

на правах рукописи



Зиннер Надежда Сергеевна

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *HEDYSARUM ALPINUM* L. И
HEDYSARUM THEINUM KRASNOB. ПРИ ИНТРОДУКЦИИ В УСЛОВИЯХ
ЛЕСНОЙ ЗОНЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Специальность 03.02.01 – Ботаника

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск 2011

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении «Национальный исследовательский Томский государственный университет» на кафедре агрономии и в Сибирском ботаническом саду ТГУ

Научный руководитель: кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Свиридова Татьяна Петровна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Куприянов Андрей Николаевич

кандидат биологических наук, доцент
Елисафенко Татьяна Валерьевна

Ведущая организация: **Ботанический сад УрО РАН**
(г. Екатеринбург)

Защита состоится «22» декабря 2011 года в 14⁰⁰ на заседании диссертационного совета Д 212.267.09 при Национальном исследовательском Томском государственном университете, по адресу 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ТГУ.

Автореферат разослан « » ноября 2011 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



В.П. Середина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время многими исследователями отмечается все возрастающая потребность населения в лекарственных препаратах растительного происхождения. Почти полувековая практика применения химически синтезированных лекарственных средств продемонстрировала часто возникающие побочные реакции, осложнения и недостаточную эффективность данной терапии. По мнению ряда авторов (Саратиков, Краснов, 2004; Краснов, 2007), последние десятилетия характеризуются отчетливой тенденцией широкого использования в медицинской практике биологически активных веществ природного происхождения, преимущество которых заключается в малой токсичности, большей частью мягком действии и широким спектром фармакологической активности.

В результате усиления антропогенной нагрузки на природные популяции ценных и популярных лекарственных растений, в связи с их нерегламентированной заготовкой, человечество уже столкнулось с проблемой их массового исчезновения и сокращения численности. Интродукция растений и создание искусственных агропопуляций является одним из немногочисленных путей сохранения генофонда ценных лекарственных растений, часто находящихся под угрозой исчезновения.

Виды рода *Hedysarum* L., в том числе *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob., известны своими лекарственными свойствами и широко применяются в медицине, ряд видов рода являются ценными кормовыми и декоративными растениями (Федченко, 1948; Кормовые..., 1951; Медведев, Бухарин, 1965). В связи с массовыми заготовками сырья в природных местообитаниях и в целях сохранения биоразнообразия существует необходимость в интродукционных исследованиях и выращивании в культуре данных представителей р. *Hedysarum*.

Цель работы: Выявление биологических особенностей *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* Krasnob. в условиях интродукционного эксперимента в лесной зоне Западной Сибири и обоснование возможностей создания высокопродуктивных агропопуляций для расширения сырьевой базы лекарственных растений.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить онтогенез, особенности ритма роста и развития, репродуктивной биологии и изменчивости морфологических признаков *H. alpinum* и *H. theinum*.
2. Изучить сырьевую, семенную продуктивность и качество семян.
3. Определить содержание вторичных метаболитов, белка и активности ингибиторов трипсина с анализом сезонной и годичной динамики.
4. Установить интродукционную оценку изученным видам в условиях лесной зоны Западной Сибири.

Защищаемые положения:

1. В условиях интродукции в лесной зоне Западной Сибири особи *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* Krasnob. обладают широким диапазоном фенотипической изменчивости признаков вегетативной и репродуктивной сферы, высоким адаптационным и продуктивным потенциалом, что является предпосылкой создания высокопродуктивных интродукционных популяций в решении вопросов обеспеченности сырьем.

2. В условиях интродукционного эксперимента изучаемые представители р. *Hedysarum* характеризуются высоким содержанием биологически активных веществ, что дает возможность использовать надземную часть данных видов в качестве лекарственного сырья.

3. Высокая активность ингибиторов трипсина в листьях *H. alpinum* и *H. theinum* делает нежелательным использование данных видов в качестве кормовых растений, но позволяет использовать их в качестве источника растительных ингибиторов протеиназ для медицинских целей и производства кормовых добавок с высоким содержанием биологически активных веществ.

Научная новизна. Впервые изучены биологические особенности двух видов р. *Hedysarum* в условиях интродукции в лесной зоне Западной Сибири. Исследованы онтогенез, ритм роста и развития, семенная и сырьевая продуктивность, а также подробно описаны особенности репродуктивной биологии. Впервые проведена комплексная биохимическая оценка: определена сезонная и возрастная динамика количественного содержания ценных групп биологически активных веществ, изучена активность ингибиторов трипсина в листьях.

Теоретическая и практическая значимость. Многолетние интродукционные исследования и полученные биологические характеристики изучаемых видов позволили сформировать в условиях лесной зоны Западной Сибири производственные агропопуляции ценных лекарственных растений: *H. alpinum* и *H. theinum*, которые могут служить основой для разработки технологии их промышленного выращивания. Это, в свою очередь, является практически единственной альтернативой получения полноценного растительного сырья без нанесения ущерба природным популяциям.

Апробация работы. Основные результаты проведенных исследований представлены на девяти конференциях: 6 международных (Томск, 2005; Кемерово, 2006; Новосибирск, 2008; Симферополь, 2008; Мичуринск-наукоград РФ, 2008; Томск, 2010), 2 всероссийских (Новосибирск, 2006; Иркутск, 2010), 1 региональной (Новосибирск, 2004).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 6 в ведущих научных журналах, рекомендованных ВАК, получен 1 патент РФ и подана 1 заявка на патент РФ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 176 страницах машинописного текста и состоит из введения, шести глав, выводов, 3-х приложений, содержит 39 рисунков и 13 таблиц. Библиографический список включает 299 источников, из них 43 иностранных.

Благодарности. Автор выражает признательность своему научному руководителю, к.б.н., с.н.с. Свиридовой Татьяне Петровне за помощь в осмыслении материала. Искренне благодарна д.б.н. Г.И. Высочиной, с.н.с. Т.А. Кукушкиной и всем сотрудникам лаб. фитохимии ЦСБС СО РАН за консультации при освоении методик фитохимического анализа и моральную поддержку. Благодарю д.б.н. О.В. Дорогину, к.б.н., с.н.с. Е.В. Жмудь, н.с. С.Б. Нечепуренко за неоценимую помощь в интерпретации результатов по изучению активности ингибиторов трипсина и моральную поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ РОДА *HEDYSARUM* L. В РОССИИ

Приводится обзор истории изучения р. *Hedysarum*, а также современные научные гипотезы исторического происхождения, эволюционного развития и линий морфологической эволюции представителей рода.

2. ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись ценные лекарственные растения: копеечник альпийский *Hedysarum alpinum* L. и копеечник чайный *Hedysarum theinum* Krasnob. (сем. *Fabaceae* Lindl.) – многолетние травянистые поликарпические растения с ограниченными природными запасами сырья, в настоящее время имеющие статус нуждающихся в охране видов (Красная книга..., 1996; Курбатский, 2002).

Глава 2 состоит из четырех разделов. Раздел 2.1. и раздел 2.2. посвящены систематическому положению изучаемых представителей рода *Hedysarum*, приведена морфологическая характеристика и данные о распространении и экологии видов. В разделе 2.3. приведены сведения о химическом составе, основных действующих веществах *H. alpinum* L и *H. theinum* Krasnob. и известных к настоящему времени способах применения в народной и официальной медицине.

Материалы и методы исследований изложены в разделе 2.4.

Интродукционные исследования проводились в течение 2003–2010 гг. на экспериментальном участке Сибирского ботанического сада Томского государственного университета (СибБС ТГУ). При изучении морфобиологических особенностей семян (размеры, масса 1000 шт., всхожесть и энергия прорастания) использовали методики (Методические указания..., 1980; Лекарственное растениеводство..., 1984; ГОСТ Р 51096-97). Посевы в открытый грунт и определение влажности почвы проводили по общепринятым методикам (Летние..., 1973; Доспехов, 1979). При изучении ритма роста и сезонного развития использовали методики фенологических наблюдений (Бейдеман 1960; 1964; Лекарственное растениеводство..., 1984, Методика фенологических..., 1975). Семенную и сырьевую продуктивность определяли на 25 особях по методикам (Вайнагий 1973; 1974; Методические указания..., 1980; Левина, 1981; Николаева и др. 1999). При определении сырьевой продуктивности подземной части в связи с ограниченностью числа растений, объем выборки сокращали до 10–15 особей согласно методическим указаниям

(Рабинович, Шретер, 1986). Морфометрический анализ проводили на 20–25 разновозрастных особях в период максимального развития.

Определение онтогенетического состояния проводили на основании комплекса морфологических и биологических признаков, используя разработки и терминологию И.Г. Серебрякова (1952; 1962); Т.И. Серебряковой, (1964); Т.А. Работнова (1950); Е.Л. Нухимовского (1997; 1988; 2000).

Изучение биологии цветения и опыления проводили по методике А.Н. Пономарева (1960), для выявления фаз развития цветка определяли готовность рылец к оплодотворению по методу I. Robinson (1924), изучение морфологии пыльцевых зерен проводили по фотографиям, сделанных на электронном сканирующем микроскопе (Hitachi VP-SEM S-3400N). Фертильность пыльцевых зерен определяли по методике З.П. Паушевой (1988), жизнеспособность по методу Д.А. Транковского (1929).

Определение количественного содержания вторичных метаболитов проводили спектрофотометрически: флавонолов по методу В.В. Беликова, М.С. Шрайбер (1970), катехинов по методу М.Н. Запромётова (1964) с использованием Способа получения..., (1999), содержание мангиферина определяли методом Б.А. Кривута и др. (1967) и С.В. Русаковой, Е.Л. Нухимовского (1977) в нашей модификации. Содержание тритерпеновых сапонинов определяли по методике описанной в работе А.В. Киселевой и др. (1991). Активность водорастворимых ингибиторов трипсина определяли в миллиграммах чистого трипсина связанного ингибитором, на грамм воздушно сухой муки листьев по методу Ю.А. Гофмана и И.М. Вайсблая (1975) с использованием Методов биохимического..., (1987) с дополнениями О.В. Агафонова и др. (2002). Содержание белка определяли по методике Г.А. Бузун с соавторами (1982).

Комплексную оценку интродукционной успешности видов проводили по шкалам разработанным Н.А. Базилевской (1964), В.Н. Флоря (1987), Н.В. Трулевич (1979), В.П. Амельченко (2010).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ «MS Exell» и «STATISTICA 6.0». Для определения уровня изменчивости признаков, вычисляли коэффициент вариации CV, %, оценку его величины проводили по эмпирической шкале изменчивости С.А. Мамаева (1975). При проверке статистических гипотез использовали t-тест Стьюдента и не параметрический критерий Манна-Уитни (U-тест).

3. ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНА ИНТРОДУКЦИИ

В главе приведена характеристика географических, почвенно-климатических условий Томской области и экспериментального участка СибБС, представлена характеристика метеоусловий для каждого года интродукционного эксперимента.

4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *HEDYSARUM ALPINUM* И *HEDYSARUM THEINUM* В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ

4.1. Онтогенез изучаемых видов

В пункте 4.1.1. приведены общие теоретические и методологические подходы к описанию онтогенеза. Пункт 4.1.2. посвящен анализу литературы по вопросам биоморфологии и онтогенеза видов р. *Hedysarum* в природных условиях и при интродукции (Фомина, 1990; Хоциалова, 1990; Карнаухова 1994; 2007; 2009; Володарская, 1995; Ануфриева, 2005; Котухов, 2006; Асташенков, Нечепуренко, 2010). Результаты собственных исследований изложены в пункте 4.1.3. и далее.

4.1.3. Онтогенез *Hedysarum alpinum* в условиях интродукции

В онтогенезе *H. alpinum* нами выделены четыре периода и десять онтогенетических состояний.

Период первичного покоя **Семена (se)** Плод – членистый боб с 1–4 члениками. Семена бобовидные, имеют размеры: 3.02 ± 0.09 мм длина 1.97 ± 0.09 мм ширина

Прегенеративный период

Проростки (р) Прорастание семян надземное, проросток представлен моноподиально нарастающим однопочковым растением с 2–3 простыми округлыми листьями (рис. 1)

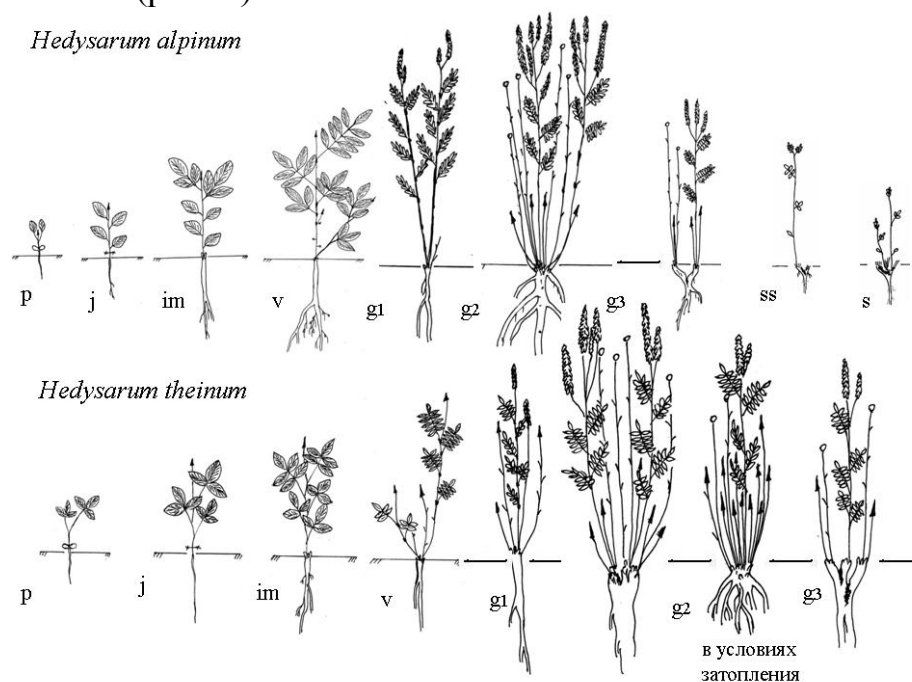


Рис. 1. Схема онтогенеза *H. alpinum* и *H. theinum* в условиях интродукции (СибБС). Условные обозначения: ↑ – вегетативный побег; ♀ – генеративный побег

Длительность состояния проростков 25–33 дня. Главный корень, не ветвящийся с редкими корневыми волосками. **Ювенильные особи (j)** представлены ортотропным моноподиально нарастающим побегом, на оси которого разворачиваются 3–6 простых настоящих листьев и 1–3 чешуевидных. Главный корень ветвится до II порядка. Продолжительность ювенильного состояния 27–30 дней. **Имматурные особи (im)** имеют 2–4 пазушные почки, расположенные в пазухах чешуевидных листьев в базальной части побега,

особи остаются однопобеговыми. Онтогенетическое состояние характеризуется появлением нового типа листа – тройчатого. Базальная часть главного корня утолщается, появляются боковые корни III порядка. В осенний период, после отмирания надземной части побега, его базальная часть сохраняется, втягивается в почву и впоследствии становится основой для формирования каудекса. Продолжительность состояния 50–56 дней. **Виргинильные особи (v)** одно – двупобеговые, в данное онтогенетическое состояние вступают на второй год жизни. Возобновление и ветвление особи осуществляется за счет реализации почек, расположенных в пазухах чешуевидных листьев. На оси побега разворачиваются 3–5 пар непарноперистых сложных листьев и 2–4 чешуевидных. Начинает формироваться каудекс состоящий из оставшейся после осеннего отмирания надземной части побега. За счет ветвления особи и симподиального нарастания побегов, каудекс становится многоглавым, представлен резидами от побегов прошлого года. Стержневой корень продолжает ветвиться и углубляется до 16.0–18.0 см. Длительность онтогенетического состояния 3–6 месяцев.

Генеративный период

Около 80 % растений от общего числа особей интродукционной популяции в генеративную фазу развития вступают на 2–3 ий год жизни. **Молодые генеративные особи (g₁)** имеют моноциклические ортотропные побеги удлинённого типа (1–2 генеративных), на которых разворачиваются 15–19 непарноперистых сложных листьев (состоящих из 4–7 пар листочков) и 3–4 чешуевидных листа. Генеративные органы закладываются в терминальной почке в летний период, в год цветения особи. Соцветие фрондозно-фрондулезная открытая сложная кисть. Многоглавый каудекс состоит из резидов разного порядка. От главного корня отходят утолщенные боковые корни, главный корень проникает в почву на глубину более 50.0 см. Длительность описанного состояния составляет 1–2 года. У **средневозрастных генеративных особей (g₂)** формируются 1–2 вегетативных и до 10 генеративных побегов, высотой до 185 см. В узлах генеративного побега развивается 20–25 сложных листьев (состоящих из 7–9 пар листочков), в базальной части побега 3–5 чешуевидных листьев. Соцветие ветвится, образуются брактеозные кисти II и III порядка, потенциальная семенная продуктивность достигает 2668 семязачатков на побег. Нереализованные почки возобновления, осенью, вместе с остатками от побега втягиваются в почву и становятся спящими. Многоглавый каудекс состоит резидов разного возраста и порядка. Главный и боковые корни удлиняются и утолщаются, диаметр главного корня 2.6 ± 0.3 см. Продолжительность состояния 5–9 лет. **Старые генеративные особи (g₃)** отмечаются на 12–13 год жизни, уменьшается число генеративных побегов до 2–5 на особь, и показатели потенциальной семенной продуктивности до 670–470 семязачатков на генеративный побег, онтогенетическое состояние продолжается 1–3 года.

Постгенеративный период

Особи **субсенильного онтогенетического состояния (ss)** имеют 1–2 вегетативных побега, с 6–8 непарноперистыми листьями. Вегетативные побеги

развиваются из спящих почек, расположенных на многолетней части каудекса. Листовая пластинка приобретают черты листьев имматурных особей, при этом уменьшается число пар листочков. Каудекс разрушается, полной партикуляции не происходит. Подземная часть представлена многолетней живой частью каудекса с расположенными на ней небольшим числом спящих почек. Длительность онтогенетического состояния 2–3 года. У **сеньных особей (ss)** отмечено накопление отмерших частей в подземной сфере. Многолетние главы несут сильно угнетенные вегетативные побеги в числе 1–2. Вегетативные побеги разворачиваются из низлежащих, по положению спящих почек. Каудекс, в центральной своей части разрушен. Продолжительность онтогенетического состояния 1–2 года, в зимний период покоя сеньные особи погибают.

4.1.4. Онтогенез *Hedysarum theinum* в условиях интродукции

Развитие особей *H. theinum* достоверно прослежено нами только до старого генеративного онтогенетического состояния. В онтогенезе *H. theinum* выделено три периода и восемь онтогенетических состояний (рис. 1).

Период первичного покоя Семена (se) Плод – членистый боб, имеющий 2–5 членика, семена бобовидные, имеют размеры: 3.9 ± 0.1 мм длины и 2.8 ± 0.02 мм ширины.

Прегенеративный период **Проростки (p)**. Тип прорастания семян надземный, надземная часть представлена первичным ортотропным моноподиально нарастающим побегом, с 2–3 зелеными тройчатыми листьями, главный корень не ветвящийся. Длительность состояния проростков 30–49 дней. **Ювенильные особи (j)** имеют 4–5 настоящих тройчатых листа и 1–2 чешуевидных. Главный корень имеет боковые корни II порядка. Продолжительность онтогенетического состояния около 60–70 дней. **Имматурные особи (im)** – однопобеговые растения высотой 8–10 см. На оси удлиненного побега разворачиваются 4–6 тройчатых листьев. Побег следующего года закладывается в почке, расположенной в пазухе 1–3 чешуевидного листа в базальной части побега. Происходит дальнейшее утолщение главного корня, появляются боковые корни III порядка. Большая часть развивающихся растений переходит в следующий вегетационный сезон (около 60 % всей численности интродукционной популяции) в имматурном онтогенетическом состоянии. **Виргинильные особи (v)** представлены кустом, который состоит из 2–4 побегов, возобновление и ветвление особи происходит за счет почек, сформированных в пазухах чешуевидных листьев (2–4 шт.) в базальной части побега. Листья становятся непарноперистыми (6–9 шт., состоят из 4–7 пар листочков). Основой для формирования каудекса становятся остатки базальных частей побегов, оставшихся после перезимовки. Стержневой корень углубляется в почву на 20–30 см. Продолжительность онтогенетического состояния 1–2 года.

Генеративный период

Около 80 % особей в репродуктивную фазу развития вступают на третий год жизни. **Молодые генеративные особи (g₁)** представлены особями с моноциклическими ортотропными побегами удлиненного типа высотой 59–70 см (1–3 генеративных и 3–5 вегетативных), с 10–13 непарноперистыми

листьями (состоящих их 4–6 пар листочков) и 3–4 чешуевидными. Соцветие представлено фрондозной двойной сложной кистью, состоящей из частных соцветий–брактеозных простых кистей. Потенциальная семенная продуктивность достигает 20–60 семян на генеративный побег. Каудекс многоглавый состоит из системы резидов разного возраста. В ходе развития особи, за счет ветвления куста, отмечается разрастания многоглавого каудекса. Наблюдается образование мощных боковых корней. Продолжительность онтогенетического состояния 3–4 года. **Средневозрастные генеративные особи (g_2)** представлены хорошо сформированным разветвленным кустом, каудексом и главным корнем. В кусте насчитывается до 40 генеративных побегов, высотой от 90 до 120 см, с 10–14 парами сложных непарноперистых листьев и 4–6 чешуевидными. Потенциальная семенная продуктивность в среднем составляет 470 семян на побег. Соцветие ветвится, образуя брактеозными кистями II и III-го порядка. Каудекс многоглавый, его симподиальный остов состоит из резидов разного возраста. Главный корень продолжает ветвиться и уходит в почву на глубину более метра. Отмечено, что на пониженных участках рельефа, в условиях весеннего подтопления и продолжающегося избыточного увлажнения, наблюдается редукция главного корня, увеличение числа точек роста и интенсивности его ветвления, что по нашему мнению, приводит к формированию короткостержнекорневой многоглавой биоморфы. Продолжительность генеративного состояния около 10–12 лет. У особей **старого генеративного состояния (g_3)** в кусте развиваются 1–4 генеративных и 15–20 вегетативных побега, высотой 85–105 см с 12–14 непарноперистыми листьями. Потенциальная семенная продуктивность снижена до 50–70 семян на побег. Вследствие процесса акронекроза начинается частичная партикуляция каудекса. Центральный цилиндр корня начинает разрушаться.

Изучаемые виды р. *Hedysarum* в условиях интродукции (лесная зона Западной Сибири) это стержнекорневые каудексообразующие травянистые поликарпики с удлинёнными моноциклическими генеративными и вегетативными побегами, виды имеющие моноцентрический тип биоморфы.

4.2. Ритм роста и сезонного развития

Весеннее отрастание *H. alpinum* наблюдается в первой-второй декаде мая, начало бутонизации отмечено 10–20 июня; в период массовой бутонизации начинают появляться первые единичные цветки, их появление наблюдается в конце июня – первой декаде июля. Плодоношение отмечено с середины июля до первой декады августа. Конец вегетации в зависимости от метеорологических условий года фенонаблюдений, отмечен в середине – конце сентября, продолжительность вегетационного сезона составляет в среднем 119–140 дней. Весеннее отрастание *H. theinum* отмечено в конце апреля – первых числах мая, начало бутонизации наблюдается в конце мая – начале июня. Первые цветки появляются в третьей декаде июня, в годы с ранней весной в начале июня. Массовое плодоношение наступает в начале июля, семена созревают в конце июля – начале августа. Продолжительность вегетационного сезона, в зависимости от года наблюдений 130–140 дней. У исследуемых видов

нами наблюдалось явление отсутствия плодоношения, при проходящем процессе цветения: у *H. theinum*, явления принимали масштабный характер, вплоть до полного отсутствия семян, у *H. alpinum* отмечены явления единичной деградации цветков на соцветии. Возможно, эти явления связаны с возникновением аномалий в развитии семязачатков или отсутствия оптимальных условий для прорастания пыльцевых трубок.

Ритм развития исследуемых видов проходит с правильным чередованием фенофаз, смена происходит через промежутки времени, остающиеся относительно стабильными в течение нескольких лет наблюдений. По классификации, описанной И.Г. Серебряковым (1964); И.В. Борисовой (1972) *H. alpinum* и *H. theinum*, в условиях лесной зоны Западной Сибири относятся по феноритмотипам к группе весенне–летне–осеннезеленых длительновегетирующих, летнецветущих растений с периодом зимнего покоя. Наличие в феноструктуре интродукционной популяции групп ранне – средне – и позднецветущих растений, говорит о ее экологической пластичности и является результатом происходящего процесса адаптогенеза. Темп роста генеративного побега у изучаемых копеечников одинаков и имеет тенденцию максимально прирастать в периоды вегетации – начала бутонизации (май – середина июня).

4.3. Особенности биологии цветения и опыления

По характеру суточного ритма распускания цветков исследуемые копеечники принадлежат к группе дневных энтомофильных растений. В условиях интродукционного эксперимента для *H. alpinum* и *H. theinum* характерна ксеногамия обусловленная протекающей дихогамией в форме протандрии, для *H. theinum* отмечены единичные и необязательные случаи автогамии.

По классификации G. Erdtman, (1945), пыльцевые зерна изучаемых копеечников мелкие (*H. theinum*) и средние (*H. alpinum*), трех борозднооровые, одиночные, изополярные, радиально-симметричные, почти сферической формы. Экваториальный диаметр зрелых пыльцевых зерен *H. alpinum* колеблется от 9.42–11.7 мкм полярная ось от 21.9 до 25.4 мкм; фертильность пыльцевых зерен максимальна у средневозрастных особей и составляет 92–98 %; жизнеспособность 61–70 %. Экваториальный диаметр пыльцевых зерен *H. theinum* колеблется от 9.42 до 13.3 мкм, полярная ось от 17.6 до 23.5 мкм, фертильность пыльцевых зерен в среднем 75–98 %; жизнеспособность 44–49 %.

4.4. Семенная и сырьевая продуктивность, качество семян.

В целом, средневозрастные особи *H. alpinum* и *H. theinum* характеризуются высокими показателями потенциальной (ПСП) и реальной (РСП) семенной продуктивности (табл.). При формировании семян *H. alpinum* и *H. theinum* наиболее значимы погодные условия июня–июля, поскольку именно в это период происходит реализация репродуктивной функции. Установлено, что масса 1000 штук семян у средневозрастных особей *H. alpinum* варьирует в среднем от 5.3 ± 0.2 до 6.1 ± 0.2 гр., у *H. theinum* от 8.7 ± 0.1 до 10.1 ± 0.3 гр. Лабораторная всхожесть семян *H. alpinum* 92–95 % сохраняется в течение 3-х лет, затем снижается до 40–70 %, после 8–9 лет хранения семена теряют

всхожесть, грунтовая всхожесть ниже лабораторной в 2 раза. Лабораторная всхожесть *H. theinum* 48–51 % сохраняется в течение 2-х лет, затем снижается до 28 %. Механическая скарификация увеличивает всхожесть и энергию прорастания семян изучаемых копеечников в 2 раза, при этом значительно сокращается срок прорастания.

Средневозрастные особи *H. alpinum* имеют показатели сырьевой продуктивности (трава) в среднем 136.7 ± 7.8 гр. сухого сырья с особи и около 36.2 ± 2.7 гр. семян, у *H. theinum* 254.0 ± 15.7 гр. и 40.3 ± 5.9 гр. соответственно.

4.5. Изменчивость фенотипических признаков вегетативной и репродуктивной сферы *Hedysarum alpinum* и *Hedysarum theinum*

Обнаружено, что морфологические признаки вегетативной сферы (высота побегов, число и размеры листьев) варьируют у особей интродукционных популяций *H. alpinum* на среднем (CV 13.3–17.2%) и высоком уровне значимости (CV 25.6 %). Признаки генеративной сферы (число семязачатков, цветков, соцветий, показателей ПСП и РСП) отличаются значительным уровнем варьирования (CV 43.0–45.8 %).

При изучении изменчивости признаков вегетативной сферы у особей *H. theinum* интродукционных популяций установлено, что признаки варьируют на среднем уровне значимости (CV 15.7–19.2 %). Эти же признаки особей природных мест обитания (Горный Алтай, г. Красная) варьируют на низком и среднем уровнях значимости (CV 11.3–18.6 %). Изменчивость признаков генеративной сферы у особей интродукционных популяций характеризовалась высоким и очень высоким уровнем изменчивости (CV 39.7–48.7 %), в природных местообитаниях признаки генеративной сферы *H. theinum* варьируют на высоком уровне значимости (CV=30.0–38.0 %) (табл., рис. 2).

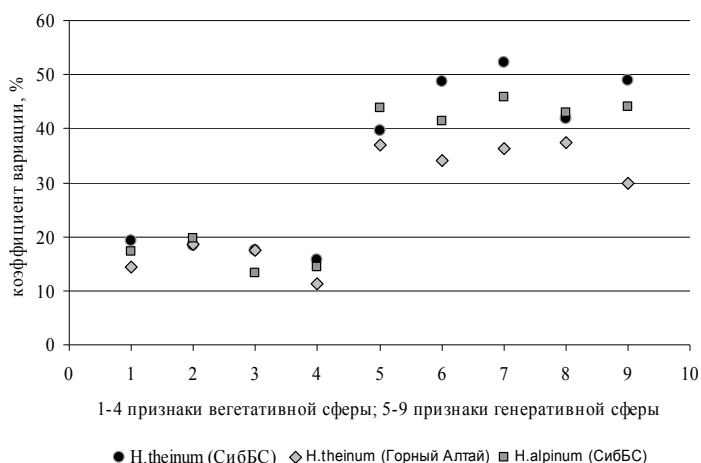


Рис. 2. Изменчивость морфологических признаков вегетативной и репродуктивной сферы особей *H. alpinum* (в условиях интродукции, СибБС) и *H. theinum* в условиях интродукции (СибБС) и в природных местообитаниях (Горный Алтай, г. Красная). Признаки: 1. высота растений; 2. число листьев; 3. длина листа; 4. ширина листа; 5. число семязачатков в бобе; 6. число соцветий на побеге; 7. число цветков на побеге; 8. ПСП; 9. РСП.

Таким образом, изучением внутривидовой изменчивости признаков интродукционных популяций исследуемых видов, обнаружена их значительная изменчивость, особенно признаков генеративной сферы.

Таблица
Внутрипопуляционная изменчивость морфологических признаков средневозрастных особей *Hedysarum alpinum* и *H. theimum*

Год	Высота побега, см	Число листьев, шт.	Размеры листьев		Число семязпочек, шт.	Число цветков, шт.	Число соцветий, шт.	Семенная продуктивность, на побег, шт.	
			длина, см	ширина, см				потенциальная	реальная
<i>Hedysarum alpinum</i>									
2007	<u>130.5±5.1</u> 18.6	<u>24.6±1.1</u> 25.2	<u>11.8±0.3</u> 11.3	<u>5.7±0.2</u> 13.3	<u>3.3±0.3</u> 39.0	<u>30.1±2.3</u> 42.4	<u>13.0±0.9</u> 57.6	<u>1291.1±59.0</u> 68.0	<u>421.9±39.1</u> 58.0
2008	<u>130.2±5.3</u> 14.5	<u>18.2±1.5</u> 35.8	<u>12.8±0.4</u> 14.5	<u>6.34±0.2</u> 16.5	<u>3.0±0.2</u> 43.0	<u>32.4±2.1</u> 30.0	<u>12.2±0.8</u> 30.0	<u>1032.0±43.9</u> 25.0	<u>523.2±13.2</u> 43.0
2009	<u>133.2±6.1</u> 17.0	<u>32.2±1.1</u> 18.0	<u>12.4±0.5</u> 16.0	<u>6.5±0.1</u> 12.0	<u>2.5±0.2</u> 55.6	<u>35.3±4.6</u> 60.0	<u>19.0±0.7</u> 52.0	<u>1492.2±49.2</u> 35.0	<u>451.1±10.9</u> 49.7
2010	<u>149.9±5.0</u> 18.7	<u>28.6±0.9</u> 23.5	<u>13.4±0.2</u> 11.4	<u>6.5±0.2</u> 15.4	<u>2.8±0.4</u> 38.0	<u>35.4±3.2</u> 51.0	<u>13.6±0.7</u> 36.0	<u>1256.0±89.3</u> 44.0	<u>425.7±22.3</u> 30.0
<i>Hedysarum theimum</i>									
2007	<u>100.0±9.3</u> 31.2	<u>15.9±1.1</u> 24.0	<u>12.7±0.9</u> 22.0	<u>5.7±0.3</u> 20.5	<u>4.1±0.4</u> 52.5	<u>16.0±2.0</u> 49.0	<u>3.2±0.5</u> 46.0	<u>210.8±15.5</u> 41.3	<u>48.5±3.4</u> 53.8
2008	<u>109.8±5.6</u> 18.0	<u>14.0±0.6</u> 14.5	<u>16.2±0.4</u> 18.4	<u>6.6±0.4</u> 17.0	<u>3.8±0.2</u> 37.0	<u>25.3±1.7</u> 37.0	<u>3.7±0.4</u> 47.0	<u>323.7±7.6</u> 20.0	<u>57.9±2.2</u> 50.0
2009	<u>107.7±4.0</u> 15.4	<u>13.9±0.8</u> 16.5	<u>15.2±0.6</u> 13.0	<u>6.45±0.1</u> 13.0	<u>3.9±0.2</u> 40.0	<u>15.4±3.8</u> 41.0	<u>4.0±0.3</u> 47.0	<u>263.2±48.4</u> 58.6	<u>51.5±2.2</u> 60.0
2010	<u>118.9±4.5</u> 12.2	<u>13.1±0.6</u> 18.3	<u>14.5±0.6</u> 17.1	<u>6.8±0.3</u> 12.6	<u>3.5±0.1</u> 30.0	<u>18.9±3.1</u> 43.0	<u>3.8±0.6</u> 55.0	<u>266.4±23.4</u> 48.0	<u>163.5±10.6</u> 23.0
2010*	<u>76.1±1.6</u> 14.3	<u>8.3±0.5</u> 18.6	<u>16.1±0.9</u> 17.4	<u>8.8±0.3</u> 11.3	<u>3.3±0.3</u> 37.0	<u>20.6±2.1</u> 37.0	<u>2.8±0.2</u> 36.0	<u>196.7±14.8</u> 38.0	<u>57.0±3.1</u> 30.0

Примечание: В числителе средняя величина признака, в знаменателе приведен коэффициент вариации;
* данные *H. theimum* природных популяций (Горный Алтай, Усть-Коксинский район, г. Красная)

5. БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *HEDYSARUM ALPINUM* И *HEDYSARUM THEINUM* В УСЛОВИЯХ ИНТРОДУКЦИИ.

5.1. Вторичные метаболиты

5.1.1 Динамика содержания флавонолов, катехинов, тритерпеновых сапонинов

Средневозрастные особи *H. alpinum* способны синтезировать в надземной части от 4.6 до 9.1 % флавонолов, от 0.34 до 0.7 % катехинов с максимумом содержания в фазах вегетации и бутонизации и постепенным снижением к фазе плодоношения (рис. 3) и от 1.95 % до 15.1 % тритерпеновых сапонинов с максимумом в фазе плодоношения и минимумом в фазу вегетации.

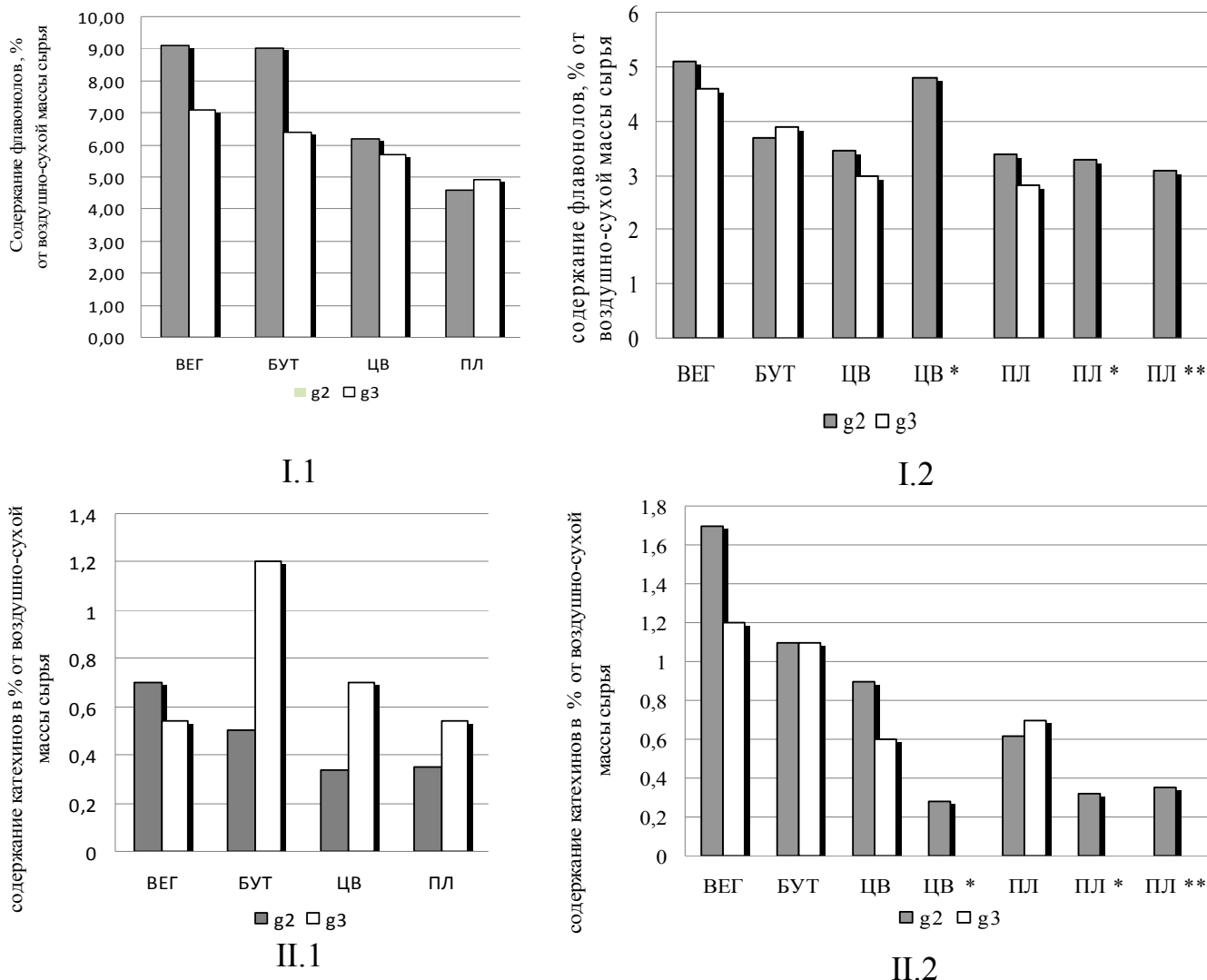


Рис. 3. Динамика количественного содержания флавонолов и катехинов в средневозрастных (g₂) и старых генеративных особях (g₃) *H. alpinum* (I.1; II.1) и *H. theinum* (I.2; II.2):

Примечание. *данные средневозрастных особей *H. theinum* природных мест произрастания (Горный Алтай, пер. Семинский); **данные средневозрастных особей *H. theinum* Горный Алтай, г. Красная.

Средневозрастные особи *H. theinum* в условия культуры синтезируют от 3.4 до 5.1 % флавонолов и от 0.62 до 1.7 % катехинов (рис. 3.), максимальное содержание тритерпеновых сапонинов отмечено в фазу вегетации 13.6 %, к фазе плодоношения снижается до 6.6 %.

Средневозрастные особи *H. theinum* в природных местах обитания (Горный Алтай, пер. Семинский и г. Красная) накапливают в фазы цветения – плодоношения 3.09–4.8 % флавонолов и 0.28–0.35 % катехинов, что почти в 2 раза ниже, чем в условиях интродукции в эти же фазы (рис. 3).

В корнях разновозрастных особей *H. alpinum* накапливается 0.05–1.07 % катехинов, *H. theinum* 0.6–5.9 % (максимально в конце вегетации); тритерпеновых сапонинов до 15.4 % у *H. alpinum* и до 10.7 % у *H. theinum* (максимально в начале вегетации).

5.1.2. Динамика содержания ксантоновых гликозидов

Изучением динамики накопления основного действующего вещества – мангиферина и всей суммы ксантонов, установлена общая для двух видов тенденция максимально синтезировать ксантоны в фазы вегетации – бутонизации. Содержание мангиферина у особей *H. alpinum* в надземной части колеблется от 1.6 до 3.0 % (рис. 4), суммы ксантонов от 1.9 до 4.1 %. Особи *H. theinum* синтезируют от 1.06 до 2.1 % мангиферина (рис. 4) и 1.4–2.8 % всей суммы ксантонов.

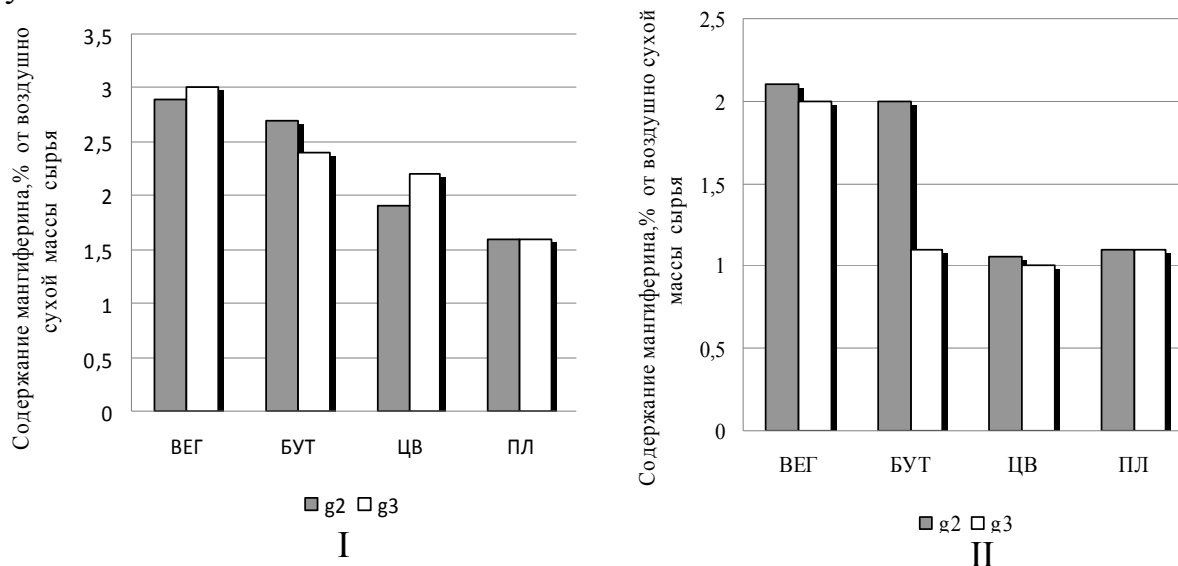


Рис. 4. Количественное содержание мангиферина в надземной части средневозрастных (g_2) и старых генеративных особях (g_3) *H. alpinum* (I) и *H. theinum* (II) в различные фазы фенологического развития.

Необходимо отметить, что максимальные показатели количественного содержания вторичных метаболитов, в целом характерны для средневозрастных особей.

5.2. Активность ингибиторов трипсина и содержание белка в изучаемых видах

Активность ингибиторов трипсина (АИТ) в листьях средневозрастных растений *H. alpinum* варьирует от 34.1–43.5 мг/г, с максимумов в фазу цветения и постепенным снижением к плодоношению. Установлено, что активность ингибиторов трипсина в листьях *H. theinum* зависит от года исследований, так в 2010 году она была втрое ниже (27.5–44.3 мг/г), чем в 2009 (99.5–127.9 мг/г), общая динамика при этом сохранялась, минимальное значение активности приходилось на фазу цветения. В условиях Горного Алтая в 2010 г. величина

признака составляла 24.0–61.8 мг/г, с максимумом в фазу цветения. Особи *H. alpinum* характеризовались средней величиной изменчивости АИТ в фазы бутонизации и цветения и значительной в фазы плодоношения. Особи *H. theinum* характеризовались высокой изменчивостью признака АИТ во все фазы сезонного развития.

Содержание белка в листьях средневозрастных особей *H. alpinum* колебалось от 12.8 до 23.2 %, *H. theinum* от 14.4 до 24.8 %.

6. ИНТРОДУКЦИОННЫЙ ПРОГНОЗ И ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ *HEDYSARUM ALPINUM* И *HEDYSARUM THEINUM* В УСЛОВИЯХ ЛЕСНОЙ ЗОНЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ.

В условиях лесной зоны Западной Сибири изученные виды копеечников зимостойки, устойчивы к болезням, характеризуются достаточно высокой семенной продуктивностью и всхожестью семян, в большей степени *H. alpinum* и в меньшей *H. theinum*.

По шкале Н.А. Базилевской (1964) изучаемые копеечники относятся ко II и III ступеням устойчивости, т.е. проходят полный цикл развития, образуют жизнеспособные семена.

По шкале Н.В. Трулевич (1979), виды можно отнести к четвертой (*H. theinum*) и пятой (*H. alpinum*) группам устойчивости, для них характерно прохождение полного годичного цикла развития побегов, виды успешно размножаются, могут давать самосев, но самостоятельно не размножаются (IV группа) и проходят полный цикл развития побегов, интенсивно размножаются и дают самосев, способны к самовозобновлению (V группа). По шкале В.Н. Флоря (1987), виды нами отнесены к VIII и IX-ой ступеням акклиматизации, с суммой баллов 40–43. По классификации В.П. Амельченко (2010), особи *H. alpinum* и *H. theinum* характеризуются высоким уровнем адаптивности (42–45 баллов).

ВЫВОДЫ

1. При интродукции в условиях лесной зоны Западной Сибири у *H. alpinum* и *H. theinum* выявлена ритмологическая поливариантность онтогенеза. В условиях избыточного увлажнения у *H. theinum* отмечена морфологическая поливариантность, проявляющаяся в формировании короткостержнекорневой многоглавой биоморфы.

2. По феноритмотипам изучаемые виды р. *Hedysarum* относятся к группе весенне-летне-осеннезеленых длительновегетирующих растений с периодом зимнего покоя. По срокам цветения виды принадлежат к группе летнецветущих видов. Ритм сезонного развития устойчив, стабилен, с правильным чередованием фаз. Наличие групп ранне- средне- и позднецветущих особей свидетельствует о экологической пластичности видов.

3. По характеру суточного ритма распускания цветков изучаемые виды принадлежат к группе дневных растений. Для *H. alpinum* и *H. theinum* характерна ксеногамия обусловленная протекающей дихогамией в форме

протандрии, для *H. theinum* отмечены единичные и необязательные случаи автогамии.

4. Зрелые пыльцевые зерна исследуемых копеечников одиночные, изополярные, трех борозднооровые, почти сфероидной формы, характеризующиеся высокой фертильностью (87–98 %) и достаточно высокой жизнеспособностью (60–83 %).

5. Масса 1000 шт. семян *H. alpinum* варьирует от 5.5–6.3 гр., лабораторная всхожесть от 92–95 %, у *H. theinum* от 8.7 до 10.1 гр., всхожесть семян от 48–51 %, механическая скарификация значительно увеличивает всхожесть и энергию прорастания.

6. В условиях лесной зоны Западной Сибири изучаемые виды р. *Hedysarum* отличаются высокими показателями реальной (РСП) и потенциальной семенной продуктивности (ПСП), наибольшие показатели отмечены у средневозрастных особей: *H. alpinum* ПСП до 2640 шт. семян и РСП до 841 шт. семян на генеративный побег, у *H. theinum* до 323.7 шт. семян и до 163.5 шт. семян соответственно.

7. Особи *H. alpinum* и *H. theinum* отличаются значительной изменчивостью фенотипических признаков, особенно признаков генеративной сферы, что отражает гетерогенность интродукционных популяций.

8. В условиях интродукционного эксперимента, изучаемые копеечники способны синтезировать высокое количество биологически активных веществ фенольной и терпеноидной природы. Высокое содержание ксантонового гликозида мангиферина и суммы ксантонов в надземной части *H. theinum* и *H. alpinum*, позволяют рекомендовать их как источник получения биологически активных веществ.

9. В листьях интродуцированных видов рода *Hedysarum* обнаружено достаточно высокое содержание белка, однако высокая активность ингибиторов трипсина должна учитываться при использовании растений в кормовых целях. Изучаемые виды могут рекомендоваться в качестве кормовой добавки с высоким содержанием биологически-активных веществ, а также могут служить источником растительного сырья, обладающего высокой трипсинингибирующей активностью в медицинских целях.

10. Интродуцируемые в условиях лесной зоны Западной Сибири *Hedysarum alpinum* и *H. theinum* отнесены к устойчивым видам с высоким уровнем адаптивности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для обеспечения высокой всхожести, энергии прорастания семян при посеве в грунт и высокой жизнеспособности сеянцев, рекомендуется в качестве предпосевной обработки использовать механическую скарификацию мелкой наждачной бумагой в течение 2–3 минут.

2. Семена рекомендуется хранить не более трех лет, посев предпочтительно производить в весенние сроки, высевать в ряды с глубиной заделки 1.5–2.0 см на легких и 1.0–1.5 см на суглинистых почвах и междурядьями в 60 см.

3. Оптимальными сроками для заготовки надземной части следует считать фазы бутонизации и цветения в период максимального накопления основных действующих веществ. С целью получения максимального выхода тритерпеновых сапонинов подземную часть следует заготавливать в фазу начала вегетации. Для максимального получения катехинов подземную часть копеечников следует заготавливать в конце вегетации. Заготовку сырья рекомендуется проводить с третьего-четвертого года жизни.

Список работ опубликованных по теме диссертации:

В изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Свиридова Т.П., **Зиннер Н.С.** Интродукция флавоноидосодержащих лекарственных растений в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета // Вестник Томского государственного университета. 2007. № 305. С. 211–214.

2. Морякина В.А., Свиридова Т.П., Беляева Т.Н., Степанюк Г.Я., Амельченко В.П., **Зиннер Н.С.** Сохранение биоразнообразия растений мировой флоры в Сибирском ботаническом саду Томского госуниверситета // Информационный Вестник Всероссийского общества генетиков и селекционеров. 2008. Т. 12. № 4. С. 555–563.

3. Свиридова Т.П., **Зиннер Н.С.** Перспективы выращивания *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob. в условиях Томской области // Вестник Томского государственного университета. 2008. № 2(3). С. 5–11.

4. **Зиннер Н. С.** Кукушкина Т. А. Высочина Г. И. Свиридова Т. П. Биологически активные вещества *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* интродуцируемых в Томскую область // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 4(12). С. 116–122.

5. Жмудь Е. В. **Зиннер Н. С.** Содержание белка и активность ингибиторов трипсина в листьях интродуцируемых в Западную Сибирь *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob. // Растительные ресурсы. 2011. Т. 43. Вып. 3. С. 103–111.

6. Кукушкина Т.А., **Зиннер Н.С.**, Высочина Г.И., Свиридова Т.П. Содержание ксантонов в надземной части растений *Hedysarum theinum* Krasnob. и *H. alpinum* L. (*Fabaceae*) при выращивании в Сибирском ботаническом саду (г. Томск) // Химия растительного сырья. 2011. № 3. С. 113–116.

В других изданиях:

7. Свиридова Т.П. **Зиннер Н.С.** Некоторые особенности семенного размножения *Hedysarum alpinum* L. при интродукции на юге Томской области // Тезисы докладов II молод. конф. Новосибирск. 2004. С. 57–56.

8. Свиридова Т.П., **Зиннер Н.С.** Особенности ранних этапов онтогенеза *Hedysarum alpinum* L. при интродукции на юге Томской области // Проблемы изучения растительного покрова Сибири: мат. III междунар. науч. конф., посвященной 120-летию Гербария им. П.Н. Крылова Томского гос. ун-та (Томск, 16–18 ноября 2005г.). Томск. 2005. С. 148.

9. Свиридова Т.П., **Зиннер Н.С.** Перспективы выращивания *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob. в условиях Томской области // Роль

ботанических садов в сохранении биоразнообразия растительного мира азиатской России: настоящее и будущее. Мат. всерос. конф., посвященной 60-летию Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (Новосибирск, 17–19 июля 2006 г.). 2006. Новосибирск. С. 254–256.

10. Свиридова Т.П. **Зиннер Н.С.** Некоторые итоги интродукции *Hedysarum alpinum* L. в условиях Томской области // Проблемы промышленной ботаники индустриально развитых регионов: мат. докладов I междунар. конф. (Кемерово, 12–14 апреля 2006 г.). Кемерово. 2006. С. 98–101.

11. Свиридова Т.П. **Зиннер Н.С.** Редкие виды Сибирской флоры для лекарственного растениеводства // Интродукция нетрадиционных и редких растений: мат. VIII междунар. науч.-метод. конф. (8–12 июня 2008г.). Мичуринск. Т. 2. 2008. С. 120–123.

12. **Зиннер Н.С.** Особенности развития *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob. на юге Томской области в зависимости от почвенных условий // Нетрадиционное растениеводство. Селекция. Охрана природы. Эниология. Экология и здоровье: мат. XVII междунар. симпозиума (Алушта, 13–21 сентября 2008 г.). Симферополь. 2008. С. 258–259.

13. **Зиннер Н.С.** Биология цветения *Hedysarum alpinum* L. (*Fabaceae*) интродуцируемого в Томскую область // Проблемы изучения и сохранения растительного мира Евразии: матер. всерос. конф. с междунар. участием, посвященная памяти Л.В. Бардунова (Иркутск, 15–19 сентября 2010 г.). Иркутск. 2010. С. 397–398.

14. Жмудь Е.В., **Зиннер Н.С.** Трипсинингибирующая активность и содержание белка в листьях редкого для Сибири растения *Hedysarum theinum* Krasnob. (*Fabaceae*) // Проблемы изучения растительного покрова Сибири: матер. IV междунар. науч. конф., посвященная 125-летию Гербария им. П.Н. Крылова Томского гос. ун-та и 160-летию со дня рождения П.Н. Крылова (Томск, 1–3 ноября 2010 г.). Томск. 2010. С. 245–247.

15. **Зиннер Н.С.** Биология цветения *Hedysarum theinum* Krasnob. при интродукции на юге Томской области // Ботанические сады. Проблемы интродукции: тр. Томского госуниверситета. Т.274. сер. биологическая. Томск. 2010. С.173–175.

16. **Зиннер Н.С.** Свиридова Т.П. Биологические и химические особенности *Hedysarum theinum* Krasnob. при интродукции на юге Томской области // Ботанические сады в современном мире: теоретические и прикладные исследования: мат. всерос. конф. с междунар. участием, посвященная 80-летию со дня рожд. акад. Л.Н. Андреева (Москва, 5–7 июля 2010 г.). 2011. С.206–207.

Интеллектуальная собственность:

17. Патент РФ. Решение о выдаче патента на изобретение от 18 августа 2011. Способ увеличения семенной продуктивности и всхожести семян *Hedysarum alpinum* L. / Свиридова Т.П., **Зиннер Н.С.** Приоритет от 27.07.2010.

Тираж 100 экз.
Отпечатано в ООО «Позитив-НБ»
634050 г. Томск, пр. Ленина 34а