразвернутых белесых, паутинисто-опушенных листьях (0.55 %). Падение содержания экидистероидов до минимальных значений (0.28 %) совпадает с наступлением засушливых условий в летний период (июль-август). Относительное восстановление показателей происходит в начале осени в молодых и взрослых листьях – при снижении дневной температуры и возрастании относительной влажности почвы. У *S. coronata* максимальное содержание экидистероидов в розеточных листьях наблюдается в начале вегетации (2.3 %), в стеблевых – во время бутонизации-начала цветения (2.1 %).

8. Накопление фитоэкидистероидов в онтогенезе положительно коррелирует с величиной продуктивности надземных органов и находится в прямой или относительной зависимости от ростовых процессов, обусловленных многолетним развитием видов в онтогенезе и взаимоотношениями типов побегов в структуре фитомассы. Максимальные показатели содержания экидистероидов в онтогенезе приходятся на взрослогенеративное возрастное состояние и достигают у *R. carthamoides* 0.58 %, у *S. coronata* 2.0-2.2 %.

9. Биохимический состав фитоэкидистероидов в растениях непостоянен во времени и меняется как по сезонным фазам развития так и по возрастным периодам онтогенеза. Наблюдается взаимосвязь между возрастом и качественным составом по содержанию мажорных экидистероидов. С прохождением фазы и возрастными состояниями в онтогенезе уменьшается долевое участие физиологически активного экидистероида 20-гидроксиэкидизона и накапливаются менее активные соединения инокостерон и экидизон. Слабоактивный экидизон начинает синтезироваться у среднегенеративных растений, долевое участие его резко возрастает во время формирования и развития репродуктивных органов, особенно у старогенеративных растений во время фазы цветения-плодоношения.

10. На процессы биосинтеза и накопления в фитомассе экидистероидов различной биологической активности могут оказать влияние экологические условия окружающей среды и антропогенные факторы культивирования (интенсивность отчуждения фитомассы, избыточная влажность в корнеобитаемом слое), которые предстоит изучить в 2009 году. При предварительном микроскопическом исследовании нами выявлено наличие симбиотической микоризы в мелких придаточных корнях обоих видов, интенсивность развития которого сильно различалась от условий существования. Необходимо также исследовать влияние различных форм органо-минерального питания на интенсивность развития эндотрофной микоризы.

11. Результаты исследований могут быть использованы в фармацевтической промышленности, в отраслях биотехнологии и агропромышленного комплекса – при разработке и производстве новых фармпрепаратов, лекарственных средств, БАДов и кормовых добавок. Следствием изменчивости биохимического состава фитоэкидистероидов в растениях может быть неоднозначное проявление биологической активности в медицине, что важно для их стандартизации с целью последующего использования в качестве лекарственных средств, или в молекулярной генетике в системах экспрессии генов.

Данные по качественному составу действующих веществ *R. carthamoides* и *S. coronata*, после дополнительного расширенного изучения в 2009 году, могут быть использованы при идентификации видов, комплексной оценке подлинности фармпрепаратов БАДов из растений, введенных в официальную фармакопею, или же их фальсификации.

3.7. Степень новизны полученных результатов

Комплекс работ, выполняемые в рамках настоящего проекта, проводится впервые за всю историю экидистероид синтезирующих растений – в условиях 20-летнего жизненного цикла агропопуляций, одновременно по разным видам, географическим регионам, экологическим нишам, с учетом влияния реальных природных и антропогенных факторов. Необходимо присутствие 3-х основных условий для успешного решения поставленных целей и задач: 1) наличие самих агропопуляций; 2) специализированных лабораторий, обладающих методикой, оборудованием и опытом работы; 3) финансовых возможностей.

Биохимические исследования являются довольно сложными и могут быть выполнены только в специализированных научных центрах. Официальная стоимость на 2008 год составляет около 2,5 тыс. руб за 1 анализ. Если учесть, что в настоящем проекте только за 2008 год использованы результаты анализов около 200 образцов за 15 лет исследований, суммарная стоимость которых приближается к 500 тыс. рублей, то понятно, что всей суммы научного гранта достаточно для покрытия не более чем 30 % расходов на химанализы. Поэтому даже минимальные исследования такого рода редки. Кроме того, подобные исследования не могут быть выполнены, не имея предварительно самих объектов, знания историй всех технологий и многолетних факторов воздействия, которые там применялись и применяются.

По результатам проведенных исследований в условиях европейского Севера впервые установлены новые природные закономерности развития в онтогенезе, механизмы формирования продуктивности, накопления и перераспределения действующих веществ по различным органам, динамические связи между надземными и подземными органами; выявлены корреляционные связи между ростом, продуктивностью и биосинтезом экидистероидов; показана сезонная и возрастная динамика биосинтеза и изменчивость биохимического состава фитоэкидистероидов в растениях, зависимость от внутренних и внешних факторов. Важнейшие результаты и выводы по ним рассмотрены в пункте 3.6 настоящего отчета, получены впервые в результате 19-и летних исследований и являются абсолютно новыми. Подробный анализ новизны и сравнение с мировым уровнем приведен в п.3.8.

3.8. Сопоставление полученных результатов с мировым уровнем

Лекарственные средства и биологически активные добавки на основе экидистероид синтезирующих растений левзеи сафлоровидной – *Rhaptopicum carthamoides* (Willd.) Thun (напотикум сафлоровидный, маралий корень) и серпухи вещуческой

физического и умственного утомления (Саратиков и др., 1970; Растительные..., 1993; Лекарства..., 2003). Выделяемые из этих растений экидистероиды являются объектами и инструментами современных исследований по клеточной и молекулярной биологии молекулярной генетике (экидизон-индуцированные системы экспрессии генов), биомедицинской химии, по разработке экологически безопасных инсектицидов селективного действия (Saez et al., 2000; Wang et al., 2000; Lafont & Dinan, 2003).

R. carthamoides и препараты на ее основе внесены в Государственную фармакопею СССР IX-XI изданий, Государственную фармакопею Российской Федерации (приказ Министерства здравоохранения № 182 от 24.04.2003), а также в Государственный реестр лекарственных средств и Регистр лекарственных средств России. Растения служат сырьем для производства разнообразных ветеринарных и фармацевтических препаратов, пищевых и кормовых добавок (Kholodova, 2001; Зайнуллин и др., 2003; Тимофеев 2001, Подъяблонский и др., 2004; Мегедь и др., 2004; Чегодаев, 2004; Васильев и др., 2007).

Искусственным путем экидистероиды не получают; химический синтез возможен только в отношении вторичных, биологически неактивных или малоактивных продуктов, обычно путем химической трансформации мажорного фитозэкидистероида 20-гидрокси-экидизона (Lafont и Dinan, 2003). Аналогичные проблемы характерны для методов биотехнологии – биосинтез в культуре клеток, тканей, модифицированных корней характеризуется накоплением малоактивных или неидентифицированных соединений (Ануфриева и др., 1998). В целом методы биотехнологии не получили широкой реализации при получении экидистероидов. Измененный состав вторичных метаболитов ведет к потере биологической активности, свойственной природным растениям (Тимофеев, 2004),

Нигде в мире экидистероид содержащие растения не возделывают в масштабах, удовлетворяющих нужды фармацевтической промышленности. Исследования по интродукции разных видов ведутся в России, Чехословакии, Польше, Болгарии, Венгрии, Швеции, Финляндии, Китае, Австрии, Германии, Белоруссии, Литве, Молдавии, Казахстане, Узбекистане, Украине. Многочисленные скрининговые биохимические изыскания, предпринятые в регионах в разных климатических условиях, в том числе на севере Европы, показали, что для требуемого расширения сырьевой базы наиболее перспективны два сверхконцентратора экидистероидов – *R. carthamoides* и *S. coronata*. Концентрация экидистероидов в рассматриваемых видах в 10-100 тысяч раз превышает содержание их в других растениях – достигая 0.5-1.5 % у *R. carthamoides*, 1.2-3.1 % у *S. coronata* в расчете на сухую массу (Растительные ресурсы, 1993; Тимофеев и др., 1998; Ануфриева и др., 1998; Bathori et al., 1998; Володина, 2006).

Состав мажорных (основных по массовой доле) фитозэкидистероидов (сокращенно: ФЭС) обоих видов одинаков, ими являются 2-гидроксиэкидизон (синонимы: экидистерон, 20-hydroxyecdysone; сокращенно 20E), инокостерон (inokosterone, In), экидизон (ecdysone, E) (Фитозэкидистероиды, 2003). В целом активность экидистероидов различается на 6 порядков и простирается от 10⁻¹⁰ до 10⁻⁴ М (Harmatha & Dinan, 1997; Harmatha e.a., 2002; Dinan, 2003; Odinkov e.a., 2002). Если исходить из соотношения активностей, инокостерон в 15 раз, а екидизон в 148 раз менее активны, чем 20-hydroxyecdysone (Dinan, 2003).

Состав и соотношение экидистероидов – важнейшая проблема качества лекарственных растений. Наряду с большим количеством экспериментально установленных фактов биологической активности экидистероидов, отмечается большое различие в дозах и направленности действий индивидуальных соединений. Имеются многочисленные примеры, когда высокая концентрация сумм экидистероидов не оказывает никакого воздействия на организм, а сами данные по физиологической активности экидистероидов неоднозначны (Lafont & Dinan, 2003; Федоров и др., 1997; Тимофеев, 2005). Дозы, вызывающие положительный эффект, могут различаться на несколько порядков – от сверхмалых доз, равных 0.02-0.035 мкг/кг/день (Тимофеев и Ивановский, 1996; Purser Baker, 1999) – до очень больших концентраций, равных 5-20 мг/кг (Сыров и Курмуков, 1976; Тодоров и др., 2000)

При производстве лекарственного сырья из *R. carthamoides* и *S. coronata* проблема качества особенно актуальна, поскольку при синтезе в корневых окончаниях или взрослых листьях фитозэкидистероиды концентрируются в интенсивно растущих тканях и органах (Adler & Grebenok, 1995; Тимофеев и др., 1998; Dinan e.a., 2001; Чадин и др., 2003). Процесс синтеза, распределения и накопления динамичный и непрерывный (Лафон, 1998; Dinan e.a., 2001). Условия внешней среды – температура, длина дня, освещенность, анаэробизм, обезвоживание клеток при засухе, холоде и засолении, измененное количество света при засорении возможно, в значительной степени способны влиять на направленность метаболических процессов, и тем самым влиять на биосинтез и распределение экидистероидов по различным органам.

До настоящего времени исследования по факторам, регулирующим биосинтез экидистероидов, не проводились, кроме как лабораторных опытов по влиянию спектра освещения на содержание экидистероидов в листовых пластинках растений из рода *Rhaponticum* и *Lychnis* (Карначук и др., 1987). Из анализа литературы следует, что существует многократная, до 15-40 раз, разность в уровнях содержания экидистероидов в растительном сырье *R. carthamoides*, причем причины этого не установлены. По разным данным, количество мажорного экидистероида 20-гидроксиэкидизона в подземных органах (корни и корневища) варьирует от 0.08 до 0.51-0.81 и даже 1.16 % (Маматханов, 1980; Орлова и др., 1994; Зарембо и др., 2001, Вересковский и др., 1983; Нигматуллин и др., 2001); в наземной биомассе (листьях вегетативных побегов) – от 0.03-0.08, 0.16-0.26-0.43, 0.7-0.9 до 1.2 % (Куренкова и Табаленкова, 2000, Тимофеев и др., 1998; Вересковский и др., 1983; Борейша и Чекалинская, 1985).

Вероятно, сверхнизкие показатели связаны с неоптимизированными технологиями культивирования, или, по-другому, накопление экидистероидов в лекарственном сырье находится в прямой зависимости от ростовых процессов, обусловленных стрессовыми факторами, почвенно-климатическими условиями, агротехническими приемами возделывания и антропогенными воздействиями агропопуляции. Необходимо изучение динамики накопления и изменчивости состава экидистероидов в различных органах растений, выявление зависимости биосинтеза по качественному составу, исходя из возрастных состояний онтогенеза и сезонных фаз развития. Хотя исследования по растениям рода *Rhaponticum* и *Serratula* неоднократно поддерживались различными грантами (гранты РФФИ № 01-04-48082, 03-04-07034, 03-04-96147, грант CDRF N 003), однако их результаты не связаны с установлением закономерностей биосинтеза и накопления высоко-, слабо- или неактивных соединений.

В настоящее время как в России, так и за рубежом лекарственные растения *R. carthamoides* и *S. coronata* на крупных производственных плантациях не выращиваются (Тимофеев, 2007). Как оказалось, создание управляемой по количеству и качеству сырьевой базы экидистероид содержащих растений сопряжено с немалыми трудностями. Несмотря на значительные усилия, множество вопросов по экидистероид содержащим растениям остаются открытыми, особенно по управлению их ростом и развитием, формированием продуктивности и накоплением действующих веществ в лекарственном сырье, неоднозначному проявлению биологической активности и безопасности получаемой фармацевтической продукции.

методы исследований, охватывающие 2 вида растений, 2 географические зоны, 6 агропопуляций в возрасте от 1 до 19 лет (см приложение 1, рис. 1-5), опытные делянки. Подробные характеристики объектов, природно-климатических условий и методов исследования описаны в наших публикациях, выполненных по предыдущему Гранту РФФИ № 03-04-96147 [24].

в.д.; Кроме того, для установления значимости факторов теплообеспеченности и длины светового дня, в условиях центральной западной части Польши (Балтийский регион) в 2003 г. были заложены еще две агропопуляции *R. carthamoides*, каждая площадь по 2 га (53° с.ш., 18 г. Быдгощ, Быдгощское (Куявско-Поморское) воеводство, с/х фирма "Fitostar"). Географическая отдаленность между ними более 3 тыс. км, широтная (с севера на юг) – около 1000 км. В условиях Польши высевали 7 кг/га семян, на европейском Севере норма составляла 3 кг/га. Все популяции происходят из семян, выращенных в одной местности (Архангельская область). Минеральные и органические удобрения, химические средства защиты растений во время культивирования не применялись.

Для обеих природных зон (соответственно для европейского Севера и центрально-западной Польши) достаточно близкими являются тип почвы (супесчаные дерново-подзолистые на водно-ледниковых двучленных отложениях, окультуренные минеральные), уровень кислотности и плодородия (рНКCl обменная 6.4-6.5 и 6.0-6.6; гумус 1.5-3.6 и 2.0-3.1 %), содержание минеральных веществ (K2O 7.1-12.3 и 11.2-13.7; P2O5 18.0-31.2 и 13.6-21.0 мг/100 г; MgO 1.0-1.4 и 2.6-3.7 мг-экв/100 г), параметр увлажненности почвы во время массового отрастания в мае и апреле (14-16 и 11-15 %). Северные почвы несколько богаче фосфором, центральной части Польши – по содержанию калия и магния.

На европейском Севере сумма температур свыше +5 / +10 градусов составляет 1936 / 1577 °С против 2505-2700 / 2105-2200 °С в условиях Польши, а свыше 15 градусов – 911 °С против 1335-1500 °С [2]. Длина светового дня, наоборот, на Европейском Севере больше во время активной вегетации растений, чем в Польше (16-20 часов в мае-июне против 14-16 в апреле-мае).

Климат европейского Севера умеренно-прохладный. Средняя температура января 14.3 °С, июля +17.4 °С. Зональный коэффициент увлажнения (отношение количества осадков к испарению) близок к 1.5. Среднедекадная относительная влажность воздуха в дневное время составляет 62-74 %, в отдельные летние засушливые периоды влажность днем опускается до 25-35 % и ниже; ночные и утренние часы происходит атмосферная конденсация водяного пара в виде росы [26]. Рельеф местности слабоволнистый, почвы супесчаные, дерново-среднеподзолистые, сформированы на двучленных отложениях. Верхний горизонт (I см) представлен частицами песка, с глубины 70-85 см преобладает среднесуглинистая фракция. По комплексу агрохимических показателей почва участка относится к высококультурным минеральным (почвенные пробы исследовали в ФГУ «Агрохимцентр Кировский» (г. Киров) общепринятыми методами).

Зональный коэффициент увлажнения (отношение количества осадков к испарению) близок к 1.5. Тип водного режима промыв За год выпадает 495-538 мм осадков, в т.ч. за теплый период 367-387 мм. Запасы продуктивной влаги в слое почвы 0-20 см за теплый период держатся в пределах 37-44 мм, а в слое 0-50 см – 55-70 мм, что достаточно для жизнедеятельности большинства многолетних культур. Влажность почвы в корнеобитаемом слое весной и в начале лета (май-первая половина июня) составляет 16 %, летний период (июль-август) характеризуется дефицитом влаги – 3-6 %, осенью (сентябрь-октябрь) влажность близка к оптимальным – 11-14 %. Среднедекадная относительная влажность воздуха в дневное время составляет 62-74 %, где наиболее низкие показатели приходятся на полуденное время – 54-57 %. В отдельные летние засушливые периоды влажность днем опускается до 25-35 % и ниже; в ночные и утренние часы происходит атмосферная конденсация водяного пара в виде росы.

Для территории характерна частая смена воздушных масс. Проникающие на территорию воздушные арктические массы служат причиной заморозков в воздухе и на поверхности почвы. Летом со стороны Атлантики и Баренцева моря часто вторгаются циклоны, вызывая похолодания и моросящие, а нередко и ливневые дожди. Скорость ветра составляет в среднем 4.2 м/сек за Ветры со скоростью 15 м/сек и более бывают очень редко (до 9 дней в году). Зимой преобладают южные ветры, летом северо-западные.

С. Осадков выпадает 550-650 мм в год, максимальное количество их приходится на летние месяцы, во второй половине летнего сезона часто бывают отдельные засушливые периоды [27]. °С, средняя температура июля +17...+18 °С. Климат центрально-западной части Польши, расположенной в Великопольско-Куявской низменности, умеренный, переходной от морского климата к континентальному, со значительными перепадами в течение сезонов – мягкие, влажные зимы и прохладные летние месяцы с большим количеством осадков. Средняя температура января от -1 до -4

Методы исследований

1. Изучение онтогенеза и его периодизацию – проводили на основе работ Т.А. Работнова (1983) и Л.Б. Заугольной с соавторами (1988). Календарный (абсолютный) возраст популяций отсчитывали со времени появления всходов. Биологический возраст растений устанавливался по методу полного онтогенеза, при котором процесс непрерывного развития разделяли на виргинильный (прегенеративный), генеративный и сенильный (постгенеративный) периоды. Возрастные состояния учитывались по доминирующей группе особей в структуре возрастного спектра. В виргинильном периоде выделяли возрастные состояния проростков (р), ювенильных (j), иматурных (im) и взрослых вегетативных растений (v). В генеративном периоде отслеживали отличительными особенностями молодых (g1), средневозрастных (g2) и старых генеративных растений (g3). Аналогичные работы проводили и в сенильном возрасте (s), где отдельно выделяли субсенильное возрастное состояние (ss), (см. приложение 1, рис.

2. Фенологические наблюдения проводили в соответствии с «Методическими указаниями по изучению коллекции многолетних кормовых трав» (1985). Отмечали даты наступления и завершения следующих фаз: в цикле вегетативных (розеточных) побегов отрастания, вегетации, отмирания и покоя; в цикле репродуктивных (генеративных) побегов – начала отрастания, бутонизации, начала цветения, массового цветения, плодоношения, отмирания. Периодичность наблюдений составляла: до фазы бутонизации 3-4 раза, цветения и плодоношения – 2 раза в неделю.

3. Исследование параметров окружающей среды. Влажность почвы определяли в корнеобитаемом слое почвы. Образцы отбирались по диагонали исследуемого участка в 6-10 точках, на глубину пахотного слоя 22-25 см, из которых формировали средний образец. Образцы в течение 7-10 дней доводили до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре, затем в течение 30 минут досушивали при 130 °С для удаления гигроскопической влаги.

Относительная влажность, температура воздуха и освещенность в фитоценозе фиксировались портативными цифровыми приборами. Температуру и влажность воздуха измеряли прибором PDT 300, позволяющего учитывать как текущие значения, так

4. Исследование роста и развития растений во время вегетации. В полевых условиях проводили изучение влияния различных природных и антропогенных факторов на рост и развитие растений во время их вегетации. Исследования проводили во время основных фаз развития – массового отрастания, стеблевания, бутонизации, цветения, плодоношения, осенней вегетации.

Среднесуточный рост побегов фиксировали с интервалом в 5-6 дней на 15-20 типичных, случайно выбранных на каждую фазу развития особях, в пределах каждой опытной делянки. Измеряли высоту вегетативных и генеративных побегов, размеры лист подсчитывали число вегетативных и генеративных побегов. Динамику роста учитывали, исходя из высоты наиболее развитых побегов в составе каждой особи. Измерения проводили от уровня почвы до верхушки побега в выпрямленном виде. Ширину листовой пластинки измеряли в самом ее широком месте. Численность побегов учитывали от основания корневища. Исследования часового прироста побегов проводили на микроделянках, где данные снимали через каждый час у 6 растений и сопоставляли с результатами измерений освещенности, относительной влажности и температуры.

5. Исследование продуктивности и структуры фитомассы. При отборе модельных особей для исследования биологического возраста, величины и качества фитомассы в агропопуляции закладывали трансекты в 5-6-кратной повторности, размерами 3.5 м, совпадающие с направлением рядков изучаемых растений. Для этого с учетных площадок случайным образом отбирали по типичных особей, надземную часть которых срезали на уровне поверхности почвы и высушивали до воздушно-сухого состояния

В надземной фитомассе выделяли морфологически разнородные органы – укороченные вегетативные (розеточные) и стебель генеративные (репродуктивные) побеги; среди розеточных и стеблевых листьев различали разновозрастные фракции. В каждой выборке исследовали 275-300 вегетативных побегов, содержащих 1100-1500 розеточных листьев, и 30-35 генеративных побегов 750-1000 стеблевых листьев. Листовые органы относили к отдельным фракциям, исходя из физиологического возраста и состава (размеры, опушенность, окраска, цельность листовой пластинки). В составе генеративных побегов идентифицировали: стебли, стеблевые листья разного физиологического возраста (верхние молодые, средние взрослые и нижние старые) и соцветие, вегетативных – фракции молодых, взрослых и старых листьев. У стеблей дополнительно выделяли апикальную (прицветную), верхнюю, среднюю и нижнюю (базипетальную) часть; у соцветий – цветоложе и семена.

Подземные органы анализировали в начале и в конце вегетации. В составе их выделяли корневище, главный корень, придаточные корни, а также мелкие корни 3-4 порядка разветвления. По результатам взвешивания на лабораторных весах устанавливали общую массу сухого вещества и долевое участие каждой фракции в общей структуре фитомассы (массовая доля в процентах). каждой фракции отбирали образцы для анализа химсостава.

6. Отбор и сушка растительных проб для химанализа. Отбор проб приурочивали к основным фазам развития растений – отрастанию, бутонизации, цветению, плодоношению и осенней вегетации. Разовую пробу (количество растительного материала взятого из одного места) отбирали по диагонали опытных участков случайным образом, которые затем объединяли в общий образец. Объем пробы для химической диагностики составляет 15-20 растений по каждому варианту. От каждого растения отбирали по 2 взрослых развитых листа – у *R. carthamoides* листовые пластинки вегетативных побегов длиной 30-40 см, у *S. sogonata* – апикальные части побегов и стеблевые листья среднего яруса длиной около 35 см. Образцы помещали в полиэтиленовые пакеты и переносили к месту сушки. Отобранные образцы подвергали высушиванию до воздушно-сухого состояния с целью прекращения микробиологических процессов и связанных с ними биохимических изменений.

Растительный материал (органы, элементы и фракции) сушили при переменной температуре от 23-25 до 35-40 °С и относительной влажности воздуха 25-40 % в соответствии с правилами по заготовке и сушке лекарственного сырья Справочник..., 1989). Сушку проводили в хорошо проветриваемом затемненном помещении, слоем 2-3 см на стеллажах, расположенных на высоте 40-60 см от уровня пола. После приобретения черешками состояния ломкости образцы измельчали на крупные части размерами 4-5 см, тщательно перемешивали, из которых отбирали средний образец методом квартования. До проведения химических анализов образцы массой 200-250 г хранили в закрытых полиэтиленовых пакетах, при комнатной температуре, в течение 3-5 месяцев.

7. Определение сухого вещества (общего количества влаги) экспресс-методом. Для приведения результатов химанализа образцов к единому показателю по абсолютно-сухому веществу в анализируемых образцах определяли содержание гигроскопической влаги экспресс-методом (Разумов, 1986). При этом образцы воздушно-сухого растительного материала массой около 2-3 г измельчали отрезки длиной по 8-12 мм, помещали в бюксы и выдерживали в течение 3 часов в сушильном шкафу и при температуре 120 °С (Разумов, 1986).

8. Определение содержания действующих веществ – экидистероидов (см. приложение 1, рис. 7-8). Изменчивость содержания экидистероидов в различных элементах лекарственного сырья отслеживали в фазы бутонизации и цветения, в онтогенезе агропопуляции – по возрастным периодам и состояниям, в сезонном цикле развития – с момента весеннего отрастания и до фазы покоя осенью. Объектами служили элементы, представляющие собой концентраторы экидистероидов, – листовые пластинки вегетативных побегов и апикальные части генеративных побегов, представленные цветоложем и семенами. Образцы вегетативных побегов отбирали в разные фазы развития от 20-25 растений (по 2 розеточных листа, генеративных (семена) – во время фазы плодоношения (от урожая соцветий массового сбора).

Образцы формировали из воздушно-сухого сырья методом квартования. Содержание экидистероидов определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ), с компьютерной обработкой данных по методу внутреннего стандарта (Пунегов и Савиновская, 2001). Анализы выполнены в биохимической лаборатории Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар.

Оборудование и режимы их работы: жидкостной микроколоночный хроматограф "Милихром-5-3", колонка 80x2 мм, сорбент Nucleosil C18, с размером частиц 5 мкм (ООО "Медикант", г. Орел, Россия); элюент вода-этанол-бутанол 75:24.2:0.8. Скорость элюирования 100 мкл/мин. Детектор УФ, λ=242 нм. Содержание суммы фитоэкидистероидов пересчитывали на абсолютно-сухое вещество. За следовые количества индивидуальных соединений принимали концентрацию их содержания в образцах менее 0.1 %. Долевое участие отдельных экидистероидов в образцах определялось, исходя из абсолютной величины их концентрации. Изменчивость их накопления в органах растений во время развития оценивали, исходя из соотношения высокоактивного экидистероида 20-гидроксиэкидизона и инокостерона к слабоактивному экидизону (20E, In/E).

9. Математическая обработка данных. Обработку показателей проводили стандартными методами вариационной и корреляционной статистики, с использованием модуля Statistica компьютерной программы Excel 2003. При оценке результатов исследований

отбираемых проб не анализировали; данные по единичным экземплярам, по виду отличающимся от нормальных, при обработке учитывали; к остаточному материалу и типичным особям применяли метод случайной выборки.

Динамику роста и развития побегов рассчитывали по результатам измерений 15-20-и растений. Продуктивность и структуру фитомассы растений определяли как среднее из 6-10-и особей. Биохимические анализы экидистероидов приводятся как средние 2-х биологических и 3-х аналитических повторностей. При оценке результатов исследований использовали значения среднего арифметического, коэффициенты корреляционных связей и уровни достоверности.

3.10.1. *Количество научных работ, опубликованных в ходе выполнения проекта*

4

3.10.2. *Количество научных работ, подготовленных в ходе выполнения проекта и принятых к печати в 2008 г.*

8

3.11. *Участие в научных мероприятиях по тематике проекта, которые проводились при финансовой поддержке Фонда*

1

3.12. *Участие в экспедициях по тематике проекта, проводимых при финансовой поддержке Фонда*

3.13. *Финансовые средства, полученные от РФФИ*

85000 руб.

3.14. *Вычислительная техника и научное оборудование, приобретенные на средства Фонда*

3.15. *Адреса (полностью) ресурсов в Internet, подготовленных авторами по данному проекту*

3.16. *Библиографический список всех публикаций по проекту*

1. Тимофеев Н.П. Биологические основы промышленного возделывания левзеи сафлоровидной и серпухи венценосной в агроценозе // Материалы X Международного симпозиума "Эколого-пуляционный анализ полезных растений: интродукция, воспроизводство, использование". – Сыктывкар, Коми НЦ УрО РАН, 2008. – С. 194-196.

2. Тимофеев Н.П. Диапазон ростовых реакций *Rhaponticum carthamoides* к температуре и влажности // Научные труды VIII Международной научно-методической конференции «Интродукция нетрадиционных и редких растений». – Мичуринск, Изд-во Мичуринского Госагроуниверситета РАСХН, 2008, Т. 2. – С. 141-144.

3. Тимофеев Н.П. Накопление и изменчивость содержания экидистероидов в лекарственном сырье Левзеи сафлоровидной // Сельскохозяйственная биология. Серия "Биология растений", 2008, № 5. – 12 С.

4. Тимофеев Н.П. Динамика структурного состава фитоэкидистероидов в генеративных побегах серпухи венценосной // Материалы V Всероссийской научной конференции "Химия и технология растительных веществ". – Сыктывкар-Уфа, Институт химии Коми НЦ УрО РАН, 2008. – С. 278.

3.17. *Приоритетное направление развития науки, технологий и техники РФ, в котором, по мнению исполнителей, могут быть использованы результаты данного проекта*
живые системы

3.18. *Критическая технология РФ, в которой, по мнению исполнителей, могут быть использованы результаты данного проекта*
биомедицинские и ветеринарные технологии жизнеобеспечения и защиты человека и животных

Подпись руководителя проекта