

Черняк Дарья Михайловна

**БОРЩЕВИК СОСНОВСКОГО (HERACLEUM SOSNOWSKYI
MANDEN.) И БОРЩЕВИК МЕЛЛЕНДОРФА (HERACLEUM
MOELLENDORFFII HANCE) НА ЮГЕ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (БИО-
ЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВА-
НИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ)**

03.02.14 – биологические ресурсы

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Владивосток 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Горно-таежной станции им. В.Л. Комарова Дальневосточного отделения Российской академии наук

Научный руководитель

Зориков Петр Семенович
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты

Храпко Ольга Викторовна
доктор биологических наук,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Ботанический сад-институт ДВО РАН,
заведующий лабораторией флоры Дальнего Востока
Ухваткина Ольга Николаевна
кандидат биологических наук,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Биолого-почвенный институт ДВО РАН,
научный сотрудник

Ведущая организация

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Приморская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится «14» марта 2013г. в 10 часов на заседании диссертационного Совета Д 005.005.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН по адресу: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, д. 159, ТИБОХ ДВО РАН. Факс: 8(4232)31-40-50, e-mail: komand@piboc.dvo.ru

С диссертацией можно ознакомиться в филиале Центральной научной библиотеки ДВО РАН Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН (г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, д. 159).

Текст автореферата размещен на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации vak2.ed.gov.ru

Автореферат разослан 13 февраля 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук, доцент



Командрова Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Роль растительного мира в жизни человека трудно переоценить. В процессе эволюции растения изменялись и приспосабливались к определенным условиям среды обитания: климату, солнечному свету и космическому воздействию. В результате этого они накапливали экологическую и биохимическую информацию, в том числе биологически активные вещества (БАВ). Биологически активные вещества необходимы для собственной жизнедеятельности растений и являются полезными для человека и животных (Зориков и др., 2007). Известно, что с древних времен растения использовались как лечебные и профилактические средства. Тысячелетиями в каждом регионе накапливались знания о свойствах растений, создавались лечебные и профилактические препараты (Индия, Тибет, Китай, Монголия и др.).

По данным многотомного издания «Флора СССР», флористическое богатство России насчитывает около 20 тысяч видов растений (Флора СССР, 1950, 1951). Многообразию растительности обуславливается значительной протяженностью территории и разнообразием климатических условий. Особенно сложна и многообразна флора горных районов страны, в первую очередь Кавказа, Южной Сибири и Дальнего Востока (Вавилов, Кондратьев, 1975). Видовой состав лекарственных растений флоры этих регионов исследован достаточно полно, но их биохимические и ресурсные характеристики практически не изучались. Потребность в исследованиях в области ботанического ресурсоведения лекарственных растений обусловлена произошедшими в 90-х годах на территории бывшего СССР политическими, экономическими и территориальными изменениями, которые привели к тому, что местообитания многих ресурсных видов (*Sophora japonica* L. и др.), в том числе и лекарственных растений, оказались за ее пределами.

Современное состояние отечественной сырьевой базы лекарственного и кормового растительного сырья не соответствует потребностям производства. Это обусловлено тем, что с началом рыночных реформ государственное регулирование производства, заготовки, переработки и потребления лекарственного и кормового растительного сырья было сведено к минимуму, а сложившаяся за последние 15-20 лет система распределения лекарственного сырья в России приобрела черты стихийного рынка.

Широкое использование в последние годы растительных лекарственных средств повлекло за собой увеличение объемов заготовок. Интенсивное антропогенное воздействие (добыча полезных ископаемых, лесозаготовки, распашка земель), а также уничтожение пожарами местообитаний растений создает угрозу истощения запасов многих лекарственных видов. Путем повышения биоресурсного потенциала лекарственных и кормовых растений являются растения-интродуценты.

Одним из обширных семейств, богатых потенциальными интродуцентами, является семейство Зонтичные (*Umbelliferae* Moris.), из которых весьма перспективен род Борщевик (*Heracleum* L.). На Дальнем Востоке произрастает четыре представителя этого рода: *H. moellendorffii* Hance, *H. dissectum* Ledeb., *H. voroschilovii* Gorovoi, *H. dulce* Fisch. Наиболее широко из них распространены два вида: борщевик Меллендорфа (*H. moellendorffii*) и борщевик сладкий (*H. dulce*) (Зориков и др., 2007).

На юге Приморского края произрастает *H. moellendorffii*, который считается перспективным для изучения в качестве потенциального лекарственного сырья. Из сведений народной медицины известно, что нанайцы употребляли отвар корней этого растения внутрь при желудочно-кишечных заболеваниях (гастритах, колитах), а наружно – при кожных заболеваниях. Однако для использования в официальной медицине этот вид мало изучен. Перспективное использование *H. moellendorffii* в качестве лекарственного сырья требует оценки физико-химических характеристик сырья и биологической активности растения, выполненной с учетом ареала распространения, условий произрастания и ресурсного потенциала.

При химическом изучении рода *Heracleum* были обнаружены и извлечены из листьев тритерпеновые сапонины и дубильные вещества пирокатехиновой группы, в корнях – незначительное количество алкалоидов и кумаринов, в соцветиях – алкалоиды (качественные реакции), кумарины, сапонины, флавоноиды и дубильные вещества пирокатехиновой группы, в плодах – кумарины и сапонины (Комисаренко и др., 1962; Гиоргобиани и др., 1969; Георгиевский и др., 1990).

H. sosnowskyi Manden. описан И.П. Манденовой (1944) на территории Грузии (Месхетия). Его природный ареал охватывает Восточный Кавказ, Западное, Восточное и Южное Закавказье (Манденова, 1944, 1950; Гельтман и др., 2009). На Дальний Восток *H. sosnowskyi* занесен из европейской части России (Коми, Сыктывкар), вначале на о. Сахалин, а затем на территорию Горнотаежнотаежной станции ДВО РАН. Как утверждает Н.А. Орлин [2003], редко найдется растение, содержащее столько природных, в том числе и биологически активных соединений, сколько их в *H. sosnowskyi*.

Виды *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* представляют интерес как перспективные кормовые и лекарственные растения, благодаря содержанию во всех их органах флавоноидных и кумариновых соединений, обладающих ценными фармакологическими свойствами (Комисаренко, Сацыперова, 1974; Басаргин, Горовой, 1975; Сацыперова, 1984). Разнообразные свойства *H. sosnowskyi* определяют перспективы комплексного использования этого вида в хозяйственной деятельности человека.

Большая масса вегетативной части *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*, содержащийся в растениях широкий спектр вторичных метаболитов, потенциальных носителей биологической активности, и возможность применения этих веществ в хозяйственной деятельности человека определили цель нашей работы.

Цель и задачи. Целью настоящей работы является изучение условий произрастания, динамики развития, возможности использования *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* в условиях юга Приморского края, накопление питательных и биологически активных веществ, исследование биологической активности. Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- 1) изучить биоморфологические особенности динамики роста и развития *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* в условиях юга Приморского края;
- 2) исследовать особенности биологии размножения, изучить динамику накопления зеленой массы растений;
- 3) разработать методы контроля размножения *H. sosnowskyi*;
- 4) исследовать состав витаминов в надземной части *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*;
- 5) определить динамику содержания питательных веществ в процессе вегетации *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*;
- 6) определить количественный и качественный состав фурукумаринов в *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*, произрастающих на юге Приморского края;
- 7) исследовать биологическую активность водного извлечения *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*.

Научная новизна. Впервые проведено изучение биоморфологических особенностей *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* в условиях юга Приморского края. Изучена динамика роста и развития интродуцента *H. sosnowskyi* и аборегенного вида *H. moellendorffii*. Определено содержание сахаров, витаминов, протеина. Определено действие водных извлечений из *H. sosnowskyi* на внутренние органы лабораторных животных (токсическое, гонадотропное, гематологическое). Определено антиоксидантное действие водного извлечения из *H. sosnowskyi*. Определено содержание фурукумаринов в *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*.

Практическая ценность. На основании изучения даны рекомендации по рациональному выращиванию и использованию борщевиков. Разработана агротехника выращивания *H. sosnowskyi* на юге Приморского края и разработаны методы, препятствующие распространению этого вида как сорного растения. Даны рекомендации по использованию *H.*

sosnowskyi и *H. moellendorffii* в качестве кормового, пищевого и лекарственного сырья на юге Приморского края. Даны рекомендации по использованию фурукумаринов *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* в медицинских целях. Определено биологическое действие извлечений из *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*

Материалы диссертации используются в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования Приморской государственной сельскохозяйственной академии (г. Уссурийск) в образовательном процессе и организации просветительной работы с населением. Составлены и опубликованы рекомендации по рациональному использованию *H. sosnowskyi*.

Апробация работы. Результаты работы (материалы диссертации) были представлены на Дальневосточной междисциплинарной молодежной научной конференции «Современные методы научных исследований» (Владивосток, 8-12 сентября 2011 г.), Международном симпозиуме, посвященном Международному году леса «Растительные и животные ресурсы лесов мира» (Уссурийск, 1-2 октября 2011 г.), XI межвузовской научно-практической конференции «Молодые ученые – агропромышленному комплексу Дальнего Востока», (Уссурийск 01-02 ноября 2011 г.).

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано: монография, 7 научных работ, в том числе 6 статей в ведущих изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией РФ.

Структура диссертации и ее объем. Диссертация изложена на 143 страницах текста, состоит из введения, 4 глав, общих выводов, списка литературы, включающего 270 источников, из которых 40 на иностранных языках, иллюстрирована 11 рисунками, содержит 22 таблицы, 3 приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Обзор литературы

Представлено систематическое положение *H. sosnowskyi* Manden и *H. moellendorffii* Hance, характеристика по ареалу произрастания, жизненному циклу и размножению, изменчивости вида, введению в культуру, истории введения в культуру и географическому распространению, химическому составу.

2. Материалы и методы

Объектом исследования являлись растения *H. sosnowskyi*, высаженные семенами на базе опытного питомника Горнотаежной станции ДВО РАН Уссурийского района и растения *H. moellendorffii*, произрастающие как в естественных условиях, так и в условиях опытного питомника. Исследования проводили в 2008-2010 вегетационные периоды. Согласно данным наблюдений за период с 2008 по 2010 год на территории Горнотаежной станции ДВО РАН среднегодовые температуры воздуха составляли 4,2 - 5,0⁰С.

Агрохимический анализ почвы: содержание органического вещества (гумуса) определяли методом Тюрина (1951), рН солевой вытяжки, обменного калия и фосфора - по Кирсанову (ГОСТ 26207-91).

Биолого-морфологические исследования растений *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* проводились по общепринятым методикам (Доспехов, 1985; Зайцев, 1972; Кузнецова, 1974; Миркин и др., 2000; Морозова и др., 1997; Муравьева, 1991; Пименова и др., 1998).

Заготовка семян проводилась вручную во время созревания основных зонтиков. Хранение семян осуществлялось в хлопчатобумажных мешках в сухом проветриваемом помещении (Положий и др., 1988).

Для выведения семян *H. sosnowskyi* из состояния покоя и последующего прорастания проводили предпосевную стратификацию. Семена *H. sosnowskyi* на стратификацию

закладывали в середине февраля (за 2-3 месяца до высева). Одну часть семян перемешивали с тремя частями песка. Приготовленную смесь хорошо увлажняли и укладывали в поддоны высотой 20 см, после чего поддоны помещали в холодильные камеры. Один раз в 2 недели смесь перемешивали, а при подсыхании увлажняли.

В течение двух первых недель в холодильной камере температура поддерживалась близкой к нулевой ($-0,5^{\circ}\text{C}$ $+0,5^{\circ}\text{C}$), в последующие две недели ее повышали до $+2-3^{\circ}\text{C}$, а затем до $+4^{\circ}\text{C}$. Стратификация семян проходила при переменном режиме температур, характерном для зимне-весеннего периода.

Семена высевали гнездовым способом по схеме 60x40 см. В посевное место высевали по 5-7 штук. Глубина заделки - 1,5-2 см.

Проводили изучение семенной продуктивности и урожайности *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*. В ходе исследований определяли всхожесть семян, прошедших предпосевную стратификацию. Всхожесть определялась путем подсчета проросших семян (Методические..., 1980; Положий, и др., 1988). Для определения урожайности служила надземная часть растений 2 - 3 годов жизни.

Фенологические наблюдения проводились по общепринятым методикам (Доспехов, 1985; Бейдеман, 1974).

В *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* содержание каротина и витаминов Е и С определялось согласно существующих методик (Петербургский, 1959; Нечитайло и др., 1966; Зоотехнический..., 1989).

Содержание сахара определяли в свежем растительном материале хроматографическим методом (Практикум..., 1959; Пешкова, Громова, 1965; Селин, 1967).

Определение сырого протеина проводили методом И.Г. Къельдаля (Зоотехнический..., 1989). Пробы для анализа брались в разные фенологические фазы растения.

Извлечение фурукумаринов проводилось согласно существующим методикам (Комисаренко, Сациперова, 1974; Георгиевский, 1976).

Для проведения опытов на лабораторных животных использовали водное извлечение из надземной части *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*. Из воздушно-сухого сырья (надземная часть растений) готовили водные настойки (1:1).

Токсичность определяли по Д. А. Керберу (Беленький, 1963).

Для изучения гонадотропного действия использовались 40 белых беспородных неполовозрелых мышей-самцов массой 6,7-7,0 г и 40 беспородных мышей-самок с массой тела 7-7,5 г. При разделении животных на группы проводили ранжирование по массе тела и половым признакам. В каждой группе было по 10 неполовозрелых самцов и самок. Гонадотропное действие изучалось по существующим методикам путем взвешивания матки и яичников, семенных пузырьков с предстательной железой и семенников и определения отношения их веса к весу тела мышки.

Гематологические показатели определялись соответственно существующим методикам (Предтеченский, 1964).

Для изучения действия водного извлечения из *H. sosnowskyi* на внутренние органы животных было сформировано три группы животных. В каждой группе было по 10 мышей самцов весом 20-22 гр. Водное извлечение вводилось в желудок. По окончании эксперимента животные усыплялись с помощью диэтилового эфира. Органы животных отпрепарировались и взвешивались на торсионных весах.

Методика определения антиоксидантного действия основана на определении качественного состава эритроцитов крови кролика. Сущность метода заключается в получении фотоэлектрориметрических измерений динамики распада эритроцитов под действием гемолитического вещества (соляной кислоты) (Брехман, 1968; Зориков, 1974).

Полученные данные подвергались математической обработке в соответствии с рекомендациями (Беленький, 1963).

3 Исследование *Heracleum sosnowskyi* и *Heracleum moellendorffii* на юге Приморского края

3.1 Морфологические и биологические особенности развития *Heracleum sosnowskyi* и *Heracleum moellendorffii*

Фенологические наблюдения, которые проводились в 2008 – 2010 гг., показали, что *H. sosnowskyi* является монокарпическим растением с двулетним или многолетним циклом развития. Жизненный цикл развития *H. sosnowskyi* делится на четыре возрастных периода: латентный, вергинильный, репродуктивный (генеративный) и сенильный.

При наблюдении за растениями первого года жизни нами отмечены следующие фазы вегетации: начало вегетации (появление всходов), появление 1 настоящего листа (отмирание семядолей), появление 2 – 3-х настоящих листьев, появление 4-го настоящего листа, появление 5-го настоящего листа. При наблюдении за *H. sosnowskyi* второго и третьего годов жизни были выделены такие фазы вегетации: начало вегетации (появление всходов), появление 4 – 5-го листов, появление 6-го листа (смыкание в междурядьях, размеры и рассеченность листовой пластины достигают максимума), бутонизация, начало цветения, полное цветение центрального зонтика, начало созревания семян центрального зонтика, начало созревания семян боковых зонтиков, осыпание семян, начало отмирания (усыхание частей растений), полное отмирание. Самым продолжительным периодом являлась фенофаза «отрастание - начало бутонизации», которая составляла 70 дней. Фаза бутонизации была короткой - около 10 дней. Фенофазы цветения и плодоношения были растянуты до 30 дней. Наблюдения проводили с периодичностью в 6-8 дней, смену фаз развития отмечали соответствующими датами.

После прохождения стратификации нами был проведен посев семян на опытный участок. В первый год наблюдений нами были отмечены особенности динамики роста растений осеннего и весеннего посева *H. sosnowskyi* (рис. 1, 2).

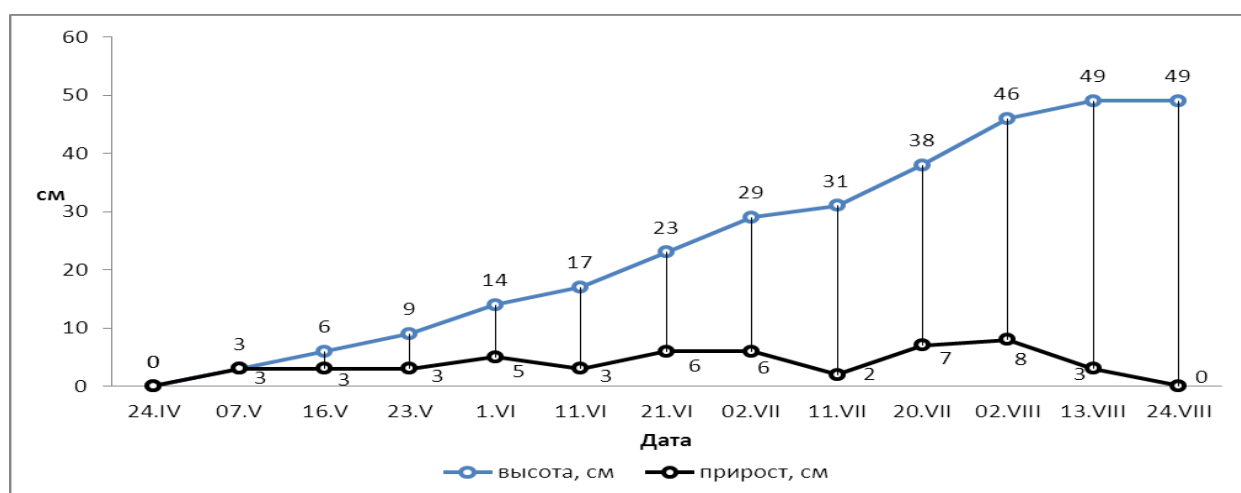


Рис. 1 Динамика линейного роста растений *H. sosnowskyi* 1-го года жизни осеннего посева (2007 г.)

В первый год наблюдений нами были отмечены особенности динамики роста растений *H. sosnowskyi*. Всходы осеннего посева появились во второй половине апреля, а всходы весеннего посева появились в первой декаде мая. Первыми появились две семядоли продолговатой формы. Семядоли после выхода на поверхность продолжали расти, выполняя функцию ассимиляции. Нами было отмечено, что всходы отличались устойчивостью к весенним заморозкам - они выдерживали понижение температуры воздуха до $-3 - 5^{\circ}\text{C}$.

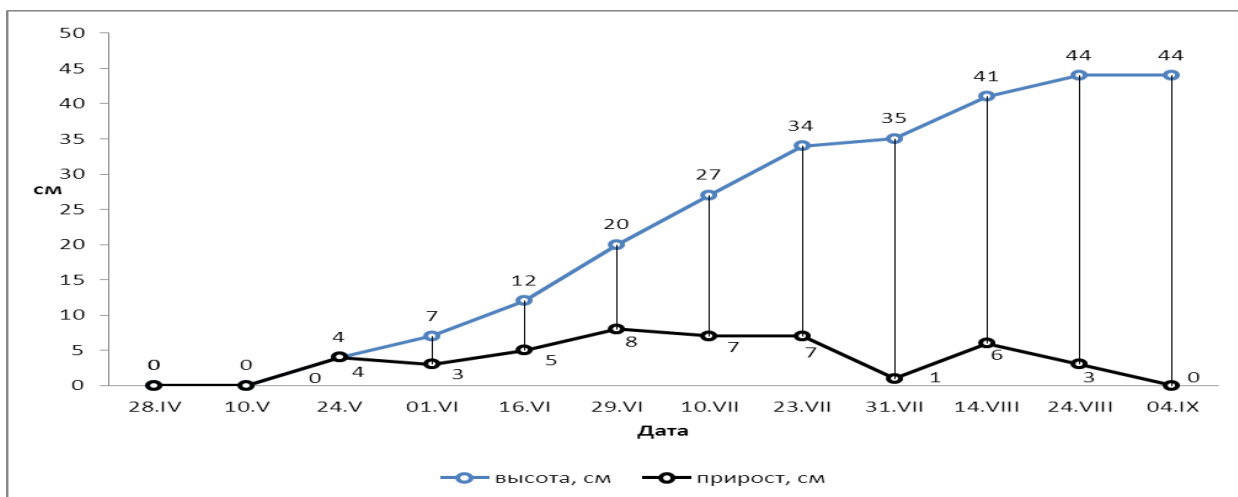


Рис. 2 Динамика линейного роста растений *H. sosnowskiy* 1-го года жизни весеннего посева (2008 г.)

У *H. sosnowskiy* первого года жизни через 10 – 15 дней после появления всходов развивался первый настоящий лист, и начиналось ветвление стержневого корня. Затем через равные промежутки времени развивались второй и последующие настоящие листья. Пластинки первых трех настоящих листьев имели округлую форму и не были дифференцированы на сегменты. Появившиеся вслед за ними четвертый и пятый настоящие листья были более крупных размеров, тройчаторассеченные. Продолжительность жизни 4-5-го листьев по сравнению с 1–3-м листьями возросла с 40 – 45 до 60 – 70 дней. Следует отметить более мощное развитие каждого последующего листа по сравнению с предшествующим. В первый год жизни *H. sosnowskiy* не образовал репродуктивный побег.

Наблюдения за линейным ростом *H. sosnowskiy* в условиях ГТС ДВО РАН показали, что в первый год жизни растения характеризуются слабой интенсивностью роста. Нарастание надземной части проходило равномерно в течение вегетации с суточным приростом 0,3 – 0,9 см. После появления 5-го настоящего листа, которое отмечалось в первой декаде сентября, рост растения замедлялся, а со снижением температуры воздуха останавливался. Растения *H. sosnowskiy* первого года жизни уходили в зиму без признаков, свидетельствующих о переходе к репродуктивному периоду. Они зимовали с одной вегетативной почкой возобновления, одетой большим количеством зачаточных листьев. Лишь у отдельных экземпляров наблюдался зачаток репродуктивного побега в зимующей почке. Такие растения в последующий год развивались по типу двулетников.

Несмотря на то, что в первый год жизни *H. sosnowskiy* характеризовался замедленным ростом надземной части, его корневая система обладала высокой энергией роста и значительно опережала нарастание зеленой массы. По нашим данным, к концу вегетационного периода корни проникали на глубину 50 – 80 см. Из этого следует, что в первый год жизни у *H. sosnowskiy* закладываются основы получения высоких урожаев зеленой массы в последующие годы жизни растения.

Во второй и третий годы жизни растений нами проводились наблюдения за ростом и развитием *H. sosnowskiy* (рис. 3, 4).

Весеннее отрастание растений начиналось очень рано, когда еще наблюдались заморозки в - 5 – 6⁰С, а среднесуточная температура находилась в пределах 2 – 3⁰С (I-II декады апреля). Зимующая вегетативная почка возобновления трогалась в рост и одновременно появлялись 3 – 5 периферийных листьев. Затем образовывались еще несколько листьев, которые все вместе создавали розетку. Листья, появившиеся первыми, вскоре отмирали (июнь-июль), а остальные продолжали расти и быстро достигали максимальных размеров (4200 см²).

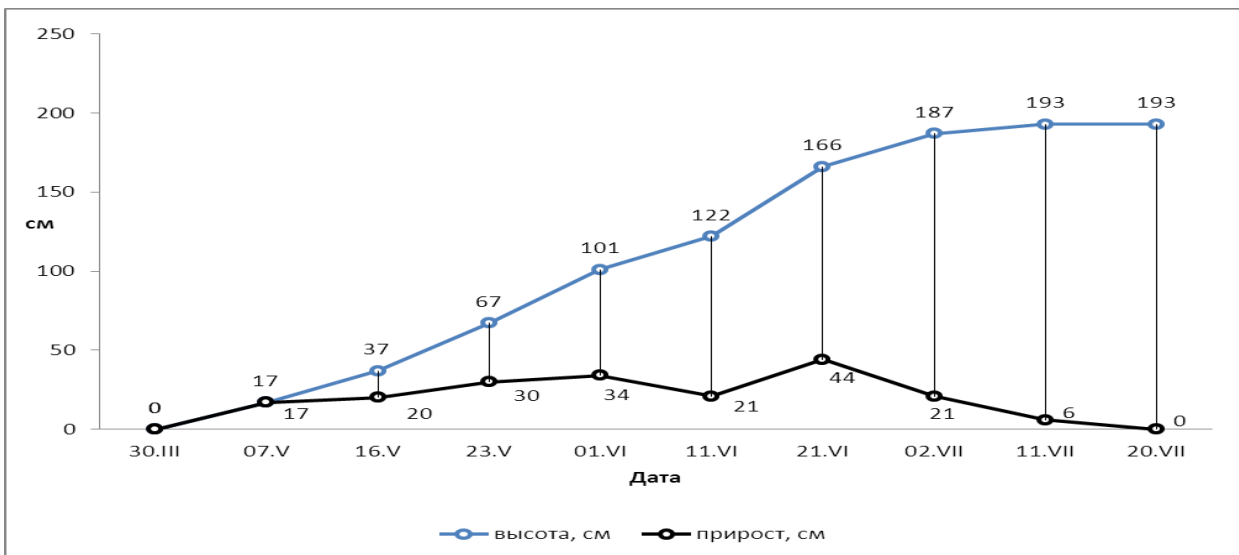


Рис. 3 Рост и развитие *H. sosnowskiy* 2-го года жизни (2009 г.)

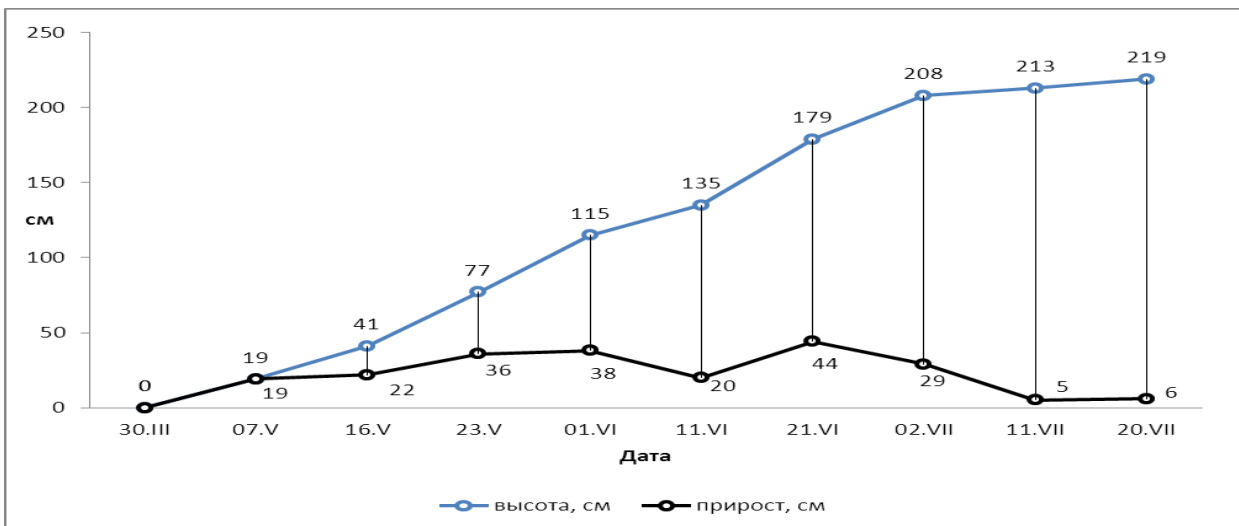


Рис. 4 Рост и развитие *H. sosnowskiy* 3-го года жизни (2010 г.)

Наиболее быстрый рост листьев отмечался через 20 – 25 дней после начала вегетации, когда их приросты в длину и ширину составляли 2 – 5 см в сутки. Более интенсивным ростом в начале вегетации отличались прикорневые листья растений, вступивших в репродуктивный период.

В июле рост растений замедлялся, и в начале августа приостанавливался. Вегетация прекращалась образованием розетки из 7 прикорневых листьев. Прикорневые листья у растений второго года, не приступивших к репродукции, вплоть до заморозков сохраняли свою свежесть и жизнеспособность. Высота растений при хороших агрометеорологических условиях достигала 120 – 150 см, а в неблагоприятный по климатическим условиям 2010 год около - 70 – 100 см.

Наращение надземной массы растений *H. sosnowskiy*, приступивших к репродукции, начиналось с появлением прикорневых листьев и последующим ростом стебля. Уже ранней весной было заметно формирование цветочного побега с междоузлиями и соцветием, прикрытого зачатками стеблевых листьев. В дальнейшем междоузлия быстро удлинялись вследствие вставочного (интеркалярного) роста. Вначале трогалось в рост нижнее междоузлие, затем последовательно - все остальные. Бутон с соцветием выходил наружу с ростом последнего междоузлия и сопровождающего его стеблевого листа (фаза бутонизации). Стебель имел столько стеблевых листьев, сколько на нем было междоузлий. Междоузлия у *H. sosnowskiy* были длинные - до 50 см. Наблюдались мощные нижние листья, по

форме такие же, как прикорневые, а по размеру - даже несколько крупнее. Вверх по стеблю размер стеблевых листьев значительно уменьшался. Самые верхние листья были сидячие, по форме тройчатые.

Стебель особенно быстро рос в начальный период. За 20 – 25 дней он достигал в высоту до 160 см. Суточные приросты в это время составляли до 4 см. В последующие 10 – 15 дней темпы роста стебля снижались, хотя оставались еще сравнительно высокими. Высота стебля к фазе цветения составляла 200 – 220 см, а суточные приросты – 2 – 3 см. В период цветения, когда рост прикорневых листьев прекращался, стебли еще продолжали свой рост за счет удлинения последнего междоузлия. Развитие стеблевых листьев происходило одновременно с ростом междоузлий, у основания которых они начинались. Это характеризует *H. sosnowskyi* как растение, обладающее высокой энергией роста.

Бутизация растений начиналась через 60 – 70 дней после начала вегетации, а цветение – через 70 – 75 дней. В период цветения у *H. sosnowskyi* начинали засыхать листья – вначале прикорневые, а затем и стеблевые.

Цветение начиналось с центрального зонтика (с зонтичков внешних кругов к центру), а примерно через 7 дней зацветали зонтики боковых побегов. Первыми раскрывались краевые цветки, затем - внутренние. Продолжительность цветения одного цветка в зонтике внешнего (5-го) круга составляла 7 – 8 дней, а центрального – 3 – 4 дня. Растения цвели в среднем 25 – 30 дней. Отцветание происходило в обратном направлении и гораздо быстрее. Для *H. sosnowskyi* свойственно перекрестное опыление, которое осуществляется с помощью насекомых, обильно посещающих соцветия (Кривошеина, 2009). Семена созревали через 30 – 40 дней. В фазу полного созревания плоды распадались на два плодика (мерикарпия). После плодоношения растения отмирали полностью.

По утверждению ряда авторов (Пименов, Остроумов, 2012; Мишуров и др., 1999), *H. sosnowskyi* редко бывает поликарпиком. По нашим наблюдениям, в условиях юга Приморского края среди растений *H. sosnowskyi* не были заметны поликарпические особи. Сенильный период у *H. sosnowskyi* начинался сразу же после созревания плодов, сначала отмирала надземная, а следом - и подземная часть. Лишь в отдельных случаях нами была отмечена перезимовка подземной части растений *H. sosnowskyi*, прошедших репродуктивный период, с дальнейшим развитием пазушных почек. Но со временем подземные органы *H. sosnowskyi* загнивали, а с ними отмирала и надземная часть. Следовательно, у некоторых растений *H. sosnowskyi* в условиях юга Приморья сенильный период затягивается до 7 месяцев.

Важной биологической особенностью *H. sosnowskyi* является устойчивость к низким температурам, а также хорошая зимостойкость, благодаря чему на протяжении периода исследований в условиях Горнотаежной станции не наблюдалось гибели молодых всходов и отрастающих растений второго и последующих лет жизни от воздействия весенних заморозков. Однако в условиях малоснежной зимы с низкими температурами на территории ГТС наблюдался незначительный выпад растений *H. sosnowskyi*. Наиболее благополучно перезимовывали растения *H. sosnowskyi* на тех участках, где снег задерживался растительными остатками. Можно предположить, что таким образом *H. sosnowskyi* проявил приспособляемость к климатическим условиям юга Приморского края.

H. moellendorffii является многолетним поликарпиком (Горовой, 1966). При наблюдении за развитием *H. moellendorffii* 2-го и последующих годов жизни в естественных условиях произрастания нами наблюдались те же фазы вегетации, что и у *H. sosnowskyi* (табл. 4). *H. moellendorffii* при отрастании образовывал розетку из 5 листьев и в фазу плодоношения достигал до 225 см.

В течение вегетационного периода 2008 г. в естественных условиях (Уссурийский район, территория ГТС) нами были выбраны растения *H. moellendorffii*, не достигшие генеративного состояния. В осенний период (вторая декада октября) 20 корней *H. moellendorffii* были перенесены на опытный участок, располагающийся на территории Горнотаежной станции ДВО РАН. Подземная часть *H. moellendorffii* имела почки возоб-

новления и хорошо развитую корневую систему, состоящую из центрального стержня и боковых отростков. Растения были высажены по схеме 70 × 60 см в ямы глубиной около 40 см. Почвенно-климатические условия во время пересадки были благоприятными. Однако весной было обнаружено, что пересаженная подземная часть растений *H. moellendorffii* оказалась нежизнеспособной. В 2009 году мы повторили эксперимент по пересадке *H. moellendorffii*. Погодные условия во второй декаде октября (2009 г.) были схожи с условиями этого периода в предыдущем году. Проанализировав отрицательный результат перезимовки растений в предыдущем году, мы выяснили, что в естественных условиях *H. moellendorffii* зимует под отмершими растительными остатками, так как в природе он соседствует с кустарниками, крупнотравьем, деревьями. Поэтому в 2009 году место посадки растений мы накрывали соломой. Весной после уборки соломы *H. moellendorffii* возобновил свою вегетацию. В процессе роста в 2009 году растения выглядели угнетенными, имели желто-зеленый цвет листьев, высота растений была не более 50 см, было сформировано 4 листа, зацвело только 20% растений. Семена сформировались только в центральных зонтиках. Осенью повторили укрытие растений *H. moellendorffii* соломой.

В вегетативный период 2010 года все 20 растений возобновили свою вегетацию. Как и в предыдущий год, высота растений *H. moellendorffii* не превысила 50 см. В репродуктивный период вступили только 2 растения.

В 2009 – 2010 гг. наблюдения за вегетацией *H. moellendorffii* на опытном участке Горнотаежной станции показали, что растения имели рост не более 50 см, хотя в естественных условиях (территория ГТС) высота растений достигала 225 см, и прирост составлял в среднем 3,2 см в сутки (рис. 5). На опытном участке растения сформировали 4 листа, в то время как в естественных условиях у них имелось 5 листьев.

В эти же годы нами были обследованы места произрастания *H. moellendorffii* на юге Приморского края. В Хасанском районе возле с. Барабаш (долина р. Барабашевка) *H. moellendorffii* достигал 170 см в высоту. В районе с. Рязановка (склоны сопок) не более 100 см. В Октябрьском районе в пойме р. Славянка нами были обнаружены растения *H. moellendorffii* высотой 155 см. В Надеждинском районе возле с. Соловей Ключ *H. moellendorffii* вырастал не более 50 – 60 см.

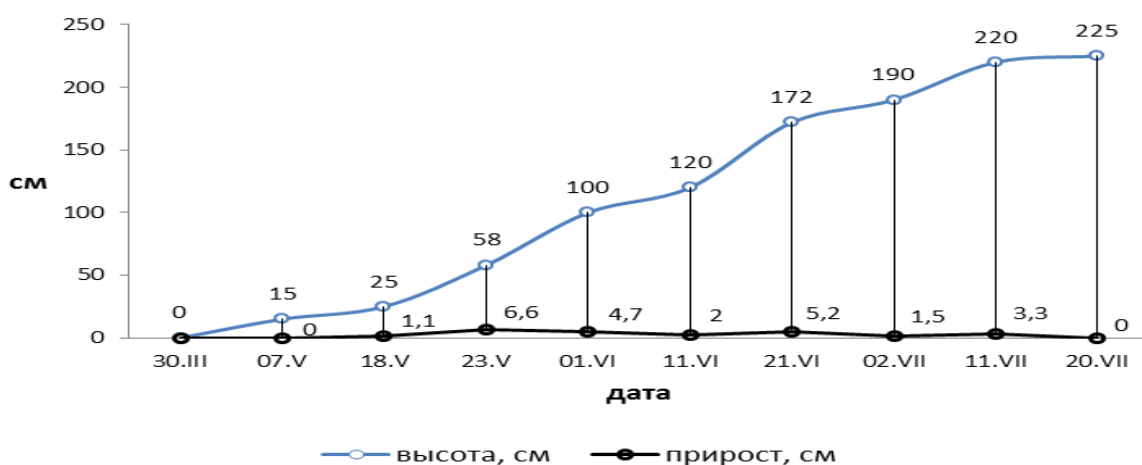


Рис. 5 Рост и развитие *H. moellendorffii* в естественных условиях произрастания (Уссурийский район) (2009 г.)

Наблюдения за ростом *H. moellendorffii* в естественных условиях позволяют предположить, что это растение требовательно к условиям увлажнения. Высота растений *H. moellendorffii* на пониженных местах близи водоемов была в 2 раза больше, чем у растений, произрастающих на открытых и недостаточно увлажненных местах.

Вероятно, угнетенное состояние растений *H. moellendorffii* на опытном участке объясняется плохими условиями произрастания для этого вида. В естественной среде он произрастает в тени кустарников и деревьев, а опытный участок был чист от сорной растительности, не был притенен и достаточно увлажнен.

3.2 Семенная продуктивность и урожайность

Для *H. sosnowskyi* были выделены следующие элементы семенной продуктивности: соцветие (центральное, боковые – 1-го, 2-го, 3-го и 4-го порядка), число простых зонтиков, число цветков в 1 простом зонтике, число цветков в 1 сложном зонтике, число плодов в 1 сложном зонтике. Данные по семенной продуктивности растений 2-го и 3-го годов вегетации представлены в табл. 1.

Одно растение *H. sosnowskyi* приносило 6800 плодов и до 13800 семян (односемянных мерикарпиев), половина из которых образовывалась в центральном зонтике. Они были больше по размеру, чем семена, находящиеся в соцветиях 2-го и 3-го порядков. В соцветиях 4-го порядка плодов не образовывалось. Плоды центрального соцветия созревали раньше, чем плоды зонтиков последующих порядков.

Семенная продуктивность центрального сложного зонтика определяет семенную продуктивность всего генеративного побега, именно он является источником плодов и семян для диссеминации. Фактическая семенная продуктивность центрального соцветия, то есть количество созревших плодов, составляет 64,5 % от потенциальной (из 4,7 тыс. цветков развивается в среднем 3 тыс. плодов и 6 тыс. семян).

H. sosnowskyi относится к группе борщевиков, имеющих крупные плоды. По данным К.А. Моисеева и др. (1979), масса 1000 семян *H. sosnowskyi* с центрального зонтика составляет 15,3 г, с боковых зонтиков – 12,6 г. Согласно нашим исследованиям у интродуцированного *H. sosnowskyi* масса 1000 семян центрального зонтика составляла $13,9 \pm 0,1$ г, а боковых зонтиков $11,1 \pm 0,2$ г.

Таблица 1. Семенная продуктивность *H. sosnowskyi* (2010 г.)

Соцветие	Число простых зонтиков, шт.	Число цветков в 1 простом зонтике, шт.	Число цветков в 1 сложном зонтике (соцветие), шт.	Число плодов в 1 сложном зонтике (соцветие), шт.
Центральное	$84,0 \pm 4,7$	$58,0 \pm 0,3$	$4720,0 \pm 294,4$	$3043,0 \pm 250,3$
1 боковое	$78,0 \pm 3,1$	$56,0 \pm 0,6$	$4100,0 \pm 73,7$	$1554 \pm 60,0$
2 боковое	$69,0 \pm 2,6$	$55,0 \pm 0,5$	$3500,0 \pm 48,6$	$1411 \pm 55,1$
3 боковое	$52,0 \pm 1,4$	$45,0 \pm 0,5$	$2300,0 \pm 55,5$	$779 \pm 48,7$
4 боковое	$30,0 \pm 3,5$	$23,0 \pm 0,6$	$706,0 \pm 80,3$	0
Всего плодов, шт.	$313 \pm 3,06$	$237 \pm 0,5$	$15326 \pm 110,5$	$6787 \pm 50,3$

В настоящее время о качестве семян судят косвенным методом, т.е. с учетом продолжительности их жизни (сохранения ими всхожести). Для определения качества семян были проведены опыты по определению лабораторной всхожести.

Семена *H. sosnowskyi* имеют недоразвитый зародыш и при весеннем посеве без специальной подготовки всходов не дают. Обязательным условием для прорастания семян

является воздействие пониженных температур на влажные семена. Поэтому их чаще высевают осенью, однако, при раннеосеннем посеве часть семян до наступления морозов может успеть прорасти, и всходы зимой погибнут. При самосеве семена в осенний период, как правило, не прорастают. Они попадают на поверхность почвы, температура и увлажнение которой бывают очень изменчивы, поэтому процесс стратификации проходит медленно.

В лабораторном эксперименте нами был использован метод предпосевной подготовки семян *H. sosnowskyi*. Сбор производили путем срезания зонтиков, поэтому семян сорных растений не попадало, и чистота семян *H. sosnowskyi* соответствовала 100%. Далее проводили очистку посевного материала от примесей – лучей зонтиков и других частей соцветий. Так как семена *H. sosnowskyi* сохраняют всхожесть не более 2 лет, то для эксперимента был использован материал сбора текущего года с центрального и боковых зонтиков.

Семена *H. sosnowskyi*, не подвергшиеся после сбора воздействию низких температур, не способны прорасти. Всхожесть влажных семян *H. sosnowskyi*, проращиваемых при температуре 10, 20 и 30⁰С даже в течение 80 – 100 дней, оказалась крайне незначительной (единичные экземпляры). Также низкой была всхожесть сухих семян, даже в том случае, когда они длительное время подвергались воздействию температуры 0,5 – 4⁰С.

Для весеннего посева семена нуждаются в искусственной стратификации. В табл. 2 приведена оптимальная температура для проращивания семян *H. sosnowskyi* при влажности субстрата 70%.

Таблица 2. Влияние низких температур (0...5⁰С) на всхожесть семян *H. sosnowskyi*

Продолжительность воздействия низких температур, дней	Всхожесть семян после действия низких температур, %			
	от -0,5 ⁰ до 0,5 ⁰ С	от 2 ⁰ до 3 ⁰ С	от 3 ⁰ до 4 ⁰ С	от 4 ⁰ до 4,5 ⁰ С
От 1 до 14	0	-	-	-
От 15 до 28	-	25	-	-
От 29 до 60	-	-	45	-
От 60 до 90	-	-	-	87

По нашим наблюдениям, для стратификации необходим период в 2-3 месяца с низкой положительной температурой от 0 до +4,5⁰С, повышение температуры до +5⁰С сдерживает прорастание семян. Кроме этого, необходимо поддержание субстрата во влажном состоянии.

В нашем опыте семена начали прорасти на третьей неделе стратификации, и к концу первого месяца доля проросших семян составила 25%. К середине стратификационного периода проросших семян оказалось около 50%, а к концу эксперимента – 90%.

Свежесобранные семена имеют всхожесть в пределах 60% (Моисеев и др., 1979). В лабораторных условиях нами было определено, что после стратификации их всхожесть составляла 90%. При хранении семян в течение года, несмотря на проведение стратификации, всхожесть снизилась до 40%, а через 3 года прорастали лишь отдельные семена. Поэтому для посева следует использовать семена урожая текущего года.

Нами была определена урожайность надземной части *H. sosnowskyi*. Средняя густота стояния растений 2-го и 3-го годов жизни *H. sosnowskyi* 5 – 7 экз/м². Урожайность плантации за 2009 – 2010 гг. составляла в среднем 85,8 т/га вегетативной массы (табл. 3).

Таблица 3. Урожайность зеленой массы *H. sosnowskyi* на опытном участке ГТС ДВО РАН, т/га

Фаза цветения		Год	
		2009	2010
Число листьев	В розетке	4-5	4-5
	стеблевых	6	6-7
Зеленая масса одного растения, кг		1,28	1,58
В пересчете на т/га		76,6	95,0

Для сравнения были проведены исследования семенной продуктивности и урожайности *H. moellendorffii*, произрастающего в естественных условиях юга Приморского края, а также на опытном участке Горнотаежной станции ДВО РАН.

При определении количества семян *H. moellendorffii* в естественных условиях (табл. 4) брали соцветие центрального зонтика, соцветия боковых зонтиков 1-го, 2-го и 3-го порядка, соцветие 4-го порядка (если оно было сформировано на растениях).

Таблица 4. Семенная продуктивность одного генеративного побега *H. moellendorffii* (2010 г.)

Соцветие	Число простых зонтиков, шт.	Число цветков в 1 простом зонтике, шт.	Число цветков в 1 сложном зонтике, шт.	Число плодов в 1 сложном зонтике, шт.
Центральное	39,0±2,3	30,0±0,3	1202,0±294,4	980,0±250,3
1 боковое	32,0±2,9	24,0±0,5	741,0±53,3	0
2 боковое	27,0±1,6	22,0±0,4	620,0±38,5	0
3 боковое	26,0±1,2	21,0±0,4	570,0±32,4	0
4 боковое	10,0±1,1	15,0±0,3	194,0±80,3	0
Всего плодов, шт.	134,0±1,82	112,0±0,38	3327,0±99,78	980,0

В естественных условиях произрастания *H. moellendorffii* дает с одного генеративного побега около 1000 плодов, причем это были плоды только центрального зонтика, а в зонтиках последующих порядков плоды не были сформированы.

В условиях интродукционного питомника генеративный побег образовался только у 6 растений *H. moellendorffii*, которые сформировали соцветие в виде центрального зонтика и боковых зонтиков первого порядка. Семена были сформированы в центральном зонтике в количестве 90 шт. Для сравнения с естественной продуктивностью семян этого количества оказалось недостаточно, поэтому сравнительный анализ не проводили.

В естественных условиях (Уссурийский район) масса 1000 семян *H. moellendorffii* с центрального зонтика составляла 12,4 г. При плотности растений в три-четыре генеративных побега на квадратный метр *H. moellendorffii* являлся источником около 3,4 тыс. се-

мян. При пересчете на 1 гектар урожайность семян растений в 2010 году составила около 0,4 тонны. Учет семян и урожайность *H. moellendorffii*, выращиваемых на опытном участке не учитывались, так как растения были в угнетенном состоянии.

Урожайность зеленой массы *H. moellendorffii* в естественных условиях (при густоте стояния растений 5 – 6 экз/м²) оказалась 2,7 т/га, что в 32 раза меньше урожайности *H. sosnowskyi*. Семенная продуктивность *H. moellendorffii* составила 14% от семенной продуктивности *H. sosnowskyi*.

Высокая семенная продуктивность и всхожесть семян *H. sosnowskyi* в условиях юга Приморского края обеспечивают интенсивное семенное возобновление вида. Это дает возможность к более быстрой адаптации, при которой вид полностью приспосабливается к новым условиям и успешно размножается.

3.2.1 Методы контроля семенного размножения и распространения *Heracleum sosnowskyi*

Интродукция новых видов растений с целью улучшения кормовой базы активно проводилась в 1970-е годы. Однако перенос растений иногда осуществлялся без соответствующих мер последующего контроля (Сафонова, Воронин, 2012).

При изучении семенной продуктивности было выяснено, что зародыш семян недоразвит. Всходы могут появиться лишь после стратификации (естественной или искусственной). В естественных условиях при созревании тысячи плодов весной прорастают не все семена (мерикарпии), а лишь те, которые находились во влажной почве и подверглись влиянию низких температур. Видимо это является природным приспособлением для контроля размножения *H. sosnowskyi* в естественных условиях. Если семена по каким-то причинам в течение 2-х лет не прорасли, то на третий год они теряют всхожесть на 100% (см. п. 3.2). По нашим наблюдениям глубокая вспашка полей, где произрастал *H. sosnowskyi*, ведет к гибели всех семян и растений.

Одним из способов ограничения образования семян является скашивание *H. sosnowskyi* в период цветения. Отросшие после скашивания растения за оставшийся период вегетации уже не успевают дать созревших семян.

Для контроля распространения *H. sosnowskyi* необходимо создавать специальные посевные участки для выращивания растений на семена. Семена необходимо собирать во время созревания их в центральном зонтике.

Для хозяйственного использования растений рекомендуется создавать полевые участки, на которых следует собирать зеленую массу в период цветения. Семена на таких участках не будут образовываться.

За 15 лет изучения растения на опытном участке ГТС, *H. sosnowskyi* не распространился на прилегающие территории. Это подтверждает эффективность наших методов контроля.

Следовательно, методами контроля над распространением *H. sosnowskyi* являются:

- скашивание растений в период цветения, что предотвращает созревание семян и их последующее распространение;
- глубокая осенняя вспашка - семена, оказавшиеся в почве на глубине более 22 см, не способны к прорастанию, в свою очередь корни растения, оказавшись на поверхности, вымерзают;
- вспашка в течение вегетационного периода способствует гибели растений *H. sosnowskyi*.

3.3 Содержание витаминов

Среди новых перспективных высокоурожайных растений, внедряемых в культуру, значительное место принадлежит *H. sosnowskyi*, который является ценной разноотрасле-

вой культурой, издавна используемой в пищу и для медицинских целей (Зориков и др., 1973; Кривошеина, 2011). Одним из показателей питательной ценности является высокое содержание в нем витаминов.

Нами изучено содержание каротина, витаминов С и Е в *H. sosnowskyi*, и в *H. moellendorffii* произрастающего в естественных условиях на территории юга Приморья (табл. 5). Показатели содержания витаминов приведены для листьев и стеблей растений, которые находились в фазе массового цветения центральных зонтиков и вступали в фазу плодоношения, в то время как боковые побеги в это время вступили в фазу цветения. Листья для анализов взяты у растений открытых мест на пойменных лугах.

Сравнение количественного содержания каротина, витаминов С и Е в стеблях и листьях у двух видов борщевиков показывают, что *H. sosnowskyi* отличается повышенным содержанием витаминов. У *H. sosnowskyi*, в сравнении с *H. moellendorffii*, содержится в среднем каротина в листьях на 19,5 % и в стеблях на 13,6 % больше. Витамина С в листьях на 47,8 % и в стеблях на 35,4 % больше, витамина Е – в листьях на 67,41%, в стеблях на 6,7 % соответственно.

Таблица 5. Содержание витаминов в *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* (2010 г.)

Вид растений	Часть растения	Место сбора	Дата сбора	Каротин, мг%	Витамин, С, мг%	Витамин, Е, мг%
<i>H. sosnowskyi</i>	Лист	Горнотаежная станция	20.07	4,36	41,15	16,25
	Стебель		20.07	2,80	29,33	12,80
<i>H. moellendorffii</i>	Лист	Уссурийский район	20.07	0,78	6,45	9,28
	Стебель		20.07	0,31	8,33	0,25
	Лист	Партизанский район	21.07	0,92	32,89	12,63
	Стебель		21.07	0,45	12,44	1,46

Следует отметить, что дальневосточный вид *H. moellendorffii*, в сравнении с изучаемым видом *H. sosnowskyi* в условиях юга Приморского края, заметно уступает в содержании витаминов.

3.4 Содержание протеина и сахара в зеленой массе

Определение питательной ценности показало, что наиболее высокое содержание основных питательных веществ в вегетативной массе *H. sosnowskyi* 2 и 3-го годов жизни приходится на фазу цветения. В сухом веществе содержание сырого протеина составляло 13,4 – 16,6%, а сахара - 20,7 – 25,8%. С наступлением плодоношения наблюдалось резкое падение питательной ценности зеленой массы растений, что связано с отмиранием биомассы в конце жизненного цикла (табл. 6).

В фазу бутонизации - начала цветения отмечается максимальное накопление сухих веществ. Ростовые процессы к этому времени почти полностью прекращаются, и происходит довольно резкий переход от интенсивного накопления сухих веществ к фотосинтетической депрессии.

Необходимо отметить, что в условиях достаточного и сравнительно равномерного увлажнения почвы в течение всего периода вегетации зеленая масса *H. sosnowskyi* отличалась пониженным содержанием сухого вещества по сравнению с периодом неустойчивого увлажнения. В период массового цветения в сухом веществе *H. sosnowskyi* 3-го года жизни белка было меньше на 3,2% и сахара на 7,6%, чем у двухлетних растений.

В растениях *H. moellendorffii*, собранных в фазу цветения (табл. 7), содержание сырого протеина было около 16%, а сахара 12%. Эти показатели были практически одинаковыми как для растений, выращиваемых на опытном участке, так и для растений собранных в естественных местообитаниях.

Таблица 6. Содержание протеина и сахара в зеленой массе *H. sosnowskyi* в разные фенофазы вегетации (2010 г.)

Дата отбора образца	Фенофазы	Сухое вещество, %	Содержание в сухом веществе, %	
			Сырого протеина	Сахара
Растения, не вступившие в регенеративный период				
10.V	4 листа	15,3	21,5	16,5
23.V	6 листьев	15,6	15,3	22,1
31.V	8 листьев	15,9	13,1	22,8
14.VI	полная бутонизация	15,9	8,9	26,3
28.VI	полное цветение	16,5	16,6	25,8
11.VII	начало созревания семян центральных зонтиков	14,2	10,6	19,9
01.VIII	9 листьев (вегетативные растения)	16,5	10,9	-
28.VIII	11 листьев (вегетативные растения)	15,2	11,1	19,6
Цветущие растения				
23.V	6 листьев	11,1	16,1	22,2
31.V	7 листьев	12,5	11,0	24,0
11.VI	начало бутонизации	9,6	13,1	18,5
20.VI	начало цветения	10,7	13,4	18,2
02.VII	полное цветение	12,3	8,9	20,7
11.VII	начало созревания семян центральных зонтиков	14,2	5,7	17,4

Таблица 7. Содержание протеина и сахара в зеленой массе *H. moellendorffii* в фазу цветения (2010 г.)

Дата отбора образца	Фенофазы	Сухое вещество, %	Содержание в сухом веществе, %	
			Сырого протеина	Сахара
В естественных условиях				
02.VII	Полное цветение	15,9	16,1	12,5
На опытном участке ГТС				
08.VII	Полное цветение	14,0	15,8	11,3

Содержание сырого протеина у *H. moellendorffii* находится в тех же пределах, что и у *H. sosnowskyi*. Однако, содержание сахара у *H. moellendorffii* оказалось в два раза меньше.

3.5 Содержание фурукумаринов в *Heracleum sosnowskyi* и *Heracleum moellendorffii*

Лекарственные растения, содержащие производные кумарина – фурукумарины, являются основными источниками получения препаратов фотосенсибилизирующего действия. В *H. sosnowskyi* основными действующими веществами являются фурукумарины. (Кузнецова, 1976). Поэтому это растение было нами изучено как потенциальный источник БАВ.

При изучении содержания фурукумаринов использовался метод бумажной хроматографии. Первое от старта пятно соответствовало сфондину ($R_f=0,12$), второе бергаптену ($R_f=0,65$), а третье ксантотоксину ($R_f=0,87$).

При просмотре хроматограммы с малой величиной R_f были выявлены две окрашенные зоны. Первое от старта пятно соответствовало ангелицину ($R_f=0,31$), а второе – умбеллиферону ($R_f=0,42$). При опрыскивании хроматограммы метанольным раствором щелочи усиливалась флюоресценция в УФ свете. При обработке хроматограммы реактивом В. Паули, наличие фурукумаринов на хроматограмме проявлялось яркими пятнами от кирпично-красного до сине-фиолетового окрашивания (табл. 8).

Изучение качественного состава фурукумаринов в *H. sosnowskyi* было проведено во всех частях растений. В плодах и корнях присутствовали следующие фурукумарины: ангелицин, бергаптен, ксантотоксин, сфондин, умбеллиферон, но в листьях отсутствовал сфондин.

Таблица 8. Качественный состав фурукумаринов в *H. sosnowskyi*

Соединения	Части растения			Флюоресценция в УФ свете		Rf	Реактив Паули
	Плоды	Корни	Листья	До опрыскивания метанольным раствором NaOH	После опрыскивания метанольным раствором NaOH		
Ангелицин	+	+	+	бледно-голубой	светло-желтый	0,31	коричнево-красный
Бергаптен	+	+	+	желто-голубой	желто-зеленый	0,65	желто-коричневый
Ксантотоксин	+	+	+	светло-желтый	лимонно-голубой	0,87	красно-фиолетовый
Сфондин	+	+	-	голубой	желто-голубой	0,12	коричнево-оранжевый
Умбеллиферон	+	+	+	лимонный	лимонно-голубой	0,42	коричнево-оранжевый

Нами было проанализировано процентное содержание фурукумаринов (метод хроматографии на бумаге) *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii*: ангелицинового ряда - сфондина и ангелицина, псораленового ряда - бергаптена и ксантотоксина, оксикумарина умбеллиферона (табл. 9).

Таблица 9. Содержание фурукумаринов в *H. sosnowskiy* и *H. moellendorffii*

Соединения	<i>H. sosnowskiy</i> , %	<i>H. moellendorffii</i> , %
Ксантотоксин	1,15	0,42
Бергаптен	1,04	0,54
Умбеллиферон	0,83	0,21
Ангелицин	0,63	0,32
Сфондин	0,35	0,17
Сумма, %	4,00	1,66

При анализе экстракта *H. sosnowskiy* было определено процентное содержание фурукумаринов: ксантотоксин – 1,15%, бергаптен – 1,04%. Эти фурукумарины обладают фотосенсибилизирующим действием, а также способностью повышать чувствительность кожи к действию УФ-лучей, стимулировать образование пигмента меланина (т.е. способствовать восстановлению пигментации кожи и волос), кроме этого способствуют росту волос, используются для лечения болезни витилиго (лейкодермия), гнездовой плешивости, тотального облысения, псориаза (Георгиевский, 1990; Машковский, 1984). Затем по убывающему ряду следует оксикумарин умбеллиферон, составляющий 0,83%. Сырье, содержащее оксикумарины, обладает антикоагулянтным действием, препятствует свертываемости крови, оказывает тонизирующее и Р-витаминное действие. Оно может использоваться для профилактики и лечения тромбозов, тромбозов, тромбозов, тромбозов, геморроя (Георгиевский, 1990). Содержание фурукумаринов ангелицинового ряда такое: ангелицин 0,63%, сфондин 0,35%.

В *H. moellendorffii*, который является естественным представителем флоры Приморского края, процентное содержание фурукумаринов на 58,5% меньше, чем у *H. sosnowskiy*.

При определении процентного соотношения фурукумаринов в экстракте *H. sosnowskiy* преобладал ксантотоксин – 28,8%, бергаптен – 26,0% и умбеллиферон – 20,7%, а в *H. moellendorffii* – бергаптен – 32,5%, ксантотоксин – 25,3 и ангелицин – 19,3 (табл. 10). Бергаптен и ксантотоксин обладают наибольшей биологической активностью.

Таблица 10. Процентное соотношение фурукумаринов в *H. sosnowskiy* и *H. moellendorffii*

Соединения	<i>H. sosnowskiy</i>	<i>H. moellendorffii</i>
Ксантотоксин	28,8	25,3
Бергаптен	26,0	32,5
Умбеллиферон	20,7	12,6
Ангелицин	15,8	19,3
Сфондин	8,7	10,3
Сумма, %	100	100

При сравнении *H. moellendorffii* с *H. sosnowskiy* в процентном содержании уступает в 2,4 раза. Следовательно, *H. sosnowskiy* имеет большую биологическую активность.

4 Биологическая активность водного извлечения из *Heracleum sosnowskiy*

Целью наших дальнейших исследований, явилось изучение биологической активности извлечений из *H. sosnowskiy* и *H. moellendorffii*. В работах некоторых авторов (Сацыперова, 1984; Георгиевский и др., 1990) не было отмечено токсическое действие *H. moellendorffii*. Поэтому наши исследования были направлены на изучение биологической активности *H. sosnowskiy*.

4.1 Токсичность водного извлечения из *Heracleum sosnowskyi* и *Heracleum moellendorffii*

Основной задачей этого направления работы является изучение характеристики действия исследуемых препаратов в условиях острого отравления организма через пищеварительный тракт.

Целью нашего эксперимента являлось определение средней смертельной дозы (LD₅₀). Это потребовалось для установления ориентировочных доз препарата из *H. sosnowskyi* в экспериментах по изучению гонадотропного действия, гематологических показателей и изменения внутренних органов животных.

Опыт ставился таким образом, чтобы, с одной стороны определить дозу, не вызывавшую эффекта ни у одного животного в группе, и, с другой стороны – дозу, вызывавшую эффект у всех животных группы. Для определения токсичности водного извлечения из *H. sosnowskyi* по Д. А. Керберу (LD₅₀) животные были разделены на 7 групп по 8 мышей, которым в желудок вводили препарат *H. sosnowskyi* (табл. 11). Дозы настоек предварительно концентрировали упариванием на водяной бане до 1/3 части исходного материала, чтобы ввести животным в желудок в физиологически допустимом объеме (не более 1 мл для мыши с массой тела 20 г). Препарат в дозе 15 мл/кг (0,3 мл/20 г мыши) не вызывал гибели мышей. Но у них наблюдались координационные нарушения, малая подвижность, боковое положение в течение 5 – 10 часов через 30 – 60 минут после введения препарата. Через сутки физиологическое состояние животных нормализовалось.

Таблица 11. Расчет токсичности водного извлечения из *H. sosnowskyi*, (мл/ 20 г мыши)

Доза	0,3	0,5	0,7	1,0	1,5	2,0	2,5
выжило	8	7	5	3	2	1	0
погибло	0	1	3	5	6	7	8
z	0,5	2,0	4,0	5,5	6,5	7,5	
d	0,2	0,2	0,3	0,5	0,5	0,5	
zd	0,1	0,4	1,2	2,75	3,25	3,75	

$$m=8, \sum(zd)=0,1+0,4+1,2+2,75+3,25+3,75=11,45$$

$$LD_{100}=2,5 \text{ мл/ 20 г мыши}, LD_{50}=2,5-(11,45/8)=1,07 \text{ мл/ 20 г мыши}$$

Проведенные исследования показали, что при введении в желудок водного извлечения из *H. sosnowskyi* в дозе 1 мл/ 20 г мыши, что в пересчете на сухой остаток соответствует 1338 мг/кг, вызвало гибель белых мышей в 50% случаев.

Для определения токсичности водного извлечения из *H. moellendorffii* по Д. А. Керберу (LD₅₀) животные были разделены на 6 групп по 8 мышей, которым вводили водное извлечение из *H. moellendorffii* (табл. 12).

Таблица 12. Расчет токсичности водного извлечения из *H. moellendorffii*, (мл/ 20 г мыши)

Доза	0,7	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
выжило	8	7	6	3	1	0
погибло	0	1	2	5	7	8
z	0,5	1,5	3,5	6,0	7,5	
d	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5	
zd	0,15	0,75	1,75	3,0	3,75	

$$m=8, \sum(zd)=0,15+0,75+1,75+3+3,75=9,4$$

$$LD_{100}=3 \text{ мл}, LD_{50}=3-(9,4/8)=1,83$$

Проведенные расчеты показали, что при интрагастральном введении водного извлечения из *H. moellendorffii* в дозе 1,83 мл/ 20 г мыши, что в пересчете на сухой остаток соответствует 2288 мг/кг, вызвало гибель белых мышей в 50% случаев.

Исследованные препараты из *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* оказались менее токсичными по сравнению с широко используемым в России препаратом седативного действия диазепам (LD₅₀ – 25,5 мг/кг, при внутрибрюшинном введении мышам) (Меби-кар..., 1990).

Таким образом, результаты определения острой токсичности при интрагастральном введении животным позволяют отнести настойки водного извлечения из *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* к малотоксичным препаратам.

4.2 Гонадотропное действие водного извлечения из *Heracleum sosnowskyi*

Для более подробного изучения *H. sosnowskyi* как кормового растения, нами был проведен опыт по определению гонадотропного действия.

Гонадотропное действие определяли на неполовозрелых мышах – самцах и самках. Для опыта использовали препарат из *H. sosnowskyi*. Водное извлечение вводилось подкожно в дозах 0,1; 0,22; 0,34 мл на одну мышь (табл. 13, 14). Вводимую дозу определяли, опираясь на данные токсичности водной вытяжки *H. sosnowskyi* (гл. 4.1).

Таблица 13. Гонадотропное действие водного извлечения из *H. sosnowskyi* на неполовозрелых самцов

Группы	Дозы, мл	По отношению к весу мыши	
		вес семенных пузырьков	Вес семенников
Контроль (вода)	0,22	0,4439±0,0520	1,3854±0,0950
Опыт	0,10	0,4500±0,0491	1,4912±0,1310
	0,22	0,4611±0,0570	1,6734±0,1580
	0,34	0,4891±0,0610	2,1365±0,1250
		P=0,05	P=0,01

В опытах на самцах доза извлечения в 0,34 мл способствовала увеличению отношения веса семенных пузырьков с предстательной железой к весу тела мышки (на 10 % по отношению к контролю) и, соответственно, произошло увеличение веса семенников (на 54 % по отношению к контролю). Меньшие дозы не оказывали заметного влияния на увеличение этих органов. Это говорит о том, что большие дозы *H. sosnowskyi* проявляют андрогенное действие. При вскрытии мышей существенных изменений в других органах не отмечено. Водное извлечение из *H. moellendorffii* в указанных дозах не оказало действия на половые железы животных и в работе не приводится.

При введении водного извлечения в дозах в 0,1 и 0,22 мл самкам, гонадотропное действие не отмечено. Доза в 0,34 мл способствовала уменьшению веса матки и яичников (3,4 % по отношению к контролю). Следует отметить, что вес мышек в этой группе уменьшился на 22%. Видимо, большие дозы угнетающе действуют на функцию половых органов, что, вероятно, сказалось на развитии и весе животных.

Таблица 14. Гонадотропное действие водного извлечения из *H. sosnowskyi* на неполовозрелых самок

Группы	Дозы, мл	Отношение к весу матки с яичниками	Вес мышей в конце опыта, г
Контроль (вода)	0,22	0,9188±0,0075	7,2
Опыт (водное извлечение)	0,10	0,9176±0,0088	7,4
	0,22	0,9073±0,0101	7,5
	0,34	0,8876±0,0213	5,6

В наших опытах на неполовозрелых животных исключалось влияние гонадотропных гормонов гипофиза и половых гормонов коры надпочечников, так как мыши были неполовозрелыми. Произшедшие изменения веса семенных пузырьков, предстательной железы, семенников и яичников неполовозрелых животных при исследовании (гл. 2.8) является следствием гонадотропного действия извлечений из *H. sosnowskyi*.

4.3 Изучение действия водного извлечения из *Heracleum sosnowskyi* на гематологические показатели животных

Исследование влияния препарата из *H. sosnowskyi* на гематологические показатели проводилось на мышах весом 18 – 20 г. Было сформировано 3 группы животных. В каждой группе было по 10 мышей самцов. Опыты проводились в течение 10 дней.

В эксперименте первая группа служила контролем и получала обычный рацион питания и 0,22 мл воды. Второй группе на фоне обычного питания вводилось водное извлечение из *H. sosnowskyi* в дозе 0,22 мл, а третьей группе – 0,34 мл.

Исследования водного извлечения из *H. sosnowskyi* показали, что гематологические показатели находились в пределах физиологически нормальных состояний гомеостаза (табл. 15).

Таблица 15. Гематологические показатели водного извлечения из *H. sosnowskyi*, мл/ 20 г мыши

Группы	Количество животных	Эритроциты, тыс. в 1 мм ³	Лейкоциты, тыс. в 1 мм ³	Гемоглобин, %
Контроль	10	3368,0±118,0	26,8±3,8	63,0±3,1
Опыт				
Доза 0,22	10	3451,0±99,0	27,0±4,1	68,3±3,8
Доза 0,34	10	3490,0±121	28,4±5,2	67,4±4,3

Число эритроцитов и лейкоцитов после завершения эксперимента оставалось в норме, отклонения находились в пределах ошибки опыта. Содержание гемоглобина в крови опытных групп животных практически не отличалось от контроля. Это значит, что синтез и распад гемоглобина, связанного с образованием эритроцитов, в экспериментальных группах животных не происходил.

В наших опытах по определению лейкоцитарной формулы было сформировано 2 группы животных. Первая группа служила контролем, а вторая группа получала 0,34 мл водного извлечения *H. sosnowskyi* (табл. 16).

Увеличение количества юных и палочкоядерных нейтрофилов в опыте не наблюдалось. Сдвигов в лейкоцитарной формуле не отмечалось, следовательно, при введении препарата из *H. sosnowskyi* инфекционно-воспалительных процессов не возникло. Сдвигов в количестве эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов по сравнению с контролем не на-

блюдалось. Показатель базофилов говорит так же об отсутствии воспалительных процессов.

Таблица 16. Лейкоцитарная формула при воздействии водного извлечения из *H. sosnowskyi*, (%)

Группы	Клетки Тюрка	Нейтрофилы			Эозинофилы	Моноциты	Базофилы	Лимфоциты
		ю	п	с				
Контроль	3,1±0,1	-	0,3	21,8±4,1	2,3±0,3	3,2±0,6	-	69,9±5,2
доза 0,34	4,3±0,5	-	-	20,8±3,3	2,5±0,4	3,5±0,2	-	70,0±6,1

Это значит, что водное извлечение из *H. sosnowskyi* не вызвало токсических и воспалительных процессов в организме животных в целом и в отдельных органах, вырабатывающих лейкоциты.

Проявление выраженных гематологических реакций не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии действия водной вытяжки *H. sosnowskyi* на уровне циркулирующей крови и органов кровообращения.

Действие водного извлечения из *H. moellendorffii* не исследовалось ввиду доказанной малой токсичности.

4.4 Изучение действия водного извлечения из *Heracleum sosnowskyi* на внутренние органы животных

Нами проведены эксперименты по действию водного извлечения *H. sosnowskyi* на изменение веса печени, почек, надпочечников и селезенки. Эксперименты с *H. moellendorffii* в данном направлении не проводились ввиду того, что токсическое воздействие препарата на организм животных не проявлялось.

Для эксперимента было сформировано три группы животных. В каждой группе было по 10 мышей самцов весом 20 – 22 гр. Первая группа служила контролем. Контрольной группе вводилось ежедневно по 0,22 мл воды. Опытным группам вводилось водное извлечение *H. sosnowskyi* в дозах 0,22 и 0,34 мл соответственно в расчете на 20 г веса мышей. опыты проводились в течение 10 дней. По окончании эксперимента животные усыплялись. Отпрепарированные органы взвешивались на торсионных весах.

В результате проведенного эксперимента (табл. 17) водная вытяжка из *H. sosnowskyi* не повлияла на изменение внутренних органов животных. Печень находилась в пределах нормы, консистенция и цвет не изменились. Аналогичный результат был получен при воздействии препарата на почки. Изменений веса почек не было отмечено, работа почек находилась на уровне контроля.

Таблица 17. Вес внутренних органов мышей при использовании водного извлечения из *H. sosnowskyi*

Группы	Доза	Количество животных	Печень, мг	Почки, мг	Надпочечники, мг	Селезенка, мг
Контроль (вода)	0,22	10	1289±68	371±26	4,8±0,3	130±19
ОПЫТ						
Водное извлечение	0,22	10	1275±72	369±30	5,1±0,4	134±22
Водное извлечение	0,34	10	1300±81	342±29	5,0±0,5	129±26

Поскольку на работу селезенки, выступающей в роли депо крови, водное извлечение не оказало воздействия, то и вес селезенки оставался в пределах контроля. Изменение веса

надпочечников в эксперименте не отмечено. В данном эксперименте препарат не оказал отрицательного воздействия на организм мышей.

В заключение необходимо отметить, что водное извлечение из *H. sosnowskyi* не оказало выраженного токсического действия на жизненно важные органы экспериментальных животных. Следовательно, препарат из *H. sosnowskyi* можно отнести к малотоксичным препаратам.

4.5 Антиоксидантная активность водного извлечения из *Heracleum sosnowskyi*

В исследованиях многих авторов отмечено, что молекулы фотосенсибилизатора приводят к образованию свободных радикалов и активных форм кислорода, и в дальнейшем запускают цепочку окислительных процессов, приводящих к поражению клеток и тканей (Никонов, Перельсон, 1969; Прокопенко, Колесников, 1965). Фотосенсибилизаторами в данном случае являются фурукумарины (бергаптен, ксантотоксин) (Кузнецова, 1967).

Нами были проведены скрининговые исследования различных видов дальневосточных растений на антиоксидантную активность, в том числе и произрастающего на опытном участке ГТС *H. sosnowskyi*.

Для определения антиоксидантного действия использовали метод кислотных эритрограмм (Кудряшов, 1962), с некоторой модификацией И.И. Брехмана и соавторов (1968) и П.С. Зорикова (1974). Данный метод основан на способе воздействия биологически активных веществ на мембрану эритроцитов с целью увеличения ее стойкости при гемолизе.

Полученные результаты показывают, что растительный экстракт *H. sosnowskyi* проявляет антиоксидантное действие, которое проявляется в непосредственном влиянии на мембрану эритроцита крови кролика. Извлечения из *H. sosnowskyi* проявляли промежуточный эффект ($4,8 \cdot 10^3$ АРМЕД) между меркамином ($3,4 \cdot 10^3$ АРМЕД) и ионолом ($1,3 \cdot 10^4$ АРМЕД).

Исследования, проведенные нами, показали, что извлечения из *H. sosnowskyi* не оказали существенного влияния как антиоксиданты на мембранную модель. Выявленное гонадотропное действие позволяет предположить, что на уровне всего организма в целом антиоксидантное действие существует.

ВЫВОДЫ

1. Почвенно-климатические условия юга Приморского края благоприятны для роста и развития *H. sosnowskyi*. В течение вегетационного сезона *H. sosnowskyi* успевал пройти полный цикл развития. В период полного цветения его высота в среднем составляет 206 см. На одном растении формировалось 6787 плодов или 13574 мерикарпиев. Коэффициент семенной продуктивности составляет 44,3%. В естественных условиях произрастания *H. moellendorffii* достигал в высоту 225 см. На одном растении формировалось 980 плодов или 1960 мерикарпиев. Семенная продуктивность *H. moellendorffii* составляет 14,4% от семенной продуктивности *H. sosnowskyi*. В условиях опытного участка *H. moellendorffii* проходил полный цикл развития, его высота составляла около 50 см, плоды в зонтиках не развивались.

2. Качество семян *H. sosnowskyi* зависит от длительности хранения. При хранении больше года семена теряют всхожесть на 40 %, а через 2 года всходят единичные экземпляры. Для весеннего посева *H. sosnowskyi* необходимо проводить предпосевную стратификацию семян. Растения ежегодно формируют значительную зеленую массу, в среднем 85,8 т/га. Урожайность зеленой массы *H. moellendorffii* в естественных условиях произрастания была 2,7 т/га.

3. Методами контроля над семенным размножением является сбор семян при созревании их в центральных зонтиках и скашивание растений *H. sosnowskyi* в период на-

чала цветения. Для предотвращения неконтролируемого распространения растений *H. sosnowskyi* на участках, выведенных из использования, рекомендуется проводить глубокую вспашку.

4. Анализ зеленой массы *H. sosnowskyi* показал наличие каротина в количестве: лист – 2,80, стебель – 4,36 мг%, витамина С: лист – 29,33, стебель – 41,15 мг% и витамина Е в количестве: лист – 12,80, стебель – 16,25 мг%. В *H. moellendorffii* в среднем содержание каротина в листьях – 0,85, в стеблях – 0,38 мг%, витамина С в листьях – 19,67, в стеблях – 10,38 мг% и витамина Е в листьях – 10,95, в стеблях – 0,86 мг%. При сравнении содержания витаминов отмечено, что в *H. sosnowskyi* их количество выше, чем в *H. moellendorffii*. Так, содержание каротина оказалось выше в 4,5 раза, витамина С в 1,2 – 4 раза, витамина Е в 2 раза.

5. Наибольшее содержание протеина в *H. sosnowskyi*, наблюдалось в фазу цветения и составляло 13,4 – 16,6%, при дальнейшем развитии растения этот показатель снижался. Максимальное накопление сахара происходило в период начала бутонизации и цветения и составляло 18,5 – 26,3%. Содержание протеина в *H. moellendorffii* в фазу цветения было на уровне с *H. sosnowskyi*. Однако в начале периода вегетации в *H. sosnowskyi* содержание сырого протеина было выше на 34%. Содержание сахара в *H. sosnowskyi* в 1,3-2,1 раза выше, чем у *H. moellendorffii*. Изучение содержания протеина и сахаров показало, что *H. sosnowskyi* обладает более высокой питательной ценностью, чем с *H. moellendorffii*.

6. В *H. sosnowskyi* содержатся фурукумарины: ангелицин, бергаптен, ксантотоксин, сфондин, умбеллиферон. Из них наибольшее содержание приходится на ксантотоксин (1,15%) и бергаптен (1,04%). Общее содержание фурукумаринов составляет 4,0 %. В *H. moellendorffii* преобладающими являются фурукумарины – ангелицин, бергаптен и ксантотоксин. Их общее содержание в *H. moellendorffii* составляет 1,66%, что, в 2,4 раза меньше, чем в *H. sosnowskyi*.

7. Водное извлечение *H. sosnowskyi* в дозах 0,22 и 0,34 мл на 20 г мыши оказало гонадотропное действие, что проявилось в увеличении семенных пузырьков и предстательной железы и эстрогенное действие, выраженное в угнетении матки и яичников. Выявлено антиоксидантное действие экстракта. Извлечения из *H. sosnowskyi* проявляли эффект на уровне меркамина и ионола. Токсическое действие на животных водного извлечения из *H. sosnowskyi* составило $LD_{50}=1,07$ мл/20 г мыши. Токсичность *H. moellendorffii* составила $LD_{50}=1,83$ мл/20 г мыши.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Зориков П.С., Зорикова С.П., Черняк Д.М. Кормовые и пищевые отравления продуктами растительного происхождения. Владивосток: Дальнаука, 2007.- 141 с.

*Зорикова С.П., Маняхин А.Ю., Черняк Д.М. Антиоксидантная активность экстрактов из дальневосточных растений // Естественные и технические науки, 2009. № 5 (43). С 134-138.

* Черняк Д.М., Юрлова Л.Ю., Зориков П.С. Содержание витаминов в борщевиках и действие водных извлечений на организм лабораторных животных // Естественные и технические науки, 2010. № 5 (49). С 186-189.

Черняк Д.М., Вожев В.И. Интродукция борщевика Сосновского в Приморском крае // Сб. Биологические исследования на Горнотаежной станции, 2011. В 12. С. 209-217.

*Черняк Д.М., Зориков П.С., Вожев В.И. Динамика роста и развития борщевиков в Приморском крае // Вестник «КрасГАУ» 2011. Вып. 5. С. 26-29.

*Черняк Д.М., Зориков П.С., Юрлова Л.Ю., Кутовая О.П. Динамика содержания питательных веществ в процессе вегетации борщевика Сосновского и борщевика Меллендорфа в Приморском крае // Естественные и технические науки, 2011. № 3 (53). С 140-143.

*Зориков П.С., Черняк Д.М. Токсичность водного извлечения из *H. sosnowskyi* и *H. moellendorffii* // Естественные и технические науки, 2012. № 6 (62). С 163-166.

* Зориков П.С., Черняк Д.М., Юрлова Л.Ю., Кутовая О.П. Содержание фурукумаринов в борщевике сосновского (*Heracleum sosnowskyi*) // Естественные и технические науки, 2012. № 6 (62). С 167-171.

Примечание: * - статьи в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК.

Соискатель

Черняк Д.М.

Черняк Дарья Михайловна

**БОРЩЕВИК СОСНОВСКОГО (HERACLEUM SOSNOWSKYI
MANDEN.) И БОРЩЕВИК МЕЛЛЕНДОРФА (HERACLEUM
MOELLENDORFFII HANCE) НА ЮГЕ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (БИО-
ЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВА-
НИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ)**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Подписано в печать 01.02.13.
Формат 60x84/16.
Усл. печ. л. 1,39 Уч-изд. 1,29
Тираж 110 экз. Заказ №

Отпечатано в Типографии ФГБОУ ВПО «ПГСХА»
692502, г. Уссурийск, ул. Раздольная, 8