

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ У *AJUGA REPTANS* L. НА СЕВЕРНОЙ ГРАНИЦЕ ЕЕ АРЕАЛА (РЕСПУБЛИКА КОМИ)

© Л. И. Алексеева, Л. В. Тетерюк, В. В. Володин, Н. А. Колегова

Многие представители сем. *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Chenopodiaceae* и других (Dinan, 1995) являются продуцентами биологически активных экдистероидов — соединений, структурно идентичных или близких к гормонам линьки членистоногих. Растительные экдистероиды перспективны для использования в медицине в составе адаптогенных лекарственных препаратов. Роль экдистероидов в растениях еще не установлена. Согласно одной из гипотез считается, что фитоэкдистероиды являются аллелохимическими токсинами и антифидантами для неадаптированных видов беспозвоночных. В пользу экологической функции фитоэкдистероидов некоторые авторы относят неравномерность распределения экдистероидов по частям растений. Отличия в составе и содержании экдистероидов у различных видов связывают с их биохимическими особенностями и характерной для видов защитной стратегией. Это явление недавно было блестяще продемонстрировано на примере представителей сем. *Chenopodiaceae* (Dinan, 1995).

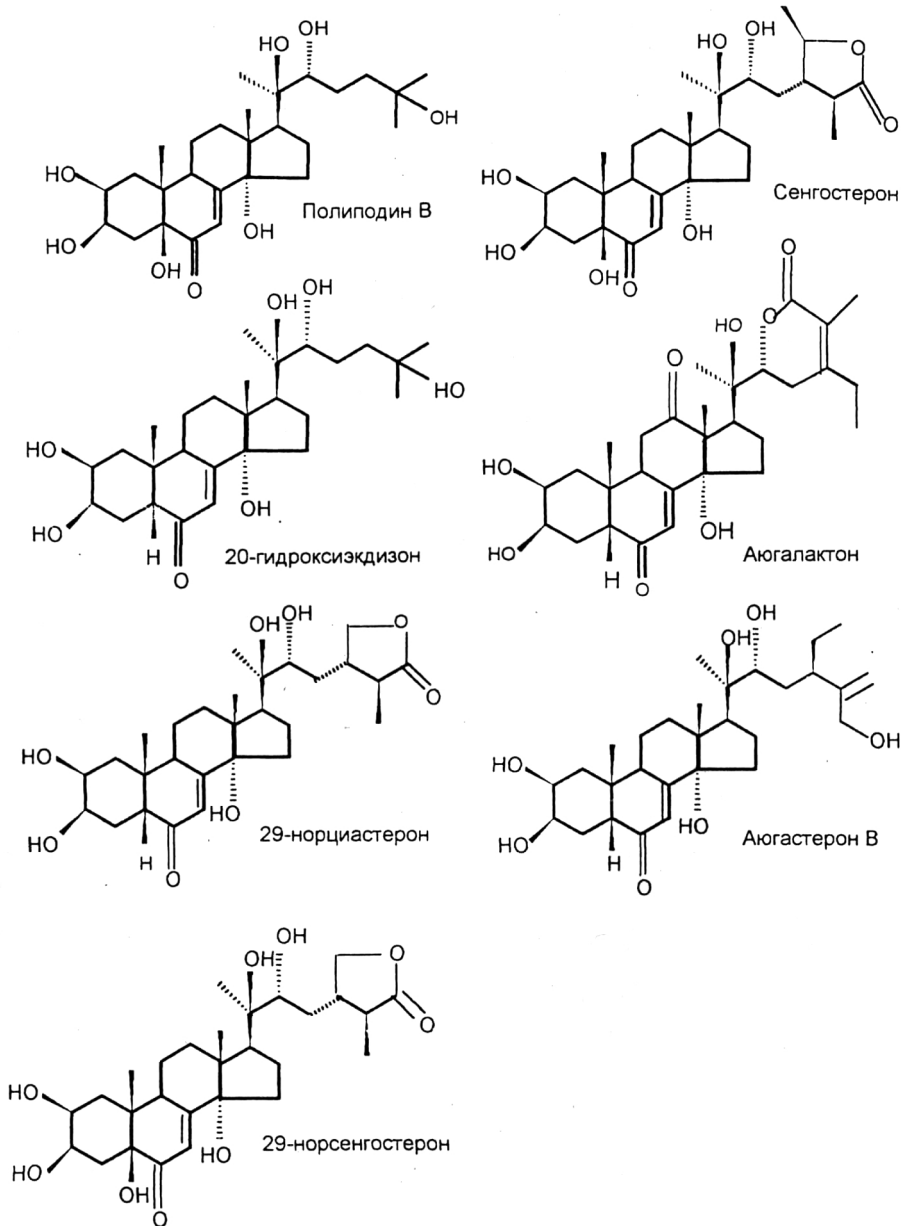
Состав и локализация экдистероидов живучки ползучей *Ajuga reptans* L. сем. *Lamiaceae* были изучены сравнительно недавно (Tomas et al., 1992). Живучка ползучая в подзоне средней тайги Республики Коми находится на северной границе ареала и является на этой территории реликтом термического оптимума голоцена (Мартыненко, 1976). Экдистероидный профиль этого вида на северной границе его ареала до настоящего времени не был исследован. Поскольку на границе ареала ведущую роль играют экологические факторы (Злобин, 1976), было интересно проследить их влияние на состав экдистероидов в различных органах этого растения. Знание динамики содержания экдистероидов имеет не только фундаментальное, но и практическое значение для оценки возможности использования живучки ползучей в качестве лекарственного сырья для получения биологически активных экдистероидов.

Исследования проводили в подзоне средней тайги, в Сыктывдинском районе Республики Коми в 1995 г.

Состав и содержание экдистероидов изучали у вегетирующих розеток и генеративных растений живучки ползучей, произрастающей в травянистом осиннике. У вегетирующих розеток определяли содержание экдистероидов в перезимовавших листьях и корнях. Образцы собирали весной, сразу после схода снега 26 IV и 17 V, когда начинается активный фотосинтез у перезимовавших листьев и рост молодых (Дымова, 1997). У генеративных растений — в корнях, листьях и генеративных побегах, собранных в фазы: бутонизации (17 V), цветения (30 V) и плодоношения (26 VI) и повторного цветения (29 X), а также в плагитропных побегах во время их роста (30 V) и после укоренения (26 VI).

В районе исследований живучка ползучая встречается в лесных и луговых сообществах. Для сравнения мы исследовали экдистероидный состав живучки ползучей, произрастающей в осиннике травяным и на опушке леса при переходе к разнотравно-злаковому лугу. Образцы были собраны в фазы цветения (30 V) и плодоношения (17 VII) растений.

Образцы для исследования высушивали до сухого состояния при температуре 60 °С. Подготовку проб к анализу проводили по модифицированной методике (Lafont, Wilson, 1990). Сухие пробы (50 мг) экстрагировали 5 мл 80 %-ного метанола. Отбирали 1 мл экстракта, добавляли 3 мл воды и пропускали через концентрирующий патрон с диасорбом $C_{16}T$ (АО «БиоХимМак», 40—100 мкм), предварительно активированный метанолом и промытый дистиллированной водой. Для анализа использовали фракции, полученные элюированием 60 %-ным метанолом.



Структурные формулы экистероидов *Ajuga reptans* L.

Анализ экистероидов проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на оборудовании производства ЧСРФ: насос НРР 4001, детектор UV-VIS LCD 2536, $\lambda = 254$ нм. Колонка 1504 мм, диасорб $C_{16}T/130$ 6 мкм (БиоХимМак, Россия), скорость элюирования 0.7 мл/мин, система — вода—ацетонитрил—тетрагидрофуран (100 : 16 : 4). Качественное и количественное определение экистероидов проводили методом ВЭЖХ, сравнивая времена удерживания обнаруживаемых веществ и стандартных образцов экистероидов. Количество экистероидов рассчитывали методом абсолютной градуировки.

ТАБЛИЦА 1

Сезонная динамика содержания экистероидов в *Ajuga reptans* L.,
произрастающей в осиннике травяном (1995 г.)

Орган или часть растения	Содержание экистероидов, %					
	Розетки		Генеративные растения			
	вегетация		бутонизация, 17 V	цветение, 30 V	плодоношение, 26 V	вторичное цветение, 29 X
	26 IV	17 V				
Корни	0.071	0.038	0.017	0.010	0.017	0.032
Листья	0.114	0.050	0.045	0.044	0.034	0.097
Генеративные органы			0.044	0.046	0.043 ¹	0.114 ²

Примечание. ¹ — содержание экистероидов в плодах и в семенах было одинаковым, ² — содержание в цветках.

Живучка ползучая — многолетнее столонообразующее растение, по феноритмотипу — длительно вегетирующее летне-зимне-зеленое. Развитие растений живучки ползучей на северной границе ее ареала в подзоне средней тайги (Республика Коми) имеет некоторые особенности (Тетерюк, 1996). Короткий вегетационный период и ряд других неблагоприятных факторов замедляют развитие растений. Наблюдения показали, что развитие боковых плагиотропных побегов у живучки ползучей начинается в мае. Укоренение образовавшихся на конце столона розеток листьев происходит в конце июня—июле. Молодые розетки сохраняют связь с материнским растением до осени, когда отмирает плагиотропная часть побега. К зиме они развивают 2—3 пары листьев. На второй год жизни примерно 2/3 растений продолжают существовать в виде розетки, развивая новые листья, 1/3 из них образует боковые плагиотропные побеги. В генеративный период растения выступают в 3—5-й год жизни. Цветочная почка закладывается осенью (Комарова, 1986). Весной развивается единственный генеративный побег. Одновременно с развитием генеративного побега происходит развитие столонов. После плодоношения, как правило, генеративный побег отмирает.

В живучке ползучей нами ранее были обнаружены семь экистероидов, которые идентифицированы (Алексеева и др., 1998) как полипидин В, 20-гидроксиэкидизон, 29-норциастерон, 29-норсенгостерон, сенгостерон, аюгалактон, аюгастерон В (см. рисунок).

Результаты наших исследований показали, что в листьях и корнях вегетирующих розеток из лесного сообщества суммарное содержание экистероидов (в дальнейшем — содержание экистероидов) значительно больше в период схода снега, чем в более поздний срок в мае, причем в листьях содержание экистероидов выше, чем в корнях (табл. 1). Основной вклад в содержание экистероидов вносят 20-гидроксиэкидизон, 29-норциастерон и 29-норсенгостерон. Уменьшение содержания экистероидов, наблюдаемое в период от схода снега до мая, происходит в листьях за счет снижения содержания 20-гидроксиэкидизона, а в корнях — 20-гидроксиэкидизона и 29-норциастерона.

Содержание экистероидов в листьях генеративных растений в фазы бутонизации и цветения практически не изменялось и несколько снижалось в фазу плодоношения (табл. 1). В содержании экистероидов в корнях генеративных побегов наблюдалась иная тенденция: при переходе растений к цветению оно падало и несколько возрастало в фазу плодоношения.

В генеративных органах (бутонах, цветках, плодах, семенах) содержание экистероидов было одинаковым (табл. 1), однако изменялся качественный состав экистероидов: в составе экистероидов бутонов и цветков преобладали 20-гидроксиэкидизон и 29-норсенгостерон, в плодах преобладали 20-гидроксиэкидизон и 29-норци-

ТАБЛИЦА 2

Морфологические показатели генеративных особей *Ajuga reptans* L.
из различных местообитаний (2 VI 1995)

Показатель	Опушка леса	Осинник
Длина цветоноса, см	17.3 ± 0.5	28.6 ± 0.6
Длина соцветия, см	8.8 ± 0.4	13.8 ± 0.6
Число плагиотропных побегов на 1 экз., шт.	1.0 ± 0.1	3.7 ± 0.2
Длина плагиотропных побегов, см	8.3 ± 1.0	21.8 ± 1.1

астерон, в семенах в равном количестве содержались 20-гидроксиэкдизон, 29-норциастерон и 29-норсенгостерон.

На неукоренившихся плагиотропных побегах начинает развиваться розетка листьев летне-осенней генерации (Комарова, 1986). Наибольшее содержание экдистероидов в них (0.53 %) обнаружено в период активного роста, совпадающего по времени с цветением материнского растения. Состав экдистероидов неукоренившихся плагиотропных побегов аналогичен составу экдистероидов, содержащихся в листьях вегетирующих розеток, вышедших из-под снега: преобладание 20-гидроксиэкдизона и высокое содержание 29-норсенгостерона и 29-норциастерона.

После укоренения плагиотропных побегов, когда развитие листьев снижается и развиваются придаточные корни, содержание экдистероидов в листьях розетки уменьшается в 2 раза (0.27 %) в основном за счет уменьшения содержания 20-гидроксиэкдизона.

Следует отметить, что в период вторичного (осеннего) цветения содержание экдистероидов выше во всех органах (листьях, корнях, цветках) по сравнению с их содержанием в этих органах в фазу летнего цветения (табл. 1).

Таким образом, содержание экдистероидов в живучке ползучей имеет сезонную динамику, что связано прежде всего с фенофазой растений. В составе же экдистероидов изменяется содержание 20-гидроксиэкдизона, а также 29-норциастерона и 29-норсенгостерона.

Мы попытались проанализировать влияние экологических условий на содержание экдистероидов в живучке ползучей. Для этого было параллельно проанализированы содержание и состав экдистероидов в органах цветущих растений и в укоренившихся плагиотропных побегах, произрастающих в осиннике и на опушке леса, где больше

ТАБЛИЦА 3

Содержание экдистероидов в различных органах *Ajuga reptans* L.
из различных местообитаний (1995 г.)

Орган растения	Суммарное содержание экдистероидов, % от массы сухого сырья	
	Осинник	Опушка леса
	Фаза цветения, 30 V	
Цветки	0.046	0.095
Листья	0.044	0.036
Корни	0.010	0.027
Неукоренившиеся плагиотропные побеги	0.053	0.043
Укоренившиеся плагиотропные побеги	0.027	0.013
Семена	Фаза плодоношения; 17 VII	
	0.043	0.065

света, тепла и меньше влаги. На опушке развитие растений происходит на 7—10 дней раньше, растения отличаются меньшими размерами и меньшей активностью развития плагиотропных побегов (табл. 2). В условиях опушки все особи живучки активно цвели и развивали в среднем 1 плагиотропный побег. В осиннике цветущих растений было намного меньше, но у них происходит активное образование плагиотропных побегов, в среднем на растении их развивается 3—4. Отличается и скорость развития боковых плагиотропных побегов. В один срок наблюдения длина столонов у растений лесного сообщества в 2.5 раза больше, чем у растений на опушке леса.

Сравнение содержания экдистероидов в цветущих растениях из разных местообитаний показало следующее (табл. 3). У растений, обитающих на опушке, содержание экдистероидов больше, чем у растений, обитающих в осиннике травяном: в соцветиях — в 2 раза, в семенах — в 1.5. Напротив, в розетках неукоренившихся плагиотропных побегов, обитающих на опушке, содержание экдистероидов в 2 раза меньше, чем у таковых в осиннике. Качественный состав экдистероидов у растений разных местообитаний различается: у растений из осинника в нем преобладают 20-гидроксизэкдизон и 29-норсенгостерон, а у растений на опушке — 20-гидроксизэкдизон и 29-норциастерон.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение содержания экдистероидов в онтогенезе растений имеет важное значение для понимания роли этих соединений в жизни растений. При исследовании экдистероидного состава живучки ползучей мы принимали во внимание биологические особенности вида и возможное влияние экологических условий произрастания растений.

Биоморфологическими особенностями растений живучки ползучей являются образование наземных плагиотропных побегов и наличие зимне-зеленых листьев. При изучении содержания экдистероидов живучки ползучей в течение вегетационного периода оказалось, что максимальное их количество содержится в зимне-зеленых листьях, которые, по-видимому, являются запасными органами растения. Содержание экдистероидов в зимне-зеленых листьях остается практически таким же к моменту пробуждения растений в начале весны. В течение вегетационного периода наблюдается изменение содержания экдистероидов в различных органах растения. Однако в отличие от других многолетних растений — продуцентов экдистероидов (*Rhaponticum carthamoides*, *Serratula coronata* и др.) (Володин, 1993) у живучки ползучей не наблюдается градиента концентраций экдистероидов между подземной и надземной частью, изменение которого совпадает с фенофазой растений. В течение вегетационного периода у живучки ползучей характер распределения экдистероидов по органам имеет более сложный характер. Так, более высокое содержание экдистероидов в надземной части растений по сравнению с подземной наблюдается во все фенофазы. Содержание экдистероидов в корнях заметно снижается в фазу цветения. Динамика содержания экдистероидов в надземной части носит более консервативный характер, т. е. мало изменяется в периоды бутонизации, цветения и плодоношения. В фазу цветения у растений, как правило, формируются плагиотропные побеги с розеткой активно развивающихся листьев. Наиболее высокое содержание экдистероидов наблюдается в розетках еще неукоренившихся молодых плагиотропных побегов, однако оно резко падает после укоренения розеток, что можно объяснить нарушением связи с материнским растением и пока еще слабым развитием собственной корневой системы, в которой, по литературным данным, происходит биосинтез экдистероидов (Tomas et al., 1992). Таким образом, содержание экдистероидов в различных органах живучки ползучей подвержено колебаниям. Однако их перераспределение связано не столько с фенологической фазой, а скорее с физиологическим возрастом тканей: концентрация экдистероидов выше в молодых развивающихся плагиотропных побегах. Следует отметить, что в фазу вторичного (осеннего) цветения растений отмечен активный синтез экдистероидов *de novo*, поскольку содержание экдистероидов

возрастает во всех органах растения, и транспорт экдистероидов в зимующие листья усиливается, так как их концентрация максимальна.

Наши исследования показали, что экологические условия произрастания живучки ползучей влияют не только на морфологические характеристики растений, но и на содержание экдистероидов в различных органах. Оказалось, что в отличие от растений, обитающих в осиннике, у которых максимальное содержание экдистероидов обнаружено в молодых плагиотропных побегах, у растений, обитающих на опушке леса, наибольшее содержание экдистероидов было определено в генеративных органах (бутонах, цветках и плодах). Наблюдаемые отличия в составе и содержании экдистероидов можно связать с меняющейся стратегией размножения вида в зависимости от экологических условий произрастания. Живучка ползучая — растение, размножающееся и семенами, и вегетативно с помощью надземных столонов. Исходя из биоморфологических характеристик ясно, что в лесном местообитании размножение живучки ползучей активно происходит вегетативным путем, а в лугово-опушечном сообществе преобладает семенное размножение. Локализация экдистероидов в репродуктивных органах укладывается в гипотезу об экологической роли экдистероидов у растений, т. е. веществ, сдерживающих численность фитофагов, растения создают повышенный градиент концентрации экдистероидов в органах, ответственных за сохранение вида.

Представлялось интересным сравнить состав и содержание экдистероидов у растений изучаемого вида из различных географически удаленных популяций. По нашим данным, у живучки ползучей на северной границе ее ареала содержание экдистероидов в листьях больше, чем в корнях, в течение всего вегетационного периода. Содержание экдистероидов в живучке ползучей, произрастающей на территории Испании (к сожалению, подробным описанием условий произрастания мы не располагаем), выше в корнях, чем в листьях (Tomas et al., 1992). Можно предположить, что высокие температуры воздуха и засуха несколько изменяют ритм развития растения данного вида. «Южные» растения в отличие от «северных» имеют летний период покоя, когда происходит высыхание листьев и запасание веществ (в том числе и экдистероидов) в корнях, а не в зимующих листьях, как это происходит у растений на северной границе ареала. Качественный состав экдистероидов у растений, произрастающих в различных эколого-географических условиях, отличается, однако по полученным данным пока не представляется возможным судить, является ли это следствием генотипической или фенотипической изменчивости.

Дальнейшее исследование состава и содержания экдистероидов у живучки ползучей и других видов несомненно окажется весьма полезным для понимания центров и путей биосинтеза этих веществ, их биогенетических связей и роли, которые они играют в жизни растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеева Л. И., Володин В. В., Лукша В. Г., Лафон Р. Экдистероиды *Ajuga reptans* // Физиология растений. 1998. Т. 45, № 3. С. 372—378.
- Володин В. В., Мишуров В. П., Колегова Н. А. Экдистероиды растений семейства *Asteraceae* // Тр. Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар, 1993. Вып. 319. С. 3—20.
- Дымова О. В. Эколого-физиологическое изучение *Ajuga reptans* на северной границе ареала // Тез. VI Молодежной конф. ботаников. СПб., 1997. С. 60.
- Злобин Ю. А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений. Казань, 1989.
- Комарова Т. А. Соотношение внутрипочечных и внепочечных фаз в развитии побега *Ajuga reptans* // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1986. Т. 91, вып. 4. С. 46—53.
- Мартыненко В. А. Границы неморальных видов на Северо-Востоке европейской части СССР // Бот. журн. 1976. Т. 61, № 10. С. 1441—1444.
- Тетерюк Л. К. Особенности онтогенеза, демографии и жизненной стратегии живучки ползучей (*Ajuga reptans*) на северной границе ареала // Тр. Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар, 1996. № 149. С. 120—127.

- Dinan L. Distribution and levels of phytoecdysteroids within individual plants of species of the *Chenopodiaceae* // Eur. J. Entomology. 1995. Vol. 92. P. 295—300.
- Lafont R., Wilson D. Advances in ecdysteroid high performance liquid chromatography // Chromatography and isolation of insect hormones and pheromones. New York, 1990. P. 79—83.
- Tomas J., Camps F., Claveria E., Coll J., Mele E., Mssequer J. Composition and location of phytoecdysteroids in *Ajuga reptans* in vivo and vitro cultures // Phytochem. 1992. Vol. 31, N 5. P. 1585—1591.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН
Сыктывкар

Поступило 18 II 1998

DYNAMICS OF ECDYSTEROIDS CONTENT IN *AJUGA REPTANS* L. AT THE NORTH BOUNDARY OF ITS AREAL (KOMI REPUBLIC)

L. I. Alexeyeva, L. V. Teteryuk, V. V. Volodin, N. A. Kolegova

SUMMARY

Changes of ecdysteroids composition and content in *Ajuga reptans* L. growing at the north boundary of its areal have been investigated. It was discovered, that wintergreen leaves of *Ajuga reptans* plants have a maximal amount of ecdysteroids. During vegetation higher content of ecdysteroids was observed in young growing stolons and generative organs of plants irrespective of plant developing phase.

Ecdysteroids profile depends on biological strategy of this plant species that is changed in different ecological conditions.

Раст. ресурсы, вып. 4, 1998

ИЗОМЕРНЫЕ ИЗОПРЕНОИДНЫЕ ГЛЮКОЗИДЫ *SAUSSUREA CONTROVERSA* DC.

© А. И. Сырчина, А. А. Семенов, С. В. Зинченко

Виды рода *Saussurea* DC. сем. *Asteraceae* широко распространены по всей территории бывшего СССР. *Saussurea controversa* DC. и *S. discolor* (Willd.) DC. рассматриваются некоторыми авторами как один вид, так как морфологические различия этих видов неустойчивы и плохо выражены (Флора..., 1979). *S. discolor* произрастает в европейской части бывшего СССР, а ареал *S. controversa* — это регионы Урала, Западной и Восточной Сибири. По мнению монографа этого рода С. Ю. Липшица (1962, 1979), вследствие того, что ареалы этих видов резко обособлены, могут быть приняты оба вида как морфологически слабо выраженные географические расы некогда единого вида.

Корни и надземная часть *S. controversa* используются в народной медицине при различных заболеваниях. Установлены гомеостатические свойства и антибактериальная активность извлечений из этого растения (Растительные..., 1993).

Ранее мы сообщали о выделении из надземной части *S. controversa*, собранной в Иркутской обл., н-алканов, стериннов, кверцетина, рутина, сиригина (Сырчина и др., 1993). В настоящем сообщении приведены результаты изучения структур двух новых