

УДК 633.8.:581.4:581.19

БИОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТЕНИЙ *PHLÓMIS TUBEROSA* (LAMIACEAE) В КУЛЬТУРЕ В СРЕДНЕЙ ПОДЗОНЕ ТАЙГИ РЕСПУБЛИКИ КОМИ

© 2017 Э.Э. Эчишвили, Н.В. Портнягина, В.В. Пунегов, К.С. Зайнуллина

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

Статья поступила в редакцию 27.04.2017

Приведены результаты первичного интродукционного изучения лекарственного растения *Phlomis tuberosa* в средней подзоне тайги Республики Коми. Установлено, что растения *Phlomis tuberosa* вступают в генеративный период на третий год жизни, затем регулярно цветут и плодоносят. В среднем за 106 суток вегетации они ежегодно формируют полноценные семена, но самосевом не размножаются. В условиях Севера исследован химический состав эфирного масла *Phlomis tuberosa*, выделенного методом гидродистилляции из свежей надземной фитомассы многолетних растений. Выход эфирного масла составляет 0,32% в пересчете на абсолютно сухое сырье. В компонентном составе масла достоверно идентифицировано 38 соединений, 21 из которых являются основными. Доминирующими компонентами являются: тимол, этилнеролат, транс- α -бергамотен, трикозан, карвакрол, гексагидрофарнезил ацетат, гептакозан, α -кариофиллен, борнилацетат, гумулен. Выявлено, что растения *Phlomis tuberosa* могут успешно культивироваться в средней подзоне тайги в качестве лекарственного растения.

Ключевые слова: интродукция, *Phlomis tuberosa*, рост, развитие, морфология, эфирное масло, компонентный состав

Зопник клубненосный *Phlomis tuberosa* L. (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench) – многолетнее травянистое растение из семейства яснотковых (губоцветных) *Lamiaceae*. Растение широко распространено в Восточной Европе, в Малой и Средней Азии, Иране и Монголии. В России произрастает на юге Европейской части, Кавказе, Дальнем Востоке и Сибири. Растет в степях, на сухих склонах, в зарослях кустарников, на суходольных лугах. Корни длинные, шнуровидные, снабженные клубневидными утолщениями. Стебель прямостоячий, четырехгранный, фиолетово-пурпурный, простой или в верхней части ветвистый, голый или с редкими простыми волосками. Прикорневые и нижние стеблевые листья крупные, треугольные, на длинных черешках, крупнорядчатые по краям, средние стеблевые схожие, верхние стеблевые – яйцевидно-ланцетные, сидячие. Цветки крупные, розовые или лиловые с линейно-шиловидными прицветниками, которые длиннее чашечки и опушены длинными отстоящими, многочисленными волосками, сидящими на бугорках. Цветки, собранные в пазухах листьев в густые ложные мутовки, удаленные друг от друга, образуют на вершине стебля длинное колосовидное соцветие. Плод дробный, распадается на четыре

односемянных орешкообразных мерикарпия. Семена с крупным прямым зародышем. В народной медицине используют траву, собранную во время цветения, и клубни, которые собирают осенью после усыхания надземной части [9]. Надземная часть растения содержит тритерпеновые соединения, флавоноиды, фенолокислоты, иридоиды, полисахариды, дубильные вещества, свободные органические кислоты, эфирное масло, макро и микроэлементы и др. [2, 6]. Зопник клубненосный не внесен в государственный реестр лекарственных средств, но исследованиями А.А. Круглой [2] установлено родство химического состава и фармакологической активности травы с зопником колючим (*Phlomis pungens* Willd.), который является официальным растением, входящим в сбор М.Н. Здренко. Также ею обоснована целесообразность и перспективы применения травы зопника клубненосного в медицинской практике в качестве сырья для получения лекарственных препаратов, обладающих желчегонным действием.

Попытки интродукции зопника колючего в Ботаническом саду предпринимались, но семена, привлекаемые к изучению по дилектусам, не прорастали из-за комбинированного покоя (A1B1), характерного для семян данного вида [5]. Семена зопника не прорастали при постоянной температуре 20–22°C и не реагировали на стратификацию при 2°C в течение пяти недель [7]. Поэтому было решено привлечь в интродукцию зопник клубненосный, широко используемый в народной медицине и по химическому составу близкий к зопнику колючему. В настоящее время биология и биохимия растений зопника клубненосного изучены недостаточно, что и обусловило начало всестороннего интродукционного

Эчишвили Эльмира Элизбаровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник. E-mail: elmira@ib.komisc.ru;
Портнягина Надежда Васильевна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, старший научный сотрудник. E-mail: portniagina@ib.komisc.ru;
Пунегов Василий Витальевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник. E-mail: punegov@ib.komisc.ru;
Зайнуллина Клавдия Степановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, и.о.заведующей отделом «Ботанический сад». E-mail: zainullina@ib.komisc.ru.

изучения данного вида в Ботаническом саду Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

Цель работы: изучение роста, развития, морфологии растений *Phlomis tuberosa* в культуре и определение массовой доли эфирного масла, его компонентного состава в надземной фитомассе растений для оценки перспективности выращивания данного вида в средней подзоне тайги Республики Коми.

Материал и методы исследований. Объектами исследований послужили два образца зопника клубненосного разного географического происхождения, произрастающие в коллекции Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Исходный материал (семена и живые растения) был получен впервые в 2009 г. из Чебоксарского филиала Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (далее Чебоксары) и Ботанического сада Нижегородского госуниверситета (далее Нижний Новгород). Исследования проводили согласно методике, рекомендованной Всероссийским институтом лекарственных и ароматических растений [3]. Растения в коллекции изучались на однородном выровненном агрофоне в тщательно контролируемых условиях интродукционного питомника. Ритм сезонного развития наблюдали с помощью методики фенологических наблюдений Главного ботанического сада РАН [4]. Морфологический анализ проводили на 10 модельных растениях в фазе цветения. Линейные размеры семян определяли с помощью микроскопа стереоскопического МССО. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятой методике [1]. Выделение и количественное определение эфирного масла (ЭМ) из надземной части многолетних растений в фазе цветения проводили в 2016 г. в лабораторных условиях методом гидродистилляции из свежего сырья по ГОСТ (24027.2-80). Количественное определение массовой доли компонентов в составе ЭМ выполняли методом капиллярной газо-жидкостной хрома-

тографии (ГЖХ) с применением аналитической системы «Кристалл 2000М» (СКБ «Хроматэк», г. Йошкар-Ола, Россия). С целью идентификации химической структуры компонентов ЭМ проводили ГХ-МС анализ на спектрометре «TRACE DSQ» корпорации «Thermo Electron». Интерпретацию масс-спектров соединений выполняли с использованием программного обеспечения Xcalibur Data System (version 1.4 SR1) и библиотеки масс-спектров NIST 05.

Результаты и обсуждение. При посеве семян зопника клубненосного инорайонных репродукций в открытый грунт прорастание растений происходило очень медленно и неравномерно. Единичные проростки отмечались через 20, массовые – через 25–40 дней после посева. Полевая всхожесть семян составила 10–30%. К концу первого года жизни высота растений варьировала от 2 до 8 см. На втором году жизни зопник клубненосный в июне был пересажен на новый участок, на гребни с междурядьями 70 см и расстоянием между растениями 40 см. Перед пересадкой провели морфологическое описание растений, большинство из которых находилось в виргинильном онтогенетическом состоянии. Растения 8–20 см высотой формировали розетку из 3–7 яйцевидно-ланцетных листьев. Листья черешковые, светло-зеленые, опушенные, по краям городчатые. Средние показатели параметров листа следующие: длина $4,6 \pm 0,4$ см, ширина $3,2 \pm 0,3$ см, длина черешка $4,9 \pm 0,5$ см. На базальной части побега просматриваются 3–5 почек возобновления. Корневая система представлена небольшим корневищем $0,5 \pm 0,1$ см в диаметре и стержневым корнем длиной до 27 см. Главный корень ветвится до второго и третьего порядков. В базальной части побега формируются и придаточные корни, которые несут клубни до 2,1 длиной и 1,4 см шириной. Клубни помельче образуются и на главном корне. К концу сезона высота виргинильных растений зопника клубненосного составила 25–40 см.

Таблица 1. Фенология и высота растений *Phlomis tuberosa* по фазам развития

Фазы развития		Нижний Новгород		Чебоксары	
		2015 г.	2016 г.	2015 г.	2016 г.
вегетация	начало	7.05	2.05	7.05	2.05
	массовое	12.05	7.05	12.05	7.05
	высота, см	38 ± 1	24 ± 2	18 ± 2	12 ± 1
бутонизация	начало	21.05	20.05	28.05	26.05
	массовое	28.05	26.05	4.06	1.06
	высота, см	79 ± 1	64 ± 2	93 ± 2	78 ± 2
цветение	начало	11.06	16.06	18.06	20.06
	высота, см	105 ± 3	94 ± 2	118 ± 2	97 ± 3
	массовое	16.06	20.06	23.06	24.06
	конец цветения	1.07	4.07	9.07	5.07
плодоношение	высота, см	112 ± 3	103 ± 4	126 ± 3	112 ± 2
	начало	1.07	4.07	9.07	5.07
	массовое	17.07	26.07	29.07	26.07
	высота, см	112 ± 3	107 ± 4	127 ± 3	119 ± 3
	сбор семян	20.08	16.08	20.08	16.08

На третий год жизни растения зопника клубненосного перешли в генеративный период, затем ежегодно цвели и плодоносили, но не формировали самосев. В условиях среднетаежной подзоны Республики Коми многолетние растения зопника клубненосного характеризуются высокой зимостойкостью. Весеннее отрастание начинается в первой декаде мая, сразу после перехода положительных температур через 5°C. Начало бутонизации отмечается в третьей декаде мая, начало цветения – во второй декаде июня, заканчивается цветение в первой декаде июля. Необходимо отметить, что растения зопника клубненосного из Нижнего Новгорода зацветали на 4–7 суток раньше, чем растения из Чебоксар (табл. 1). Продолжительность цветения обоих образцов составляет 16–22 суток. Массовое плодоношение приходится на вторую – третью декаду июля, сбор семян проводили во второй декаде августа. Продолжительность периода от начала вегетации до формирования зрелых семян составляет 106–107 суток, что достаточно для развития растений и формирования полноценных семян с массой 1000 шт. семян 3,1 г, 6,2–6,3 мм длиной и 1,6–1,8 мм шириной. Энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян сыктывкарской репродукции достаточно высокие – 45 и 71 % соответственно. Период прорастания семян в чашках Петри составил 13 дней.

Нарастание побегов зопника клубненосного в высоту продолжается до конца июня (табл. 1). Наибольшие среднесуточные приросты отмечены в период от массового отрастания до начала цветения, у растений из Нижнего Новгорода они составляли 3,0–3,7 см, Чебоксар – 4,7–5,2 см. Максимальная высота растений из Нижнего Новгорода варьировала от 84 до 130 см, Чебоксар – от 105 до 145 см. В конце июня нами были определены морфологические признаки генеративного побега у растений обоих образцов (табл. 2). В условиях культуры многолетнее растение зопника клубненосного формирует прикорневую розетку листьев 35–45 см длиной и 2–3 облиственных генеративных побега, разветвленных в верхней части до побегов второго порядка (3 пары). Существенных различий по морфологическим признакам между образцами не выявлено. На верхушке главного побега формируется колосовидное соцветие 30–45 см длиной, состоящее из 6–7 расставленных мутовок. В среднем в одной мутовке образуется 21–26 цветков. На концах побегов второго порядка 17–27 см длиной формируются соцветия, состоящие из трех мутовок, среднее число цветков в них варьирует от 8 до 17. Уже в июле отмечается усыхание листьев на растениях, после сбора семян засыхают и генеративные побеги. Второй генерации листьев у зопника клубненосного в наших исследованиях мы не наблюдали.

Таблица 2. Морфометрические признаки генеративного побега *Phlomis tuberosa*

Признаки	Год	Происхождение образцов	
		Нижний Новгород	Чебоксары
длина главного побега, см	2015 2016	119±3,2 103±3,7	127±2,8 112±1,9
диаметр основания побега, см	2015 2016	0,8±0,03 0,7±0,03	0,9±0,08 0,7±0,03
число стеблевых листьев, пар	2015 2016	4,0±0,1 4,0±0,1	3,9±0,1 4,0±0,1
размеры листа на главном побеге, см длина ширина	2015	11,5±0,6	14,5±1,0
	2016	12±1,1	11,5±0,9
	2015	5,0±0,6	7,0±0,7
	2016	5,0±0,8	5,0±0,6
число мутовок в соцветии на главном побеге, шт.	2015 2016	6,0±0,4 6,0±0,4	7,0±0,2 7,0±0,6
число цветков в мутовке на главном побеге, шт.	2015 2016	21±3,4 26±2,6	24±3,8 22±3,3
длина побега второго порядка, см	2015 2016	24±2,7 27±1,2	18±2,3 17±3,7
размеры листа на побеге второго порядка, см длина ширина	2015	2,9±0,2	2,8±0,2
	2016	3,4±0,3	3,8±0,5
	2015	0,8±0,06	0,8±0,07
	2016	0,7±0,06	1,2±0,1
число мутовок в соцветии на побеге второго порядка, шт.	2015 2016	3,0±0,4 3,3±0,2	3,5±0,3 2,4±0,4
число цветков в мутовке на побеге второго порядка, шт.	2015 2016	17,0±1,5 14,0±1,7	8,0±1,3 11,0±1,9

В 2016 г. методом гидродистилляции выделяли эфирное масло из надземной фитомассы растений зопника клубненосного из Нижнего Новгорода. Общее содержание ЭМ составило 0,32% в пересчете на абсолютно-сухое сырье. Визуально эфирное масло, полученное из растений, выращиваемых в условиях культуры Республики Коми, представляло собой легко подвижную прозрачную жидкость со слабо выраженным синеватым оттенком из-за низкого содержания хамазулена (0,3% от массы масла). Достоверно в эфирном масле идентифицировано 38 компонентов, 21 из которых являются основными, так как их массовая доля превышает 0,5% от эфирного масла абсолют (табл. 3). Идентифицированные соединения составляют 86,4% от массы масла. Установлено, что доминирующим компонентом в

эфирном масле зопника клубненосного, является тимол (30,9%), при наличии также ароматических соединений карвакрола (4,2%) и метилового эфира тимола (0,5%). Есть исследования, доказывающие, что растения *Thymus baicalensis* Serg. с преобладанием в эфирном масле тимола и карвакрола произрастают в северных широтах и лучше защищены от микроорганизмов, так как эти соединения обладают выраженными антисептическими и фунгицидными свойствами [8]. Кроме тимола и карвакрола в эфирном масле зопника клубненосного в наибольших концентрациях (2,8–5,8%) присутствуют восемь компонентов: этилнеролат, транс- α -бергамотен, трикозан, гексагидрофарнезил ацетон, гептакозан, α -кариофиллен, борнил-ацетат, гумулен.

Таблица 3. Компонентный состав эфирного масла из надземной фитомассы *Phlomis tuberosa*, выращиваемого в средней подзоне тайги Республики Коми, 2016 г.

Компоненты	Массовая доля, в % от цельного масла	Время удерживания, ч:мин:с	Компоненты	Массовая доля, в % от цельного масла	Время удерживания, ч:мин:с
Окт-1-ен-3-ол	0,6	0:06:55	α -Кариофиллен	3,5	0:30:36
Камфен	0,1	0:11:02	Гумулен	2,8	0:31:11
Δ -3-Карен	0,3	0:13:07	β -Фарнезен	1,7	0:31:30
Лимонен	0,1	0:15:07	Гермакрин D	0,1	0:31:45
Гамма-терпинен	0,2	0:16:24	Кадиона-1(10),4-диен	0,7	0:32:18
Линалоол	0,2	0:18:02	Мууролон	1,0	0:32:29
Борнеол	0,4	0:18:56	Кадиона-3,9-диен	0,1	0:32:47
Тимол	30,9	0:19:11	α -Кадинол	0,2	0:36:50
Карвакрол	4,2	0:20:05	α -Бисаболол	0,3	0:37:34
Этилнеролат	5,8	0:21:07	Хамазулен	0,3	0:39:22
Метилловый эфир тимола	0,5	0:23:13	Нероледол изобутоноат	0,9	0:41:51
Карвон	1,9	0:23:04	Гексагидрофарнезил ацетон	4,1	0:42:09
Гераниол	1,3	0:24:03	Пальмитиновая кислота	1,2	0:43:01
Борнил ацетат	3,3	0:25:04	Цембрен	0,3	0:43:19
α -Лонгипинен	0,1	0:27:22	Трикозан	5,3	0:45:33
Геранилацетат	0,1	0:28:15	Тумбергол	0,7	0:46:40
Лонгифолон	1,1	0:28:59	Пентакозан	2,2	0:50:14
изо - Кариофиллен	0,3	0:29:13	Гептакозан	3,6	0:51:50
транс- α -Бергамотен	5,7	0:30:19	Гексадекановая кислота	0,4	0:52:21

Выводы:

1. Зимостойкость растений зопника клубненосного высокая (97–100 %). В первые два года жизни растения находятся в прегенеративном периоде и характеризуются медленными темпами роста и развития. Массовый переход растений в генеративный период происходит на третьем году жизни. Затем многолетние растения ежегодно цветут, плодоносят и формируют полноценные семена. Полученные данные по фенологии и динамике нарастания побегов в высоту зопника клубненосного могут быть использованы для планирования сроков заготовки лекарственного сырья.

2. Исследован химический состав эфирного масла зопника клубненосного, выделенного методом гидродистилляции из надземной части растений. Выход эфирного масла составил 0,32% в пересчете на абсолютно-сухое сырье. Компонентный состав масла исследован методом хромато-масс-спектрометрии. Достоверно идентифицировано 38 компонентов, 21 из которых являются основными. Особенностью эфирного масла зопника клубненосного является наличие в нем высокого содержания тимола (30,9%) в составе эфирного масла.

3. Учитывая высокую зимостойкость, способность многолетних растений формировать полноценные семена, а также достаточно высокое

содержание эфирного масла в надземной фитомассе растений, зопник клубненосный может успешно культивироваться в подзоне средней тайги Республики Коми в качестве лекарственного растения.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Некоторые аспекты репродуктивной биологии ресурсных видов растений в культуре на европейском Северо-Востоке России» № 115012860039.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Зайцев, Г.Н. Методика биометрических расчетов. – М.: Наука, 1973. 256 с.
2. Круглая, А.А. Фармакогностическое изучение зопника колючего и зопника клубненосного, произрастающих на Северном Кавказе: автореф. дис. ... канд.фарм.наук. – Пятигорск, 2008. 20 с.
3. Майсурадзе, Н.И. Методика исследований при интродукции лекарственных растений / Н.И. Майсурадзе, В.П. Киселев, О.А. Черкасов и др. // Лекарственное растениеводство. – М.:ВИЛАР, 1984. Вып. 3. 33 с.
4. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР // Бюл. Гл. ботан. сада. 1979. Вып. 113. С. 3–8.
5. Николаева, Н.Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / Н.Г. Николаева, И.В. Лянгузова, В.Н. Гладкова. – Л.: Наука, 1985. 347 с.
6. Першукова, А.М. Зопник клубненосный и его биологическая активность / А.М. Першукова, Г.П. Сафронова // Итоги биологических исследований. – Челябинск, 2000. №2. 8 с.
7. Портнягина, Н.В. Интродукция лекарственных растений в ботаническом саду Института биологии Коми НЦ УрО РАН / Н.В. Портнягина, К.С. Зайнуллина, Э.Э. Эчишвили // Ботанические сады и устойчивое развитие северных регионов: Матер. докл. Всерос. науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию юбилею ПАБСИ КНЦ РАН. – Апатиты-Кировск, 2011. С. 160–165.
8. Рабжаева, А.Н. Компонентный состав эфирного масла *Thymus baicalensis* Serg. (семейство *Lamiaceae*), произрастающего на территории Восточной Сибири и Монголии / А.Н. Рабжаева, С.В. Жигжитжапова, Л.Д. Раднаева // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 119–126.
9. Флора СССР, Т. XXI. – М.,Л.: Изд-во АН СССР, 1954. С. 57.

BIOMORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTIC OF *PHLÓMIS TUBEROSA* (LAMIACEAE) PLANTS IN CULTURE IN THE TAIGA MIDDLE SUBZONE IN KOMI REPUBLIC

© 2017 E.E. Echishvili, N.V. Portnyagina, V.V. Punegov, K.S. Zaynullina

Institute of Biology Komi Scientific Center UrB RAS, Syktyvkar

Results of primary introduction studying of *Phlomis tuberosa* herb in the taiga middle subzone in Komi Republic are given. It is established that *Phlomis tuberosa* plants enter the generative period for the third year of life, then regularly blossom and fructify. On average in 106 days of vegetation they annually form full-fledged seeds, but they do not multiply themselves by self-seeding. In the conditions of the North the chemical composition of *Phlomis tuberosa* essential oil emitted with a hydrodistillation method from the fresh elevated phytomass of perennial plants is investigated. An exit of essential oil makes 0,32% in terms of absolutely dry raw materials. In component composition of oil 38 compounds are authentically identified, 21 of which are the main. The dominating components are: thymol, ethyl nerolate, trans- α -bergamotene, tricosan, carvacrol, hexahydrofarnesyl acetate, heptacosan, α -caryophyllene, bornylacetate, humulen. It is revealed that *Phlomis tuberosa* plants can successfully be cultivated in the taiga middle subzone as a herb.

Key words: introduction, *Phlomis tuberosa*, growth, development, morphology, essential oil, component structure

Elmira Echishvili, Candidate of Biology, Research Fellow.

E-mail: elmira@ib.komisc.ru;

Nadezhda Portnyagina, Candidate of Agriculture, Associate Professor, Senior Research Fellow. E-mail:

portniagina@ib.komisc.ru;

Vasiliy Punegov, Candidate of Chemistry, Senior Research Fellow. E-mail: punegov@ib.komisc.ru;

Klavdiya Zaynullina, Candidate of Biology, Senior Research Fellow, Acting as Chief of the Department "Botanical Garden".

E-mail: zaynullina@ib.komisc.ru.