

На правах рукописи

КАСЬЯНОВА АНАСТАСИЯ ЮРЬЕВНА

**ДЯГИЛЬ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ
(*ARCHANGELICA OFFICINALIS* Hoffm.) В ПРЕДУРАЛЬЕ
(перспективы интродукции, пути повышения биологической
продуктивности и изучение биохимического состава)**

06.01.13. - лекарственные и эфирно-масличные культуры

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва - 2005

Работа выполнена в Башкирском государственном медицинском университете и Башкирском государственном университете.

Научный руководитель:

кандидат фармацевтических наук, Кудашкина Наталья Владимировна
доцент

Официальные оппоненты:

доктор сельскохозяйственных наук Зеленков Валерий Николаевич

кандидат биологических наук Муртазина Фирдаус Камировна

Ведущая организация:

Самарский государственный медицинский университет

Защита состоится «14» ноября 2005 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 006.070.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) РАСХН по адресу: 117216, г. Москва, ул. Грина, 7.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ВИЛАР РАСХН по адресу: 117216, г. Москва, ул. Грина, 7.

Автореферат разослан «12» октября 2005 г

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 006.070.01
кандидат с.-х. наук



М.В.Кирцова

2006-4
16559

2184357

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Дягиль лекарственный *Archangelica officinalis* (syn. *Angelica archangelica*) – ценное лекарственное, пищевое, медоносное, эфирномасличное растение. Экстракты *A. officinalis* основа средств для лечения заболеваний половой сферы [Lansky, 2000], невралгии, артрита [Bae, 1999], грибковых заболеваний [Wolski et al., 1996], нарушении менструального цикла, анемии [Chen, 2002; Han et al., 2001; Radix *Angelica*..., 2001]. Дягиль лекарственный входит в состав таких препаратов как «Болюсы Хуато», «Гастритол», «Карвомин[®]», «Ветримарин[®]», «Антиоксифит», «Ламинарина», «Артемида», «Топ» [Schönfelder, 1997; Пилат, Иванов, 2002].

В XIX веке в России дягиль выращивали в промышленных масштабах и экспортировали в Западную Европу [Щеглов, 1828], он входил в ранние издания отечественной Фармакопеи. Начиная с VII Фармакопеи, дягиль исключен из списка официальных растений из-за отсутствия стабильной сырьевой базы. В настоящее время потребность в препаратах содержащих *Angelica* удовлетворяется за счет импорта.

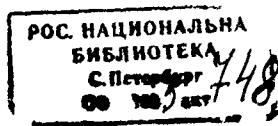
Для создания отечественных лекарственных средств на основе дягиля необходимо: восстановить *A. officinalis* в статусе официального растения; разработать технологии выращивания и методов регуляции накопления биологически активных веществ в сырье *A. officinalis*.

Перспективным способом регуляции продуктивности *A. officinalis* является применение кобальта, активизирующего ростовые процессы [Lau, Yang, 1976; Hansen, Grossman, 2000], стимулирующего синтез фенольных метаболитов [Chaudhary et al., 1997; Титов, 2003], повышающего устойчивость растений к неблагоприятным метеорологическим условиям.

Цели и задачи исследования. Исходя из выше изложенного цель нашей работы состояла в изучении интродукции, путей повышения биологической продуктивности дягиля лекарственного в Предуралье.

При выполнении работы были поставлены следующие задачи:

1. Определить условия стратификации и сроки посева семян *A. officinalis*.
2. Изучить биологические особенности *A. officinalis* в условиях культуры на примере Кармаскалинского и Стерлитамакского районов Башкортостана.
3. Оценить влияние интродукции *A. officinalis* на накопление биологически активных веществ.
4. Установить оптимальные сроки заготовки сырья *A. officinalis*.
5. Изучить изменение морфологических параметров органов и биохимического состава *A. officinalis* при воздействии сульфата кобальта.



Научная новизна. Впервые определены условия стратификации и сроки посева семян *A officinalis*. Впервые изучен и проанализирован биохимический состав дикорастущих и интродуцированных растений *A officinalis*.

Впервые изучено влияние подкормки сульфатом кобальта на морфологические и некоторые биохимические показатели, а также на фотосинтетические пигменты в *A officinalis*. Впервые показано модулирующее действие CoSO_4 на содержание железа в дягили. Впервые показано, что подкормка *A officinalis* сульфатом кобальта активизирует накопление кумаринов в дягили.

Практическая значимость работы. Разработаны практические рекомендации по изучению вторичных метаболитов (Вторичные метаболиты растений и методы их исследования) и методические рекомендации по постановке интродукционных экспериментов с *Angelica archangelica* L. в Республике Башкортостан.

Рекомендации по выращиванию *A. officinalis* использованы опытным хозяйством Башкирского аграрного университета. Полученные сведения по интродукции могут быть использованы агрономами для выращивания в лесостепной зоне Башкортостана. Результаты исследования влияния подкормки сульфатом кобальта на растения *A. officinalis* могут быть использованы для получения сырья заданного состава *A officinalis*. Предложена оптимальная доза внесения сульфата кобальта.

Результаты проведенных исследований могут быть положены в основу фармстатей.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на международной конференции молодых ученых "Проблемы биоразнообразия и рационального использования растений в сельском хозяйстве" (Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, г. Ялта, 2004) и на интернет-конференции "Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и механики многофазных систем" (Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа, 2003).

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка литературы (203 источника, в том числе 100 на иностранных языках), 5 приложений. Работа изложена на 139 страницах, иллюстрирована 23 рисунками, 18 таблицами.

В обзоре литературы (первая глава) дана ботаническая характеристика *A officinalis*, подробная фитохимическая характеристика вида, приведены сведения о применении дягиля в народной и научной медицине, обоснованы необходимость восстановления статуса официального растения и введения дягиля в культуру.

Автор искренне благодарит доцента Р.М. Баширову и с.н.с. И.В. Галяутидинова за научно-методическое руководство и постоянную помощь при выполнении работы. Особую благодарность выражает члену-корреспонденту РАН У.М. Джемилеву, члену-корреспонденту АН РБ В.Н. Одинокovu за оказанную поддержку и интерес к работе. Огромная благодарность профессору Л.М. Халилову и с.н.с. З.И. Ушаковой за помощь в проведении структурно-аналитических исследований, заведующей отделом РДЭБЦ А.М. Мингажевой, с.н.с. института биологии Н.В. Масловой, оказавших помощь в проведении полевых исследований.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение дягиля лекарственного проводилось в 2000-2004 годах на базе Башкирского государственного медицинского университета и Башкирского государственного университета. Отдельные элементы технологии выращивания разрабатывались в Стерлитамакском и двух точках Кармаскалинского районах Башкортостана. Сбор дикорастущих образцов производился в Белорецком районе.

Полевые опыты проводились в Стерлитамакском и Кармаскалинском районах. Почва - выщелоченный чернозем. Стерлитамакский район: содержание гумуса 5,79%, рН – 5,63, оксида фосфора – 100,89 мг/кг, оксида калия – 146,08 мг/кг, оксида железа (III) – 4,03 мг/кг, грунтовые воды залегают на глубине 0,5 м; Кармаскалинский район точка один: содержание гумуса 3,83%, рН – 6,07, оксида фосфора - 72,48 мг/кг, оксида калия – 148,81 мг/кг, оксида железа (III) – 2,87 мг/кг, грунтовые воды залегают на глубине 0,5 м; Кармаскалинский район точка два: содержание гумуса – 4,69%, рН – 6,24, оксида фосфора – 84,97 мг/кг, оксида калия – 147,05 мг/кг, оксида железа (III) – 4,72 мг/кг, грунтовые воды залегают на глубине 3 м.

Площадь делянок под опытами составляла 145 м². Повторность опытов 5 кратная.

Интродукционные исследования *A. officinalis* были начаты с образцов семенного материала предоставленных к.б.н. Н.В. Масловой (Уфимский НИЦ РАН) и собранных в месте проведения геоботанического описания - Белорецком районе.

Исследовали условия прорастания семян, фенологию растения, онтогенез, особенности цветения и плодоношения, определяли факторы сырьевой и семенной продуктивности, сроки заготовки, возможности улучшения качества и количества сырья, накопление биомассы и действующих веществ.

Сульфат кобальта вносили в первой декаде июня в виде 0,0001%, 0,001% и 0,01% растворов. Выбор сернокислой соли был продиктован тем, что сульфаты в меньшей степени вымываются из корневой зоны.

Аминокислотный и биохимический состав определяли на автоматическом компьютеризованном инфракрасном спектрофотометре PSCO/ISI IBM PC 4250 в диапазоне 1000-1500 нм.

Содержание хлорофилла и сумму кумаринов определяли методом прямой спектрофотометрии [Hauffe, 1985; Vernon, 1960; Lichtenhaler, 1987], содержание эфирных масел в корнях и корневищах - методом Гинзберга.

Разделение смеси сахаров проводили методом ВЭЖХ на хроматографе фирмы Waters (США).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistika for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Изучение биологических особенностей *A. officinalis* Hoffm.

а) Особенности прорастания семян *A. officinalis* Hoffm.

Семена *A. officinalis* характеризуются эндогенным типом покоя, обусловленным недоразвитостью зародыша, нуждающегося в холодной стратификации [Boros, Domokos, 1982; Ojala, 1985]. Изучение влияния различных способов стратификации и сроков посева на всхожесть семян показало, что при $t^{+5^{\circ}\text{C}}$ и выдерживании семян в течение 1-1,5 месяцев всхожесть составляла 0,16% и возрастала при удлинении сроков стратификации до 5-5,5 месяцев до 69% (Табл.1).

Таблица 1

Всхожесть семян *A. officinalis* Hoffm. при разных способах стратификации

№	Продолжительность стратификации, мес.	Всхожесть, %
1	Стратификация в лабораторных условиях (чашки Петри) ($t = +5^{\circ}\text{C}$; 1-1,5 мес.)	0,16±0,01
2	Чередование теплой и холодной стратификации ($t = +15^{\circ}\text{C} - 2$ недели, $t_{\text{ср}} = -10^{\circ}\text{C}$; 5 мес.)	69±4
3	Стратификация при разных сроках сева:	
	а) свежесобранными семенами, август (9 месяцев)	83±8
	б) через месяц хранения, сентябрь (8 месяцев)	27±3
	в) через 2 месяца хранения, октябрь (7 месяцев)	25±3

В природных условиях оптимальный срок посева летний (в августе) свежесобранными семенами, при котором всхожесть составляет 83%. Более поздние сроки посева вызывают снижение всхожести семян до 25-27%.

б) Особенности роста и развития *A. officinalis* Hoffm.

Наблюдения за прорастанием семян показали, что время появления всходов растянуто до 20 суток. Появление первого настоящего листа наблюдается на 9-й день и характеризуется переходом в новое возрастное состояние – всходов. Второй лист появляется на 22 день, третий на 29 день. Во время появления второго листа наблюдается усиление роста корня. Корневая система стержневая с большим количеством придаточных корней.

Растения *A. officinalis* проходят следующие периоды развития: ювенильный, имматурный, виргинильный и генеративный.

Растения на первом году вегетации нормально растут и развиваются и успевают развернуть розетку из 4-5 листьев. Листья *A. officinalis* отмирают во второй половине октября. Масса корней и корневищ одного растения достигает 71-87 г.

Растения второго года вегетации начинают отрастать в середине апреля и характеризуются очень быстрым нарастанием вегетативной массы. В конце мая начале июня наблюдается наибольшее накопление массы надземной части дягиля лекарственного, что составляет 700-900 г.

Часть растений второго года вегетации вступивших в генеративную фазу мы оставляли для образования корней и корневищ.

К концу второго года вегетации масса корней и корневищ виргинильных растений дягиля лекарственного составляла 500 - 1000 г.

в) Особенности цветения и плодообразования *Archangelica officinalis* Hoffm.

Бутонизация начинается в начале июня. Массовое цветение наступает в конце июня. Цветонос достигает в среднем 141 см. Обычно он несет 2-3 очередных листа.

Нормально развитое растение образует один центральный зонтик, 6-8 зонтиков первого порядка, 10-18 зонтиков второго порядка и 5-22 зонтиков третьего порядка.

Цветение зонтиков разных порядков происходит одновременно и центростребно. В целом особь дягиля лекарственного цветет 20-23 дня. Цветение одного зонтика продолжается 5-6 дней.

Завязывание плодов в зонтике начинается центростремительно – с краевых цветков крайних зонтичков. Массовое созревание плодов наблюдается в середине августа.

Плоды зонтиков всех порядков одной и той же особи отличаются между собой по величине (гетерокарпия). Так, средняя масса плодов центрального зонтика равна 7,68 г, зонтика первого порядка 9,01 г, зонтика второго порядка 4,83 г. Разница по времени достижения полной спелости плодов между зонтиками разных порядков достигает 5-6 дней.

Число побегов первого порядка в среднем 7 шт., второго – 13 шт. Масса 1000 семян составляет в среднем 4,5 – 4,6 г. Количество семян одной особи - 48311 шт. Вес плодов, собранных с одной особи, равен в среднем 217,4 г. Семена с зонтиков первого порядка по существу, не отличаются, от семян центральных зонтиков, поэтому промышленные сборы семян нужно проводить во время полного созревания семян зонтиков второго порядка.

В культуре у 90% особей наступление генеративного периода наблюдается на второй год вегетации, в природе зацветание может происходить на 2-15 годы. В отличие от дикорастущих особей у интродуцированных растений начало и конец цветения, а также созревания плодов не растянут во времени.

2. Интродукционные исследования *A. officinalis*

Опыты по интродуцированию были заложены в двух лесостепных районах Башкортостана: Стерлитамакском (одна точка) и Кармаскалинском (две точки).

Посев семян осуществляли в начале августа. Глубина заделки составляла 1 см. Ширина междурядий 50 см, между семенами 25 см.

В апреле - мае следующего года наблюдали появление всходов. В Стерлитамакском районе всходы появлялись на 1-4 дней раньше, чем в Кармаскалинском районе. Разница в сроках прорастания семян дягиля лекарственного по годам в одном и том же районе составляла 3-6 дней.

Таблица 2

Морфологические показатели растений дягиля лекарственного первого года вегетации

Показатель	Стерлитамакский район	Кармаскалинский район I	Кармаскалинский район II
Площадь листьев, см ²	1369,8±102,5	1045,9±99,8	987,1±95,3
Сырая масса растения, г	169,25±55,8	163,50±55,1	171,43±50,4
Сырая масса листьев, г	73,50±16,5	92,00±25,5	84,82±23,4
Сырая масса корней и корневищ, г	95,70±39,3	71,50±24,0	86,6±27,3

Сырая масса листьев *A. officinalis* первого года вегетации в точке один Кармаскалинского района была больше на 8-50% и составляла 92,0 г. Масса корней и корневищ и площадь листовой поверхности в Стерлитамакском районе превышала данные показатели других точек (табл.2)

Количество зонтиков первого порядка и количество зонтиков второго порядка было больше в точке два Кармаскалинского района (табл. 3).

Масса семян центрального зонтика практически не изменялась. Масса семян зонтика первого порядка в Стерлитамакском и точке два Кармаскалинского районов составляла более 9 г, а в точке один Кармаскалинского района была меньше на 33%. Масса семян зонтика второго порядка была наибольшей в Стерлитамакском районе – 5,6 г.

Таблица 3

Масса семян, корней и корневищ и листьев растений *A. officinalis* второго года вегетации

Показатель	Стерлитамакский район	Кармаскалинский район I	Кармаскалинский район II
Масса семян центр. зонтика, г	9,03±1,3	9,30±1,5	8,50±1,2
Кол-во зонтиков I порядка, шт	7,00±0,6	6,00±0,6	8,00±0,7
Масса семян зонтика I порядка, шт	9,94±1,1	6,18±1,6	9,28±1,1
Кол-во зонтиков II пор., шт	10,67±0,3	13,00±0,6	18,00±1,1
Масса семян зонтика II порядка, г	5,56±0,4	3,48±0,7	2,65±0,5
Масса семян одного растения, г	250,36±13	153,54±9	248,25±29
Сырая масса растения, г	1477,91±39	1753,30±59	1574,29±58
Сырая масса листьев, г	694,36±51	901,38±47	781,01±22
Сырая масса корней и корневищ растения II года вегетации, г	783,55±27	851,92±72	793,28±94

Семенная продуктивность одного растения в точке один Кармаскалинского района была меньше на 38%, чем в других точках, где она составляла примерно 250 г.

Средняя масса корней и корневищ дягиля лекарственного в разных точках произрастания составляла от 784 г до 852 г. Средняя масса всего растения от 1478 до 1753 г (табл. 3).

3. Биохимическая характеристика дикорастущих и интродуцированных особей *A. officinalis* Hoffm.

При введении в культуру растений важно не только оценить продуктивность, но и определить содержание действующих веществ. В некоторых случаях при введении в культуру лекарственных растений может наблюдаться снижение накопления действующих веществ. Поэтому мы считали необходимым проведение сравнительного анализа биохимического состава корней и корневищ дикорастущих и интродуцированных особей.

Сравнение аминокислотного состава дикорастущих и интродуцированных особей показало, что введение в культуру не сопровождается существенным изменением состава (табл.4). Приведенные данные свидетельствуют, что корни и корневища *A. officinalis*, содержат аминокислоты семь из которых являются незаменимыми (метионин, лизин, треонин, валин,

изолейцин, лейцин, фенилаланин). Введение в культуру *A officinalis* приводит к повышению содержания в подземных органах фенилаланина. В листьях на 33% возрастает содержание аргинина и метионина. Почти в три раза увеличивается содержание в листьях лизина, в два - лейцина и гистидина.

Таблица 4

**Биохимический состав корней и корневищ
дикорастущих и интродуцированных растений *A officinalis***

Показатель	Дикорастущие	Интродуцированные
Сумма аминокислот, % к протеину	6,04	6,16
Сахара, г/кг	13,11	20,17
Кальций, г/кг	3,62	4,86
Фосфор, г/кг	2,14	2,24
Железо, мг/кг	135,8	142,1
Каротин, мг/кг	18,11	18,67
Кумарины, %	1,82	1,89
Эфирные масла, %	0,62	0,73

Количество кумаринов в корнях и корневищах дягиля лекарственного не изменялось, а содержание эфирных масел увеличивалось на 17%. Введение в культуру сопровождалось накоплением сахаров в подземных органах. Это важно в связи с тем, что дягиль относится к криофитным и мезофитным растениям, корневая система которых хорошо переносит подтопление и пониженные температуры. Наличие сахаров в корневой системе *A officinalis* определяет устойчивость растения к гипоксическому стрессу, вызванному весенним подтоплением корневой системы.

4. Зависимость биохимического состава сырья *A. officinalis* от сроков уборки

Для медицинских целей важно определить сроки уборки сырья. Заготовку корней и корневищ дягиля лекарственного в основном проводят на второй год осенью после отмирания листьев. Однако в литературе высказывается мнение, что заготовку можно проводить весной. Поэтому нами было проведено изучение динамики накопления действующих веществ в *A officinalis*, для определения оптимального срока весенней заготовки сырья. Сбор материала для исследования и изучение биохимического состава проводили в начале и в конце мая.

Данные, приведенные в таблице 5, показывают, что содержание аминокислот в корнях и корневищах в начале мая третьего года вегетации прак-

тически в 2 раза выше, чем при уборке в конце мая. Единственная аминокислота, которая накапливается в дягили лекарственном в мае месяце – валин. Ее содержание увеличивается на 79%. Содержание остальных аминокислот уменьшается на 36-71%.

При изучении биохимических показателей обнаружено, что в дягили лекарственном идет активное накопление сахаров. Из данных таблицы 5 видно, что в корневой системе его содержание повышается почти в 2 раза. Наряду с возрастанием количества сахаров увеличивается накопление в корнях кальция.

Таблица 5

Биохимический состав корней и корневищ *A. officinalis* третьего года вегетации в разные сроки весенней уборки

Показатель	Начало мая	Конец мая
Сумма аминокислот, % к протеину	9,66	5,67
Сахара, г/кг	3,60	6,90
Калий, %	0,84	0,79
Кальций, г/кг	3,49	5,90
Фосфор, г/кг	2,20	1,91
Железо, мг/кг	148,73	4,95
Каротин, %	189,57	155,74
Кумарины, %	1,79	1,73
Эфирные масла, %	0,69	0,75

Накопление каротиноидов в корнях и корневищах снижалось на 18%, кумаринов на 8%. Содержание эфирных масел увеличивалось на 9%.

Изучение биохимического состава дягили лекарственного в разные сроки показало, что по мере роста происходит уменьшение общего содержания аминокислот и некоторых биохимических элементов. Поэтому заготовку сырья целесообразно проводить в конце апреля начале мая до отрастания листьев на третий год вегетации или как указывалось ранее осенью на второй год вегетации.

5. Влияние CoSO_4 на продуктивность и биохимические показатели *A. officinalis* Hoffm.

Фактором, обуславливающим повышение продуктивности растений, является применение микроэлементов, одним из которых является кобальт. Из литературных данных известно, что этот микроэлемент увеличивает урожайность [Агеев, Подколюзин, 2001], повышает качество получаемой продукции: возрастает содержание рутина, углеводов, белка, аскорбиновой кислоты [Ягодин, 1964; Динилова и др., 1968; Ягодин, Сабли-

на, 1981], стимулирует синтез вторичных метаболитов [Bandarian et al. 2003] Сульфат кобальта входит в каталог удобрений и агрохимикатов разрешенных к применению в Российской Федерации.

Нами изучалось влияние некорневых подкормок на рост и развитие ослабленных растений дягиля, его биопродуктивность, хлорофилл, биохимические показатели и вторичные метаболиты.

Испытывались три дозы внекорневой подкормки: 0,0001%, 0,001%, 0,01% раствора. Подкормка производилась однократно в июне. Наиболее эффективной оказалась обработка 0,0001% CoSO_4 .

Эффект от внесения больших доз сульфата кобальта был выражен в меньшей степени, например при подкормке 0,0001% раствором масса корней увеличивалась в 3 раза, а при подкормке 0,001% и 0,01% растворами в 2,3 -- 2,2 раза, по сравнению с контролем (табл. 6).

Таблица 6
Влияние сульфата кобальта на морфологические показатели ювенильных особей *A. officinalis Hoffm.*

Признак	Контроль	Нормы расхода CoSO_4 , %		
		0,0001%	0,001%	0,01%
Площадь листьев, см^2	104,5±4,7	312,2±9,4	194,4±5,8	126,9±4,5
Сырая масса растения, г	21,9±3,6	54,6±7,4	33,0±4,9	27,0±8,3
Сырая надземная масса г	12,4±2,7	37,0±5,8	17,7±4,0	15,9±6,7
Сырая масса корней и корневищ, г	9,6±1,2	17,6±1,6	12,4±1,1	11,1±1,7

Внесение сульфата кобальта способствовало увеличению площади листовой поверхности дягиля. В наибольшей степени оно было выражено при внесении минимальной нормы расхода сульфата кобальта (табл.6). В этом случае увеличение происходило в 3 раза. При внесении максимальной дозы – на 20 %, по сравнению с контролем.

Таблица 7
Содержание хлорофилла в листьях *A. officinalis* первого года вегетации при внесении сульфата кобальта

Хлорофилл	Контроль	Нормы расхода сульфата кобальта, %		
		0,0001%	0,001%	0,01%
<i>a</i>	3,24±0,52	3,24±0,32	3,70±0,64	4,36±0,71
<i>b</i>	0,46±0,03	1,8±0,04	2,16±0,23	2,24±0,68
<i>a+b</i>	3,70±0,40	5,04±0,35	5,86±0,85	6,60±0,91

Увеличение площади листовой поверхности происходило параллельно содержания хлорофилла (табл 7). Его максимальное содержание отмечено

в варианте с внесением самой высокой дозы сульфата, по сравнению с контролем (58%).

Наибольшее изменение наблюдалось в накоплении хлорофилла *b*. Содержание хлорофилла *a*, обладающего меньшей величиной редокс-потенциала, изменялось не столь значительно (Рис.1).

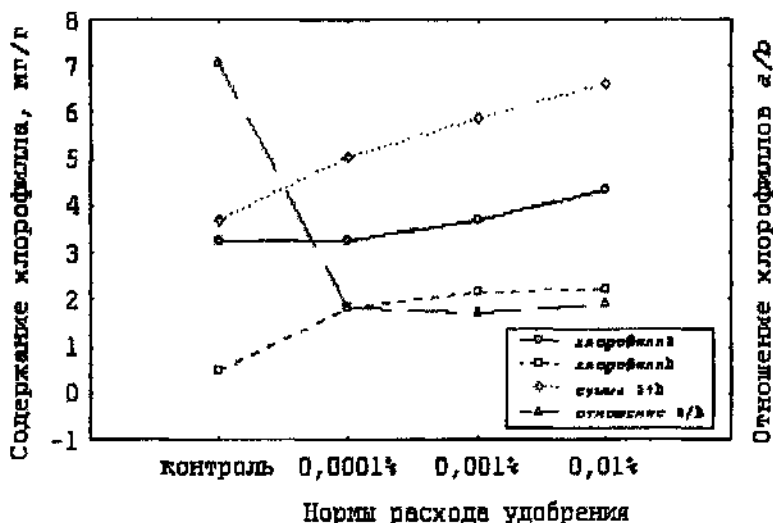


Рис.1. Зависимость хлорофилльных индексов от дозы внесенного сульфата кобальта

При подкормке сульфатом кобальта снижалась относительная доля подземных органов дягиля, свидетельствующая о снижении уровня стрессированности растения. При этом отмечены также морфологические изменения корневой системы, типичные для воздействия ауксинов – утолщение боковых корней и увеличение абсолютной массы корней. Увеличение массы корней и корневищ вероятно связано с потенцированием кумаринами эффектов ауксинов, стимулирующих процессы корнеобразования [Tagoua et al., 2004].

В дальнейшем нами проводилось изучение аминокислотного и биохимического состава корней и корневищ дягиля лекарственного.

Содержание сахаров в подземных органах при воздействии 0,0001% раствора CoSO_4 возрастает на 166% (табл.8). Накопление углеводов, локализованных в поверхностных структурах органов растений, коррелирует с увеличением фотоассимилирующей поверхности, возрастающей при воздействии CoSO_4 в дозе 0,0001% г в 3 раза, и увеличением содержания хлорофилла.

Таблица 8

Показатели количественных и качественных признаков корней и корневищ *A. officinalis* под влиянием внесения сульфата кобальта.

Аминокислота	Контроль	Нормы расхода удобрения, %		
		0,0001%	0,001%	0,01%
Содержание аминокислот				
Пролин	1,52	1,09*	1,41	1,54
Метионин	0,09	0,05	0,06	0,10
Лизин	0,16	0,46*	0,26	0,12
Треонин	0,28	0,15	0,24	0,30
Валин	1,01	1,33	1,15	1,08
Изолейцин	0,08	0,01	0,06	0,06
Лейцин	0,11	0,19	0,09	0,10
Фенилаланин	0,46	0,33	0,41	0,47
Цистеин	0,55	0,54	0,55	0,55
Гистидин	0,05	0,13*	0,06	0,08
Аргинин	0,60	0,36*	0,50	0,59
Серин	0,42	0,25	0,36	0,43
Глицин	0,75	0,64	0,73	0,77
Тирозин	2,22	0,24	0,24	0,25
Сумма	6,3	5,77	6,12	6,44
Биохимические показатели				
Сахара, г/кг	2,19	5,61*	3,81*	2,57
Протеин, %	2,85	2,88	2,78	2,81
Калий, %	1,71	1,29*	1,53	1,62
Железо, мг/кг	690,2	1082,0*	916,0*	791,7

* $p < 0.05$

Снижение содержания пролина и стабильность содержания в корнях цистеина, свидетельствует о том, что примененные для подкормки дозы CoSO_4 не токсичны, а физиологически необходимы (табл.8) [Oven et al., 2002; Титов и др., 2003].

Отмечается снижение содержания аргинина, участвующего в орнитинном цикле детоксикации аммиачного азота, что можно рассматривать как свидетельство быстрой ассимиляции азота и снижения нагрузки на орнитинный цикл.

Минимальная доза внекорневой подкормки вызывала снижение изолейцина на 88%, увеличивало содержание лейцина на 73% и лизина и гистидина почти в 3 раза (рис.2).

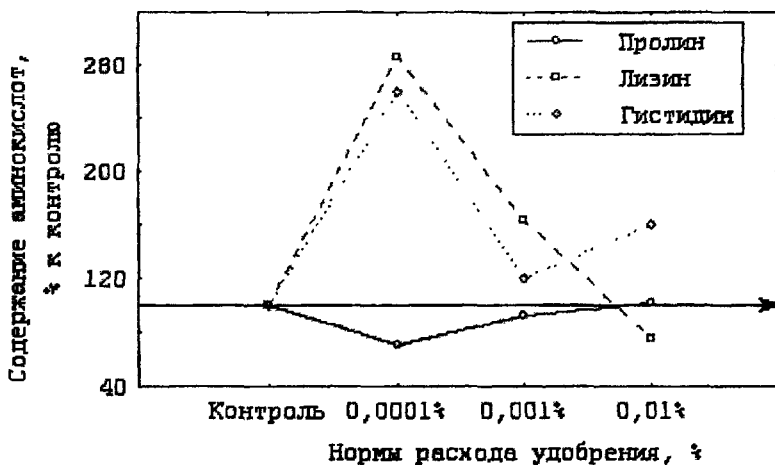


Рис.2. Влияние внесения сульфата кобальта на содержание аминокислот в корнях и корневищах *A. officinalis*.

В варианте с внесением 0,0001% раствора CoSO_4 содержание фенилаланина, предшественника кумаринов в корнях и корневищах дягиля снижалось на 28%, а содержание самих кумаринов повышалось на 28% (рис.3).

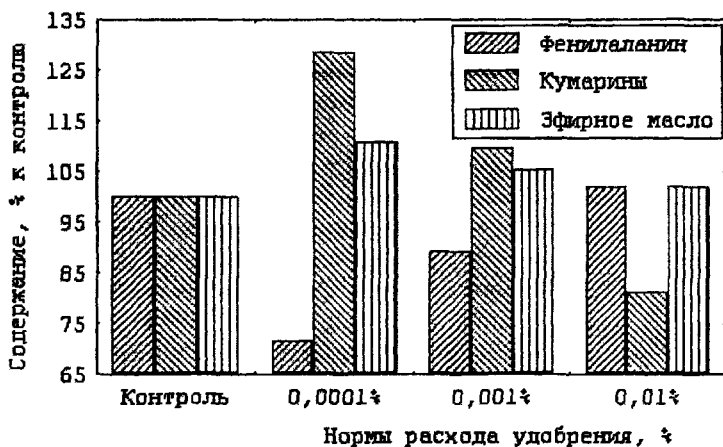


Рис.3. Влияние подкормки CoSO_4 на содержание фенилаланина, кумаринов и эфирных масел в корнях и корневищах *A. officinalis*.

Скорее всего, это отражает активизацию фенольного обмена при воздействии ионов кобальта. Содержание эфирных масел в подземных орга-

нах растения увеличивалось на 10%. Увеличение нормы расхода микроудобрения вызывало обратный эффект: содержание фенилаланина увеличивалось, кумаринов – снижалось, эфирных масел – оставалось на уровне контроля.

Концентрация кумаринов в корнях и корневищах возрастает пропорционально изменению площади листьев.

Интенсификация синтеза кумаринов может быть реализована активацией феррохелатазы, определяющей интенсивность накопления ионов Fe^{+++} , регулирующих скорость синтеза лактонов оксикоричной кислоты.

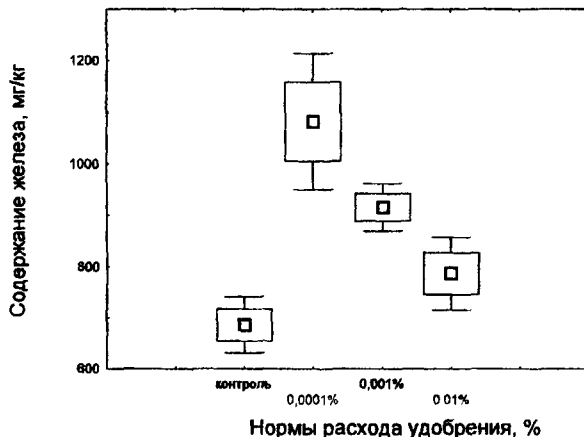


Рис 4. Влияние внесения сульфата кобальта на содержание железа в корнях и корневищах *A. officinalis*

Минимальная норма расхода удобрения вызвала увеличение содержания железа почти в два раза. Большие дозы оказывали менее выраженный эффект (рис.4).

Таблица 9

Влияние сульфата кобальта (0,0001%) на морфологические параметры *A. officinalis* второго года вегетации (весна)

Показатель	Контроль	CoSO ₄
Площадь листьев, см ²	1235,8±131,9	2101,6±158,3
Сырая масса растения, г	103,5±19,0	184,5±29,1
Сырая надземная масса, г	91,6±17,1	157,9±22,9
Сырая масса корней и корневищ, г	11,9±1,9	26,6±6,2

Последствие внесения CoSO₄ отражаются и на второй год развития *A. officinalis* (табл. 9). Исследования влияния минимальной нормы расхода удобрения показали, что сохраняются изменения площади листовой поверхности при неизменном их количестве. Масса подземных органов рас-

тений более чем в два раза превышает контрольный вариант (рис. 5). Содержание сахаров увеличивается на 15,5%.

В корнях и корневищах под влиянием сульфата кобальта отмечалось накопление зольных элементов и калия, на 28,9%.

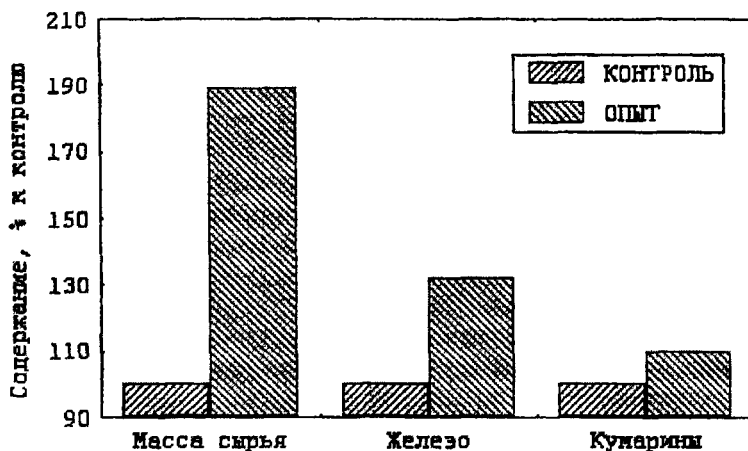


Рис.5. Последствие CoSO_4 на накопление массы сырья, железа, кумаринов и эфирных масел в корнях и корневищах *A. officinalis* на момент уборки урожая

На рисунке 5 представлены сравнительные данные по последствию сульфата кобальта на качество осеннего сырья: масса корней и корневищ остается увеличенной на 89%, железа на 32%, кумаринов на 10%. Содержание эфирного масла практически не изменяется.

ВЫВОДЫ

1. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности выращивания дягиля лекарственного в лесостепной зоне Предуралья. Растения проходят все периоды развития: ювенильный, имматурный, виргинильный и генеративный.

2. Проведенные интродукционные исследования позволили разработать элементы технологии возделывания дягиля лекарственного в Стерлитамакском и Кармаскалинском районах Башкортостана (Предуралье).

3. Установлено, что семена дягиля лекарственного относятся к труднопрорастаемым. Для получения нормальных всходов культуры посев в условиях Предуралья необходимо проводить свежесобранными семенами, для прохождения в течение 9 месяцев естественной стратификации. В природных условиях оптимальный срок посева летний (в августе) свежесобранными семенами, при котором всхожесть составляет 83%. Более поздние сроки посева вызывают снижение всхожести семян до 25-27%.

4. Уборку корней и корневищ *A. officinalis* наиболее целесообразно проводить осенью на второй год вегетации. В этом случае масса подземных органов одного растения составляет 784-852 г. В некоторых случаях можно производить уборку на третий год вегетации в начале мая, до отрастания листьев.

5. Уборка семян дягиля лекарственного проводится на второй год вегетации после созревания плодов в зонтиках второго порядка. Продуктивность семян с одного растения составляет 217 г или 48311 шт.

6. Сравнительное изучение биохимического состава корней и корневищ дикорастущих и культивируемых растений дягиля лекарственного показало, что при интродукции содержание аминокислот, белков, сахаров, кумаринов и железа существенно не изменяется.

7. Для усиления роста и развития дягиля лекарственного использовалась некорневая подкормка раствором кобальта сернистого. Оптимальной нормой расхода данного микроэлемента является 0,0001% раствор. Менее выраженное влияние проявлялось при увеличении норм расхода.

8. Подкормка растений дягиля сульфатом кобальта способствует увеличению содержания хлорофилла во всех нормах расхода на 36 – 58 %. Наибольшее изменение наблюдалось в накоплении хлорофилла *b*. Применение минимальной нормы расхода вызывает увеличение продуктивности корней и корневищ в 2,2 раза, способствует накоплению железа в подземных органах на 57%, кумаринов на 29%, сахаров - в 2,6 раза, эфирного масла на 30%.

9. Последствие кобальта проявляется и на второй год вегетации культуры: способствует увеличению продуктивности корней и корневищ на 89%, железа на 32%, кумаринов на 10%. Содержание эфирного масла не изменяется.

10. Дягиль лекарственный является ценнейшим источником биологически активных веществ. По нашему мнению его целесообразно ввести в Фармакопею Российской Федерации.

Список работ опубликованных по теме диссертации

1. Методические рекомендации по постановке интродукционных экспериментов с *Angelica archangelica* L. в Республике Башкортостан. Касьянова А.Ю., Мингажева А.М. –Уфа: БГУ, - 2002. –20 с.
2. Касьянова А.Ю. Морфологические показатели и содержание биологически активных веществ в *Angelica archangelica* L., произрастающих на участках с разным уровнем увлажнения // Итоги биол. исследований. Вып. 7: Сб. научных трудов. –Уфа: РИО БашГУ. –2003. –С. 243-245.
3. Касьянова А.Ю., Ямалов С.М. Сообщества с доминированием *Angelica archangelica* L. // Итоги биол. исследований. Вып. 7. : Сб. научных трудов. –Уфа: РИО БашГУ. –2003. –С. 245-246.
4. Касьянова А.Ю., Баширова Р.М. Влияние внесения сульфата кобальта на накопление кумаринов и общую массу *Angelica archangelica* L. // Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и механики многофазных систем: Мат. второй всероссийской научной интернет-конференции 15-31 декабря 2003 г. / УГНТУ, Институт органической химии УНЦ РАН, Институт механики УНЦ РАН, БашГУ. –Уфа. –2003. –С. 72.
5. Касьянова А.Ю., Ахтямов Н.А. Биохимический состав *Archangelica officinalis* при введении в культуру // Итоги биол. исследований Вып. 8. – Уфа: Сб. научных тр. –Уфа: РИО БашГУ. –2004. –С. 29-33.
6. Баширова Р.М., Касьянова А.Ю., Кудашкина Н.В. Влияние сульфата кобальта на содержание кумаринов и фталидов в корнях *Angelica archangelica* L. // Итоги биол. исследований Вып. 8. –Уфа: Сб. научных трудов. –Уфа: РИО БашГУ. –2004. –С. 12-17.
7. Касьянова А.Ю., Баширова Р.М., Ахтямов Н.А. Пищевая ценность *Archangelica officinalis* при введении в культуру // Бюлл. государственного Никитского ботанического сада, Украина. –Ялта. –2004. –Вып. 89. –С. 68-71.
8. Баширова Р.М., Касьянова А.Ю. Влияние сульфата кобальта на морфологические показатели *Angelica archangelica* L. и химический состав корней // Вестник БашГУ. –2004. –№3. –С. 92-96.
9. Касьянова А.Ю., Баширова Р.М., Кудашкина Н.В. Влияние внесения сульфата кобальта на биомассу растений и накопление кумаринов в корнях *Angelica archangelica* L. // Химия растительного сырья. –2004. –№1. –С. 41-45.
10. Баширова Р.М., Касьянова А.Ю., Галаяудинов И.В. Растения рода дягиль: химический состав и фармакологические свойства // Фармация. –2004. –№4. –С. 46-48.
11. Баширова Р.М., Плеханова Т.И., Касьянова А.Ю., Кудашкина Н.В. Вторичные метаболиты растений и методы их исследования. –Уфа: Изд-во «Здравоохранение Башкортостана». 2004. –168 с.
12. Баширова Р.М., Касьянова А.Ю. “Влияние сульфата кобальта на урожай и химический состав корней *Angelica archangelica* L.” // Сельскохозяйственная биология. 2005. –№1. –С.73-77.

№ 1 8 6 8 8

РНБ Русский фонд

2006-4

16559

Лицензия РБ на издательскую деятельность № 0267 от 17.06.1998г.
Лицензия РБ на полиграфическую деятельность рег. № 161 от 05.02.1999г.

Подписано в печать 06.10.2005г. Формат 60x84/16.

Бумага типографская. Гарнитура Times.

Усл.печ.л. – 1,25. Учет.изд.л. – 1,17.

Заказ № 496. Тираж 100 экз.

Отпечатано методом ризографии
с готовых авторских оригиналов

Редакционно-издательский отдел Республиканского
учебно-научного методического центра МО РБ
450006, г. Уфа