

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
FAR EASTERN BRANCH
INSTITUTE OF BIOLOGY AND SOIL SCIENCE

O.V. Nakonechnaya, Yu.N. Zhuravlev,
V.P. Bulgakov, O.G. Koren, E.V. Sundukova

GENUS *ARISTOLOCHIA*
OF THE RUSSIAN FAR EAST
(*Aristolochia manshuriensis* Kom.
and *A. contorta* Bunge)

Vladivostok
Dalnauka
2014

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ
Дальневосточного отделения
Российской академии наук

О.В. Наконечная, Ю.Н. Журавлев,
В.П. Булгаков, О.Г. Корень, Е.В. Сундукова

РОД КИРКАЗОН
НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ РОССИИ
(*Aristolochia manshuriensis* Kom.
и *A. contorta* Bunge)

Владивосток
Дальнаука
2014

Наконечная О.В., Журавлев Ю.Н., Булгаков В.П., Корень О.Г., Сундукова Е.В. Род Кирказон на Дальнем Востоке России (*Aristolochia manshuriensis* Kom. и *A. contorta* Bunge). - Владивосток: Дальнаука, 2014. - 153 с.

ISBN 978-5-8044-1510-8

Книга посвящена двум редким растениям, представителям древнего сем. Aristolochiaceae, занимающего переходное положение между двудольными и однодольными. Как многие реликты, кирказоны содержат очень богатый набор вторичных метаболитов, химическое исследование которых еще не завершено. В предлагаемой книге читатель найдет сведения о биологии и систематическом положении *Aristolochia manshuriensis* и *A. contorta* и их ближайших родственниках, о проблемах сохранения этих растений в природе и разработках по культивированию изолированных клеток кирказона. Важные разделы книги посвящены исследованию путей действия кирказона на сердечную функцию животных в норме и при искусственных инфарктах миокарда. Дается также описание нового лекарственного средства, созданного на базе культивируемых клеток кирказона маньчжурского.

Книга рассчитана на широкий круг специалистов: ботаников, генетиков, экологов и научной общественности, а также просто читателей, кому небезразлична история нашего края и виды растений его населяющие.

Ил. 45, табл. 27, библиограф. 282

Nakonechnaya O.V., Zhuravlev Yu.N., Bulgakov V.P., Koren O.G., Sundukova E.V. Genus Aristolochia of the Russian Far East (Aristolochia manshuriensis Kom. and A. contorta Bunge). - Vladivostok: Dalnauka, 2014. — 153 p. ISBN

The book is dedicated to two rare plants, representatives of the ancient family Aristolochiaceae, occupying a transitional position between monocots and dicots. As many relics kirkazons contain a very rich set of secondary metabolites, whose chemical research is not yet completed. In this book the reader will find information about the biology and systematic position of *Aristolochia manshuriensis* and *A. contorta* and their close relatives, the problems of conservation of these plants in the nature and development of the cultivation of isolated kirkazon cells. Important sections of the book are devoted to the study of the mechanisms of the kirkazon action on cardiac function in normal animals and in those with artificial myocardial infarction. A description of a new drug created on the basis of cultured cells of *A. manshuriensis* is also given.

The book is intended for a wide range of specialists: botanists, geneticists, ecologists and scientific community, as well as other readers who care about the history of our region and the species inhabiting it.

Ill. 45, tabl. 27, bibl. 282

Ответственный редактор
д-р биол. наук В.Ю. Баркалов

Рецензенты:

д-р биол. наук В.П. Селедец,
д-р биол. наук Л.Н. Васильева

Утверждено к печати Ученым советом БПИ ДВО РАН

© Наконечная О.В., Журавлев Ю.Н., Булгаков В.П.,
Корень О.Г., Сундукова Е.В. 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1. СЕМЕЙСТВО АРИСТОЛОХИЕВЫЕ	10
1.1. Систематическое положение сем. Aristolochiaceae	10
1.2. Гипотезы о центрах происхождения представителей рода <i>Aristolochia</i>	14
1.3. Представители сем. Aristolochiaceae в России.	15
2. КИРКАЗОН МАНЬЧЖУРСКИЙ И К. СКРУЧЕННЫЙ	31
2.1. Систематическое положение.	31
2.2. Морфология, жизненная форма	31
2.3. Географическое распространение	36
2.4. Характеристика местообитаний. Численность и возрастной состав популяций	36
2.5. Морфологическое и анатомическое строение репродуктивных органов	39
2.6. Биология цветения, опыление, плодообразование и распространение семян	47
2.7. Способы размножения. Онтогенез	62
2.8. Сезонный ритм развития	73
2.9. Категория угрожаемого состояния. Мероприятия по охране	74
2.10. Интродукция	76
3. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КИРКАЗОНОВ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ	78
3.1. <i>Aristolochia manshuriensis</i>	79
3.2. <i>Aristolochia contorta</i>	96
4. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ	110
4.1. Химический состав и фармакологическое действие <i>Aristolochia manshuriensis</i> и его клеточных культур	110
4.2. Химический состав и полезные свойства <i>Aristolochia contorta</i>	131
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	133
ЛИТЕРАТУРА	136

ВВЕДЕНИЕ

Эта книга посвящена редким в наших северных широтах растениям, представителям интереснейшего рода *Aristolochia*, занимающего переходное положение между двудольными и однодольными растениями. Это реликты третичной флоры, сохранившиеся во флоре Приморского края благодаря отсутствию сплошного оледенения на этой территории во время последнего плейстоценового похолодания. Всего двумя редкими видами представлен здесь этот обширный в тропических широтах род. Один из них, кирказон маньчжурский, с древнейших времен использовался как одно из фундаментальных средств китайской медицины. И это, возможно, главная причина того, что это растение почти исчезло из природных местообитаний, не выдержав заготовительной нагрузки, на которую было приговорено благодаря своей громкой в былые времена славе. Теперь кирказон маньчжурский легче найти в европейских ботанических садах, чем в его прежних местообитаниях.

Из-за чего же много лет назад лекарь срезал последнюю лиану на Четвертой речке? Какой корысти или какой иной задачи ради, во времена былой «дружбы» китайцы уносили в торбочках через границу не только легендарный женьшень, но и туго скрученные бухточки лианы ква-му-тонг?

Одна из причин в том, что о лечебных свойствах кирказонов мир знал еще в глубокой древности. И пусть официальная медицина еще далеко не освоила лекарственные ресурсы, скрытые в представителях семейства аristolохиевых, но с незапамятных времен до наших дней дошли легенды о шестидесяти почечных болезнях, лечимых кирказоном, о равных чуду воскрешениях из мертвых после «разрыва» сердца, заживлении кирказоном страшных язв и ран. Само рождение многих людей, и то стало возможно лишь благодаря использованию одного из кирказонов, недаром европейское название рода – *birthwort*, которое является дословным переводом латинского «*aristolochia*» – обозначает «способствующий рождению». В разделе о химической природе действующих веществ кирказона мы еще вернемся к причинам этого странного сочетания свойств, и нам, возможно, удастся выявить связь между способствованием деторождению, регуляторной функций почек и защитой сердца, соединенных в одном растении.

Собранные нами сведения позволяют выделить два исторических центра накопления медицинских знаний о представителях этого рода:

европейский, где основным объектом стал кирказон ломоносовидный, снискавший себе славу «женского» средства с античных времен, и второй центр – в Юго-Восточной Азии, тяготеющий к Китаю.

Информация об использовании кирказона в европейской медицине связывается с античными врачами: Гиппократом, Феофрастом и Диоскоридом. Трактат в стихах «О свойствах трав», написанный в XI веке ученым врачом Одо из Мена–на–Лауре, свидетельствует, что в те времена врачи уже детально знали свойства рода кирказонов: «Мы говорим: кирказона три вида всего существует: Длинным зовется один, обладающий корнем таким же, Круглым зовется второй, ибо круглый он корень имеет, Третий же вид – «клематис» именуется греческим словом, Тот, что по свойствам почти, говорят, равен круглому виду».

Авиценна во второй книге своего «Канона врачебной науки» дает практически современную характеристику рода *Aristolochia* (кирказон, ари-столохия) с указанием применения: «Аристолохия очищает загрязненные злокачественные язвы, применяется при шелушении и наращивает мясо, в особенности длинная. Она же не дает гнилым и глубоким язвам обратиться в злокачественные. Если же ее смешать с «фиалковым корнем» (ирисом), то она заполняет язвы мясом... Аристолохия помогает от разрыва мышц и употребляется в виде мази от подагры, особенно круглая... Если положить ее в смеси с медом в ухо, она очищает ухо от грязи, укрепляет слух и препятствует зарождению в ухе гноя. Употребленная с перцем, она очищает мозг от излишков. Она также помогает от падучей и укрепляет десны».

О каком из кирказонов говорится в этих древних источниках? Что касается цитаты из Ода, то там определение «клематис» достаточно однозначно удостоверяет видовую принадлежность растения. В европейских старых книгах также под именем кирказона чаще всего укрывался кирказон ломоносовидный. Характерно, что в толковом словаре В. Даля (1998) кирказон идентифицирован как *Aristolochia clematidis* без каких-либо альтернатив. Вместе с тем в оксфордском словаре английского языка понятие birthwort включает два вида кирказона - длинный и круглый, причем последнему отдается некоторый приоритет.

В восточной медицине использование лианы *Hocquartia* (другое родовое название кирказона, одно время распространенное в странах Восточной Азии) имеет еще более давнюю историю, о нем упоминается уже в первых вариантах энциклопедии *Materia Medica*. Освоение кирказона китайскими лекарями началось с использования его мочегонных и тонизирующих свойств. Была установлена также его способность подавлять различные инфекции, прежде всего – в системе мочевыводящих путей. С этим

открытием связано использование кирказона при всевозможных почечных болезнях и недомоганиях, где обнаружилась его высокая эффективность. Различные виды расстройств пищеварения, особенно летние инфекции, также эффективно излечивались кирказоном.

Мистические элементы мировоззрения древнекитайских врачей нашли свое отражение в медицинских рекомендациях по использованию кирказонов. Так, плоды *Aristolochia debilis* предписывались к употреблению при всех видах легочных заболеваний на том основании, что срезы семени по своим очертаниям и по клеточной структуре напоминали человеческие легкие. *A. manshuriensis*, напротив, рекомендовалась при сердечных заболеваниях, так как семена этого растения имели форму сердца. Самое удивительное, что этот странный с точки зрения просвещенного современника подход дал верный результат: первое из растений действовало эффективно в силу своих бактерицидных свойств, а второе оказалось одним из самых действенных на сегодня кардиотропных средств растительного происхождения.

Именно кардиотропный потенциал кирказона маньчжурского еще в 80-е гг. XX века привлек внимание коллектива исследователей из Биолого-почвенного института, Тихоокеанского института биоорганической химии Дальневосточного отделения Российской академии наук и Всесоюзного научного центра безопасности лекарственных средств. Изучение действия веществ из этого растения, поиски новых воспроизводимых источников лекарственного средства, доказательства безвредности – все это заняло немало лет. Однако в начале века нынешнего выяснилось, что запасы обоих видов в природе сильно сократились и их недостаточно не только для промышленного освоения, но и для проведения фармакологических исследований. И сейчас уже остро стоит проблема сохранения и восстановления природных популяций приморских кирказонов.

В предлагаемой книге читатель найдет сведения о систематическом положении и биологии двух дальневосточных видов, *Aristolochia manshuriensis* и *A. contorta*, и их ближайших родственников, о разработках по культивированию изолированных клеток кирказона, которые дали возможность получения целебной биомассы в неограниченных масштабах; важные разделы книги посвящены исследованию путей действия кирказона на сердечную функцию животных в норме и при искусственных инфарктах миокарда. Дается также описание нового лекарственного средства, созданного на базе культивируемых клеток кирказона маньчжурского.

Авторы выражают глубокую благодарность сотруднику лаб. микро- и наноисследований ДВГИ ДВО РАН С.Ф. Васюкевич (ТИГ ДВО РАН) и А.Г. Васюкевичу (БПИ ДВО РАН) за предоставленную возможность проведения экспериментов по опылению *Aristolochia manshuriensis* в условиях частной коллекции; к.б.н. В.С. Сидоренко (БПИ ДВО РАН) – за определение видов насекомых и консультации; Э.П. Нарчук, А.А. Пржиборо (ЗИН РАН, С.-Петербург), З.А. Федотовой (СГСХА, Усть-Кинельский, Самарская обл.) и Н.В. Репш (УГПИ, Уссурийск) за помощь в определении некоторых двукрылых. С глубоким сожалением мы сообщаем, что А.Г. Васюкевич и В.С. Сидоренко к моменту публикации книги уже ушли из жизни.

Мы благодарны к.б.н., вед.н.с. лаб. флоры Дальнего Востока БСИ ДВО РАН С.В. Нестеровой за помощь в проведении экспериментов по изучению онтогенеза видов рода *Aristolochia*, а также их биологии размножения на территории БСИ ДВО РАН и ценные советы. Авторы говорят спасибо д.б.н., вед.н.с. лаб. орнитологии БПИ ДВО РАН В.А. Нечаеву за помощь в сборе проб *A. contorta* для проведения генетических исследований и обследования и описании популяций вида, а также за определение животных и птиц, участвующих в распространении семян изучаемых видов. Важный вклад в получении и интерпретации результатов по популяционной генетике оказала к.б.н., с.н.с. лаб. биотехнологии БПИ ДВО РАН А.Б. Холина. При изучении анатомии репродуктивных органов исследованных видов неоценима помощь к.б.н., с.н.с. лаб. биотехнологии БПИ ДВО РАН Т.Ю. Горпенченко. Авторы также благодарны за консультации при исследовании репродуктивных органов *Aristolochia manshuriensis* сотрудникам лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН: член-корр. РАН, заслуженному деятелю науки, проф. Т.Б. Батыгиной, и к.б.н., в.н.с. Г.Е. Титовой, а также доценту Кафедры биоразнообразия и морских биоресурсов (ШЕН ДВФУ), к.б.н. С.А. Снежковой. Мы очень благодарны к.б.н., с.н.с. лаб. биотехнологии БПИ ДВО РАН Т.И. Музарок и Н.М.Воронковой. Без этих людей отдельные этапы работы по изучению видов были бы трудноосуществимы.

1. СЕМЕЙСТВО АРИСТОЛОХИЕВЫЕ

1.1. СИСТЕМАТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ СЕМ. ARISTOLOCHIACEAE

Старая классификация включала в порядок аристолохиецветных (*Aristolochiales* Lindl.) два семейства – кирказоновые (*Aristolochiaceae* Juss.) и раффлезиевых (*Rafflesiaceae* Dumort.) (Иванова, 1936). При таком рассмотрении число ближайших родственников кирказона могло бы быть увеличено еще на целый ряд экзотических представителей, однако позднее группа паразитных трав, составлявших прежде сем. раффлезиевые, получила статус порядка (*Rafflesiales*) в одноименном надпорядке (*Rafflesianae*) (Тахтаджян, 1987).

Вообще положение семейства в системе долгое время было предметом оживлённого обсуждения в связи с тем, что по ряду признаков кирказоновые тяготеют к классу однодольных и как бы являются связующим звеном между двудольными и однодольными (Leins, Erbar, 1985). Однако уже в первой половине XX века сформировалось убеждение, что семейство бесспорно принадлежит к классу двудольных (Schmidt, 1935; Cronquist, 1981). В пользу такого заключения свидетельствуют многие морфологические особенности кирказоновых: зависимость опыления от насекомых, трёхчленное строение цветков, положение пыльников и образование эндосперма по типу *Ericaceae*.

До сих пор нет единого мнения и относительно порядка, в который следует поместить семейство. Ранее в 1893 г. Е. Варминг поместил сем. *Aristolochiaceae* в пор. *Hysterophyta*, подкл. *раздельнолепестные* (*Chloripetalae*). Р. Ветштейн (Wettstein, 1935) отнес сем. *Aristolochiaceae* вместе с семействами *Rafflesiaceae* и *Hydnoraceae* к пор. *многоплодниковые* (*Policarpicae*) (подкл. *Choripetalae*). В большинстве работ отечественных ученых сем. *Aristolochiaceae* помещено в пор. *аристолохиецветные* (*Aristolochiales*), подкл. *магнолиевые* (*Magnoliidae*), надпорядок *Magnolianae* (Комаров, 1903; Иванова, 1936; Рубцов, Шипчинский, 1951; Тахтаджян, 1987; Харкевич, 1987; Черепанов, 1995). Во многих зарубежных работах сем. *Aristolochiaceae* относят к пор. *Piperales* (González et al., 2001; Nickrent et al., 2002; Zanis et al., 2003).

Существуют несколько точек зрения о филогенетическом родстве сем. *Aristolochiaceae*. Так, согласно одной из них, виды сем. кирказоновых тесно связаны с представителями пор. *Magnoliales* (Cronquist, 1981;

Dahlgren, 1983; Leins, Erbar, 1985; Takhtajan, 1996). Х.Я. Гоби (1916) выводит сем. Aristolochiaceae непосредственно от видов пор. Magnoliales, такого же мнения придерживается Р. Веттштейн (Wettstein, 1935). В подтверждение этой версии приводятся аналогичность в строении вегетативных органов, цветка, оболочки микроспор и семени (Тахтаджян, 1987), сходство сетчатых элементов пластид П-типа (Behnke, 1988, 1991), клеток с эфирными маслами, алкалоидов. На близость представителей сем. Aristolochiaceae к видам пор. Magnoliales указывают также данные по эмбриологии (Cocucci, 1983) и кариологии (Morawetz, 1985). По другой версии указывается изолированное происхождение сем. Aristolochiaceae прямо от порядка Magnoliales (Тахтаджян, 1966).

В соответствии с другой точкой зрения, наиболее близкими к представителям сем. Aristolochiaceae являются виды пор. Rafflesiales (Baldacci, 1894; Endress, 1990; Kubitzki, 1993). Такое мнение основано на сходстве цветочных структур, отличающихся простотой, наличием мясистого околоцветника, экстрозно раскрывающихся тычинок, слившихся в гиностемий пыльников, столбика и рыльца гинецея, а также присутствии нижней завязи с многочисленными семязачатками.

Наконец, ряд исследователей (Donoghue, Doyle, 1989; Loconte, Stevenson, 1991; Tucker, Douglas, 1996; Nandi et al., 1998) полагают, что виды сем. Aristolochiaceae тесно связаны с так называемыми «древними травами» (paleoherbs) (сем. Lactoridaceae и однодольные), от которых, предположительно, произошли представители сем. кирказоновых. Родство между семействами Aristolochiaceae и Lactoridaceae предполагали Р. Далгрин и Х. Бремер (Dahlgren, Bremer, 1985). Несмотря на то, что растения этих групп сильно различаются по эмбриологическим, кариологическим и палинологическим характеристикам (Lammers et al., 1986; Loconte, Stevenson, 1991; Tobe et al., 1993; Tucker, Douglas, 1996), эта гипотеза была подкреплена исследованием морфологических признаков (Donoghue, Doyle, 1989; Loconte, Stevenson, 1991), анатомии стебля (Carlquist, 1993), а также молекулярными данными (Qiu et al., 1999; Soltis et al., 1997, 1999; Doyle, Nickrent et al., 2002; Zanis et al., 2003). Близкие родственные связи между видами сем. Aristolochiaceae и представителями класса однодольных предполагают многие авторы (Suessenguth, 1921; Huber, 1985; Dahlgren, Bremer, 1985; Behnke, 1991; Leins, Erbar, 1985; Loconte, Stevenson, 1991; Stevenson, Loconte, 1995; González, Rudall, 2001; Kelly, González, 2003), указывая на сходство адаксиальных профилей, трёхчленность цветка, однобороздность пыльцевых зёрен. Близость сем. Aristolochiaceae к однодольным была также обнаружена при анализе последовательности 18S рибосомальной ДНК (Bharathan, Zimmer, 1995).

Существуют и другие мнения относительно происхождения кирказоновых. Так, Х. Хэллير (Hallier, 1912) выводит пор. Aristolochiales от сем. Lardizabalaceae, а Дж. Хатчинсон (Hutchinson, 1959) – от пор. Berberidales (через Menispermaceae). Но так как у представителей сем. Lardizabalaceae, Berberidaceae, Menispermaceae оболочка пыльцевых зёрен трёхбороздная или производная от трёхбороздного типа и никогда не бывает однобороздной, то возможность происхождения видов пор. Aristolochiales от этих семейств, по мнению А.Л. Тахтаджяна (1987), исключается.

Систематическое положение рода *Aristolochia* внутри семейства также нельзя назвать определившимся окончательно. С конца прошлого века большинство ботаников согласно в том, что семейство представлено семью родами, однако систематическая организация родов внутри семейства остается предметом дискуссий. Ф. Хене (Hoehne, 1927) предлагал разделить семейство на три подсемейства, из которых первое (Asareae) включало бы два рода – *Saruma* Oliver и *Asarum* L., второе (Arameae) – также два рода – *Thottea* Rottb. и *Apama* Lam., а третье (Aristolochieae) три рода – *Holostylis* Duch., *Euglypha* Chodat et Hassl. и *Aristolochia* L. Эта точка зрения довольно долго соперничала с представлениями Ф. Клотча (Klotzsch, 1859) и О. Шмидта (Schmidt, 1935), которые выделяли всего лишь два подсемейства, но подразделяли одно из них на три, а другое – на две трибы. В 1942 г. Ф. Хене (Hoehne) принял представления О. Шмидта, однако М. Грегори (Gregory, 1956) в своей исключительно подробной работе вернулась к идеям Ф. Хене и предложила выделить внутри семейства три трибы, которые по своему содержанию практически адекватны подсемействам Ф. Хене: Sarumeae (имеющие, как правило, актиноморфные цветки и полушаровидную завязь), Bragantieae (с актиноморфными цветками и продолговатой завязью) и Aristolochieae (имеющие зигоморфные цветки). Рисунок 1 дает общее представление о филетических (по Ф. Хене) взаимоотношениях отдельных родов внутри семейства и об отношении родов к исходной форме.

М. Грегори (Gregory, 1956) в результате цитогенетического исследования предложила следующую схему филогенетических связей родов: от предполагаемой предковой формы отходят три ветви, соответствующие трём подсемействам Asaroideae, Bragantioideae, Aristolochioideae. Первая ветвь, наиболее близкая к исходной форме, ведет к монотипному роду *Saruma*, а от него непосредственно – к роду *Asarum*, остальные две ветви (Bragantioideae и Aristolochioideae) отходят от гипотетической предковой формы независимо от линии *Saruma* – *Asarum*.

Интересен тот факт, что в настоящее время авторы (Тахтаджян, 1987; Huber, 1993; Neinhuis et al., 2000; González, Stevenson, 2002; Kelly, González,

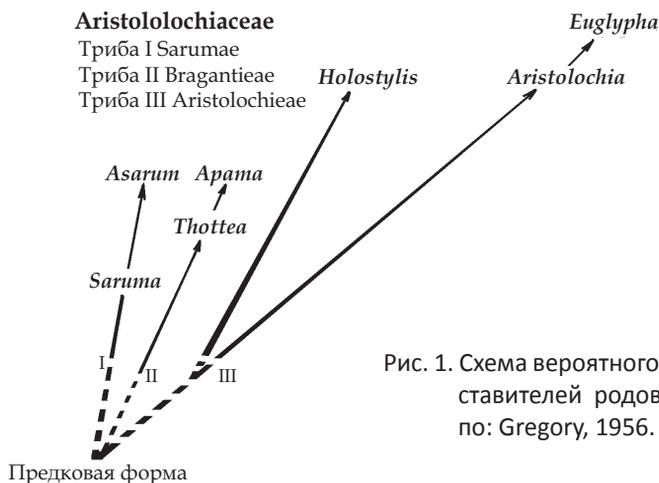


Рис. 1. Схема вероятного происхождения представителей родов сем. Aristolochiaceae по: Gregory, 1956.

2003) склоняются к мнению о выделении только двух подсемейств, так же, как это делали когда-то Ф. Клотч (Klotzsch, 1859), О. Шмидт (Schmidt, 1935) и Ф. Хене (Hoehne, 1942): Asaroideae (роды: *Saruma*, *Asarum*, *Thottea*) и Aristolochioideae (роды: *Aristolochia*, *Holostylis* и *Euglypha*). Они опираются на молекулярные данные (Neinhuis et al., 2000) и исследования морфологических признаков (González, Stevenson, 2002; Kelly, González, 2003).

Итак, само семейство Aristolochiaceae, в соответствии с классификацией Х. Губера (Huber, 1985) и А.Л. Тахтаджяна (1987), подразделено на два подсемейства – Asaroideae и Aristolochioideae. Asaroideae включает роды *Saruma* и *Asarum*. Подсем. Aristolochioideae представлено двумя трибами: Bragantieae (роды *Asiphonia* W. Griffith и *Thottea*, включающий здесь род *Apama*) и Aristolochieae (роды *Isotrema* Raf., *Endodeca*, *Parasitochia* Hutch. et Dalziel, *Hocquartia* Dumort., *Einomeia* Raf., *Holostylis*, *Euglypha*, *Aristolochia*). Всего в сем. Aristolochiaceae 10 родов и около 625 видов.

Представители сем. Aristolochiaceae разнообразны по жизненным формам и широко распространены по земному шару. Монотипный род трав *Saruma* из южной и центральной частей Китая традиционно считается наиболее примитивным в семействе (Thorne, 1974; Cronquist, 1981). Род *Asarum* содержит около 100 видов кустарников и многолетних трав, распространенных в Евразии и Северной Америке (Flowering plants..., 1971). Род *Thottea* насчитывает 28 видов кустарников и клубневых трав (Ню, 1984), большая часть которых является редкими и эндемичными растениями, занимающими территорию к юго-востоку от Индии, Малайзию и Филиппины (Gregory, 1956). Виды рода *Isotrema* представлены кустарника-

ми и полукустарниками, произрастающими в тропической Азии, а также в Северной и Южной Америке, простирается до юга островов Суматры, Явы и Панам. Род *Endodeca* встречается в Северной Америке и включает два вида трав. Род *Parasitochia* насчитывает 18 видов древесных лиан, распространенных в западной Африке (за исключением одного вида в Малайзии) (Jin-shuang, 1989). Род *Hocquartia* (150 видов) – древесные или травянистые растения, произрастающие в тропической Америке. Род *Einomeia* представлен 36 видами трав, которые распространены во Флориде, на Кубе и Багамах. *Holostylis* и *Euglypha* – монотипные роды трав, встречающиеся в Южной Америке (Huber, 1993). Среди 350 видов рода *Aristolochia* встречаются лианы, кустарники и корневищные травы (Endress, 1990, 1994; Razzak et al., 1992), произрастающие в тропической, субтропической и умеренной зонах всех континентов, за исключением Австралии (Жизнь растений, 1980; Харкевич, 1987; Kelly, González, 2003). На территории России из приведенных здесь родов представлены только род *Asarum* и род *Aristolochia*.

1.2. ГИПОТЕЗЫ О ЦЕНТРАХ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *ARISTOLOCHIA*

Существует как минимум две гипотезы о центре происхождения рода *Aristolochia*. По одной из них центром происхождения рода *Aristolochia* считают Ближний Восток, Средиземноморье, где сосредоточено большое число видов (Davis, Khan, 1960). Полагают, что этот род развился из древних тропических или субтропических форм и представляет древний тропический элемент в средиземноморской флоре. История данной флоры связана с геологической историей Древнего Средиземноморья, моря Тетис и тех участков суши, которые возникали на его территории во время альпийского орогенеза или находились непосредственно на берегах моря (Попов, 1968).

Древнее присутствие видов рода *Aristolochia* в этой местности подтверждают находки ископаемых остатков. Так, в Абхазии, современная территория которой принадлежит Древнему Средиземноморью, найден отпечаток листа прародительской формы кирказона (*Aristolochia africana*). Находку датировали нижнекиммерийским временем (плиоцен) (Колаковский, 1956), то есть представители рода *Aristolochia* населяли эту территорию уже около 25±2 млн. лет назад – период, когда широкая морская дуга моря Тетис перестала отделять Африку и Индию от Европы и Азии (от Евразии) и южные материки – остатки Гондваны – от северных континентов (Попов, 1968; Briggs, 1995).

Период 25±2 млн. лет назад характеризуется формированием древнесредиземноморской флоры. М.Г. Попов (1968) предполагает, что ее

прототипом является арктотретичная флора, которая обитала в палеогене (66±3 – 25±2 млн. лет назад) в высоких широтах Арктики, а в неогене и плейстоцене постепенно смещалась к югу, к тропикам – неогеновое охлаждение приполярной суши сдвигало ее к экватору. Вероятно, и представители сем. Aristolochiaceae, которое М.Г. Попов относит к данной флоре, так же переселялись от Арктики к экватору, уходя от надвигающихся похолоданий. Вследствие этого виды сем. Aristolochiaceae в настоящее время приурочены преимущественно к тропикам и субтропикам.

Другая гипотеза о центре происхождения основана на данных о современных центрах видового разнообразия *Aristolochia*, один из которых находится в Южной и Северной Америке, где насчитывают 58 видов рода *Aristolochia* (Barringer, Whittermore, 1997); другой в Китае, где встречаются 45 видов (Jin-shuang, 1989; Hwang et al., 2003).

Сходная картина распространения наблюдается у другого представителя арктотретичной флоры – у рода *Vitis* L. Род насчитывает около 60 видов, большая часть которых произрастает в Северной Америке, во Флориде; в Китае, Японии расположен меньший центр – 9–10 видов, два вида встречаются в Древнем Средиземье (Попов, 1968). Н.В. Осипова (1989) пишет, что род *Vitis* произрастал в арктической зоне и при похолодании передвинулся на юг (стр. 50). С учетом доводов М.Г. Попова мы можем допустить сходную картину перемещения и современного распространения представителей рода *Vitis* и сем. Aristolochiaceae в целом и рода *Aristolochia* в том числе.

Н.В. Осипова (1989) отмечает, что палеоботанические остатки древних представителей рода *Aristolochia* обнаружены в палеогене Гренландии (66±3 млн. лет назад). Таким образом, кирказоны могли появиться в арктической зоне (на южной части Сибирской плиты, Гренландии и юго-восточной части Северной Америки), когда материки были соединены друг с другом (Briggs, 1995). Впоследствии представители семейств кирказоновых и виноградовых отступали от надвигающихся холодов в Южную Америку (из Гренландии и Северной Америки), Средиземноморье (с Европейской плиты) и Азию (с Сибирской плиты), где находятся современные центры видового разнообразия семейств.

Косвенным подтверждением второй гипотезы является современное распространение представителей рода *Aristolochia*: они широко распространены по миру, создавая своеобразный пояс вдоль экватора (рисунок 2).

1.3. ПРЕДСТАВИТЕЛИ СЕМ. ARISTOLOCHIACEAE В РОССИИ

Сем. кирказоновые – Aristolochiaceae Juss. на территории России представлено сравнительно бедно и составляет только небольшую часть



Рис. 2. Ареал представителей сем. Aristolochiaceae (Flowering plants ..., 1971).

всего разнообразия кирказоновых мира. В отечественной флоре встречается всего 2 рода, 9 видов. Большинство кирказоновых предпочитает более мягкий климат, обитая преимущественно в тропиках и субтропиках обоих полушарий за исключением Австралии (Gregory, 1956; Харкевич, 1987).

Растения сем. Aristolochiaceae исключительно интересны разнообразием внешнего облика, включая как древесные, так и травянистые формы, часть которых лишена привычных элементов, например, стебля у рода *Asarum* (копытень). Строение цветка, само по себе уже очень оригинальное, сильно варьирует у разных родов семейства. У отечественных представителей этого семейства цветки обоеполые актиноморфные (у цветков можно провести три оси симметрии – копытни) или зигоморфные (цветки обладают единственной осью симметрии – кирказоны) (рисунки 3–5). У кирказонов цветков по форме напоминает трубку для курения или саксофон.

Околоцветник у видов родов *Aristolochia* и *Asarum* простой, венчиковидный, сростнолепестный, трёхчленный, тычинок 6, срастающихся со столбиком, или 12, свободных, завязь нижняя или полунижняя, 6-, реже 4–5-гнездная, столбики срастаются в колонку, рыльце большей частью лучистое, семяпочки обратные, плод – многосеменная коробочка, семена с маленьким зародышем (Иванова, 1936).

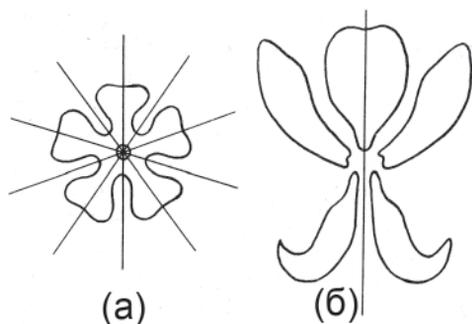


Рис. 3. Симметрия цветка: (а) — актиноморфный, или правильный цветок; (б) — зигоморфный, или неправильный цветок (Яблоков, Челомбитыко, 1990).

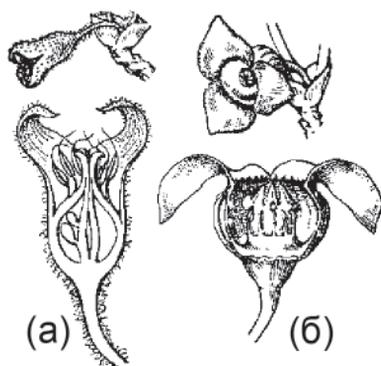


Рис. 4. Цветки представителей рода *Asarum*: (а) — *A. intermedium*; (б) — *A. sieboldii* (Иванова, 1936).

Цветкам многих кирказоновых свойственно приспособление, обеспечивающее надежность перекрёстного опыления — дихогамия, то есть одновременное созревание пыльников и рыльца. Особенности строения цветков разных представителей сем. *Aristolochiaceae* за многомиллионную историю существования привели к формированию узкого круга потенциальных опылителей. У некоторых видов насекомые-опылители не могут выйти из цветка, пока не произойдет опыление.

Виды рода *Aristolochia* связаны с крупным отрядом насекомых — чешуекрылыми (*Lepidoptera* Linnaeus, 1758). Бабочки, точнее их гусеницы, глав-

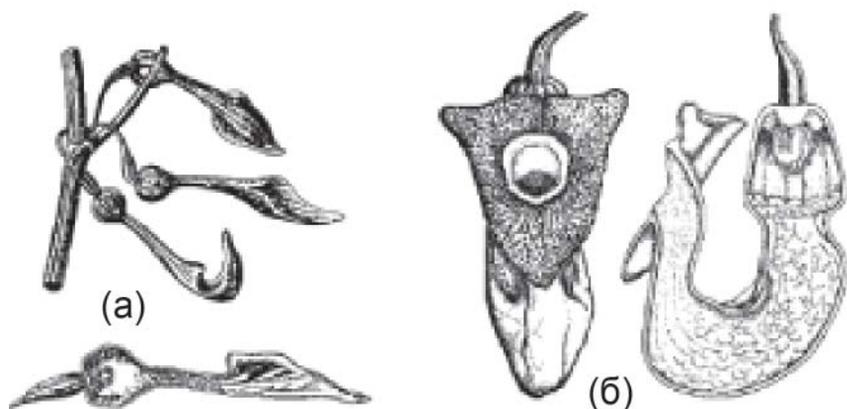


Рис. 5. Цветки представителей рода *Aristolochia*: (а) — *A. clematitis* (Кернер, 1902) и (б) — *A. macrophylla* (Cronquist, 1981).

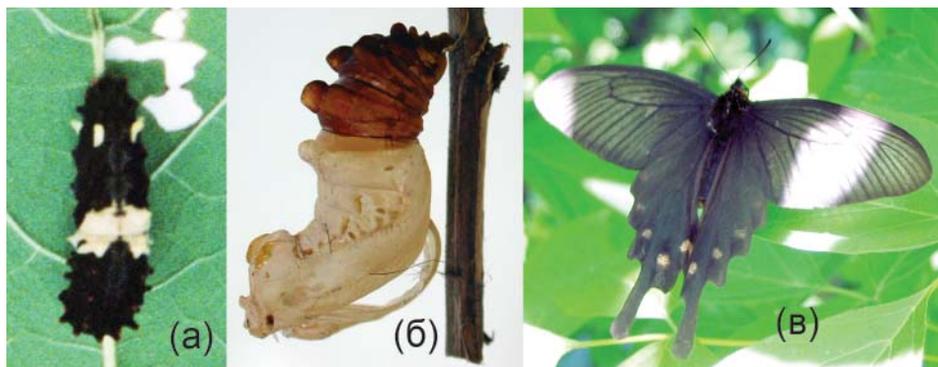


Рис. 6. *Papilio alcinous* Klug.: гусеница (а), выволзень (б) и бабочка (в) (фото О.В. Наконечной).

ным образом, из семейства парусников (Papilionidae), поедают листья кирказонов в большом количестве, при этом не участвуют в опылении цветков. Интересно, что почти к каждому виду *Aristolochia* «привязана» своя бабочка. Так, на листьях кирказона маньчжурского (*A. manshuriensis*) кормится *Papilio alcinous* Klug. (рисунок 6), лианы кирказона скрученного (*A. contorta*) необходимы имаго серицина китайского, *Sericinus telamon amurensis* Stg. (Куренцов, 1961) (рисунок 7), листья кирказона крупнолистного (*A. macrophylla*) служат пищей для *Battus philenor* (Linnaeus) (W.H. Howe 1975), а на лианах



Рис. 7. *Sericinus telamon amurensis* Stg.:

- (а) — гусеница (фото О.В. Наконечной) и
- (б) — бабочка (фото Т.Ю. Горпенченко).

определяя их совместную однонаправленную миграцию.

Род *ASARUM* – КОПЫТЕНЬ

Копытни – многолетние травы с ветвящимися корневищами, несущими 2–3 пленчатых чешуи и 2 длинночерешковых листа; пластинки их в

нах *A. californica* обитает имаго *Battus philenor hirsuta* (Skinner) (W.H. Howe 1975) и т.д. Такие связи между растением и бабочкой формировались в течение миллионов лет, и, вероятно, распространение бабочек и динамика границ их ареала напрямую зависели от расселения видов рода *Aristolochia*,

2–3 раза короче черешков, почковидные или сердцевидные, цельнокрайние, черешки тонкие. Цветки одиночные, пазушные, на коротких цветоножках, правильные. Околоцветник колокольчатый, трёхнадрезный. Завязь нижняя или полунижняя, 6– или 4–гнездная. Тычинок 12, свободных, в двух кругах, расположенных вокруг столбика. Тычиночные нити очень короткие, равные пыльникам или в два–три раза длинее их, связники продолжены в небольшие отростки. Плод – неправильно раскрывающаяся, полушаровидная коробочка, несущая на верхушке остатки околоцветника. Семена серовато–бурые, удлинённо–яйцевидные или ладьевидные, с продольным швом, вдавленным в виде бороздки, к которой прикрепляется мясистый придаток (Иванова, 1936; Гроссгейм, 1945).

Из мирового богатства растений к этому роду относится около 100 видов многолетних трав, широко распространенных в умеренной зоне северного полушария: в Европе, Азии и Северной Америке (González, Stevenson, 2002). Появление на Японских островах видов рода *Asarum*, где их насчитывается 35, связано с распространением копытней из Китая (Hayashi et al., 1984). В России встречаются 4 вида, из них 2 вида (*Asarum sieboldii* и *A. heterotropoides*) произрастают на российском Дальнем Востоке.

Asarum sieboldi Miq. 1865, Ann. Mus. Bot. Lugduno–Batavi, 2: 134. – К. Зибольда. Китайское название – Hsi–hsing, в Мукденской провинции его называют диким или горным женьшенем (Иванова, 1936).

Многолетнее корневищное растение, 5–10 см выс. Корневище подземное, до 1.5 см в диам., с короткими междоузлиями. Листья обычно расположены парами, сердцевидные или треугольно–сердцевидные цельнокрайние, 4–9 см дл., 5–15 см шир., сверху зелёные, во время цветения и позднее только по жилкам опушённые, снизу более бледные, покрыты прижатыми волосками; черешки 5–15 см дл., голые или коротко опушённые. Цветки одиночные, расположены в подстилке. Цветоносы сначала короткие, потом удлиняющиеся, 3–4 см дл., прямые. Околоцветник простой, чаще зелёный с грязно–пурпурным краем, реже сплошь зелёный или пурпурный; трубочка его сначала полушаровидная, затем короткоколокольчатая, внутри с сильно выдающимися продольными жилками; 3 лопасти отгиба треугольно–овальные, островатые; зев суженный, окружённый кольцевидным валиком, но настоящего гребня вокруг него не имеется. Тычинки в числе 12, расположены кольцом, с нитями 2 мм дл. Завязь полунижняя, свободная часть ее коническая. Столбики в числе 6, внизу сросшиеся в колонку, сверху со свободными, слегка расщепленными отростками, снабженными продольными бороздками, у основания которых размещены округлые ворсистые рыльца. Плод – коробочка, до 1.5 см дл., 1.2 (2) см шир. Семена

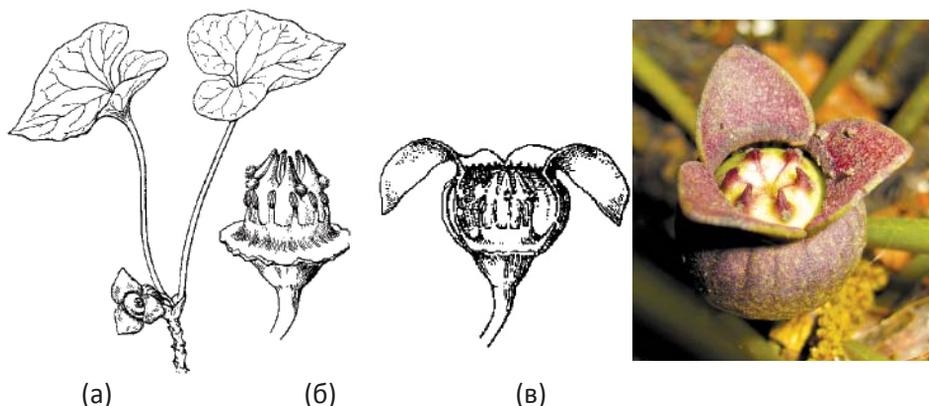


Рис. 8. *Asarum sieboldii*. Растение с цветком (а), гиностемий (б) и цветок в разрезе (в) (Иванова, 1936; фото О.В. Наконечной).

3–3.5 мм дл. и около 1.5 мм шир., многочисленные, продолговато-обратнояйцевидные, не сплюснутые, почти гладкие, бурые, с вдавленным швом и расположенным в нем мясистым придатком, превышающим по длине семя. Цветёт в мае (рисунки 8).

$2n = 26$ (Соколовская, 1966).

Растет в хвойных и смешанных лесах в кустарниковых зарослях. В России встречается на юге Приморского края, а за ее пределами известен в Китае, на Корейском п-ове и в Японии (Харкевич, 1987). Собирают в мае–июне. Заготавливают растение с корнями, полученное сырье обладает ароматным запахом. На российском Дальнем Востоке сбор даже 1 т затруднен (Шретер, 1975).

Химический состав. Эфирное масло 1.7–4% (Растительные ресурсы ..., 1984); в его составе α -туйен, мирцен, терпиненол-4, α -терпинеол, миристицин, азарицин. Стебли. Эфирное масло, в его составе кристаллический фенол ($C_{10}H_{10}O_4$), сафрол ($C_{10}H_{10}O_2$), 1,8-цинеол, азарицин и азарилкетон ($C_{20}H_{18}O_6$), эвгенол ($C_{10}H_{12}O_2$) и метилэвгенол ($C_{11}H_{14}O_2$), кровеацин, β - и α -пинены и их бромпроизводные ($C_{10}H_{16}Br_2$), β -пиненцинеол, 1-ализарин и какуоль (Чхве Тхэсоп, 1987; Растительные ресурсы ..., 1996). Производные фенантрена: аристолаховые кислоты (Максимов и др., 2002). Катехины: катехоламин (Растительные ресурсы ..., 1984). Присутствуют стероидные сапонины (Чхве Тхэсоп, 1987).

Полезные свойства. Входит в японскую фармакопею. Корневища обладают профилактическим и лечебным действием при сверхвысокочастотном поражении (Растительные ресурсы ..., 1984). Также используют в народной медицине вместе с другими растениями для лечения лейкозов и опухолей любых локализаций (Косолапов, 1994).

В китайской медицине корневища используют как заменитель эфедры, в качестве мочегонного, потогонного, жаропонижающего, рвотного, в частности для отрезвления, слабительного и улучшающего пищеварение средства. Как болеутоляющее средство используют при головной и зубной боли, а также при ревматизме, параличе и коликах. Кроме того, корневища находят применение в качестве отхаркивающего и противокашлевого средства. Их порошок рекомендуют как седативное средство, при болезнях печени и в качестве ранозаживляющего средства. Китайцы используют корневища как противоглистное средство, корейцы – для лечения плеврита и пневмонии. В эксперименте препараты из листьев оказывают умеренное тонизирующее и стимулирующее действие на центральную нервную систему крыс (Шретер, 1975). Также копытень Зибольда применяют при лечении нервных заболеваний, головной боли, при гриппе, респираторных инфекциях, бронхите, бронхиальной астме, стоматите (Растительные ресурсы ..., 1996). В традиционной медицине стран Восточной Азии – при бронхиальной астме, что подтверждено в клинике (Растительные ресурсы ..., 1996). В корейской медицине отвар из корней и травы копытня Зибольда используют при опухании и болезни десен, гнойниках в полости рта (Чхве Тхесоп, 1987).

Относится к ядовитым растениям, поскольку при внутреннем употреблении вызывает острое воспаление желудочно–кишечного тракта и даже может вызвать аборт. Даже самые маленькие кусочки корневища при жевании вызывают онемение слизистых оболочек рта и обильное слюноотделение (Фруентов, Кадаев, 1971).

Показано, что настой в эксперименте на животных оказывает стимулирующее влияние на центральную нервную систему (Фруентов, 1974), снижает до нормы температуру тела кролика при дозе 0.2–0.3 мл/кг (токсическая доза – 1.5 мл/кг), при этом температура сначала несколько повышается, а затем снижается до нормы. При существенном превышении дозы температура резко падает и животное гибнет. Доза 0.1 мл/кг не влияет на мочеотделение у кроликов, при дозе 0.2 мл/кг мочеотделение снижается. Эфирное масло угнетает деятельность изолированного сердца лягушки, а при высокой дозе останавливает его в диастоле. Введение в ушную вену кроликов эмульсии корня не влияло на артериальное давление крови, но на некоторое время дыхание слегка учащалось. Растению приписываются противоаллергические свойства (Чхве Тхесоп, 1987).

Asarum heterotropoides F. Schmidt, 1868, Mém. Acad. Sci. Pétersb. (Sci. Phys.–Math.) sér. 7, 12, 2: 171 (Reisen Amur–Lande und Sachal.). – К. ретероповидный.

Близкий вид к предыдущему, но с желтовато–зелёными, туповатыми, более мелкими листьями, мясистыми туповатыми долями околоцветников, после цветения с заворачивающимися до середины краями. Тычинок 6. Столбики в числе 3.

Распространен на Сахалине и Курилах (Ворошилов, 1982), а его разновидность *A. heterotropoides* var. *manshuricum* (Maxim.) Kitag. обнаружена З.В. Кожевниковой и др. (2007) в Хасанском р–оне Приморского края. По данным авторов, за пределами России разновидность встречается в Северо–Восточном Китае и, по–видимому, на п–ове Корея.

2n = 26 (Соколовская, 1966).

Asarum europaeum L. 1753, Sp. Pl. ed. 1: 442. – К. европейский.

Многолетнее растение 5–10 см дл. и ползучим шнуровидным корневищем, однолетние веточки которого почти надземные. Листья попарные, копытообразной формы, сверху тёмно–зелёные, в живом состоянии лоснящиеся, снизу красноватые; пластинки их округло–почковидные, 4–6 см дл. и 5–8 см шир., с обеих сторон покрыты короткими прижатыми волосками; черешки 5–10 см дл., сверху желобчатые, опушённые длинными отстоящими волосками. Цветки на поникающей цветоножке до 1–2 см дл.; околоцветник бурый, лопасти его треугольно–яйцевидные, 7–9 мм дл. и 4–6 мм шир., на конце с ланцетовидным, загнутым внутрь заострением. Нити тычинок сначала короткие, затем удлинняющиеся в 2–3 раза; связники продолжены в шиловидные отростки. Завязь нижняя, ее верхняя часть слегка коническая; колонка столбика шестигранная, сверху расширена в шестилучевой диск, на котором помещается ворсинчатое рыльце. Семена треугольно–яйцевидные, слегка сплюснутые, 3–3.5 мм дл. и около 2 мм шир., серовато–бурые, мелкоморщинистые, с широкой и глубокой бороздкой. Цветёт в конце апреля–начале июня (рисунок 9).

Встречается в широколиственных и смешанных, реже в тёмнохвойных лесах, мелколесьях и кустарниках небольшими пятнами, обычно на богатых глинистых и суглинистых почвах. В России вид распространен в Европейской части и Западной Сибири, а за ее пределами – в странах Западной и Восточной Европы (Иванова, 1936).

Химический состав. Листья. Стероиды: ситостерин. Алкалоиды. Фенолкарбоновые кислоты: п–кумаровая, кофейная, феруловая. Флавоноиды в гидролизате: кемпферол, кверцетин (Растительные ресурсы ..., 1984). Флавоноиды: 3–глюкозид кверцетина, 3–галактозид кемпферола (трифолин), 3–рутинозид кемпферола, кверцетин. Тритерпеноиды: холестен–5–ол–3β, 24α–метилхолестен–5–ол–3β, 24–этилхолестадиен–5,22,–ол–3β, 24α–этилхолестен–5–ол–3β, 24–этилхолестанол–3β. Высшие алифатические спирты:

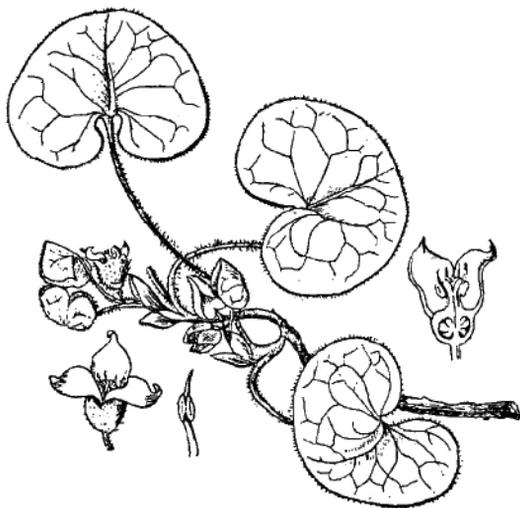


Рис. 9. *Aristolochia europaeum* (Ларин, Агабабян, 1951). Растение с цветками, цветок в разрезе.

н-октадеканол, н-эйкозанол, н-тетракозанол, 3,7,11,15-тетраметилгексадецен-2-ол-1. Высшие жирные кислоты: н-гексадекановая, н-октадекановая, н-октадецен-9-овая, н-октадекадиен-9,12-овая, н-октадекатриен-9,12,15-овая (Рас- тительные ресурсы ..., 1996). Подземная часть. Фенольные соед.: α -азарон. Тритерпено- иды: 24 α -метилхолестен-5-ол-3 β , 24 α -этил- холестадиен-5,22-ол-3 β , 24 α -этилхолестен-5-ол-3 β . Высшие алифатические спирты: н-додеканол, н-тетрадеканол, н-гексадеканол, н-докозанол, н-тетракозанол, н-цис-октадецен-9-ол-1, 3,7,11,15-тетраметилгексадецен-2-ол-1. Эфирное масло 1%; в его составе (в %): азарон 30–50, азароновый альдегид 2–3, транс-изоазарон, транс-мети- лизоэвгенол, диазарон, эфир $C_{11}H_{18}O$, сесквитерпеновый углеводород, сесквитерпеновый спирт, терпен $C_{10}H_{16}$ 1–2, l-борнилацетат 12–13, трици- клический сесквитерпен $C_{15}H_{24}$ 10–12, метилэвгенол (или метилизоэвгенол) 15–20, азароновая кислота.

Полезные свойства. В европейской и русской народной медицине – как рвотное, отхаркивающее, обладающее антибактериальным, противовоспалительным и спазмолитическим действием. Входило в фармакопеи Нидерландов, Германии, Швейцарии, Польши и Швеции. На основе экстракта создан препарат «Escarol» (отхаркивающее средство). Настой пьют при болезнях желудка, печени, почек, отвар – при заболеваниях сердца, алкоголизме и отравлении ядовитыми грибами, нервном возбуждении, мигрени, как мочегонное и при водянке, при желтухе, малярии, экземах, эпилепсии. Галеновые препараты оказывают тонизирующее, желчегонное, слабительное, жаропонижающее, седативное, противосклеротическое; в эксперименте повышают прочность стенок капилляров, снижают частоту сердечного ритма, увеличивают силу сокращений миокарда. В ветеринарии (порошок, водный настой) – отхаркивающее, слабительное, кардио- тоническое, диуретическое. Корневища. Настои и отвары – как рвотное,

диуретическое, при лихорадке, эпилепсии, артритах, заболеваниях почек и печени, при лечении силикоза, воспалений верхних дыхательных путей, стоматитов, гастритов, как антигельминтное и кровоостанавливающее, при лечении опухолей различной этиологии, при астме, истерии, мигрени. В Сибири отвар применяют в виде примочек при головной боли; пьют при диспепсии, энтеритах, желтухе и для улучшения пищеварения. Используют наружно в виде примочек при лечении ран, язв, лишаев, как нюхательное средство при насморке, головной боли, глухоте. Эфирный экстракт оказывает рвотное действие. Эфирное масло может найти применение в зубоврачебной практике, парфюмерии, пищевой промышленности. Галеновые препараты – при импотенции, олигоменорее, лактогенное, порошок с молоком – при диарее, наружно (примочки) – при дерматозах, чесотке. Листья. Настой из свежих листьев входил в препарат «Акофит», применявшийся при острых радикулитах, невралгиях. Водный настой – кардиотоническое, гипертензивное, симпатомиметическое, противолихорадочное, диуретическое, антигельминтное, при головной боли, глухоте, параличах с потерей речи, эпилепсии, подагре и ревматизме, нервных и сердечных заболеваниях. Обладает диуретическими, бронхолитическими, отхаркивающими и противовоспалительными свойствами. В Венгрии – при лечении спастических бронхитов. В Сибири свежие и истолченные листья – при нарывах, настойка на уксусе – при чесотке, отвар – при глазных болезнях (Растительные ресурсы ..., 1984). Слабительное, желчегонное (Растительные ресурсы ..., 1996).

Используется как декоративное растение (Растительные ресурсы ..., 1984).

Asarum intermedium (C.A. Mey.) Grossh. 1930, Фл. Кавк. 2: 36. – *A. ibericum* Stev. ex Ledeb. 1850, Fl. Ross. 3: 553, nom. inval. – *A. europaeum* L. subsp. *caucasicum* (Duch.) Soó, 1966, Acta Bot. Acad. Sci. Hung. 12, 1–2: 111. – К. промежуточный.

Многолетник с ползучим ветвистым корневищем; чешуи в числе 3, яйцевидные, островатые, вдоль сложенные, 1–2 см дл. Листья тёмно-зелёные, в живом состоянии лоснящиеся, по-видимому, не зимующие; пластинки их сердцевидные или треугольно-сердцевидные, более или менее угловатые, 4–8 см дл. и 6–12 см шир., снизу ко времени цветения голые, сверху часто покрыты по жилкам короткими прижатыми волосками, ближе к краю листа отдельные волоски встречаются и между жилками; черешки 5–12 см дл., сверху желобчатые, в средней части голые или почти голые, в остальном опушённые. Цветки на поникающих цветоножках, 1–2 см дл.; околоцветник оливково-бурый, лопасти его треугольно-яйцевидные, 7–9 мм дл. и 4–6 мм шир., на концах с ланцетовидными, загнутыми внутрь заострения-

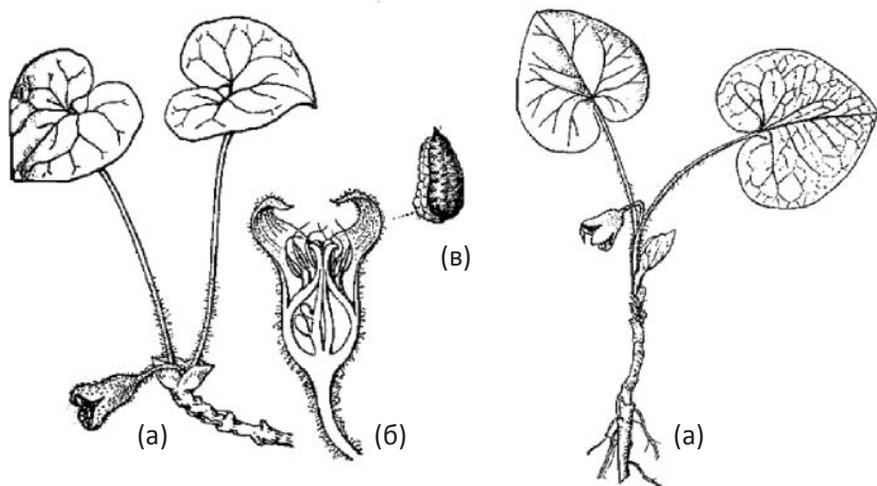


Рис. 10. *Asarum intermedium*. Растения с цветками (а), цветок в разрезе (б) и плод (в) (Иванова, 1936; Ларин, Агабабян, 1951).

ми; отростки тычинок шиловидные; завязь нижняя, ее верхняя часть коническая; колонка столбика шестигранная, сверху расширена в шестилучевой диск, на котором находится ворсинчатое рыльце (рисунком 10). Семена треугольно-яйцевидные, слегка сплюснутые, 3–3.5 мм дл. и около 2 мм шир., желтовато-бурые, мелкоморщинистые, с широкой и глубокой бороздкой. Цветёт в мае.

Встречается до верхнего горного пояса в лесах, преимущественно буковых, и в тенистых кустарниках. Произрастает в России на территории Кавказского государственного биосферного заповедника и в Грузии (Гроссгейм, 1945). Эндемичный кавказский вид.

Химический состав. Содержит в корнях камфарообразное вещество – азарон.

Полезные свойства. Применялся раньше в медицине и ветеринарии, как рвотное и слабительное, а также против чесотки и лишая у лошадей (Гроссгейм, 1945). Ядовит. Корневища употребляются в качестве лекарственного средства.

Род *ARISTOLOCHIA* L. – КИРКАЗОН

Травы с прямостоячими или вьющимися стеблями, реже лианы. Листья очередные, многочисленные, с сердцевидным основанием, цельнокрайние, черешковые. Околоцветник неправильный, зигоморфный, опадающий, трубочка его при основании вокруг гиностемия вздутая. Завязь

нижняя, 6-, реже 4–5–гнёздная. Тычинок 6, расположенных вокруг столбиков и срастающихся вместе с последними в колонку – гиностемий. Коробочка раскрывается 6 продольными трещинами. Семена плоские, трёхгранные, с округлыми рёбрами.

В роде насчитывается около 400 видов лиан (деревянистых и травянистых) и многолетних трав, распространенных в тропической, субтропической и умеренной зонах земного шара (González, Stevenson, 2002). В России в естественных условиях произрастают 5 видов, из которых 2 вида (*Aristolochia manshuriensis* и *A. contorta*) встречаются на юге Приморского края. Детальные описания этих видов приведено в соответствующей главе.



Рис. 11. *Aristolochia bottae*. Генеративный побег с листьями и цветком (Гроссгейм, 1945).

Aristolochia bottae Jaub. et Spach.

1842–43, Ill. Pl. Orient. i. 173. l. 98. – *A. paecilantha* Boiss. 1853, Diagn. Pl. Orient. ser 1, 12: 104.– К. Ботта.

Многолетнее растение, 30–50 см выс. Стебли прямые, ветвистые, шероховатые. Листья сердцевидно–треугольные, шероховатые, на черешках, 5–20 мм дл. Цветки 3–5 см дл., снаружи более или менее опушённые, зелёные, отгиб тёмно–пурпуровый, острый, с ушками, 2.5–3.5 см дл. (рисунок 11).

Вид встречается на сухих склонах.

В России произрастает на территории Кавказского государственного биосферного заповедника. За её пределами кирказон встречается в Армении, Азербайджане, Иране (Иванова, 1936; Гроссгейм, 1945; Ахундов, 1952).

Декоративное растение.

Aristolochia steupii Woronow [1930, в Гроссгейм, Фл. Кавказа, 2: 37, descr. ross.], 1933, Тр. Ботан. ин–та АН СССР, сер. 1, 1: 214. – К. Штейна.

Многолетник с простыми, слегка извилистыми стеблями 10–25 см выс. Листья яйцевидно–округлые, тупые. Цветок до 1–2 см дл. Отгиб продолговато–сердцевидный с тупыми ушками, зеленовато–коричневый; отверстие отгиба окружено широким желтым кольцевым пятном, с черно–фиолетовым окаймлением (рисунок 12).

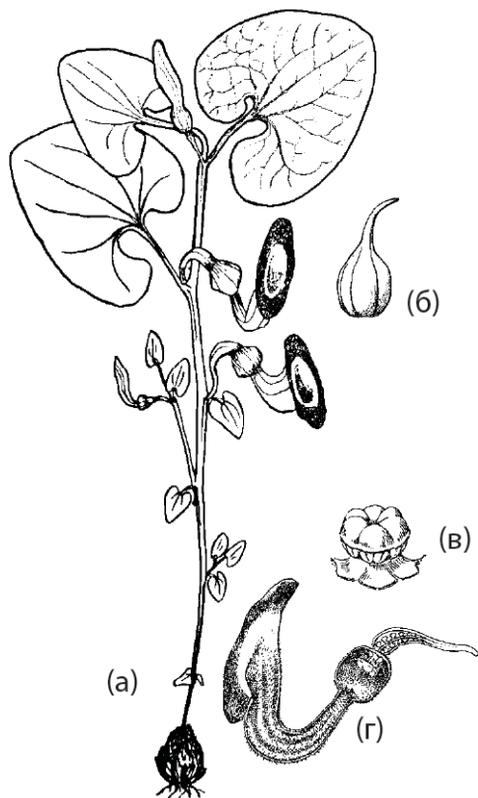


Рис. 12. *Aristolochia steupii*. Растение с цветками (а), плод (б), гиностемий (в) и цветок в разрезе (г) (Иванова, 1936).

Растение с коротким ползучим корневищем. Стебли 30–50 (90) см выс. Листья черешковые, округло-яйцевидные, с глубокосердцевидным основанием, обычно тупые. Цветки расположены пучками в пазухах листьев, 18–25 мм дл., до 2–8 мм шир., на цветоножках около 10 мм дл. Околоцветник узкотрубчатый, желтый, с небольшим замкнутым отгибом, открывающимся боковой щелью. Цветёт в мае, плодоносит в сентябре. Все растение обладает неприятным запахом (Ларин, Агабабян, 1951) (рисунки 5 и 13).

Произрастает по заливным лесам, кустарникам и лугам, по обрывистым берегам рек и моря, в оврагах, иногда как синантропное в городах и садах.

Вид встречается в Европейской части России от западных границ до Уральских гор. За пределами России – в Западной Европе, на Кавказе (Азербайджан, Грузия) (Иванова, 1936; Гроссгейм, 1945; Ахундов, 1952).

В России произрастает на территории Кавказского государственного биосферного заповедника, в Краснодарском крае. За пределами России – в Абхазии (Гроссгейм, 1945).

Ядовитое растение.

***Aristolochia clematitis* L.** 1753, Sp. Pl.: 962. – К. ломоносовидный. В Грузии его называют тетра-рака (Колаковский, 1980). В англоязычных странах получил название европейского змеиногo корня и birthwort (английский перевод латинского родового названия – способствующий родам). По-русски это растение называется корорником или филийником. В Новохоперском районе Воронежской области оно известно в народе из-за его особых ранозаживляющих свойств, как ранник (Аренс, 1949).

Многолетнее растение с коротким ползучим корневищем. Стебли 30–50 (90) см выс. Листья черешковые, округло-яй-

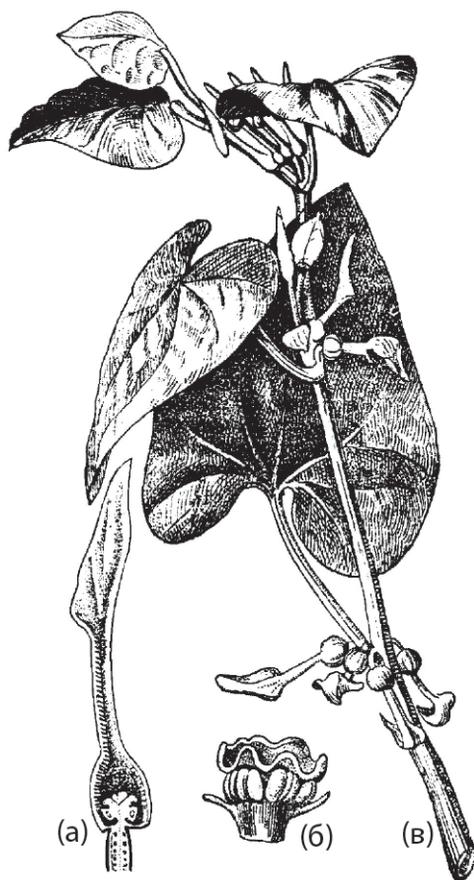


Рис. 13. *Aristolochia clematitidis*. Цветок в разрезе (а), гиностемий (б) и растение с цветками (в) (Ларин, Агабабян, 1951).

гликозида. Семена. Алкалоиды: аристолохин. Многоядерные ароматические соединения: аристолохиевая кислота I – 0.42% (Растительные ресурсы ..., 1984). Корневища. Эфирное масло 0.4%. Стероиды: ситостерин. Алкалоиды: магнофлорин, аристолохин. Многоядерные ароматические соед.: аристолохиевая кислота I, 0.59–0.92%, аристолохиевая кислота II, III и IIIa, две кислоты (близкие к аристолохиевым кислотам I и II) и два их метиловых эфира.

Полезные свойства. Кирказон ломоносовидный – растение, обладающее специфическими свойствами, ускоряющими заживление некоторых видов поранений. Растение используют как мочегонное средство. На Кавказе – для лечения рожи, при заболеваниях суставов, бронхите, как противо-

Химический состав. Надземная часть. Сесквитерпеноиды: аристон, N-β-D-глюкозид аристолактама. Стероиды: β-ситостерин. β-D-глюкозид β-ситостерина. Алкалоиды: магнофлорин, коритуберин. Фенолкарбоновые кислоты и их производные: феруловая, 4-кумаровая, метиловый эфир 4-кумаровой кислоты (Растительные ресурсы ..., 1996). В его составе: α-пинен, кадинен, борнеол, α-терпинеол, линналилпропионат, коричный спирт, метилнонилкетон. Стебли. Углеводы и родственные соединения: пинит. Листья. Алкалоиды: аристолохин. Многоядерные ароматические соединения: аристолохиевая кислота 0.021 – 1%. Фенолкарбоновые кислоты и их производные: п-кумаровая, кофейная, феруловая (в гидролизате). Флавоноиды: гликозид кверцетина, кверцетин (в гидролизате). Цветки. Флавоноиды: гликозид кверцетина и два флавонол-

судорожное. Обладает гипотензивным действием, стимулирует дыхание и сердечную деятельность. Корневища. При туберкулезе и цинге, при атонии кишечника, малярии, как потогонное и болеутоляющее; в виде отвара при подагре. Слабительное и противоядие при укусах ядовитых змей. В народной медицине стран Европы вытяжка в виде мазей и пластырей – при лечении различных, в том числе злокачественных, опухолей. В ветеринарии – при бесплодии крупного рогатого скота, для усиления маточных сокращений при родах (Ахундов, 1952). Корневища, листья. Водные настои, отвары и настойки при водянке, кашле, одышке; для лечения язв, ран, кожных сыпей. Водные, спиртовые и эфирные извлечения обладают протистоцидным и антибактериальным действием. Листья. На Кавказе в свежем виде – ранозаживляющее; отвар для ванн при золотухе. Жители Новохоперского района Воронежской области прикладывали к ранкам на своем теле свежие листья кирказона, что приводило к их быстрому заживлению. Семена. В Поволжье как слабительное и противомаларийное; настой – кардиотоническое (Растительные ресурсы ..., 1984). Иногда яд аристолохин используется как отравляющее средство при ловле рыб (Ларин, Агабабян, 1951).

В практической медицине галеновые препараты используют как противовоспалительное, вяжущее, сосудорасширяющее, при анемии, анацидном гастрите, почечных коликах, дисменорее, ревматизме, остеомиелите, головной боли, диатезе, адаптогенное.

Следует отметить, что все части кирказона ломоносовидного обладают неприятным запахом, вследствие чего скот обычно не трогает растение, и случаи отравления им редки (Аренс, 1949). При отравлении у коров уменьшаются надои, молоко становится водянистым с неприятным привкусом и окрашивается в красноватый цвет (Мацюцкий, 1987). Съеденный в очень малых количествах вреда не причиняет, съеденный же в больших количествах делает молоко ядовитым, а животное отравляет. Засорение корма до 4% может быть опасным для животного.

Ядовитое начало, алкалоид аристолохин ($C_{32}H_{22}O_{13}N_2$) содержится главным образом в семенах и листьях. Аристолохин понижает кровяное давление, нарушая этим правильную работу сердца (Аренс, 1949). Симптомы отравления животных: потеря аппетита, общая неподвижность, бесчувственность, нетвердая шаткая походка, слабость задних ног, спазмы и легкие судороги в различных частях тела. Наступление спячки, затем, спустя некоторое время, запор, частое выделение мочи и судороги в половых органах. Лошади поправляются очень медленно. Описан случай, когда на Северном Кавказе, в станице Глагинской, в 1925 г. из 10 лошадей пало 8. При вскрытии трупов павших лошадей было обнаружено геморрагическое воспаление желудка и кишок. В корм этим лошадям попала примесь семян и листьев кирказона.

Наибольшей токсичностью обладают листья, меньшей семена и наименьшей стебли. Наиболее ядовиты растения до фазы цветения, менее — в фазе полного созревания.

Aristolochia durior Hill, 1772, Veg. Syst. 21: 57. — *Aristolochia macrophylla* Lam. 1783, Encyl. 1, 1: 252. — К. твердоватый, к. крупнолистный или сифо.

Вьющаяся древовидная лиана 4–10 м дл. с морщинистой серой корой, молодые ветви зелёные, листья длинночерешковые, яйцевидные с сердцевидным основанием, 10–23 см дл. с рассеянными волосками. Цветки одиночные или парные, пазушные на длинных цветоножках. В России встречается только в культуре, выносит зимы в Москве и Санкт–Петербурге. С конца XIX в. культивируется под Санкт–Петербургом в Верхнем парке г. Ломоносов. Декоративное растение родом из Северной Америки (Иванова, 1936).

2. КИРКАЗОН МАНЬЧЖУРСКИЙ И К. СКРУЧЕННЫЙ

2.1. СИСТЕМАТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ

Систематическое положение приведено согласно обзорной работе Ф. Гонзалеза и Д. Стивенсона (González, Stevenson, 2002).

Отдел Magnoliophyta - Магнолиообразные

Класс Magnoliopsida – Магнолиевидные

Подкласс – Magnoliidae – Магнолииды

Порядок Aristolochiales – Кирказоноцветные

Сем. Aristolochiaceae – Кирказоновые

Род *Aristolochia*

Подрод – *Siphisia* O.C. Schmidt

Секция – *Siphisia* (Raf.) Duch. (González, Stevenson, 2002).

Aristolochia manshuriensis Kom. 1904, Тр. Петерб. ботан. сада, 22, 2 (Фл. Маньчж.): 112. — *Hocquartia manshuriensis* (Kom.) Nakai, 1936, Fl. Sylv. Kor. 21: 27. – Кирказон маньчжурский; японское название mansyû–umano–suzukusa, Kidati–umano–suzukusa (Kitagawa, 1979).

Подрод – *Orthoaristolochia* O.C. Schmidt

Секция – *Diplobus* Duch.

Aristolochia contorta Bunge, 1833, Enum. Pl. Chin. Bor.: 58; Комаров, 1904, Тр. Петерб. ботан. сада, 22, 2 (Фл. Маньчж.): 111. — *A. nipponica* Makino, 1910, Bot. Mag. (Tokyo) 24: 124. — Кирказон скрученный или к. приречный; японское название – maruba–umano–suzukusa, Ko–umano–suzukusa (Kitagawa, 1979), китайское название – madouling или Zuccarini (Li et al., 2010).

2.2. МОРФОЛОГИЯ, ЖИЗНЕННАЯ ФОРМА

Морфологическое описание *A. manshuriensis* приведено по работам А.Г. Головач (1963, 1973). Лиана достигает (при наличии опор) более 15 м в длину. Диаметр побега у поверхности почвы (у корневой шейки) – до 7.5 см. Стебель вьющийся; побег своей самой верхней частью энергично растёт вокруг опоры в виде спирали, в направлении против часовой стрелки. Молодые побеги светло-зелёные или слегка желтовато-зелёные, более или менее густо покрытые беловатыми волосками. К концу вегетационного периода, а чаще на второй год, побеги становятся оливково-зелёными



Рис. 14. Внешний вид *Aristolochia manshuriensis* (фото Ю.Н. Журавлева).

и от основания покрываются пробковой тканью. Старые побеги покрыты хорошо развитой пробковой тканью, тёмно-серые с продольными и косыми более светлыми трещинами. Детальное анатомическое строение древесины приведено в работе С.А. Снежковой (1986). Обычно растение разветвляется у самой поверхности почвы на 3–4 побега. Растёт очень быстро.

Почки мелкие, густо опушённые серебристо-белыми волосками, сериальные, обычно по три в пазухе листа. Спящие почки у *A. manshuriensis* расположены в области корневой шейки, они имеются у старых и крупных экземпляров (Головач, 1963).

Листовые пластинки округло-яйцевидные, 10–30 см дл. и 10–28 см шир., заострённые, с почковидным или вырезным основанием, сверху светло-зелёные, слабо блестящие, морщинистые вследствие вдавленной жилки, слегка шершавые от редких коротких волосков, снизу – сизовато-зелёные, густо опушённые короткими беловатыми волосками, с выдающимися жилками, покрытыми более длинными волосками; жилкование дланевидно-краебежное; край листа слегка неровный и волнистый. Листья обычно повислые, расположены мозаично и более или менее черепитчато, так что их пластинки закрывают пространство почти без просветов (рисунок 14).

Молодые листья плотно сложены вдоль средней жилки. Пластинки листьев полностью разворачиваются и приобретают свойственную им форму обычно в конце мая – начале июня. Осеннее изменение окраски листьев наступает в конце августа – начале сентября, почти в это же время или спустя 10–15 дней начинают опадать отдельные листья. Листопад продолжается почти до ноября.

Черешок в поперечном сечении округлый. Его длина варьирует и определяется необходимостью выноса листовой пластинки на свет на то или

иное расстояние, в том или ином направлении. Обычно, чем глубже в тени формируется и растёт лист, тем длиннее черешок, выносящий его к свету.

Цветки по одному, редко по два на очень укороченных пазушных веточках, расположены у основания и ниже ростовых побегов текущего года. Цветоножка 1.5–3 (4.5) см дл. и около 2 мм толщ., неравномерно опушена волосками различной длины.

При основании цветоножек находятся 1–2 чешуи, они зелёновато-серые, буроватые перепончатые, густо опушённые (особенно на верхушке) серебристыми волосками. Выше этих чешуй расположены по одному, редко по два, прицветника, иногда последние вовсе отсутствуют. Прицветники продолговато-эллиптические или яйцевидные, с оттянутым, полуобъемлющим цветоножку основанием, они до 1.5 см длины и 1 см шир., светло-зелёные густо опушённые по краям и снизу.

Трубка околоцветника подковообразная или «U»-образно изогнутая, до 9 см дл., вокруг гиностемия вздутая (до 15 мм в диам.), далее суженная, но на изгибе вновь расширенная (до 16–18 мм в диам.), затем сильно суженная (до 8 мм в диам.) и, наконец, к зеву вновь расширенная (рисунок 15); снаружи бледно-зелёная, желтовато- или фиолетово-зелёная, слегка блестящая, тупоребристая, почти голая; внутри вокруг гиностемия с тёмно-пурпуровым кольцом, выше по жилкам в крапинках такого же цвета, затем в самом узком месте опять с бордовым кольцом и выше до зева в густых пурпуровых крапинах; в верхней трети нижнего кольца с бугорчатой поверхностью, покрытой ветвистыми волосками.

Отгиб околоцветника коричнево-тёмно-пурпурный или зелёновато-жёлтый, 22–24 (28) мм в диам., неглубоко трёхлопастный, почти правильный при полном распускании цветков, почти плоский с отогнутыми назад краями; лопасти широко треугольные с оттянутыми туповатыми или острыми верхушками, по краю неравномерно коротко волосистые, нижняя лопасть более вытянута, она несколько больше верхних; зев окружён тёмным, до черно-бурого цвета, блестящим валиком, неправильно зубчатым или усаженным редко и неправильно расположенными сосочками. Цветки со слабым, малоприятным запахом.

Плод – коробочка. Семена сердцевидно-треугольные. Детальное описание плодов и семян приведено в подразделе «2.6. Биология цветения, опыление, плодообразование и распространение семян».

2n = 28 (Соколовская и др., 1989).

Морфологическое описание *Aristolochia contorta* приведено по работам Наконечной О.В. с соавторами (Нечаев, Наконечная, 2009; Наконечная и др., 2012а). Многолетняя травянистая лиана с резким запахом. Всё рас-



Рис. 15. Цветки *Aristolochia manshuriensis* (фото О.В. Наконечной).

тение до 5 м выс., при наличии опоры может достигать 10 м (рисунок 16). Корневище горизонтальное. Побеги тёмно-жёлтые, гладкие. Листья тёмно-зелёные, плотные, крупные, треугольно-сердцевидные, листовая пластинка – 9.29 ± 0.30 см дл., 10.33 ± 0.26 см шир., глубина выемки пластинки – 2.73 ± 0.12 см, черешок 6.26 ± 0.28 см дл.; четко выражена главная жилка и две боковые, жилкование перистосетчатое. В пазухе листа развиваются 4–12 цветков и 1–2 укороченных генеративных побега, несущих по два-три цветка.

Цветки светло-жёлтые или жёлто-зелёные, на цветоножках. Цветоножка 1.77 ± 0.05 см дл. Околоцветник неправильный (рисунок 16): в осно-

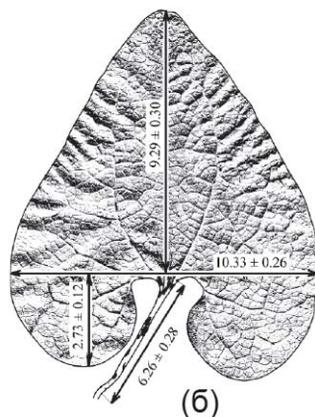
вании находится вздутие – мешочек 0.52 ± 0.01 см дл. и 0.56 ± 0.01 см шир., далее слегка согнутая трубка 0.96 ± 0.02 см дл. и около 0.01 см шир. Трубка с косым отгибом 1.78 ± 0.03 см дл. и 0.77 ± 0.02 см шир. и сильно вытянутой верхушкой (рисунок 16).

Плод – коробочка. Семена 5–6 мм в диам., по середине тёмно-каштановые, по краям светлые. Детальное описание плодов и семян приведено в подразделе «2.6. Биология цветения, опыление, плодообразование и распространение семян».

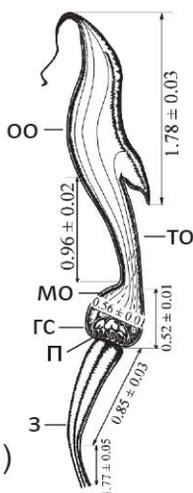
$2n = 14$ (Probatova et al., 2008).



(а)



(б)



(в)



(г)

Рис. 16. Внешний вид *Aristolochia contorta*: (а) – лиана, (б) – лист, (в) и (г) – цветок (фото О.В. Наконечной): гс – гиностемий, з – завязь, мо – мешочек околоцветника, оо – отгиб околоцветника, п – пыльники, то – трубка околоцветника.

2.3. ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ

Основная часть ареала *Aristolochia manshuriensis* находится в Китае, в провинциях – Гансу, Хэйлунцзян, Хубэй, Гири, Ляонин, Шаньси, Сычуань. Также вид произрастает на Корейском полуострове, где он сохранился в гористой местности в центральной части страны (Дунбей мубэнь Чжиу, 1955; Воробьев, 1968; Chou et al., 1986; Lee, 1988; Oh, Pak, 2001; Hwang et al., 2003) (рисунок 17).



Рис. 17. Ареал *Aristolochia manshuriensis* (по: Artyukova et al., 2012).

Известные местонахождения в пределах Приморского края: бассейны рек Борисовка (Шуфан), Нежинка (Сандуга) и Ананьевка (Эльдуга), окрестности с. Занадворовка Хасанского района (Воробьев, 1968). Д.П. Воробьев (1968) отмечал присутствие лианы на правом берегу р. Раздольная (Суйфун) вблизи Оленесовхоза, в Хасанском районе на водоразделе рек Амба и Барабашевка (Монгугай). Л.Н. Слизик (1978а) отметила наиболее крупные заросли кирказона маньчжурского в окрестностях с. Горное (Надеждинский район). Популяции кирказона маньчжурского на территории России Л.Н. Слизик (1978б) называет северо-восточными форпостами вида.

Ареал *Aristolochia contorta* – Китай (провинций Фудзянь, Гансу, Хэбэй, Хэйлунцзян, Хэнань, Гири, Ляонин, Шаньси, Шаньдун, Шэньси), Корейский полуостров и Япония (Ohwi, 1965; Харкевич, Качура, 1981; Харкевич, 1987; Oh, Pak, 2001; Hwang et al., 2003) (рисунок 18). В России произрастает на юге Приморского края (Харкевич, 1987) и в нижнем течении р. Вертопрашиха на территории Еврейской АО (Рубцова, 2006). По территории России проходит северо-восточная граница распространения вида.

2.4. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕСТООБИТАНИЙ.

Численность и возрастной состав популяций

Кирказон маньчжурский встречается на юге Приморского края в смешанных горных широколиственных лесах в нижней части склонов и селится

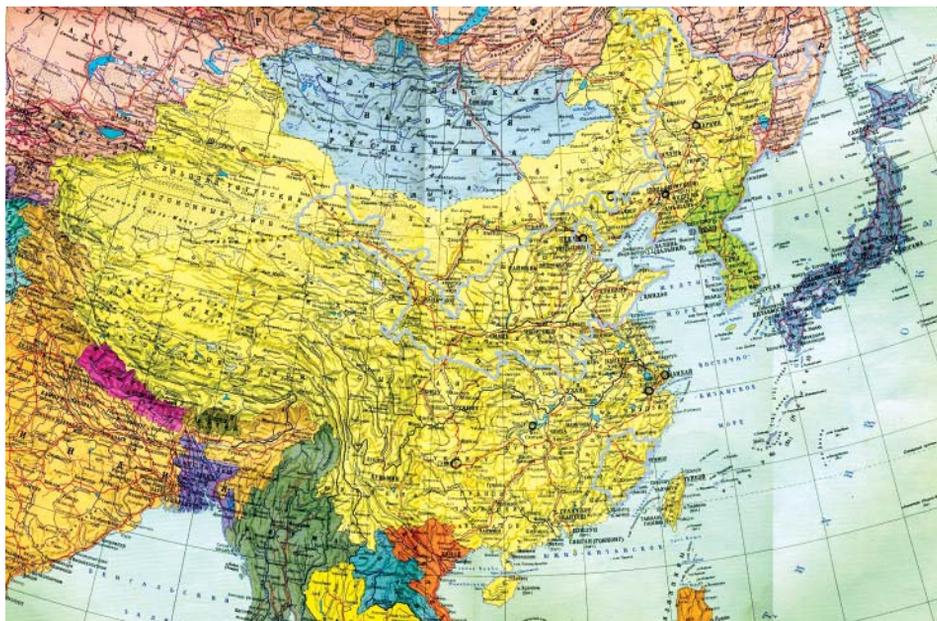


Рис. 18. Ареал *Aristolochia contorta*, приведенный по границам провинций Китая, Корейского полуострова и Приморского края России, в которых был отмечен вид (по: Харкевич, 1987; Oh, Pak, 2001; Hwang et al., 2003).

по распадкам, ручьям, подножиям склонов, произрастая отдельными пятнами по опушкам или на лесных полянах (Овсянников, 1931; Строгий, 1934; Рубцов, Шипчинский, 1951; Васильев, Колесников, 1963; Слизик, 1978а, 1978б; Растительные ресурсы..., 1984). Он избегает склонов с ярким солнечным освещением и нагреванием почвы, поэтому обычно отсутствует на южных склонах, где существуют резкие перепады дневных и ночных температур (Слизик, 1978а, 1978б). По мнению Л.Н. Слизик, лиана нуждается в минимальном колебании температуры, что говорит об узком спектре экологических факторов, благоприятных для вида, обитающего в экстремальных условиях на северной границе ареала. Четкое выделение из окружающих растительных группировок, приуроченность к определённым микроклиматическим условиям, монодоминантный характер зарослей свойственны этой лиане в Приморском крае (Слизик, 1978а). Детальное описание фитоценоза было приведено ранее (Куренцова, Валова, 1969; Соколов, 1977).

Кирказон маньчжурский встречается в виде плотных групп, составленных из разновозрастных экземпляров. Южноприморские популяции вида немногочисленны и отличаются между собой по состоянию и численности (Слизик, 1978б).

В свое время (Слизик, 1978а), в наиболее крупной и благополучной популяции кирказона маньчжурского (окрестности с. Горное) преобладали крупные плодоносящие экземпляры. Здесь вид сохранял определённое равновесие, но подвергался постоянному действию антропогенного фактора (сбор плодов, срезание побегов, пожары), нарушавшего сбалансированное состояние популяции. По данным того же автора, в других местах произрастания кирказона маньчжурского (в 20–30 км к югу от с. Горное) имелись более слабые, угнетённые разновозрастные группы растений и редкий, ослабленный подрост (Слизик, 1978а).

По данным О.В. Наконечной с соавторами (2010), наиболее благоприятные условия произрастания для *A. contorta* – в долинах рек, в частности, в разреженных пойменных черёмухо–ольхово–ивовых лесах, граничащих с редколесьем из дуба, клена, бархата, ясеня, ореха и других деревьев на высоких береговых террасах. Кирказон скрученный можно встретить также в древесно–кустарниково–травянистых зарослях у подножий крутых, нередко каменистых склонов и вблизи открытых пространств (полян, лугов, залежей, дорог и т.д.).

Поскольку особи произрастают в популяциях неравномерно, «пятнами», был использован термин «локальность» для обозначения группы особей кирказона скрученного, обособленных расстоянием и/или преградами от других лиан *A. contorta*; к одной популяции могут относиться несколько локальностей (субпопуляций). На юге Приморского края исследованы 15 локальностей (или субпопуляций) кирказона. Шесть из них приурочены к бассейну р. Раздольная (окрестности сел Фадеевка, Ново–Георгиевка, Константиновка, Чернятино, Борисовка и Тереховка), три – в долине р. Шкотовка, две – в пойме р. Петровка, две – на юге Хасанского р–на, одна – в долине р. Суходол, одна – в долине левого притока р. Артёмовка. На основе собственных исследований, а также литературных данных и гербарных материалов (LE, VLA) показано распространение *A. contorta* в Приморском крае (рисунок 19). Детальное описание популяций приведено ранее (Наконечная и др., 2010).

Из обследованных популяций наиболее благополучная – в долине р. Раздольная (с. Ново–Георгиевка, Октябрьский р–н), где найдено больше всего плодоносящих растений *A. contorta* (около 300 лиан, из них 10% в репродуктивном состоянии). Самой угнетённой с наименьшей численностью (30 растений) является популяция кирказона в долине р. Петровка; здесь же отмечено и наименьшее количество сопутствующих видов (20 видов). Очевидно, что строгая приуроченность *A. contorta* к определённым экологическим и фитоценотическим условиям свидетельствует о невозможности его сохранения в Приморском крае без охраны местообитаний.

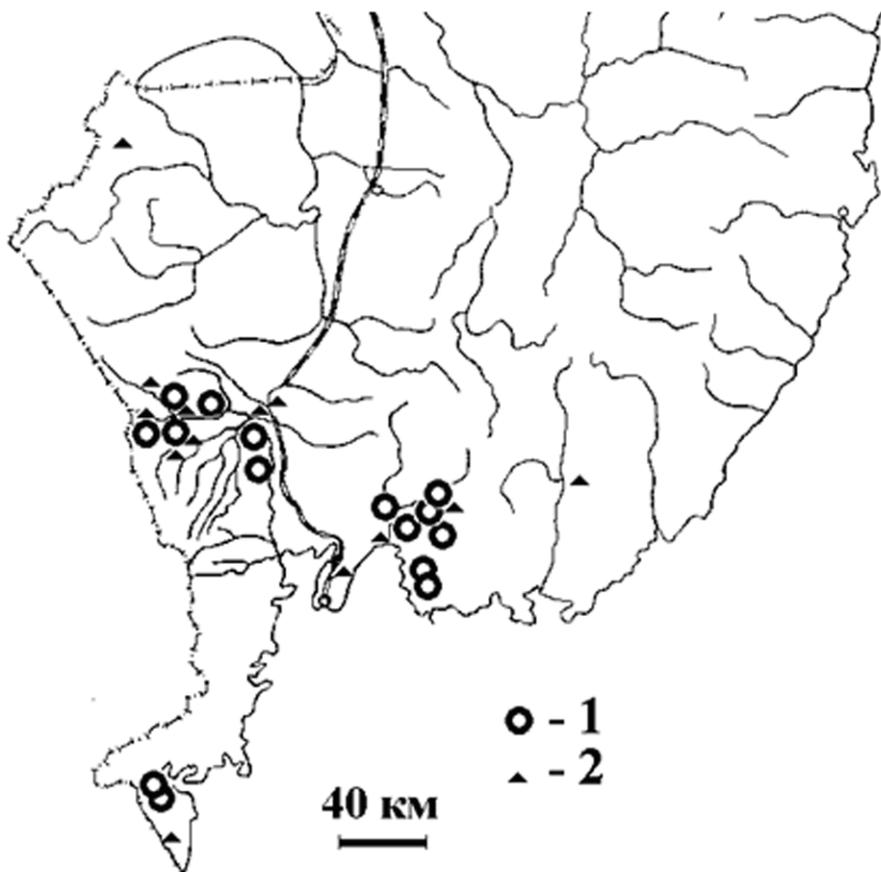


Рис. 19. Распространение *Aristolochia contorta* в Приморском крае.

1 – обследованные локальности; 2 – пункты регистрации вида, известные по литературным данным и гербарным образцам.

2.5. МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ

Литературные данные о строении репродуктивных органов представителей сем. Aristolochiaceae немногочисленны (Leemann, 1927; Raymond, Wyatt, 1955; Nair, Narayanan, 1962; Leins, Erbar, 1985). Для ряда видов рода *Aristolochia* исследовано только строение семязачатка (Jacobsson–Stiasny, 1918; Huber, 1985; González, Rudall, 2003). Для *Aristolochia manshuriensis* и *A. contorta* описание строения репродуктивных органов отсутствует. Поэтому мы приводим его ниже. Особенности морфологического строения

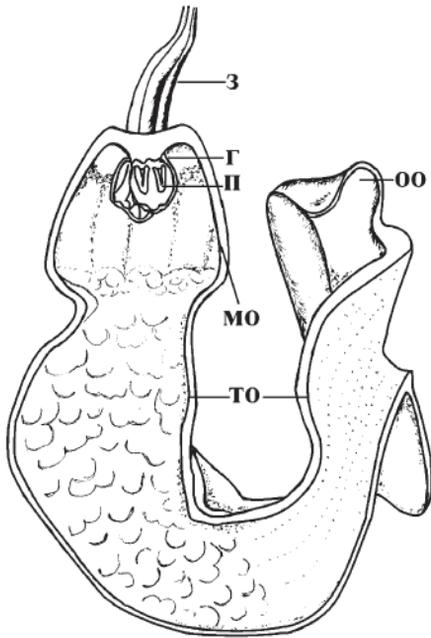
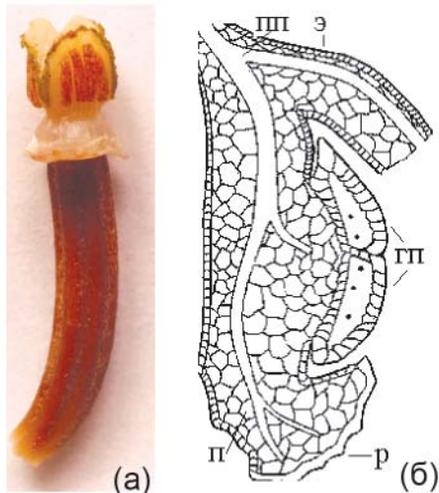


Рис. 20. Схема строения цветка *Aristolochia manshuriensis*:

г – гинецей, з – завязь, мо – мешочек околоцветника, оо – отгиб околоцветника, п – пыльник, то – трубка околоцветника.



гинецея (женских репродуктивных органов) и андроцея (мужских репродуктивных органов) *A. manshuriensis* показаны на рисунке 20.

Строение гинецея. Рыльце *Aristolochia manshuriensis* трёхлопастное (рисунок 21, а). Эпидерма рыльца представлена мелкими кубическими клетками, плотно прижатыми друг к другу. Ниже лежит слой небольших паренхимных клеток, далее вглубь находятся более крупные клетки. На поперечном срезе видно, что доли рыльца оттянуты книзу и заострены, закрывают находящиеся под ними пыльники (рисунок 21, б). На концах рыльца располагаются крупные слизеобразующие клетки цилиндрической формы. Они, вероятно, задерживают пыльцу и направляют ее рост.

Интересно отметить, что трёхлопастное рыльце встречается у представителей рода довольно редко (например, у *Aristolochia reticulata* Jacq., *A. serpentaria* L., *A. tricaudata* Lemaire и др.). Из найденных в литературе 60 описаний видов рода 14 имеют трёхлопастное рыльце, остальные – шестилопастное (Pfeifer, 1966). Столбик *A. manshuriensis* открытый, образован стилодиями 6

Рис. 21. Строение гинецея и андроцея *Aristolochia manshuriensis*:

(а) – внешний вид (фото А.С. Голубева); (б) – схема продольного строения рыльца и столбика. гп – гнезда пыльника, п – паренхима, пп – проводящие пучки, р – рыльце, э – эпидерма.

плодолистиков. Канал столбика выстлан стигматоидными клетками. Проводящие пучки столбика – коллатеральные открытые, расположены по два в каждом из стилодий, проходят вдоль столбика и сильно ветвятся в складках рыльца. В средней части столбика проводящие пучки ответвляют дополнительные пучки к пыльникам и редуцированным связникам (рисунок 21, б).

Происхождение столбика и рыльца у кирказонов вызывает споры. В соответствии с мнением Дж. Виллиса (Willis, 1955), настоящее рыльце у представителей сем. Aristolochiaceae отсутствует, а роль рыльца принимают на себя связники тычинок (Johri, Bhatnagar, 1955; Nair, Narayanan, 1962). Наряду с этим существует другое мнение (Van Tieghem, 1884), что и столбик, и рыльце у кирказонов есть, но недоразвиты, а утолщения связников пыльников, сросшиеся боковыми частями в трубку, становятся частью столбика и рыльца. П. Леинз и К. Эрбан (Leins, Erbar, 1985) показали два типа образования рыльца у разных представителей сем. Aristolochiaceae: 1) полная редукция концов плодолистиков и формирование рыльца как вторичной структуры связников у *Aristolochia gigantea* Mart. et Zucc., или 2) частичная редукция верхних частей плодолистиков, которые все же образуют рыльца на дорзальной стороне гиностемия у *A. clematitis*. У *A. manshuriensis* редуцированных концов плодолистиков не наблюдали (Наконечная и др., 2006). Представляется, что у этого вида, как и у *A. clematitis*, рыльце представлено верхней частью боковых поверхностей соседних плодолистиков, а связники редуцированы, однако, для окончательных выводов необходимо дальнейшее изучение закладки и развития всех структур, составляющих гиностемий, в онтогенезе.

Стилодии плодолистиков, глубоко срастаясь боковыми поверхностями друг с другом, образуют 6-гнездную синкарпную завязь. Такой тип завязи характерен для рода *Aristolochia* (Johri, Bhatnagar, 1955; Nair, Narayanan, 1962; Pfeifer, 1966; Тахтаджян, 1987). По расположению завязь нижняя, по форме цилиндрическая (рисунки 20 и 21) с голыми ребрами и опушёнными бороздами. Эпидерма завязи представлена крупными низкопризматическими, плотно прижатыми друг к другу клетками. С внешней стороны стенка значительно утолщена, что придает ей жёсткость.

В эпидерме находятся трихомы двух типов – крупные и мелкие. Крупные трихомы – простые неразветвленные, состоящие из 4–5 клеток. Апикальная клетка сильно вытянута, заострена на конце и иногда загнута книзу. Мелкие трихомы – простые неразветвленные, делятся на два вида: волоски, заканчивающиеся вытянутой заострённой клеткой, и волоски с булавовидным расширением апикальной клетки. Вероятно, это железистые клетки.

У *A. manshuriensis* в завязи обнаружены по три проводящих пучка в дорзальной части каждого плодолистика и небольшие проводящие тяжи в вен-

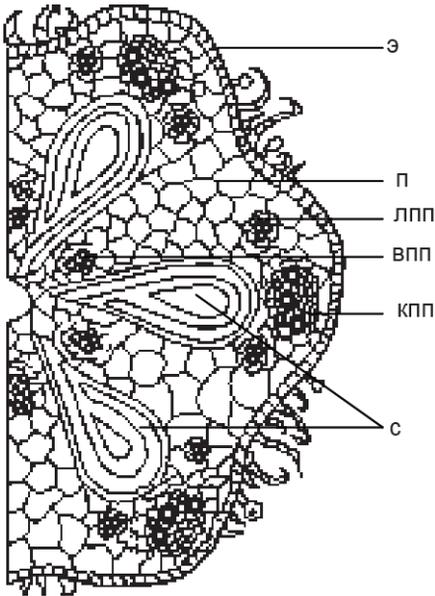


Рис. 22. Схема строения завязи *Aristolochia manshuriensis* (поперечный срез):

впп – вентральный проводящий пучок, кпп – крупный проводящий пучок, лпп – латеральный проводящий пучок, п – паренхима, с – семязачатки, э – эпидерма.

тральной части на границе срастания плодолистиков (рисунок 22). Дорзальные проводящие пучки различаются по строению и количеству составляющих элементов. Крупные проводящие пучки коллатеральные открытые. На поперечном срезе видно, что проводящий пучок составляют 5–7 клеток ксилемы, флоэма представлена многогранными некрупными клетками. Более мелкие проводящие пучки, расположенные с двух сторон от крупного, по строению коллатеральные закрытые, на поперечных срезах представлены 2–3 элементами ксилемы и 5–7 клетками флоэмы. Подобное расположение проводящих пучков наблюдается у *A. clematitis*, *A. bracteteata* Lam. и *A. indica* L. (Nair, Narayanan, 1962). Вентральные пучки *A. manshuriensis* небольшие по размеру, по строению коллатеральные закрытые, их составляют 4–5 элементов ксилемы и 6–9 клеток флоэмы.

В плодолистике хорошо представлена паренхимная ткань (рисунок 22). Она рыхлая, состоит из разных по размеру клеток. Мелкие клетки лежат в 2–3 плотных слоях под эпидермой и в области борозд на границе срастания плодолистиков. Основную часть паренхимной ткани составляют очень крупные клетки с мелкими веретеновидными вытянутыми ядрами. Внутренняя эпидерма представлена низкопризматическими клетками.

Многочисленные семязачатки расположены во внутренней полости вдоль швов плодолистиков. Поскольку семязачатки соединяются с тканями завязи в центральной ее части по краям плодолистиков, то это позволяет говорить о центрально-угловой плацентации. Известно (Эсау, 1969), что при синкарпном типе гинецея семязачатки закладываются с обеих сторон каждого плодолистика, друг против друга. На поперечных срезах завязи *A. manshuriensis* семязачатки находятся только с одной стороны плодолистика. При этом наблюдается разнонаправленность их расположения. Возможно, имеет место редукция противоположащего семязачатка в процессе онтогенеза. Для уточнения этого предположения необходимы дальнейшие

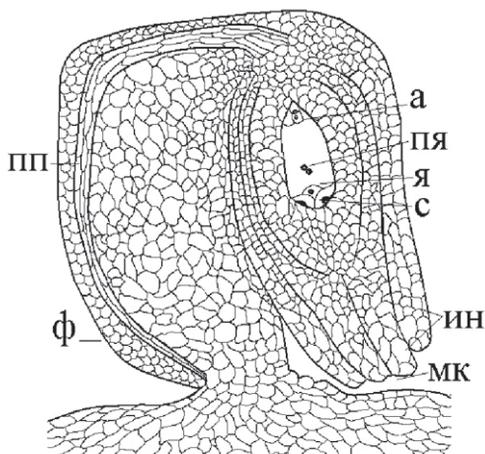


Рис. 23. Схема строения семязачатка *Aristolochia manshuriensis*:

а – антиподы, ин – интегументы, мк – микропиле, пп – проводящий пучок, пя – полярные ядра, с – синергиды, ф – фуникулюс, я – яйцеклетка.

исследования ранних стадий формирования завязи.

Семязачатки анатропные, битегмальные, с хорошо развитыми фуникулюсами (рисунок 23). Наружный интегумент представлен обычно двумя слоями низко-

призматических клеток. Внутренний интегумент образован тремя слоями призматических клеток. Подобное строение интегументов наблюдается у *A. bracteata*, *A. elegans*, *A. macrophylla*, *A. siphо* и *A. clematitis* (Терехин, 1981). В семязачатке хорошо развиты две зоны, в микропилярной дифференцируется париетальная ткань, в халазальной зоне – массивный проводящий тяж из удлинённых клеток. Семязачаток крассинуцелятного типа. Нуцеллус состоит из различных по форме клеток. Эпидерма представлена высокопризматическими клетками. В сформированном зародышевом мешке три слегка вытянутые антиподы расположены в халазальной части, в микропилярной части находятся две небольшие по размеру клетки грушевидной формы – синергиды и яйцеклетка. Зародышевый мешок *Polygonum*-типа.

Строение андроеца. Пыльники биспорангиатные, по всей длине прирастают к рыльцу и столбику, с образованием гиностемия (рисунки 20 и 21). Гнёзда пыльника снабжены одним проводящим пучком, который отходит перпендикулярно от центрального проводящего пучка плодолистика. Эпидерма пыльника представлена одним рядом крупных высокопризматических клеток. Связник сливается со столбиком, эта структура состоит из многоугольных клеток губчатой паренхимы. С внутренней стороны зрелый пыльник выстилают остатки клеток тапетума.

Пыльца. Пыльца *A. manshuriensis* округлой формы с утолщённой оболочкой, без борозд и поверхностных выростов. Экваториальный диаметр 27.1 мкм. В пыльниках одного цветка находится от 10 000 до 14 000 пыльцевых зёрен. Степень дефектности пыльцы у кирказона маньчжурского составила 3% от общего числа пыльцевых зёрен. По мнению некоторых авторов, в норме степень дефектности пыльцы у растения не должна превышать

11%, повышение показателя дефектности больше этого значения указывает на снижение работы андроеца (Куприянов, Жолобова, 1975; Хохлов, 1978). Поскольку фертильность пыльцевых зёрен составила 97%, следовательно, можно говорить о хорошей продукции и нормальном функционировании андроеца в условиях интродукции.

Особенности морфологического строения гинецея и андроеца *A. contorta* представлены на рисунках 16, 24 и 25.

Характеристика гинецея (рисунки 16 и 24). Гинецей у кирказона скрученного по форме цилиндрический ребристый покрыт эпидермисом с анамоцитными устьицами, немногочисленными короткими волосками. Они одно–двух клеточные с заострённой верхней клеткой. В дорзальной части каждого плодолистика находятся три проводящих пучка (один крупный и два более мелких) и небольшие тяжи в вентральной части на границе срастания плодолистиков (рисунок 25). Крупные дорзальные пучки коллатеральные открытые. На поперечном срезе их составляют 2–3 крупных и 3–5 мелких клеток ксилемы. Мелкие дорзальные пучки завязи сильно редуцированы и на поперечном срезе представлены одной клеткой ксилемы, окружённой мелкими ситовидными клетками флоэмы, располагаются латерально от крупных. В каждом плодолистике находятся два вентральных пучка. Коллатеральные закрытые пучки соседних плодолистиков не срастаются, но лежат рядом друг с другом. Они представлены одной–двумя клетками ксилемы и несколькими ситовидными клетками флоэмы. В плодолистике хорошо представлена паренхимная ткань. Паренхима губчатая, рыхлая.

Кирказон скрученный имеет шестилопастное с волнообразными складками рыльце (рисунок 24), такое же, как и у *Aristolochia tonduzii* O.C. Schmidt, *A. elegans* Mast., *A. grandiflora* Sw. (González, 1990), *A. bilobata* L., *A. lindeniana* Duch., *A. peltata* L., *A. leptosticta* Urb., *A. pilosa* Kunth и др. (Pfeifer, 1966).

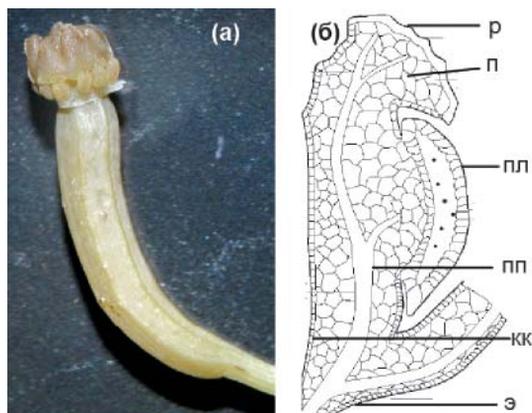
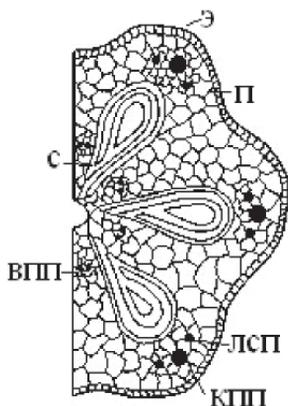


Рис. 24. Строение гинецея и андроеца *Aristolochia contorta*: (а) – внешний вид (фото О.В. Наконечной); (б) – схема продольного строения рыльца и столбика.

кк – каналцевые клетки, п – паренхима, пл – пыльник, пп – проводящие пучки, р – рыльце, э – эпидерма.

Рис. 25. Схема строения завязи *Aristolochia contorta*:

впп – вентральный проводящий пучок, кпп – крупный проводящий пучок, лпп – латеральный проводящий пучок, п – паренхима, с – семязачаток, э – эпидерма.

Столбик открытый. На поверхности рыльца находятся секреторные клетки, под ними два–три слоя паренхимных клеток. В каждом из стилодий плодолистиков находятся два проводящих пучка, которые ответвляются от радиальной проводящей системы, расположенной в основании пестика. В рыльце центральные пучки каждой из сторон разветвляются на более мелкие пучки, питающие поверхностные клетки рыльца. Проводящие пучки коллатеральные открытые.

На концевых верхних участках рыльца располагаются крупные слизистые клетки. Вся поверхность внутри бутона над рыльцем и около пыльников покрыта короткими трихомами.

Расположение семязачатков сутуральное (краевое). Плацентация семязачатков угловая. Семязачаток анатропный, крассинущелютный, битегмальный. Микропиле длинное, образовано только внутренним интегументом.

Проводящий пучок семязачатка, являясь продолжением центрального проводящего пучка завязи, заканчивается непосредственно под мезохалазой и нуцеллусом. Эпидермис нуцеллуса на ранних этапах развития содержит сначала только один ряд клеток, но при следующих клеточных делениях становится многослойным. Сформированный нуцеллус массивный. В нуцеллусе хорошо представлены две зоны: халазальная и микропилярная. Халазальная зона заполнена мелкими париетальными клетками с большими ядрами, к моменту формирования четырёхклеточного зародышевого мешка количество слоев уже не определяется из-за хаотичного деления этих клеток; микропилярная зона состоит из более вытянутых клеток с довольно крупными вакуолями и центрально расположенными ядрами, эти клетки делятся периклинально. Ко времени формирования зародышевого мешка в халазальной зоне выделяется несколько более крупных клеток.

Характеристика андрогцея. У *A. contorta* шесть пыльников по всей длине прирастают к пестику (рисунки 16 и 24). Тычиночные нити отсутствуют. Пыльник двухгнёздный. Эндотеций составляют крупные высокопризматические клетки, расположенные в один ряд. Связник представлен крупными клетками паренхимы. Губчатая паренхима связника сливается с клетками паренхимы пестика. С внутренней стороны зрелый пыльник выстилают

остатки клеток тапетума. Пыльцевые гнёзда пыльника питаются одним проводящим пучком, который отходит перпендикулярно от центрального проводящего пучка в центре завязи. По всей вероятности, ответвившийся к пыльникам проводящий пучок дополнительно разветвляется. Таким образом, проводящие элементы достигают каждого пыльника отдельно.

Aristolochia manshuriensis и *A. contorta* в строении репродуктивных органов имеют ряд общих черт с другими представителями рода и семейства. Так, все изученные виды сем. Aristolochiaceae имеют анатропный, битегмальный, крассинуцелятный семязачаток (Поддубная–Арнольди, 1964; Тахтаджян, 1987; Jacobsson–Stiasny, 1918; Johri, Bhatnagar, 1955; Raymond, Wyatt, 1955; Nair, Narayanan, 1962; González, Rudall, 2003). Внешний интегумент семязачатков двуслойный, внутренний трёхслойный (Терехин, 1981; Тахтаджян, 1987; Johri, Bhatnagar, 1955; Raymond, Wyatt, 1955; González, Rudall, 2003). Наличие гиностемия, отмеченное для *A. manshuriensis* и *A. contorta*, также выявлено у других изученных представителей этого семейства (Johri, Bhatnagar, 1955; Nair, Narayanan, 1962; Pfeifer, 1966). Ф. Гонзалез и П. Рудалл (González, Rudall, 2003) считают, что эти признаки характерны для представителей порядка Piperales и сем. Aristolochiaceae. Также отмечены сходные черты в строении фуникулюса *A. manshuriensis* с приведенным ранее описанием этой структуры у *A. bracteata* (Johri, Bhatnagar, 1955). Расположение проводящих пучков *A. manshuriensis* и *A. contorta* аналогично с таковыми у *A. clematitis*, *A. bracteata* и *A. indica* (Nair, Narayanan, 1962). Однако, при более детальном анализе можно заметить, что проводящая система *A. contorta* развита в меньшей степени, по сравнению с *A. manshuriensis*. Так, дорзальные пучки кирказона скрученного представлены меньшим количеством проводящих элементов, а боковые дорзальные пучки редуцированы до одной клетки ксилемы, в то время как у кирказона маньчжурского они представлены тремя клетками. Некоторые различия наблюдаются и при сравнении вентральных проводящих пучков. Так, у *A. contorta* в каждом плодолистике по два пучка, в то время как у *A. manshuriensis* пучок только один, но более крупный. Наличие двух пучков оправдано строением завязи.

Для *A. manshuriensis* и *A. contorta* выявлено строение зародышевого мешка, характерное для других изученных представителей рода (Терехин, 1981; Jacobsson–Stiasny, 1918; Johri, Bhatnagar, 1955; González, Rudall, 2003). Морфологическое строение пыльника *A. manshuriensis* такое же, как и у изученных представителей сем. Aristolochiaceae (Терехин, 1981).

Выявленная фертильность пыльцевых зёрен кирказона маньчжурского и большое их количество в пыльниках свидетельствует о благополуч-

ном функционировании андроеца. Нормальное строение репродуктивных органов показывает, что анатомические ограничения для семенной продукции отсутствуют.

2.6. Биология цветения, опыление, плодобразование и распространение семян

Aristolochia manshuriensis

Динамика цветения. В условиях интродукции первые цветки *A. manshuriensis* появляются в конце апреля (25–30), массовое цветение происходит в период с 10 по 20 мая, а к 5 июня остаются лишь единичные цветки; в природных популяциях цветение заканчивалось ко второй декаде июня. От года к году возможны смещения сроков цветения. Так Л.Н. Слизик (1977) отмечает начало цветения в условиях интродукции 10–20 мая, массовое 29 мая – 15 июня.

У данного вида закладывается большое количество бутонов, но развиваются и раскрываются около 50%. Увеличение размеров околоцветника в течение первой недели незначительно, но в течение второй недели скорость роста околоцветника и завязи резко увеличивается. Развитие бутона до открытия цветка проходит в течение 20 дней.

Цветки *A. manshuriensis* раскрываются только в дневное время суток (рисунок 26), с 20.00 до 6.00 цветки не раскрываются. Наиболее интенсивное цветение происходит в первой половине дня. Обычно цветок раскрывается в течение нескольких минут, но иногда этот процесс затягивается на часы и даже дни (до двух суток). Раскрытие околоцветника начинается с появления щели между двумя лопастями (рисунок 27), которая расширяется и увеличивается в длину от края к центру околоцветника, одновременно с

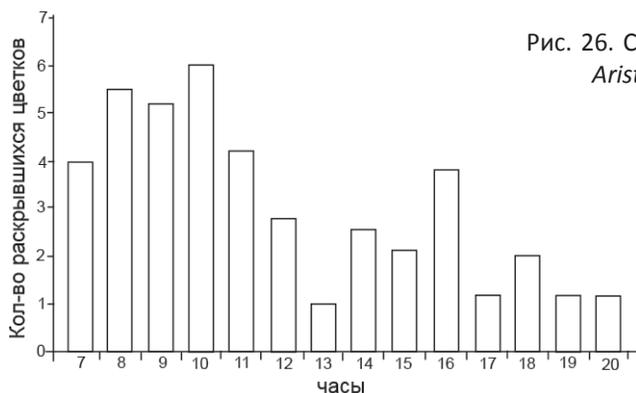


Рис. 26. Суточная ритмика цветения *Aristolochia manshuriensis*.

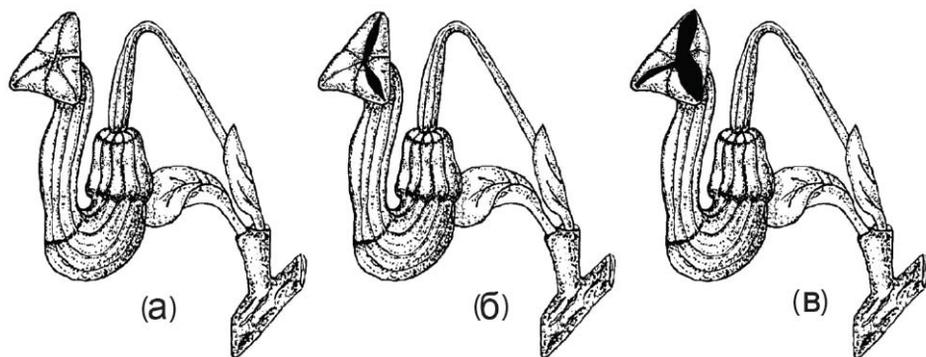


Рис. 27. Схема раскрытия венчиковидного околоцветника *Aristolochia manshuriensis*.

этим появляется вторая щель. Когда щели соединяются, лопасть отгибается (рисунок 27, б). С образованием третьей щели отгибаются вторая и третья лопасти (рисунок 27, в), и околоцветник полностью открывается. Иногда щели образуются, но лопасти не отгибаются, так как остаются соединенными в центре, и околоцветник в таком состоянии увядает. В такие цветки насекомые не могут проникнуть, и плод не завязывается.

Цветки *A. manshuriensis* протогиничны, то есть рыльце готово к восприятию пыльцы еще до того, как раскроются пыльники. Секрет на рыльце появляется за неделю до раскрытия венчика. Впоследствии его количество увеличивается. К моменту отгибания лопастей околоцветника пыльники плотно сомкнуты. Пыльники обычно раскрываются на 2–3 день после раскрытия бутона, в это время рыльца еще остаются восприимчивыми. К этому моменту зародышевый мешок полностью сформирован.

Цветки кирказона маньчжурского увядают лишь на 3–5 день после окончания тычиночной фазы. В это время лопасти рыльца смыкаются, закрывая вход в канал столбика. При увядании венчик слегка бледнеет, и, становясь дряблым, опадает вместе с гиностемием. Таким образом, продолжительность жизни одного цветка от момента раскрытия до опадания составляет 7–9 дней в зависимости от погодных и температурных условий (при низких температурах – 8–9 °С, – цветки живут дольше). Если не произошло опыление, завязь сморщивается, загибается назад и опадает.

Опыты по опылению. Отмеченные некоторые особенности строения цветка кирказона маньчжурского, а именно: изогнутость трубки околоцветника, его окраска, запах, «ловушкоподобный» механизм, протогиния, – предполагают строгую специализацию цветка к перекрёстному опылению с помощью цветочных мух. Более того, наличие у цветка такой структуры,

Таблица 1.

Соотношение числа пыльцевых зёрен и семязачатков в цветках растений с разными системами размножения* и у *Aristolochia manshuriensis*

Способы опыления	Количество изученных видов	Соотношение пыльца/ яйцеклетка
Клейстогамия	6	4.7
Облигатная автогамия	7	27.7
Факультативная автогамия	20	168.5
Факультативный ауткроссинг	38	796.6
Облигатный ауткроссинг	25	5859.2
<i>A. manshuriensis</i>	1	110

Примечание. * – данные приведены по Р. Круден (Cruden, 1977).

как гиностемий (Наконечная и др., 2006), теоретически сводит к минимуму вероятность самоопыления. В то же время, в ходе наблюдений отмечено завязывание плодов при свободном скрещивании на лиане, произрастающей в частной коллекции одиночно, при отсутствии других особей *A. manshuriensis* в радиусе более 400 м. Этот факт указывает на возможность самоопыления (гейтоногамии или автогамии) у данного вида, поскольку для насекомых, участвующих в опылении кирказона, это расстояние, скорее всего, трудно преодолимо.

На вероятность самоопыления также косвенно указывает соотношение числа семязачатков и количества пыльцевых зёрен в пыльниках. Р. Круден (Cruden, 1977), изучив 96 видов растений, выделил 5 классов по типу опыления, каждый из которых характеризуется определённым соотношением. У кирказона маньчжурского этот показатель составляет 110, занимая, в соответствии с данными Р. Крудена, промежуточное положение между видами с облигатной и факультативной автогамией (таблица 1) (Наконечная и др., 2008). По литературным данным, в роде *Aristolochia* встречаются как самосовместимые, так и самонесовместимые виды. Самоопыление цветков отмечено у *A. littoralis* D. Parodi (Petch, 1924), *A. barbata* Jacq., *A. brasiliensis* Mart. (Burck, 1890, 1892), *A. bracteolata* Lam. (Razzak et al., 1992) и *A. inflata* Kunth (Sakai, 2002). Клейстогамия выявлена у *A. serpentaria* (Pfeifer, 1966). Предполагается, что на границах ареала некоторые перекрестно-опыляемые виды могут адаптироваться к недостатку опылителей, переходя на самоопыление как резервный репродуктивный механизм (Elle, Carney, 2003). Наблюдаемое нами завязывание плодов на одиночной лиане кирказона маньчжурского при отсутствии перекрестного опыления также может быть

следствием его адаптации к неблагоприятным условиям и недостатку необходимых опылителей, поскольку в Приморском крае кирказон маньчжурский достигает северо-восточной границы ареала.

Для изучения системы скрещивания были проведены опыты по принудительному перекрёстному опылению и самоопылению цветков *A. manshuriensis*. Также проводили изоляцию цветков на стадии готовых к раскрытию бутонов. Во всех вариантах опыта не завязалось ни одного плода – ни в изоляторах, ни в опыленных вручную цветках. При свободном опылении плоды завязывались регулярно.

Отсутствие завязывания плодов в проведённых опытах по принудительному перекрёстному опылению не может свидетельствовать о невозможности перекрёстного опыления у кирказона, поскольку отсутствие плодообразования отмечалось во всех опытах по принудительному опылению. Причиной неудачного опыления может быть механическое повреждение околоцветника при нанесении пыльцы на рыльце пестика, поскольку проникнуть внутрь, не повредив U-образно изогнутый околоцветник, невозможно. Вероятно, травмирование венчиковидного околоцветника и, как следствие, нарушение внутренней среды цветка, является губительным для восприятия пыльцы и прорастания пыльцевых зёрен на поверхности рыльца. В то же время, в тестах по изоляции бутонов, где цветки травмированы не были, плоды также не завязались, хотя в контроле они завязывались регулярно. Это может быть связано только с тем, что у *A. manshuriensis* случайное попадание пыльцы на рыльце пестика без переносчика пыльцы затруднено или ничтожно мало, так что этого количества пыльцы недостаточно для оплодотворения. Цветок кирказона маньчжурского достаточно крупный, гиностемий обращен лопастями рыльца вниз (рисунок 20), поэтому высыпающаяся из раскрытых пыльников пыльца часто остается на стенках мешочка, и лишь ее малая часть может попасть на рыльце пестика. Для перенесения пыльцы на рыльце в данном случае необходимы опылители.

Опылители. По нашим наблюдениям (Наконечная и др., 2008), наибольшая активность насекомых, посещающих цветки кирказона, приходится на тёплую солнечную погоду, в период с 11 до 17 часов. В пасмурную и холодную погоду насекомые не посещают цветки.

Наиболее массовыми семействами насекомых, посещающих цветки *A. manshuriensis*, были Anthomyiidae (51%) и Chloropidae (17%) (Diptera) (таблица 2). Представители семейства Anthomyiidae принадлежат к 9 родам и 10 видам: *Adia cinerella* (Fallén), *Anthomyia avisignata* Suwa, *Botanophila striolata* (Fallén), *Egle ciliata* (Fallén), *Delia linearis* (Stein), *D. tenuiformis* Suwa, *Paregle audacula* (Harris), *Pegomya geniculata* (Bouche), *Pegoplata virginea*

Таблица 2.

Общее количество насекомых, собранных на цветках *Aristolochia manshuriensis*

Таксон (отряд/ семейство)	2002 г.	2003 г.	2005 г.	Итого
Diptera	16	78	41	135
Sciaridae	–	1	–	1
Phoridae	–	2	–	2
Syrphidae	–	1	–	1
Lonchaeidae	–	9	–	9
Lauhaniidae	–	1	–	1
Sepsidae	–	1	–	1
Chloropidae	1	24	–	25
Drosophilid	–	5	–	5
Anthomyiida	12	20	41	73
Muscidae	–	11	–	11
Calliphorida	–	1	–	1
Sarcophagid	1	1	–	2
Tachinidae	2	1	–	3
Hymenoptera	0	1	0	1
Braconidae	–	1	–	1
Coleoptera	0	0	2	2
Lathridiidae	–	–	2	2
Итого	16	79	43	138

Примечание. "–" – насекомых не обнаружено.

(Meigen), *Zaphne ambigua* (Fallén). Самцы составляют 65% от всех собранных образцов. Среди хлоропид (Chloropidae) отмечены 2 вида рода *Elachiptera* Macquart (*E. tuberculifera* Corti и *E. sibirica* Loew). Здесь также преобладали самцы. Как видно из приведенного списка, круг потенциальных опылителей достаточно широк.

Отмечено, что опылители, попадая в цветок, находятся в нем на протяжении нескольких часов. Заползая в цветок, муха не всегда может быстро из него выбраться. Ранее существовало мнение (Воробьев, 1968), что мухи-опылители не могут покинуть цветок сразу. Возможность высвободиться из «ловушки» находящихся на внутренней поверхности венчика волосков появляется только тогда, когда произойдет опыление, и волоски увянут. Наши наблюдения показали, что это не всегда так. Околоцветник имеет достаточно крупные размеры трубки, а некоторые посетители цветков небольшие. Представители семейств насекомых Chloropidae и Sepsidae свободно залетают вглубь цветка и беспрепятственно покидают его в течение дня. Однако, волоски действительно удерживают более крупных представителей, напри-



Рис. 28. Опылители *Aristolochia manshuriensis*:

(а) – *Pegoplata* sp. (Anthomyiidae), (б) – *Scaptomyza pallida* (Drosophilidae).

мер, *Pegoplata* sp. (рисунок 28). Ранее Д.П. Воробьев (1968) и А.Г. Головач (1973) отметили факт удержания насекомых волосками цветка до момента опыления, но систематической принадлежности этих мух авторы не привели.

Н. Брандчез (Brantjes, 1980) обнаружил у видов *Aristolochia esperanzae* Kuntze, *A. cymbifera* Mart. и *A. brasiliensis* корреляцию между размерами цветка и высотой торакса основного опылителя. У кирказона маньчжурского можно наблюдать такое соответствие только для *Pegoplata* sp. Небольшие размеры представителей семейств Sepsidae, Chloropidae и Drosophilidae позволяют им свободно попадать внутрь и покидать цветки вне зависимости от фазы цветения.

Можно предположить, что основные опылители должны переносить большое количество пыльцевых зёрен и перелетать на значительные расстояния, чтобы осуществить перекрёстное опыление цветков кирказона маньчжурского. *Scaptomyza* sp. используют цветки для размножения, но данный вид не может быть опылителем, поскольку муха не способна переносить более 10–15 пыльцевых зёрен. Мелкие двукрылые Chloropidae, вероятно, не являются основными опылителями этого растения. Несмотря на возможность многократного свободного проникновения внутрь цветка, небольшие размеры тела и особенности хетотаксии не позволяют мелким двукрылым переносить более 10 зёрен пыльцы из цветка в цветок. В то время как для успешного опыления, например, *A. maxima* Jacq. необходимо более 100 зёрен пыльцы (Sakai, 2002). Более значительной представляется роль крупных двукрылых (Anthomyiidae, Calliphoridae, Tachinidae и др.). Единственный визит опылителя такого размера с конспецифичного растения может быть более успешным в плане опыления, чем несколько посещений мелких насекомых. Перепончатокрылые и жуки тоже могут играть роль в опылении, но она незначительна.

Мухи, способствуя перекрёстному опылению, переносят генетический материал (пыльцевые зерна) на определённое расстояние. Хотя дальность полета антомиид, основных опылителей кирказона, специально не изучалась, по-видимому, представителям семейства не свойственны большие расстояния перелета. Об этом можно судить по данным пространственного распределения других насекомых из той же группы калиптратных двукрылых – сем. Calliphoridae. Так, К. Смит и Р. Уолл (Smith, Wall, 1998) выяснили, что среднее расстояние, на которое расселяются эти двукрылые, составляет 135 ± 26 м за сутки, а с учетом продолжительности жизни и погодных факторов максимальное расстояние, пролетаемое этими насекомыми за поколение, составляет менее 800 м.

Интересно отметить, что более половины собранных в цветках *A. manshuriensis* насекомых составляют самцы. Подобный факт ранее отмечен для *A. littoralis*. Из 334 особей *Megaselia* spp., посещающих цветки этого вида, 96% составили самцы (Hall, Brown, 1993). С другой стороны, в цветках *A. pilosa*, *A. macrophylla* и *A. labiata* отмечены только самки (Carr, 1924; Name, Costa, 1985; Wolda, Sabrosky, 1986). Самки откладывают яйца в мешочке околоцветника, где впоследствии будет происходить развитие личинок. Подобный факт откладывания яиц особями *Scaptomyza pallida* (Zett.) (Drosophilidae) был отмечен нами и для кирказона маньчжурского. Личинки *S. pallida* развиваются на внутренней поверхности околоцветника в течение недели, т.е. свежереотрожденные мухи успевают развиться до опадения околоцветника и покидают цветок, испачкавшись пыльцевыми зёрнами. Иногда мухи не успевают развиться до момента отделения околоцветника от завязи, окончательное развитие проходит в перегнивающих тканях на поверхности земли. Подобным образом происходит развитие двух видов *Elachiptera* (Chloropidae).

Что же влечет самцов двукрылых в цветки кирказона маньчжурского? Важную роль в привлекательности цветка для насекомых может играть запах. Так, в составе аромата цветков *A. littoralis* присутствуют вещества, сходные с феромонами самок *Megaselia* spp., что и заставляет самцов посещать цветки этого вида кирказона в поисках партнерши (Hall, Brown, 1993). Однако, основным фактором, привлекающим двукрылых в цветки *A. manshuriensis*, вероятно, является пыльца, поскольку все основные опылители кирказона – широкие полифаги, для которых полинофагия – один из важных способов питания. Попадая в цветок, насекомые оказываются в своеобразной ловушке и вынуждены участвовать в процессе опыления.

Можно заключить, что именно представители сем. Anthomyiidae являются основными опылителями *A. manshuriensis*, поскольку именно они



Рис. 29. Плод *Aristolochia manshuriensis*: (а) – схема плода и семени, (б) – незрелый плод, (в) – растрескавшийся плод (фото О.В. Наконечной).

обладают щетинками и определёнными размерами тела, коррелирующими с диаметром околоцветника. Представители остальных семейств двукрылых, найденные в цветках кирказона маньчжурского, вносят меньший вклад в опыление.

Плодообразование. Завязывание плодов *A. manshuriensis* в 2003–2005 гг. отмечено уже в начале июня, полное созревание – в I–II декаде октября (Наконечная и др., 2005). Плод кирказона маньчжурского – шестигранная, более или менее цилиндрическая, коробочка (рисунок 29), до 11 см дл. и до 2.5 см в поперечнике, длина плодоножки 5–6 см. Такие крупные размеры характерны для 14 из 21 вида рода кирказон, произрастающих в Колумбии (González, 1990) и 11 из 30 видов, у которых описаны плоды, в Китае (Hwang et al., 2003), например, *A. maxima*, *A. trianae* Duch. (Gonzales, 1990), *A. griffithii* Hook. f. et Thomson ex Duch., *A. kwangsiensis* W.Y. Chun et F.C. Liang (Hwang et al., 2003) и другие.

Формирование плодов кирказона маньчжурского начинается с конца мая – середины июня. В этот период они светло-зелёные, но при созревании, в середине октября, приобретают тёмно-коричневую окраску. Сухие плоды растрескиваются от вершины к основанию (снизу-вверх – септицид-

но-сутурально) продольными трещинами на шесть створок с кожистыми серовато-белыми перегородками. Коробочка разделяется на шесть гнёзд, в каждой из которых плотно слоями упаковано от 15 до 23 семян (всего в плоде насчитывается 104.98 ± 34.92 семян). В октябре – ноябре семена частично или полностью высыпаются из коробочки, но иногда они сохраняются в ее основании до следующего года. Коробочка распадается на 6 лентовидных створок прикрепленных к плодоножке (рисунок 29). Как отмечает С.В. Нестерова (1993), в урожайный год на лиане может быть сформировано до 200 коробочек, в которых созревают в целом около 20 тыс. семян.

Семена плоские, почти треугольные, сердцевидно-закруглённые, 9.24 ± 0.13 мм длиной, 9.44 ± 0.26 мм шириной; серой, коричневой или серовато-бурой окраски. На верхней стороне несколько выпуклые, с рыхлым и шероховатым налетом, беловатого или серо-жёлтоватого цвета, на нижней – слегка вогнутые, более или менее гладкие, с тупыми краями, приподнятыми в виде бортиков, и похожие на уплощенное «сердечко». Масса 1000 семян 30.3 ± 0.35 г. Семена снабжены кожистыми остатками эндотесты в виде тонкой полупрозрачной и продольно расслаивающейся ленты длиной 3.0–3.5 см и шириной 0.6–1.0 см, которая сверху прикрывает семя. К нему на тонкой нити прикрепляется перегородка ячейки плода – «подушечка» – строфиль, образованная паренхимными клетками фуникулюса и легко отделяющаяся от семени во время полета и при ударе о ветки. Лента соединяется своей серединой с выемчатым краем семени и образует два тупых, слабо изогнутых в разные стороны «крылышка» длиной 1.5–1.7 см каждое, которые в расправленном состоянии представляют собой две лопасти пропеллера. Падающее семя быстро вращается вокруг своей оси по часовой стрелке и опускается на почву острым концом. Таким образом, семена кирказона маньчжурского относятся к категории крылатых семян, а точнее к вращающимся летучкам с двумя равноудалёнными крыльями (по: Терехин, 1996). Эти крыловидные образования увеличивают способность семян к перемещениям в воздушных потоках (Нечаев, Наконечная, 2009).

Из 1500 наблюдавшихся цветков в 2003 г. завязались 30 плодов, а в 2004 г. – 34 плода, то есть процент плодообразования был 2% и 2.3%, соответственно (Наконечная и др., 2005). Показатели продуктивности на плод были довольно высокими, процент семенификации составил свыше 90% (таблица 3).

Причины такой низкой завязываемости плодов, вероятно, связаны с отсутствием опыления цветков кирказона маньчжурского. Помимо указанной выше невозможности физического контакта пыльцы и рыльца без посредника (опылителя) из-за размера цветка и расположения репродуктив-

Таблица 3.

Семенная продуктивность *Aristolochia manshuriensis*

Год	Плоды, № п/п	ПСП на плод	ФСП на плод	ПС на плод, %
2003	1	149	145	97.32
	2	143	136	95.10
	3	164	156	95.12
	4	134	132	98.51
	5	170	160	94.12
	6	147	139	94.56
	7	153	141	92.16
	Среднее	151.43±4.68	144.14±3.91	95.27±0.79
2004	1	147	138	93.88
	2	138	135	97.83
	3	127	121	95.28
	4	128	119	92.96
	5	137	132	96.35
	6	118	102	86.44
	7	138	129	93.48
	8	113	110	97.35
	9	116	114	98.28
	10	105	98	93.33
	11	123	116	94.31
	12	125	120	96.00
	13	120	119	99.17
	14	102	96	94.12
	15	98	88	89.79
	16	95	89	93.68
	17	108	104	96.30
	18	124	120	96.77
	19	122	118	96.72
	20	132	128	96.97
	Среднее	120.80±3.18	114.80±3.28	95.95±0.67
2005	1	51	44	86.27
	2	49	49	100
	3	73	63	86.31
	4	72	69	95.83
	5	43	42	97.67
	6	46	38	82.61
	7	97	89	91.75
	8	83	75	90.36
	9	76	70	92.11
	10	67	62	92.54
	11	72	64	88.89
	12	65	63	96.92
	13	76	73	96.05
	14	84	82	97.62
	15	67	61	91.04
	16	63	60	95.24
	17	59	51	86.44
	Среднее	67.24±3.52	62.06±3.39	92.21±1.20
Среднее за 2003–2005 гг.		104.98±5.26	99.09±5.16	93.94±0.59

Примечание: ПСП – потенциальная семенная продуктивность, ФСП – фактическая семенная продуктивность, ПС – процент семенификации.

ных органов, отсутствие оплодотворения может быть связано с частичной несовместимостью. В этом случае опыление пылью из того же цветка не происходит, но может быть успешным при участии пыльцы из другого цветка, даже того же растения (Френкель, Галун, 1982). Такие случаи выявлены у некоторых представителей рода *Aristolochia*, например, у *A. maxima*. По результатам своих опытов Ш. Сакаи (Sakai, 2002) предполагает наличие самонесовместимости по следующим причинам: 1) отсутствия завязывания плодов в опыте по самоопылению цветков, 2) успешного завязывания плодов при перекрёстном опылении. Самонесовместимость обнаружена им и у некоторых других видов рода, например, для *A. gigas* Lindl. Различием в степени совместимости объясняют более высокий показатель завязывания плодов *A. inflata* (18.7%), чем *A. maxima* (2.4%) при свободном опылении цветков (Sakai, 2002). По мнению Ш. Сакаи, частичная несовместимость пыльцы и рыльца – важный фактор, определяющий успешность перекрёстного опыления и завязывание плодов у каждого из двух видов.

В целом, можно заключить следующее: несмотря на то, что цветок кирказона маньчжурского обладает приспособлениями к строгому перекрёстному опылению, растение способно использовать самоопыление по типу автогамии или гейтоногамии при отсутствии других репродуктивных особей. Как для самоопыления цветков, так и для перекрёстного опыления, необходимы насекомые–опылители, осуществляющие перенос достаточного количества пыльцевых зёрен на рыльце пестика. Наличие подходящих опылителей может быть одним из факторов, определяющих успешность плодоношения. Малое количество формирующихся плодов и семян, возможно, недостаточно не только для расширения границ ареала, но и для поддержания имеющихся границ. Это является одной из причин постепенного сокращения территории, которую пока еще населяют особи *Aristolochia manshuriensis*.

Распространение семян. Кирказон маньчжурский – анемохорное растение – семена распространяются в основном с помощью ветра. На это указывают такие приспособления для воздушного расселения растений как большое количество легких семян треугольной формы с крыловидными выростами, благодаря которым они при падении вращаются вокруг своей оси. В природных условиях плодоносящие лианы выносят свои листья, цветки, и, следовательно, плоды в верхний ярус леса. При растрескивании сухих плодов семена высыпаются из гнезд и с порывами ветра улетают на расстояние до 50 м и более от материнского растения. Не исключено, что во время полетов часть семян кирказона маньчжурского застревают среди хвои на ветвях пихт и кедровых сосен или в трещинах коры деревьев, а затем освобождаются при раскачивании ветвей порывами ветра и продолжа-

ют свое расселение. Следует отметить, что для территории Борисовского плато в осенне–зимний период характерны сильные ветры северного и северо–западного направлений.

Нередко семена кирказона падают в воду и их уносят речные потоки на десятки километров. Особенно во время обильных осенних дождей, когда горные реки на Борисовском плато в местах произрастания кирказона маньчжурского становятся быстрыми и выходят из берегов. Благодаря ненамокающим оболочкам семена кирказона могут находиться в воде длительный период и не тонуть, при этом они преодолевают значительные расстояния. Распространение семян с водными потоками ограничивается направлением течения реки, русло задает своеобразный вектор движения и определяет миграцию семян.

В литературе отсутствуют сведения о поедании и распространении семян кирказона позвоночными животными. Нами выявлен видовой состав животных–потребителей семян. Из млекопитающих семена кирказона маньчжурского поедают грызуны: белки (*Sciurus vulgaris*), летяги (*Pteromys volans*) и бурундуки (*Tamias sibiricus*), которые забираются на ветки и, разрушая оболочку плодов, извлекают семена. Кроме того, бурундуки запасают семена в «кладовых», расположенных в норках и прикорневых дуплах деревьев. Опавшие на почву плоды и семена поедают мышевидные грызуны, прежде всего, красно–серые полевки (*Clethrionomys rufocanus*) и азиатские лесные мыши (*Apodemus peninsulae*). Недозрелые плоды, вероятно, едят гималайские медведи (*Ursus thibetanus*).

Из птиц основные потребители семян кирказона маньчжурского – поползни (*Sitta europaea*), которые, кроме того, в небольшом количестве заготавливают их, устраивая «кладовые» в трещинах коры на стволах деревьев и в верхнем слое почвы. Семенами питаются птицы из семейства синицевых: черноголовая гаичка (*Parus palustris*), пухляк (*Parus montanus*) и восточная синица (*Parus minor*); для них характерно запасание семян («кладовые» в трещинах коры). Поедают семена и вьюрковые птицы: вьюрки (*Fringilla montifringilla*), уссурийские снегири (*Pyrrhula griseiventris*), возможно, сибирские чечевицы (*Carpodacus roseus*) и некоторые другие. Вероятные потребители плодов и семян – рябчики (*Tetrastes bonasia*), кедровки (*Nucifraga caryocatactes*), дятлы: белоспинные (*Dendrocopos leucotos*) и большие пестрые (*Dendrocopos major*). Выше перечисленные виды грызунов и птиц не являются прямыми агентами диссеминации, так как разрушают плоды и семена зубами, клювами и в пищеварительном тракте. Однако, бурундуки, поползни и синицы, активно запасующие семена растений, при их транспортировке в кладовые не разрушают твердые покровы, и, таким

образом могут быть случайными агентами диссеминации (Нечаев, Наконечная, 2009).

Aristolochia contorta

Динамика цветения. В условиях интродукции первые цветки *A. contorta* появляются в середине июля, массовое цветение происходит в период с 20 июля по 10 августа, а к 20 августа остаются единичные цветки; в природных популяциях кирказон скрученный цветёт в июле–августе (Иванова, 1936; Харкевич, 1987; Нестерова, 2008б).

Раскрытие околоцветника начинается с появления щели между двумя лопастями (рисунок 30, б), которая расширяется и увеличивается в длину от центра к краям околоцветника. Постепенно щель расширяется, края околоцветника отгибаются (рисунок 30, в).

О суточной динамике и опылении вида пока ничего не известно.

Плодообразование. Формирование плодов кирказона скрученного начинается в конце июня – середине июля. В этот период они светло-зелёные, но при созревании, в сентябре–октябре, приобретают коричневую окраску. Плод *A. contorta* – шаровидная или овальная коробочка почти в два раза короче плода *A. manshuriensis*. Плоды 31.98 ± 0.91 мм дл. и 31.19 ± 0.62 мм шир. Плоды таких размеров характерны, например, для 9 ви-

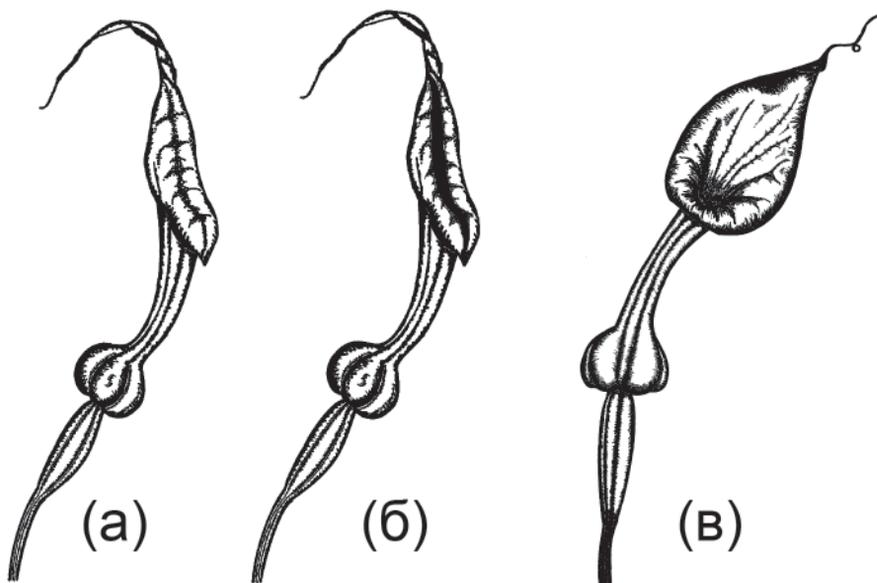


Рис. 30. Схема раскрытия венчиковидного околоцветника *Aristolochia contorta*.

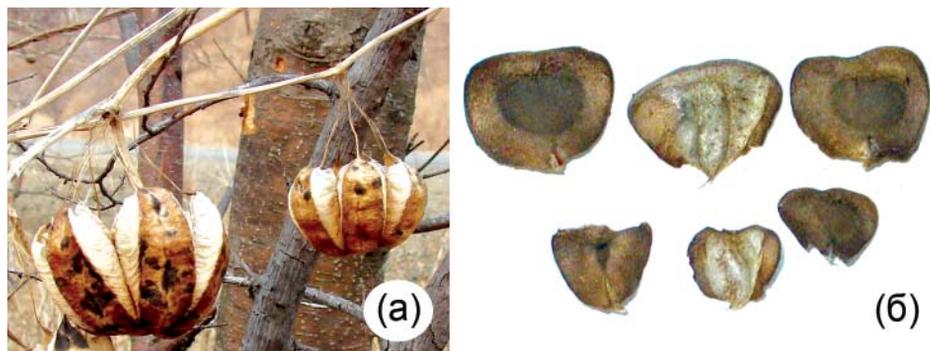


Рис. 31. Плод *Aristolochia contorta*: (а) – зрелый плод, (б) – семена (фото О.В. Наконечной).

дов рода во флоре Китая (*Aristolochia howii* Merr. et Chun, *A. mollissima* Hance, *A. kunmingensis* C.Y.Cheng et J.S.Ma, *A. saccata* Hook.f. et Thomson ex Klotzsch, *A. thwaitesii* Hook., *A. austrochinensis* C.Y.Cheng et J.S.Ma, *A. foveolata* Merr., *A. tuberosa* Liang et Hwang, *A. tagala* Cham.) (Hwang et al., 2003), и 3 видов во флоре Северной Америки (*Aristolochia erecta* L., *A. clematitis*, *A. californica* Torr.) (Barringer, Whitteremore, 1997).

Сухие плоды растрескиваются от основания к вершине (то есть сверху–вниз) продольными трещинами на шесть створок, каждая из них имеет тонкую нитевидную плодоножку (длиною 3.0–3.5 см), которая соединяется вблизи стебля с остальными плодоножками (рисунок 31). При порывах ветра, благодаря упругим эластичным плодоножкам, коробочка вращается вокруг своей оси, раскачивается в разные стороны и даже переворачивается вертикально, разбрасывая семена.

Вес коробочки с семенами – 1.05 ± 0.10 г. Внутри коробочки находятся шесть сероватых перегородок, разделяющих ее на шесть гнезд, в каждой из которых от 18 до 45 семян (всего в плоде содержится до 256 семян, в среднем по плодам – 182.08 ± 5.76 семян). Они частично или полностью высыпаются из коробочки в октябре, к концу декабря в коробочке обычно остаются единичные семена. На одной лиане, достигающей 8 м, может висеть до 50 коробочек.

Семена тёмно–каштановые, плоские, неправильно треугольной или почковидной формы, окружённые крылом. Ширина выполненных семян вместе с крылом составляет 10.02 ± 1.41 (7.23–13.45) мм, длина – 6.67 ± 0.92 (4.31–8,48) мм; ширина семени без крыла составляет 5.60 ± 0.91 (2.37–8.02) мм и длина – 3.59 ± 0.53 (2.25–4.9) мм; вес 100 выполненных семян – 1.13 ± 0.04 г. Детальное описание строения семян опубликовано (Nakonechnaya et al., 2013).

Таблица 4.

Семенная продуктивность *Aristolochia contorta*

Плоды	ПСП на плод	ФСП на плод	ПС на плод, %
1	256	68	26.56
2	216	66	30.56
3	156	95	60.90
4	215	47	21.86
5	145	39	26.90
6	210	64	30.48
7	183	70	38.25
8	198	15	7.58
9	152	47	30.92
10	175	30	17.14
11	205	74	36.10
12	186	34	18.28
13	179	66	36.87
14	154	50	32.47
15	169	67	39.64
16	166	60	36.14
17	173	6	3.47
18	164	45	27.44
19	192	23	11.98
20	194	19	9.79
21	200	131	65.50
22	167	2	1.20
23	123	29	23.58
24	192	17	8.85
среднее	182.08±5.76	48.5±6.08	26.77±3.27

Примечание: ПСП – потенциальная семенная продуктивность, ФСП – фактическая семенная продуктивность, ПС – процент семенификации.

Крыловидные образования семени увеличивают способность к планирующему полету в воздушных потоках. Таким образом, семена кирказона скрученного также относятся к категории крылатых семян.

Показатели продуктивности на плод не были высокими, процент семенификации составил около 27% (таблица 4).

Распространение семян. Кирказон скрученный также является анемохорным растением. Основные потребители семян кирказона скрученного – синицы: черноголовые гаички и восточные синицы, они разрушают клювом

коробочки, извлекая семена (Нечаев, Наконечная, 2009). Возможно, мякоть семян поедают поползны. Упомянутые виды птиц не являются прямыми агентами диссеминации, так как разрушают их покровы. Семена, опавшие на почву, потребляют мышевидные грызуны и фазаны (*Phasianus colchirus*), разрушающие их зубами (грызуны) и в пищеварительном тракте. Кроме того, часть семян потребители роняют на почву, где они могут прорасти.

Таким образом, семена двух видов рода кирказон – *Aristolochia manshuriensis* и *A. contorta*, распространяются в основном ветром и в меньшей степени – водой. Позвоночные животные (птицы, мелкие грызуны) являются случайными агентами диссеминации этих растений. Возможно, что выработанные двумя видами рода *Aristolochia* приспособления для распространения семян помогли сохраниться и расширить область распространения в постоянно изменяющемся мире с третичного периода – времени, от которого как минимум один из двух видов (кирказон маньчжурский) ведет свою эволюционную историю.

2.7. СПОСОБЫ РАЗМНОЖЕНИЯ. ОНТОГЕНЕЗ

Существуют два мнения о способах возобновления кирказона маньчжурского в природе. Согласно одному из них, кирказон маньчжурский размножается преимущественно вегетативно (Самойлова, 1958; Куренцова, 1968; Куренцова, Валова, 1969), по наблюдениям же других авторов, для этого вида характерно только семенное возобновление, поросль или укorenение побегов ими не обнаружены (Головач, 1963; Слизик, 1978а, 1978б; Нестерова, 1993). По нашим данным *A. manshuriensis* использует оба способа возобновления, но в разной степени. Размножение семенами, скорее всего, является преимущественным, конечно, в том случае, когда лиана благополучно цветёт и успешно завязывает плоды (Наконечная, 2007). Во время полевых исследований неоднократно были найдены сеянцы первого года (ювенильные) и более взрослые (имматурные) растения в популяции, произрастающей вдоль р. Борисовка. Территория, на которой находится данная популяция, принадлежит военному ведомству и доступ на нее ограничен. Здесь особи кирказона маньчжурского достигают репродуктивного возраста и успешно плодоносят.

Одной из причин, лимитирующей прорастание семян, может быть наличие лесной подстилки из опавших листьев. Обычно она играет исключительно важную роль в лесных фитоценозах, оказывает положительное влияние на естественное семенное возобновление древесных растений, способствует накоплению влаги и питательных веществ в почве, а также влияет на тепловой и воздушный режимы (Травлеев, 1972; Сапожников и

др., 1993). Но для семян кирказона маньчжурского при прорастании особенно важен контакт с почвой. Как показали исследования (Нестерова, 1991; Воронкова и др., 2000), семена в лабораторных условиях на фильтровальной бумаге не прорастают. Подобный эффект, препятствующий прорастанию, может оказывать и лесная подстилка.

Как оказалось, существуют свои тонкости и при проращивании семян кирказона маньчжурского. По утверждению Л.Н. Слизик (1978б), семена не имеют глубокого покоя и прорастают без стратификации при температуре 18–23 °С. Такая особенность онтогенеза – показатель определённой физиологической природы семян, характерной для растений тёплых климатических зон. При посадке в грунт, по данным Л.Н. Слизик и А.А. Чашухиной (1979), лучшим вариантом для прорастания семян в условиях Приморского края оказался весенний посев после хранения семян при повышенных температурах (не менее 15 дней). При таком режиме в их опытах всходы появлялись в начале июня, всхожесть составила 80%. По данным других авторов (Нестерова, 1993; Воронкова и др., 1995, 1996, 2000), высокий процент всхожести (85%) был получен также при осеннем посеве. В условиях интродукции при посеве в грунт всхожесть составляла при весеннем посеве 62.5%. При использовании в осенних посевах супесчаной почвы с большой примесью торфа была получена более высокая всхожесть (Головач, 1973). Семена не теряют всхожести при равновесной влажности, соответствующей показателю воздушно-сухой влажности семян, 6.2–6.7% (Воронкова и др., 1999); сохраняют жизнеспособность в течение 1–2 лет (Орехова, 2005). Долговременное хранение семян в жидком азоте привело к снижению всхожести более чем на 50% (Нестерова, 2003).

При исследовании онтогенеза *A. manshuriensis* были выделены три периода развития и семь возрастных состояний от семени до генеративного растения (рисунок 32).

I. Латентный период.

1. *Семя (se)*. Семена выпукло-вогнутые, светло-коричневые. Зародыш линейный 1.5–1.6 мм дл., 0.4–0.5 мм шир., дифференцирован на первичную ось и 2 семядоли, погружён в обильный эндосперм.

В условиях культуры массовые всходы появляются во второй половине июня. Прорастание надземное.

II. **Прегенеративный период.** Метрические величины возрастных характеристик растений *A. manshuriensis* приведены в таблице 5.

2. *Проросток (р)*. При прорастании гипокотиль выносит на поверхность почвы две линейные семядоли и два настоящих листа. Листья супротивные, опушённые, на верхушке заострённые, в основании глубоко сердцевидные,

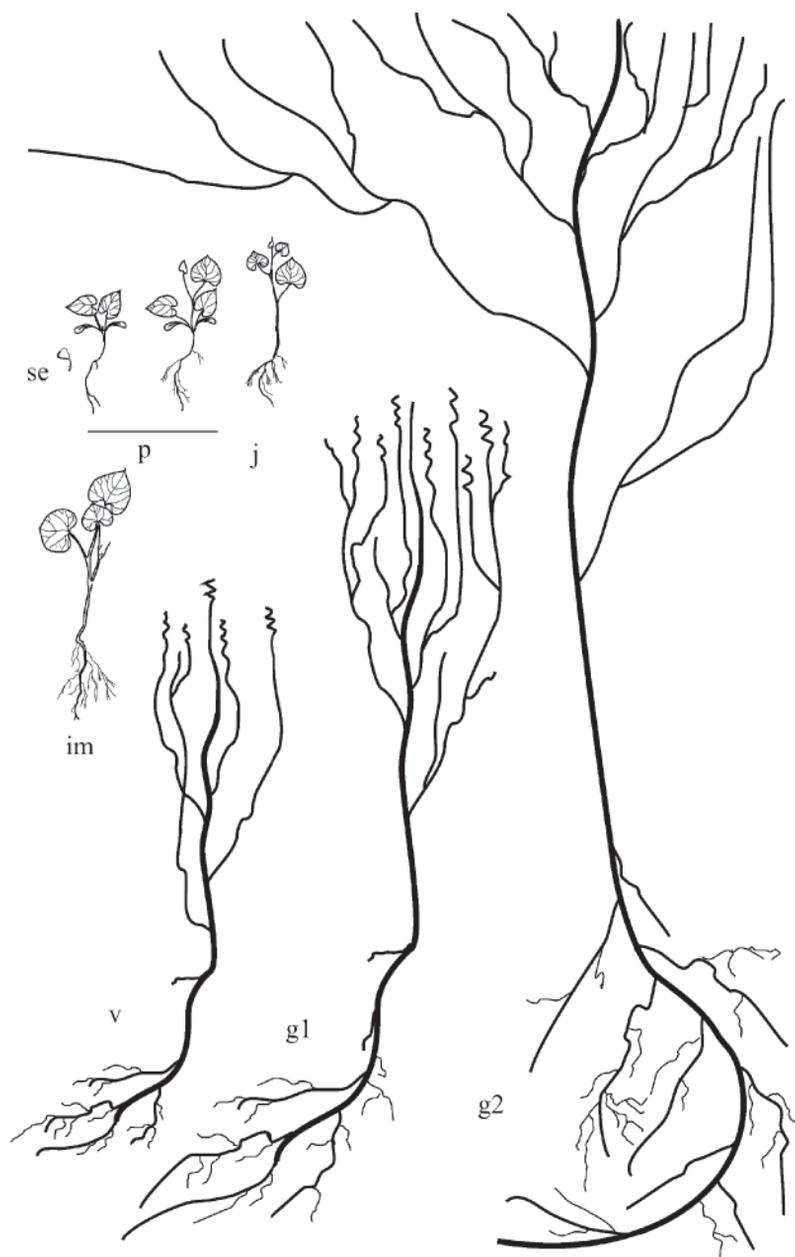


Рис. 32. Онтогенез *Aristolochia manshuriensis*:

se – латентный период (семена), p – проростки, j – ювенильные растения, im – имматурные растения, v – виргинильные растения, g1 – молодые генеративные растения, g2 – средневозрастные генеративные растения.

Таблица 5.

Характеристика прегенеративного периода онтогенеза
Aristolochia manshuriensis

Параметры, единицы измерений	Возрастные состояния растений			
	p	j	im	v
Длина семядолей, см	1.5–2.0 * 1.8±0.03	–	–	–
Ширина семядолей, см	0.27–0.30 0.29±0.00	–	–	–
Высота растений, м	0.03–0.035 0.033±0.00	0.05–0.08 0.07±0.00	0.11–0.25 0.18±0.01	1.1–3.3 2.12±0.12
Длина листа, см	2.5–2.7 2.6±0.02	4.2–6.5 5.6±0.14	8.4–12.0 10.2±0.21	18–20 19.0±0.12
Ширина листа, см	1.7–1.8 1.7±0.01	3.5–6.5 5.2±0.18	7.5–10.5 9.1±0.16	15–19 17.5±0.20
Длина черешка листа, см	2.6–2.9 2.8±0.02	2.5–5.3 4.0±0.14	5.1–8.2 6.8±0.16	10–12 11.2±0.13
Длина корня, см	2.0–4.0 3.2±0.12	7.4–9.2 8.5±0.10	15.3–20.0 18.0±0.24	≥ 50

Примечание: p – проросток, j – ювенильное растение, im – имматурное растение, v – виргинильное растение. * – в верхней части минимальное и максимальное значение параметра, в нижней – средняя и ошибка средней.

цельнокрайные, с хорошо заметной средней и ветвящимися боковыми жилками.

3. *Ювенильное растение (j)*. По мере удлинения побега и формирования второго междоузлия семядоли опадают. Побег растёт моноподиально. Надсемядольная часть побега состоит из 3–4 междоузлий, листорасположение очередное. Корневая система стержневая. К концу вегетации наблюдается одревеснение гипокотилия и междоузлий побега кроме верхнего междоузлия, которое в зимний период обмерзает.

4. *Имматурное растение (im)*. Во второй вегетационный период побег нарастает симподиально, направление роста ортотропное. Первичный побег начинает ветвиться, из пазушных почек развиваются 1–3 боковых побега, которые по высоте не превышают главный побег. Длительность имматурного состояния один год.

В культуре при выращивании в полутени и достаточном увлажнении почвы более 80% проростков *A. manshuriensis* переходят в имматурное возрастное состояние.

5. *Виргинильное растение (v)*. Трёхлетние особи характеризуются интенсивным ростом. Развиваются боковые укороченные побеги – 10–30 см дл. и побеги формирования с удлинёнными междоузлиями. Годичный прирост последних составляет от 1.2 до 2 м. При наличии опоры направление роста побегов ортотропное, в противном случае – плагиотропное. При плагиотропном направлении роста в узлах удлинённых скелетных побегов, лежащих на почве, образуются придаточные корни и формируются эпигеогенные корневища, на которых в дальнейшем развиваются ортотропные побеги второго порядка. В результате увеличивается площадь, которую занимает отдельная особь. Формирование придаточных корней на эпигеогенных корневищах идет медленно, в течение двух лет и более. Виргинильное состояние обычно длится 4–6 лет, однако некоторые особи в естественных местообитаниях могут находиться в этом состоянии годами.

III. *Генеративный период.*

6. *Молодое (раннее генеративное) растение (g1)*. Начинается в возрасте 6–8 лет и длится 3–4 года. Многолетняя часть лианы состоит из побегов формирования возрастающих порядков. Укороченные побеги вегетативные и генеративные. Почки возобновления сериальные. В пазухе листа располагается зимующий глазок 9.95 ± 0.21 мм дл., 4.90 ± 0.14 мм шир., состоящий из трёх почек. Расположение серий на стеблях удлинённых побегов очередное расставленное.

Почки сидячие, нижняя и средняя погружены в ткани побега почти полностью, верхняя на $1/3$ выступает над поверхностью глазка. Чешуи почек с обильным серым опушением из длинных волосков, клетки которых заполнены воздухом. Наружные чешуи – плотные и толстые, внутренние – тонкие. Размеры почечных чешуй и более полное описание приведено ранее (Наконечная, Нестерова, 2013). Почкосложение объемлющего типа. Нижняя почка округлая, состоит из двух чешуй; средняя – яйцевидная, представлена тремя чешуями; верхняя почка конической формы – из четырёх почечных чешуй. Нижняя почка в серии является генеративной, часто средняя почка также генеративная. Цветение необильное, плодоношение либо отсутствует, либо единичное, плоды 6–8 см длиной.

7. *Средневозрастное (зрелое генеративное) растение (g2)*. Продолжительность состояния 40–50 лет, возможно, больше. *A. manshuriensis* поднимается на высоту до 15–18 м, диаметр побега 50-летней лианы у поверхности почвы – до 10 см. Листья округло-сердцевидные, крупные 25–30 см дл., до 20 см шир., на черешках 15–18 см дл. Увеличивается количество ге-

неративных побегов. Со временем число плодов в кроне деревьев первого яруса древостоя увеличивается до 150 шт.

8. *Старое* или позднее генеративное возрастное состояние растений в культуре не выявлено.

Вегетативное размножение у кирказона маньчжурского возможно, но затруднено. При наблюдении за растением в природе может сложиться ложное представление о том, что лиана размножается вегетативно. Дело в том, что кирказон в природе растёт плотными группами, внутри которых отдельные побеги одного растения, отстоящие друг от друга в лесной подстилке на несколько метров, похожи на клоны. Лиана часто при отмирании верхушечной почки развивает побеги из боковых почек надземного побега у основания корня, при этом молодому побегу необходима опора, в противном случае молодые побеги стелются по поверхности почвы в зоне лесной подстилки, и из их почек впоследствии разовьются и поднимутся побеги третьего порядка. Иногда в узлах или междоузлиях образуются придаточные корни (рисунок 33), они тонкие и слабые, и, вероятно, выполняют вспомогательную функцию. Наличие придаточных корней позволяет предположить, что в популяциях после пожаров поврежденные растения могут выживать и возобновлять рост, что может быть особенно важно для сохранения каждой отдельной особи и общего генофонда популяции в целом. Образовавшаяся при восстановлении поврежденной лианы поросль не способна быстро развиваться в зрелую генеративную особь.



Рис. 33. Стелющаяся часть побега *Aristolochia manshuriensis*, побеги, развившиеся из боковых почек (п), и придаточные корни (к) (фото Д.В. Санданова).

Развитие боковых побегов кирказона маньчжурского часто наблюдали у особей при интродукции в Ботаническом саде-институте ДВО РАН, в условиях частной коллекции и оранжерейных условиях.

Таким образом, наше исследование показало, что для лианы характерно наличие побегов, которые очень медленно укореняются. Развивающиеся на них ортотропные побеги второго и последующих порядков выглядят как самостоятельные молодые растения. Вследствие этого каждая отдельная особь может занимать территорию в несколько метров. При этом возникает ложное впечатление, что окружающие взрослую лиану побеги являются молодыми растениями вегетативного происхождения.

Наличие стелющегося под лесной подстилкой побега важно для сохранения и возобновления особи в случае гибели основных побегов. Так особь может восстановиться из спящих почек расположенного в лесной подстилке побега. При сильных повреждениях и подземного, и надземного побегов существование особи возможно только при наличии на неповрежденном участке стебля развитых придаточных корней. Если придаточные корни не развиты, особь, вероятнее всего, погибнет.

Сложности при работе с интродуцированными растениями были показаны в более ранних работах по изучению кирказона маньчжурского. Так, А.Г. Головач (1963, 1973), Л.Н. Слизик и Р.К. Древецкая (1975) установили, что вид обладает слабой способностью к вегетативному размножению – не более 50% черенков удалось укоренить. У древесных черенков кирказона маньчжурского, как выявила А.Г. Головач (1963), каллус образуется примерно через два месяца после их посадки, а придаточные корни появляются спустя четыре месяца после посадки черенков, то есть в конце вегетационного периода. Улучшение укоренения было достигнуто при высаживании черенков в марте–апреле в теплице. Слабая приживаемость черенков *A. manshuriensis*, некоторые особенности строения лианы, затрудняющие ее размножение черенками (длинные междоузлия, травянистость побегов), являются существенным препятствием для рекомендации данного способа размножения в промышленных питомниках. Однако в некоторых случаях любой способ вегетативного размножения кирказона маньчжурского может оказаться незаменимым, например, при необходимости сохранения той или иной уникальной особи, если она не плодоносит (Головач, 1963, 1973).

Таким образом, результаты этих экспериментов характеризуют слабую способность вида к вегетативному размножению и позволяют исследователям прийти к выводу о преимущественно семенном размножении (Головач, 1973; Слизик, Древецкая, 1975). Однако, и семенное размножение



Рис. 34. Онтогенез *Aristolochia contorta*:

se – латентный период (семена), p – проростки, j – ювенильные растения, im – имматурные растения, v – виргинильные растения, g1 – молодые генеративные растения, g2 – средневозрастные генеративные растения, g3 – старые генеративные растения. ЭПК – эпигеогенное корневище, ГПК – гипогеогенное корневище.

недостаточно эффективно, оно позволяет лишь сохранять относительную стабильность границ существующих популяций даже в тех местах, где преобладают крупные плодоносящие особи.

В онтогенезе *A. contorta* выявлены четыре периода развития и девять онтогенетических состояний (рисунок 34) (Наконечная и др., 2012а).

I. Латентный период.

1. *Семя (se)*. Семена плоские, неправильно треугольной или почковидной формы. В созревшем семени зародыш сформирован и погружён в обильный эндосперм. Зародыш линейный, составляет $\frac{1}{4}$ от длины эндосперма, имеет ось, представленную верхушечной меристемой, гипокотилем, зародышевым корешком, и семядоли (Nakonechnaya et al., 2013).

II. *Прегенеративный период*. Метрические величины возрастных характеристик растений *A. contorta* приведены в таблице 6.

2. *Проросток (р)*. Прорастание надземное, начинается в середине июня. Главный корень трогается в рост, и мощный гипокотиль выносит на по-

Таблица 6.

Характеристика прегенеративного периода онтогенеза *Aristolochia contorta*

Параметры, единицы измерений	Возрастные состояния растений			
	р	j	im	v
Длина семядолей, см	0.55–1.21* 0.84±0.04	0.55–1.21 0.84±0.04	-	-
Ширина семядолей, см	0.30–0.93 0.63±0.04	0.30–0.93 0.63±0.04	-	-
Высота растений, см	1.12–3.01 2.06±0.10	≤7	≤10	≥40
Длина листа, см	0.22–0.72 0.47±0.03	0.23–0.85 0.56±0.03	0.41–0.91 0.62±0.03	1.33–3.14 2.16±0.06
Ширина листа, см	0.20–0.92 0.58±0.04	0.23–1.07 0.69±0.04	0.43–1.19 0.75±0.04	2.05–4.33 2.95±0.08
Длина черешка листа, см	0.09–0.47 0.25±0.02	0.08–0.48 0.26±0.02	0.10–0.77 0.35±0.03	0.93–3.39 1.96±0.08
Длина корня, см	1.5–4.5 2.61±0.82	≤5	≤10	≥25

Примечание: р – проросток, j – ювенильное растение, im – имматурное растение, v – виргинильное растение. * – в верхней части минимальное и максимальное значение параметра, в нижней – средняя и ошибка среднего значения; «–» в виргинильном состоянии семядоли отсутствуют.

верхность почвы две семядоли. Их пластинки округлые, немного отогнуты, с тупой верхушкой и низбегающим черешком; светло-зелёные, с пятью продольными жилками, жилкование пальчатое. Почти одновременно с семядолями появляются два первых настоящих листа, расположенных супротивно. Они меньше семядолей, в очертании треугольные до 3 мм дл. Первичный надземный побег быстро трогается в рост, и через 35–40 дней появляются последующие настоящие листья более крупные, чем первые. Они очередные, цельнокрайние, треугольно-сердцевидные, с закруглённой верхушкой; с хорошо заметной центральной и двумя боковыми ветвящимися жилками. В начальной стадии прорастания главный корень с многочисленными корневыми волосками, которые быстро редуцируются. Позднее у проростка развивается стержневая корневая система с главным и боковыми корнями второго порядка.

3. *Ювенильное состояние* (j). Побег удлиняется, нарастает моноподиально, образуя еще 4–5 междоузлий, при этом семядоли еще функционируют. В возрасте двух месяцев растения достигают высоты 7 см. Надсемядольная часть побега состоит из 6–7 междоузлий, листорасположение очередное. Пластинка листа округло-треугольная, без четко выраженной выемки в основании. Корневая система стержневая, главный корень 4–5 см длиной.

4. *Имматурное состояние* (im). Первичный побег продолжает расти моноподиально и начинает ветвиться. При этом из пазушных почек 2-го и/или 3-го листьев развиваются по одному боковому побегу, которые по высоте не превышают главный побег. Листья крупнее, чем у ювенильных особей, округло-треугольные. Трёхмесячные растения достигают высоты 10 см. Главный корень проникает в почву на глубину до 10 см.

В имматурное состояние к концу вегетации (сентябрь–октябрь) переходят 11% особей от общего числа растений. К этому моменту в условиях теплицы у *A. contorta* побеги не одревесневают, листья не опадают, и растение зимует в зелёном состоянии. В зимний период листья не увеличиваются в размерах. Длительность имматурного состояния в условиях закрытого грунта 1–2 года.

5. *Виргинильное состояние* (v). Двух–трёхлетние особи *A. contorta* приобретают облик типичной травянистой лианы. Метрические данные двухлетних растений даны в таблице 6. Побеги быстро растут, развиваются удлинённые междоузлия. При наличии опоры направление роста ортотропное. Растения способны верхней частью стебля обвивать опору по спирали. Годовой прирост составляет 0.3–0.8 м и более. Боковые побеги второго порядка 30–45 см дл., в числе 6–7. Развиваются до 10 побегов третьего поряд-

ка. В природных условиях лиана в качестве опоры использует кустарники, невысокие деревья и стебли высокой травы, например, полыни. Листья сердцевидные. В условиях закрытого грунта на нижних узлах некоторых исследованных растений было отмечено образование придаточных корней. Главный корень постепенно отмирает. Из почек в основании побега развивается тонкое горизонтальное гипогоегенное корневище, которое через 2–3 месяца достигает 6–8 см дл. На нем образуются почки возобновления и многочисленные придаточные корни.

Из почек, расположенных на гипогоегенном корневище, развиваются надземные побеги. Они в конце вегетационного периода отмирают, при этом остаются основания побегов (до 1 см выс.) с 2–3 почками возобновления. Основания побегов сохраняются в верхнем слое почвы и частично выходят на поверхность, со временем образуя укороченное вертикальное эпигоегенное корневище. В новый вегетационный сезон из почек развиваются побеги следующего порядка. Постепенно из оснований отмерших годичных надземных побегов на гипогоегенном корневище формируется вертикальное эпигоегенное корневище. Таким образом, у *A. contorta* развиваются два типа корневищ – гипогоегенное и эпигоегенное.

III. Генеративный период.

6. *Молодое (раннее генеративное) состояние (g1)*. В это состояние особи переходят в 3–4 год жизни, и длится оно 2–3 года. Новые вьющиеся побеги развиваются из почек возобновления, расположенных на эпигоегенных корневищах. Генеративные побеги до 1.2 м дл., монокарпические, моноциклические, ортотропные. Цветение необильное, плодоношение либо отсутствует, либо единичное. Отмечено усыхание завязей. Гипогоегенная часть корневища продолжает увеличиваться и достигает длины 30–40 см.

7. *Средневозрастное (зрелое генеративное) состояние (g2)*. Продолжительность состояния 5 лет и более. На эпигоегенных корневищах развиваются 4–5 и более почек, дающих новые побеги текущего года. Лиана нарастает в длину и поднимается на высоту 2.5–10 м при наличии опоры. Длина междоузлий в средней части лианы – 7–15 см. Размеры листьев лианы в этом возрастном состоянии, а также подробное описание цветков приведены в подразделе «2.2. Морфология, жизненная форма».

Число цветков на высоте 2–4 метров достигает 190 штук, однако плодов завязывается не много – 5–10. Плод – сухая коробочка. Детальное описание плода приведено в подразделе «Биология цветения, опыление и плодобразование *Aristolochia contorta*». Они частично или полностью высыпаются из коробочки в октябре, к концу декабря в ней обычно остаются единичные

семена. На одной из лиан, достигшей 10 метров выс., было отмечено 50 коробочек. Подземная часть растения характеризуется мощным ветвящимся гипогеегенным корневищем с большим количеством придаточных корней первого, второго, третьего и других порядков, и симподиально нарастающим эпигеегенным корневищем, достигающем 2.5–6 см выс., с диаметром 1.0–1.5 см. На нем также развиваются придаточные корни. Корневище с почками возобновления активно разрастается, благодаря чему одна особь может занимать территорию до 30 м² и быть представлена 24 раметами. Наблюдается формирование клонов при нарушении целостности корневища.

8. *Старое или позднее генеративное возрастное состояние* растений (g3). Продолжительность состояния 4 года и более. За этот период происходит уменьшение числа надземных побегов, развивающихся из почек возобновления. На некоторых эпигеегенных участках корневища, диаметр которых достигает 1.0–1.2 см, могут закладываться до 20 почек возобновления, однако развиваются только 4–7, некоторые переходят в спящее состояние или засыхают; часть эпигеегенных участков перестают функционировать. Наблюдается снижение массы придаточных корней.

IV. *Постгенеративный период.*

9. *Субсенильное состояние* (ss). Происходит отмирание частей гипогеегенного корневища при сохранении небольших функционирующих участков. На эпигеегенных частях корневища 2–3 почки возобновления, развивается один, редко два побега.

Продолжительность жизненного цикла особей семенного происхождения может достигать 50 лет (Наконечная и др., 2012а).

2.8. СЕЗОННЫЙ РИТМ РАЗВИТИЯ

По наблюдениям Л.Н. Слизик (1978а, 1978б), в условиях интродукции в Ботаническом саду–институте ДВО РАН *A. manshuriensis* начинает свою вегетацию в конце апреля – начале мая: набухание почек наблюдается в течение II и III декад апреля; развертывание листьев отмечалось с 20.04. по 5–8.05. Развитие листьев идет быстро, и к 15.05. они достигают 15 см в длину; завершение облиствения – не позднее 20.05. Побеги текущего года двух типов: укороченные, на которых развиваются цветки, и ростовые, обвивающие опору (Слизик, 1978а, 1978б).

Молодые побеги растений, произрастающих в открытом грунте в интродукции страдают от зимних морозов, обмерзание составляет 10–40 см. Годичный прирост побегов на солнце – до двух, в полутени – до трёх м. За-

вершение облиствения совпадает с началом бутонизации. Наиболее ранние сроки цветения – 20.05. На солнечном открытом месте в коллекции отмечено запаздывание этой фазы на 3–5 дней. По данным С.С. Харкевича и Н.Н. Качуры (1981), в природных условиях *A. manshuriensis* цветёт в июне.

Для *A. manshuriensis* Н.И. Денисов (2004) определяет начало и конец вегетации как средний, с продолжительностью вегетации 165–176 дней, опадение листьев до повторных (сильных) заморозков. Форма роста – сохраняется, побегообразовательная способность – средняя, прирост в высоту – ежегодный, генеративное развитие – дает всхожие семена, укореняемость черенков – низкая, зимостойкость – обмерзает часть однолетнего побега, декоративность – высокая. Кирказон маньчжурский относится к категории растений, сохраняющих декоративность, способность к семенному и вегетативному размножению, растение зимостойкое (Недолужко, Нестерова, 1989; Денисов, 2004).

По нашим данным *A. contorta* в природных условиях начинает вегетировать в начале мая – просыпаются почки. В конце июня – начале июля раскрываются первые цветки, массовое цветение проходит во второй половине июля, цветение продолжается до конца августа. Плоды созревают в октябре. Вегетация заканчивается с наступлением первых заморозков. В теплице растения могут зимовать с зелёными листьями. При недостатке влаги, надземные побеги отмирают, растения уходят в покой. В условиях теплицы возобновление вегетации отмечено в середине февраля, что позволяет заключить, что выход растений из состояния покоя не связан с сезонностью, определён только температурой и влажностью.

Для *A. contorta* Н.И. Денисов (2004) определяет: «начало вегетации – среднее, конец вегетации – ранний, с продолжительностью вегетации 165–167 дней». Форма роста – восстанавливается, побегообразовательная способность – средняя, прирост в высоту – ежегодный, генеративное развитие – дает всхожие семена, укореняемость черенков – средняя, зимостойкость – однолетние побеги обмерзают целиком, декоративность – высокая. Вид относится к категории растений, сохраняющих декоративность, способность к семенному и вегетативному размножению, способных восстанавливаться после обмерзания (Денисов, 2004).

2.9. КАТЕГОРИЯ УГРОЖАЕМОГО СОСТОЯНИЯ.

МЕРОПРИЯТИЯ ПО ОХРАНЕ

Aristolochia manshuriensis внесён в «Красную книгу РФ» (2008) как исчезающий из-за неумеренного антропогенного воздействия; помещён в Красную книгу Приморского края со статусом «угрожаемый» (Нестерова,

2008а). По мнению Л.Н. Слизык (1978а), угнетенность некоторых из известных популяций, отсутствие видимого расширения границ наиболее благополучных из них – следствие незначительного возобновления особей, свидетельствующее о сокращении численности растений вида на территории Южного Приморья. Сокращению популяций кирказона маньчжурского способствует антропогенный фактор – сбор побегов в качестве лекарственного сырья, низовые пожары.

В российской части ареала запасы кирказона в природе очень ограничены. Растений недостаточно даже для фармакологических и химических исследований. Запасы возделываемых особей практически равны нулю, хотя кирказон (отдельные растения) произрастает в ряде ботанических садов РФ. Поэтому ни исследования, ни тем более практическое использование кирказона для медицинских целей до последнего времени не представлялись возможными (Булгаков, Журавлев, 1989).

Еще в 1978 г. Л.Н. Слизык (1978б) предлагала объявить резерватом окрестности с. Горное (Надеждинский район); проводить посев и посадку укоренённых черенков кирказона маньчжурского в естественные местообитания; создать коллекционные фонды в дендрокolleкциях в Приморском крае; ввести в практику озеленения в южной половине края. К сожалению, никаких мер предпринято не было, и в настоящее время состояние природных популяций существенно ухудшилось. Так, в популяции из окрестностей с. Горное, которую Л.Н. Слизык отметила как благополучную, уже нет репродуктивных особей.

Aristolochia contorta внесён в Красную книгу Приморского края (Нестерова, 2008б) со статусом «уязвимый» и в Красную книгу Еврейской АО (Рубцова, 2006) как «сокращающийся в численности». Основными лимитирующими факторами для распространения кирказона являются: приуроченность к определённым местообитаниям, нарушение ценозов в результате хозяйственной деятельности – освоение территорий в поймах рек; отрицательное влияние на состояние популяций оказывают паводки и наводнения (Нестерова, 2008б). Сбор даже 1 ц затруднен (Шретер, 1975). А.Е. Кожевников с соавторами (Кожевников и др., 2005) отмечают, что вид находится под угрозой полного уничтожения.

С кирказоном скрученным тесно связан вид бабочки – серицин китайский, который внесён в ныне действующие Красные книги Российской Федерации (2001) и Приморского края (Беляев, Чистяков, 2005). По статусу серицин отнесен ко второй категории как редкий вид с сокращающейся численностью. В целях охраны серицина в первую очередь необходимо в местах локализации его основных популяций создавать памятники природы с

запретом застройки, распашки, сенокосения и выпаса скота на их территории, а также способствовать снижению частоты палов на всей территории обитания вида. Ввиду ограниченной способности кирказона к расселению рекомендуется проводить его искусственное расселение на окраинах залежей и по безлестным склонам прилежащих гор (Бовсуновская и др., 2006).

2.10. ИНТРОДУКЦИЯ

Кирказон маньчжурский интродуцирован во многих Ботанических садах мира, так он посажен с 1909 г. в Ботаническом саду в Санкт–Петербурге, откуда был распространён в некоторые другие ботанические сады нашей страны и Западную Европу (Рубцов, Шипчинский, 1951; Осипова, 1989). В 1983 г. кирказон маньчжурский произрастал также в Барнауле, Горьком, Краснодаре, Киеве, Мещерском, Минске, Таллине, Тарту (Редкие..., 1983). Также его можно встретить в Йошкар-Оле (с 1984 г.), Москве (МГУ, ГБС, ММА, МСХА БС и дендрарий с 1954 г.), Нижнем Новгороде (с 1957 г.), Пятигорске (с 2000 г.), Самаре (с 1971 г.), Селиваново (с 1975 г.), Сыктывкаре (с 1985 г.) (Нестерова, 2005). Т.В. Самойлова (1980) и Н.В. Осипова (1989) указывают, что лиана перспективна для культивирования в районах Дальнего Востока в пределах Приморского края и южной части Амурской области, а также на западе бывшего СССР, в Предкавказье и Закавказье. В дендропарке Горнотаежной станции (ГТС), как указывает Т.В. Самойлова (1980), кирказон хорошо растёт с 1940 г. Культивируются лианы дичками, перенесёнными из естественных мест произрастания в разные годы. Дички с комом земли хорошо приживаются под разреженным пологом леса (Самойлова, 1980).

Однако, несмотря на рекомендации для культивирования, многолетние наблюдения за коллекционным материалом (Слизик, 1978а, 1978б) показали, что кирказон маньчжурский в условиях Южного Приморья развивался медленно, годовые побеги от 40 до 240 см длиной, плодоношение наступало не ранее 10–летнего возраста. В условиях коллекции лиана значительно лучше себя чувствовала в тени, это отражалось на приросте, появлялись более крупные листья и более обильные цветки и плоды. Н.В. Осипова (1989) отмечает, что для лианы противопоказано выращивание в засушливых районах.

Ранее был проведён эксперимент по реинтродукции на территории Надеждинского лесного хозяйства (в 50 км от г. Владивосток), в 10 км западнее пос. Тихий, у реки Первая речка (Нестерова, 2008в). В этом месте вид произрастал ранее, но был утрачен. На выбранном участке в июле 1992 г. было посажено 50 экземпляров двулетних семян кирказона маньчжурского, которые по возможности размещали в шахматном порядке. Высота

высаженных растений 15–20 см. Площадь посадки около 70 м². Растения высаживали на нижней части склона северо-западной экспозиции, на увлажненных и нормально дренированных почвах; рядом с деревьями, стволы которых в дальнейшем должны были служить опорой лиане. По данным 2007 г., реинтродукционная популяция насчитывает 15 виргинильных особей кирказона маньчжурского, побеги которых, обвивая опору, поднялись на высоту 1.5–2 м. На состояние растений отрицательно влияет недостаток света, проникающего через кроны деревьев, что задерживает переход растений в генеративное состояние (Нестерова, 2008в).

Кирказон скрученный интродуцирован в Москве в ГБС с 1956 г. (Редкие..., 1983). Успешное культивирование на юге Приморского края, как отмечает Н.И. Денисов (2004), возможно лишь при искусственной защите (укрытии слоем утепляющего материала), так как почти ежегодно надземная часть лиан обмерзает почти до поверхности почвы (в малоснежные зимы). В условиях БСИ ДВО РАН растения регулярно плодоносят.

3. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КИРКАЗОНОВ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ

Процветание вида зависит от его потенциала, – способности приспосабливаться к меняющимся условиям внешней среды, выживать в неблагоприятных условиях, стабильно возобновляться, расширять свой ареал (Гилпин, 1989; Ledig, 1986; Hamrick, Godt, 1989). Эти качества тесно связаны с уровнем генетического разнообразия (Дубинин и др., 1976; Алтухов, Курбатова, 1990; Алтухов, 1989; Алтухов и др., 1996; Bush et al., 1987). Морфологическое разнообразие является лишь внешним проявлением фундаментального свойства любых организмов быть генетически неодинаковыми и обладать видовыми, популяционными и индивидуальными отличиями (Алтухов, 1995). Некоторые отличия могут определяться внешними условиями существования, например, такие характеристики, как высота растения, размер листьев и других органов, и др. Но часть индивидуальных отличий определяется генотипом и наследуется в ряду поколений. Такая изменчивость называется генетической, а ее первопричиной является разнообразие генов или генетический полиморфизм, обусловленный существованием в популяции различных форм одного и того же гена, определяющего данный признак, – аллелей (Тимофеев-Ресовский и др., 1973; Айала, 1984). Новые аллели возникают в популяции постоянно вследствие мутаций – изменений в первичной последовательности ДНК, которые вызывают соответствующие замены аминокислот в полипептидах. В ходе эволюции новые аллели могут накапливаться и распространяться или утрачиваться в популяции под действием направленных генетических процессов (естественный отбор) или случайных (генетический дрейф) (Тимофеев-Ресовский и др., 1973; Инге-Вечтомов, 1989). Таким образом, генетический полиморфизм вида является устойчивым эволюционно сложившимся состоянием, поддерживаемым стабилизирующим отбором и имеющим приспособительное значение (Алтухов, 1985, 1989). Изменение уровня генетической изменчивости приводит к дестабилизации популяций и может повлечь за собой вымирание вида. Экспериментально установлено, что сокращение генного разнообразия, как и искусственно вызываемое его возрастание по отношению к историческому оптимуму, весьма неблагоприятно сказывается на состоянии популяций (Алтухов и др., 1996). Именно поэтому сохранение генетической изменчивости является принципиальной и фундаментальной целью любой программы сохранения редких видов, а ее изучение – первым и ключевым

шагом к пониманию эволюционных процессов, происходящих в популяциях, и разработке стратегии сохранения, восстановления и рационального использования вида (Schemske et al., 1994).

Изучению популяционно-генетической структуры редких и эндемичных видов растений уделяется большое внимание (например, Soltis, Soltis, 1991; Soltis et al., 1992; Evans et al., 2000; Hannan, Orick, 2000 и др.). Накопленный за десятилетия экспериментальный материал позволяет теоретически предсказать некоторые последствия потери видом генетической изменчивости. Низкий уровень генетической изменчивости вида часто считается критическим для его выживания и даже признаком его вымирания (Franklin, 1980; Soule, 1980). Однако, несмотря на ряд попыток определить средний уровень генетической изменчивости для разных категорий растений (например, Gitzendanner, Soltis, 2000; Nybom, 2004), до сих пор неясно, какой уровень полиморфизма следует считать критическим для существования конкретного вида.

3.1. *ARISTOLOCHIA MANSHURIENSIS*

УРОВЕНЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРИМОРСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ КИРКАЗОНА МАНЬЧЖУРСКОГО

Часто случается, что к моменту, когда виду грозит вымирание, об уровне его генетической изменчивости мало что известно. Так произошло и с кирказоном маньчжурским, основной ареал (большая его часть) которого расположен на тех территориях Китая, которые подверглись сильной антропогенной трансформации, вследствие чего растение утратило большинство своих местообитаний задолго до того, как были начаты его популяционно-генетические исследования. В Приморском крае вид достигает северо-восточной границы своего ареала, сохранившиеся здесь природные популяции существуют, очевидно, на пределе своего экологического оптимума и находятся в угнетенном состоянии. В настоящее время можно найти 4 сильно фрагментированных небольших локальных популяции *A. manshuriensis*, приуроченные к бассейнам рек Малая Борисовка, Нежинка, Ананьевка и Малая Ананьевка, (популяции МБ, Неж, Ан и МАН, соответственно). Кирказон маньчжурский растет с неравномерной плотностью в виде монодоминантных групп («пятен»). Иногда встречаются единичные особи на расстоянии друг от друга 0.5 км и более, особенно это характерно для растений из популяции МБ, где мозаичная структура выражена слабо. Популяции Неж и Ан представлены ювенильными растениями, репродуктивных особей не обнаружено. Предположительно, лесные пожары и неконтролируемая вы-

рубка лианы, связанная с высокой лекарственной ценностью ее экстракта (Булгаков, Журавлев, 1989), определяют нынешнее плачевное состояние этих популяций. Небольшие местообитания кирказона, где встречаются взрослые лианы, сохранились в верховьях притока р. Ананьевка (Малая Ананьевка, популяция МАН), и, возможно, в верховьях р. Нежинка в труднодоступных местах. Популяцию МБ составляют разновозрастные экземпляры. Более благополучное состояние вида в этой местности можно объяснить труднодоступностью популяции.

Еще в 1978 г. Л.Н. Слизик (Слизик, 1978а) отмечала, что самовозобновление вида в природе очень слабое. Г.Э. Куренцова в 1968 г. охарактеризовала вид как регрессирующий. Позднее она с соавтором в своей работе так описала природную популяцию кирказона маньчжурского: «подлесок довольно густой, но распределяется по площади неравномерно. Средняя высота растений 1–1.5 м (стр. 55). ... Древесные породы дают здесь слабый подрост, развитию последнего препятствуют густые заросли аристолохии и травостой» (Куренцова, Валова, 1969). К настоящему времени «густые заросли» кирказона можно встретить, пожалуй, только в самых труднодоступных местообитаниях, да и то в отдельных фрагментах. Такое истощение популяций *A. manshuriensis* к концу XX века связано не только с неконтролируемым сбором лианы на лекарственное сырье, но и усиливающимся разрушением местообитаний. Так проблема сохранения и восстановления этого ценного растения стала насущно необходимой, но об уровне его генетической изменчивости не было известно.

Для исследования генетической изменчивости сохранившихся популяций *A. manshuriensis* был использован электрофоретический анализ листовой ткани 244 растений из 4-х природных популяций в Приморском крае, локализованных в долинах бассейнов рек Нежинка (популяция Неж, 5 выборок), Ананьевка (популяция Ан, 3 выборки), Малая Борисовка (популяция МБ, 5 выборок) и Малая Ананьевка (популяция МАН, 3 выборки) (Наконечная и др., 2007; Корень и др., 2009).

Аллозимный анализ основан на выявлении наследственной изменчивости ферментных белков с помощью электрофоретического фракционирования и гистохимического окрашивания. Белки используются популяционными генетиками в качестве молекулярных маркеров уже более четырёх десятилетий и теоретические подходы на их основе уже основательно разработаны (Алтухов, 1989; Алтухов, 1995; Soltis et al., 1992). Белки являются продуктом экспрессии генов и потому могут давать информацию, отражающую структуру и состояние соответствующих участков ДНК. Первые результаты использования аллозимных маркеров для изучения генетической

гетерозиготности в популяциях дрозофилы были опубликованы в 1966 г. Р. Левонтином и Дж. Хабби (Lewontin, Hubby, 1966). Использование аллозимов в последующие годы позволило выявить широкий спектр изменчивости в природных популяциях животных и растений (Алтухов, 1983; Айяла, 1984; Алтухов, 1995; Hamrick, 1979; Hamrick, Godt, 1989). С помощью этого метода были разработаны фундаментальные принципы популяционной теории (Nei, 1987; Kimura, 1991; Lewontin, 1991; Алтухов и др., 1997). Именно поэтому применение данного метода в случае кирказона было оправдано не только его относительной простотой, но и возможностью сравнить полученные результаты с аналогичными данными по другим видам, прежде всего, редким и исчезающим, и попытаться проанализировать генетические процессы, происходящие в природных популяциях *A. manshuriensis* в прошлом и настоящем.

Исследовано 28 ферментных систем. Три фермента (HK, MPI, SDH) были не активны в листьях кирказона маньчжурского, а 25 ферментов (AAT, ACO, ACP, ADH, ALD, AK, DIA, GDH, G-3P-DH, G-6P-DH, GPI, GPT, FE, FDH, FDP, FUM, IDH, LAP, 6-PGD, EST, ME, MDH, PGM, SKDH, SOD) выявлялись на электрофореграммах с различной степенью активности. Среди них 9 ферментов выявлялись стабильно (AAT, ACP, FE, GPI, GPT, ME, PGM, MDH, IDH) и были использованы в исследовании (таблица 7).

Электрофоретические методы фракционирования белков позволяют выявить индивидуальные различия белковых молекул в суммарном электростатическом заряде и молекулярном весе. Сочетание электрофореза с гистохимическим окрашиванием позволяет получить спектры белков – электрофореграммы – из клеточных или тканевых экстрактов. При сопоставлении электрофореграмм ферментов, выделенных из одинаковых тканей у различных особей одного вида, обнаруживаются индивидуальные вариации в подвижности и числе некоторых фракций. Эти вариации определяются наличием или отсутствием соответствующего структурного гена (локуса) или наличием различных вариантов (аллелей) одного локуса.

В результате анализа 9 ферментных систем в листьях кирказона маньчжурского было обнаружено 23 различных электрофоретических варианта, предположительно кодируемых 18 локусами (генами). Для каждого полиморфного локуса было выявлено по 2 аллельных варианта. Поскольку белки наследуются кодоминантно, у гетерозигот проявляются оба родительских признака – две белковые фракции. При наличии четвертичной структуры белков у гетерозигот могут формироваться еще и гибридные фракции, отсутствующие у родителей. Это происходит вследствие свободного объединения в цитозоле субъединиц, контролируемых различными генами

Таблица 7

Исследованные ферментные системы и количество интерпретируемых локусов, полиморфных локусов и аллелей, выявленных в листовой ткани *Aristolochia manshuriensis*

Фермент	Сокращенное обозначение	Интерпретируемые локусы	Полиморфные локусы	Аллели
Аспартатаминотрансфераза	AAT	2	0	2
Глутаматпируваттрансаминаза	GPT	1	1	2
Глюкозофосфатизомераза	GPI	1	1	2
Изоцитратдегидрогеназа	IDH	2	0	2
Кислая фосфатаза	ACP	2	1	3
Малатдегидрогеназа	MDH	4	0	4
Малик-энзим	ME	1	0	1
Флюоресцентная эстераза	FE	4	1	5
Фосфоглюкомутаза	PGM	1	1	2
		18	5	23

или аллелями. Генетическая интерпретация такого рода изменчивости при кодоминантном типе наследования обычно трудностей не вызывает. На рисунках 35 и 36 представлены электрофореграммы и схематические изображения некоторых ферментных систем *A. manshuriensis*, подробное описание которых опубликовано (Наконечная и др., 2007).

Таким образом, было отобрано 18 локусов, которые могут быть использованы в качестве маркеров для популяционно-генетического анализа природных популяций *A. manshuriensis*. Выявленные аллели использованы в качестве маркерных генов для описания параметров изменчивости, дифференциации и генетической структуры популяций.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *ARISTOLOCHIA MANSHURIENSIS*

Основными параметрами, которыми характеризуют генетическую изменчивость видов и популяций, являются доля полиморфных локусов и гетерозиготность. Доля полиморфных локусов, или полиморфность (P) определяется как отношение количества выявленных полиморфных локусов к общему количеству проанализированных генов. Другой жизненно важный для организма генетический показатель – гетерозиготность (H), начиная с

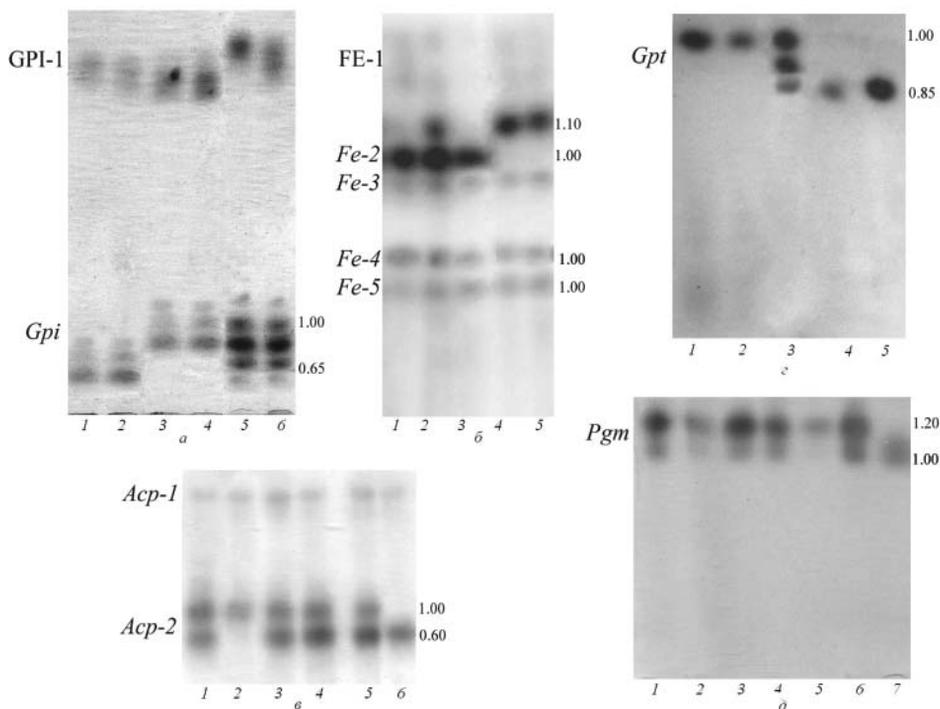


Рис. 35. Электрофореграммы полиморфных ферментов из листьев *Aristolochia manshuriensis*:

(а) – *Gpi*, генотипы растений: 1, 2 – гомозиготы $Gpi-2^{0.65}$, 3, 4 – гомозиготы $Gpi-2^{1.00}$, 5, 6 – гетерозиготы $Gpi-2^{0.65/1.00}$.

(б) – *Fe-2*, генотипы растений: 1, 3 – гомозиготы $Fe-2^{1.00}$, 4, 5 – гомозиготы $Fe-2^{1.10}$, 2 – гетерозигота $Fe-2^{1.00/1.10}$.

(в) – *Acp-2*, генотипы растений: 2 – гомозигота $Acp-2^{1.00}$, 6 – гомозигота $Acp-2^{0.60}$, 1, 3, 4, 5 – гетерозиготы $Acp-2^{0.60/1.00}$.

(г) – *Gpt*, генотипы растений: 1, 2, – гомозиготы $Gpt^{1.00}$, 4, 5 – гомозиготы $Gpt^{0.85}$, 3 – гетерозигота $Gpt^{0.85/1.00}$.

(д) – *Pgm*, генотипы растений: 5 – гомозигота $Pgm^{1.20}$, 7 – гомозигота $Pgm^{1.00}$, 1, 2, 3, 4, 6 – гетерозиготы $Pgm^{1.00/1.20}$.

работ Дж. Хабби, Р.К. Левонтина (Hubby, Lewontin, 1966; Lewontin, Hubby, 1966) и Х. Харриса (Harris, 1966), определяется как доля генов, находящихся в гетерозиготном состоянии у некой средней особи (или, что численно то же самое, средняя доля гетерозигот на локус в случайной выборке генов из популяции). Гетерозиготность может быть определена на основании фактически выявленной численности гетерозигот в выборке (наблюдаемая гетерозиготность, H_o) или теоретически рассчитана на основании частот аллелей

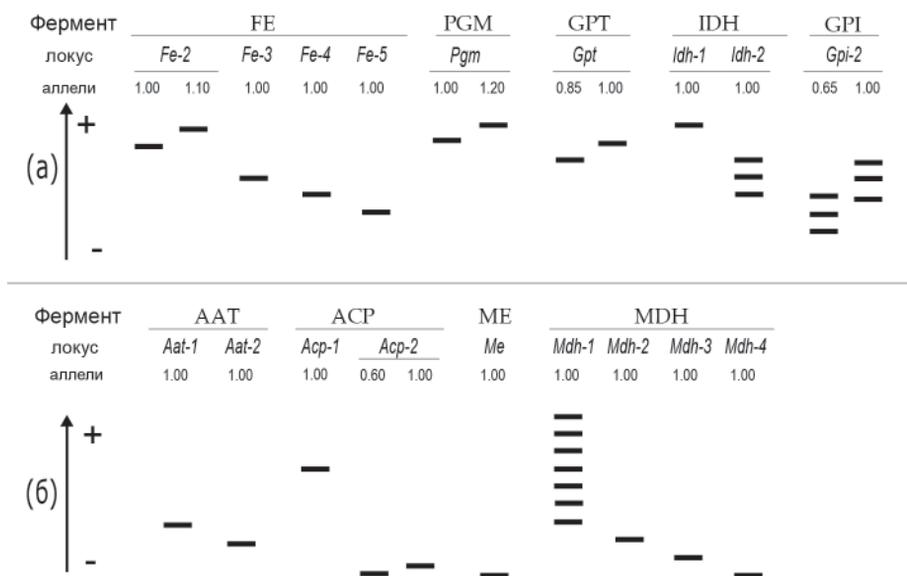


Рис. 36. Схематическое изображение электрофоретических вариантов ферментов AAT, ACP, FE, GPI, GPT, IDH, MDH, ME и PGM в листьях *Aristolochia manshuriensis*.

(ожидаемая гетерозиготность, H_e). Генотипический «портрет» и структура, описывается частотами встречаемости аллелей или частотами генотипов и различными параметрами, в основном рассчитываемыми на основании частот аллелей и гетерозиготности (Животовский, 1983).

Частоты аллелей в исследованных популяциях представлены в таблице 8. Изученные популяции *A. manshuriensis* не различаются по набору аллелей, но различаются по частотам их встречаемости.

Среди выявленных полиморфных локусов только один, *Acp-2*, был высокоизменчивым (частоты аллелей близки к 0.5) в трёх из 4 изученных популяций. Еще один локус, *Pgm*, был высокоизменчивым только в популяции МБ. Интересно, что в популяции Неж по этому локусу наблюдается смена преобладающего аллеля, тогда как по всем остальным локусам во всех популяциях одни и те же аллели являются наиболее часто встречающимися (таблица 8). Из выявленных у кирказона аллелей только один, *Gpi-2*^{0.65}, является редким для популяции МБ, то есть встречается с частотой менее 0.05. Для вида в целом редкие аллели обнаружены не были.

По всем локусам была выявлена гетерогенность аллельных частот (таблица 8), общий тест на гетерогенность по всем маркерным генам показал значимые различия между популяциями ($p < 0.01$; таблица 8).

Таблица 8

Частоты аллелей полиморфных локусов в природных популяциях *Aristolochia manshuriensis* и тест на гетерогенность выборок (N – количество особей в популяции)

Локус	Аллели	Популяции				Средневзвешенная частота по четырём популяциям N = 244
		Неж N = 57	Ан N = 27	МБ N = 107	МАН N = 53	
Gpi-2	1.00	0.6053	0.7407	0.9533	1.0000	0.8586
	0.65	0.3947	0.2593	0.0467	0.0000	0.1414
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 99.71$; df = 3; p < 0.01						
Pgm	1.20	0.2807	0.7037	0.5000	0.5472	0.4816
	1.00	0.7193	0.2963	0.5000	0.4528	0.5184
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 31.22$; df = 3; p < 0.01						
Fe-1	1.10	0.2719	0.2963	0.3879	0.4623	0.3668
	1.00	0.7281	0.7037	0.6121	0.5377	0.6331
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 10.15$; df = 3; p < 0.01						
Gpt	1.00	0.6404	0.8519	0.9346	0.8396	0.8361
	0.85	0.3596	0.1481	0.0654	0.1604	0.1639
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 47.12$; df = 3; p < 0.01						
Acp-2	1.00	0.5175	0.5000	0.5047	0.5660	0.5205
	0.60	0.4825	0.5000	0.4953	0.4340	0.4795
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 1.18$; df = 3; p < 0.01						
Тест на гетерогенность по всем локусам: $\chi^2 = 189.38$; df = 15; p < 0.01						

В популяциях кирказона маньчжурского определён невысокий уровень полиморфизма по сравнению со средними для растений показателями (таблицы 9 и 10). Также невысокие показатели были получены при использовании RAPD-маркеров ($P_{95} = 36.2$, $H_E = 0.141$, $G_{ST} = 0.112$; Artyukova et al., 2012). У растений наблюдается более широкий разброс генетической изменчивости, чем у животных, что, очевидно, связано с большим разнообразием жизненных форм в царстве растений, а также с разнообразием экологических и географических ниш, которые они занимают. Проведённый Дж. Хэмриком (Hamrick, 1983; Hamrick, Godt, 1989) анализ показал, что наиболее изменчивыми видами растений являются голосеменные, а у покрытосеменных однодольные оказались более изменчивыми по всем анализируемым параметрам, чем двудольные. Корреляционный анализ, про-

Таблица 9

Показатели полиморфизма видов рода *Aristolochia*
в сравнении со средними показателями для разных групп растений

Виды	P, %	A	H _о	H _е	G _{ST} (F _{ST})	Ссылки
<i>A. manshuriensis</i>	26.39	1.27	0.125	0.108	0.065	наши данные
<i>A. contorta</i>	20.7	1.28	0.129	0.101	0.168	наши данные
Растения	34.6 (1.0)	1.52 (0.02)		0.113 (0.004)		(Hamrick et al., 1992)
Древесные	49.3 (1.8)	1.76 (0.04)		0.148 (0.006)	0.084 (0.008)	(Hamrick, Godt, 1989; Hamrick et al., 1992)
Редкие	29.9 (3.85)	1.53 (0.095)	0.095 (0.016)		0.206 (0.040)	(Gitzendanner, Soltis, 2000)
Эндемики	26.3 (3.9)	1.48 (0.9)	0.163 (0.016)	0.056 (0.010)	0.248 (0.037)	(Hamrick, Godt, 1989; Hamrick et al., 1992)
Перекрёстно-опыляемые виды:						(Hamrick et al., 1992)
ветром	53.0 (2.2)	1.84 (0.05)	0.259	0.163 (0.011)	0.099 (0.012)	
насекомыми	47.6 (2.7)	1.72 (0.05)	0.243	0.154 (0.008)	0.197 (0.017)	
Самоопыляемые виды	20.0 (2.3)	1.31 (0.05)	0.149 (0.016)	0.074 (0.01)	0.510 (0.035)	(Hamrick, Godt, 1989)

Примечание: P, % – процент полиморфных локусов на популяционном уровне; A – число аллелей на локус; H_о – наблюдаемая гетерозиготность; H_е – ожидаемая гетерозиготность; G_{ST} (F_{ST}) – показатель подразделённости популяций. Значения стандартной ошибки приведены в скобках.

ведённый авторами, показал, что примерно 24% видовой изменчивости связано с некоторыми аспектами жизненной стратегии вида. Из них около 32% обусловлено размерами ареала, 25% - жизненной формой вида и примерно 17% – системой скрещивания.

В таблице 9 приведены средние показатели аллозимного полиморфизма для некоторых категорий растений, к которым может быть отнесён кирказон маньчжурский: древесные, редкие, эндемики, перекрёстно-опыляемые виды. Из таблицы можно видеть, что такие показатели, как доля полиморфных локусов (P) и число аллелей на локус (A) у кирказона маньчжурского значительно ниже, чем в среднем у древесных и перекрёстно-опыляемых растений, и в целом близки к средним значениям, выявленным в категориях редких и эндемичных видов. Однако, при достаточно низком уровне полиморфности, уровень наблюдаемой (H_о) и ожидаемой (H_е) гетерозиготности у *A. manshuriensis* в среднем достигает 12.5% (11), то есть близок к среднему для растений значению. Важно отметить следующее,

Таблица 10

Параметры генетического разнообразия в субпопуляциях
Aristolochia manshuriensis

Популяции	№ вы- борки	H_o	H_E	n_E	A	$P_{95}, \%$	$P_{99}, \%$
Неж	1	0.093	0.092	1.10	1.28	27.78	27.78
	2	0.122	0.106	1.12	1.28	27.78	27.78
	3	0.142	0.115	1.13	1.28	27.78	27.78
	4	0.150	0.129	1.15	1.28	27.78	27.78
	5	0.171	0.126	1.14	1.28	27.78	27.78
	среднее	0.136	0.114	1.13	1.28	27.78	27.78
Ан	6	0.133	0.114	1.13	1.28	27.78	27.78
	7	0.136	0.102	1.11	1.22	22.22	22.22
	8	0.055	0.078	1.09	1.17	16.67	16.67
	среднее	0.108	0.098	1.11	1.22	22.22	22.22
МБ	9	0.133	0.109	1.12	1.28	27.78	27.78
	10	0.109	0.084	1.09	1.17	16.67	16.67
	11	0.093	0.091	1.10	1.22	22.22	22.22
	12	0.124	0.098	1.11	1.22	22.22	22.22
	13	0.105	0.094	1.10	1.28	22.22	27.78
	среднее	0.113	0.095	1.11	1.23	22.22	23.33
МАН	14	0.115	0.108	1.09	1.22	22.22	22.22
	15	0.107	0.085	1.10	1.22	22.22	22.22
	16	0.122	0.093	1.10	1.22	22.22	22.22
	среднее	0.115	0.095	1.09	1.22	22.22	22.22

Примечание: A – количество аллелей на локус; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; n_E – эффективное число аллелей на локус; $P_{95}, P_{99}, \%$ – полиморфность с учетом 95 и 99%-го критерия.

несмотря на то, что кирказон морфологически приспособлен к перекрёстному опылению, уровень его гетерозиготности в приморских популяциях значительно ниже, чем обычно наблюдается у растений с этим типом скрещивания. Это значит, что в популяциях действуют факторы, снижающие гетерозиготность, – такие как отбор в пользу определённых генотипов, или генетический дрейф, связанный с резким сокращением численности. Последнее приводит к тому, что через несколько поколений все особи в популяции будут представлены родственными индивидуумами, и истинно

перекрёстное опыление (между неродственными особями) замещается близкородственным (инбридингом).

Показатели полиморфизма кирказона маньчжурского внутри каждой популяции представлены в таблице 10. Сравнение величин наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности показало, что по всем локусам в популяциях наблюдается небольшой избыток гетерозиготных генотипов по сравнению с теоретически рассчитанной величиной. Интересно, что наиболее высокий уровень генетического разнообразия выявлен в самой «истощенной» популяции Неж ($H_e = 0.114$, $n_e = 1.13$; таблица 10), которая представлена только растениями в ювенильной стадии и порослью вблизи вырубленных или сгоревших лиан. Напротив, самая низкая гетерозиготность у *A. manshuriensis* была выявлена в наиболее крупной и благополучной популяции, расположенной вдоль р. Малая Борисовка (МБ, $H_e = 0.094$, $n_e = 1.14$; таблица 10). Возможно, этот феномен связан с наиболее северным положением этой малодоступной популяции. Обычно более низкие показатели генетического разнообразия наблюдаются в наиболее неблагоприятных популяциях, поскольку сокращение численности популяции неизбежно ведет к снижению уровня изменчивости (Barrett, Kohn, 1991; Ellstrand, Elam, 1993).

В целом, уровень изменчивости в популяциях *A. manshuriensis* из Приморского края варьирует незначительно. Анализ генетических взаимоотношений между популяциями, оцененный на основе показателей генетических дистанций М. Нея (D_N , Nei, 1972), показал высокий уровень их генетического сходства (Корень и др., 2009). Среднее генетическое расстояние между всеми приморскими популяциями кирказона маньчжурского составило 0.0096. На дендрограмме (рисунок 37), построенной на основе генетических расстояний Нея, популяции МБ и МАН объединены в один кластер с минимальным расстоянием 0.0015, к которому примыкает популяция Ан. Наиболее удалена от остальных популяция Неж.

Низкие значения генетических расстояний между популяциями *A. manshuriensis* (таблица 11) могут быть как следствием балансирующего отбора, так и общности их генофонда в недавнем прошлом. Последнее может быть связано с историей формирования и расселения вида, непрерыв-

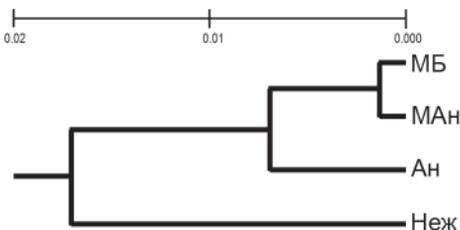


Рис. 37. UPGMA-дендрограмма сходства популяций *Aristolochia manshuriensis*, построенная на основе коэффициентов генетической дистанции М. Нея (D_N).

Таблица 11

Матрица генетических коэффициентов дистанций (D_N) (Nei, 1972), рассчитанных по 18 изученным локусам у четырех популяций *Aristolochia manshuriensis*

Популяции	Неж	Ан	МБ	МАН
Неж	---	0.0154	0.0168	0.0191
Ан		---	0.0063	0.0077
МБ			---	0.0014
МАН				---

ностью ареала и более тесными связями между популяциями в прошлом. Все современные популяции *A. manshuriensis* на российской части ареала хоть и изолированы друг от друга системой хребтов, расположены в долинах рек, истоки которых берут начало на Борисовском плато. Вероятно, на Борисовском плато находилась единая предковая популяция кирказона маньчжурского, из которой семена могли быть перенесены потоками воды по отрогу Плоского хребта, основав новые популяции, расположенные вдоль рек Нежинка, Ананьевка и Малая Борисовка. Примечательно, что популяции МБ и МАН, расположенные в верхнем течении рек, наиболее близки и образуют на дендрограмме единый кластер с минимальным расстоянием (D_N) 0.0015 (рисунок 37). Положение Борисовского плато на юго-западе Приморского края, отсутствие оледенения на данной территории (Короткий и др., 1997) и возвышенность плато (высота г. Пологой 741 м над уровнем моря), вероятно, способствовали тому, что здесь сохранились рефугиумы многих теплолюбивых видов в эпоху плейстоцен–голоценового похолодания, которое в более северной части Приморского края привело к вымиранию термофильных элементов (Короткий и др., 1997). В последующий период морских и озерных трансгрессий, расширению ареала *A. manshuriensis* препятствовало, вероятно, затопление обширной территории в пределах Ханкайской равнины и прибрежных морских территорий. Согласно формуле «молекулярных часов» М. Нея (Nei, 1971), теоретическое время разобщения изученных популяций кирказона маньчжурского составляет около 6–7 тыс. лет. Таким образом, формирование популяций *A. manshuriensis* в нижнем течении рек Нежинка, Ананьевка и Борисовка, может быть приурочено к периоду общего снижения уровня Японского моря в течение последних 7 тыс. лет (Короткий и др., 1996). Следовательно, ареал вида расширялся во второй половине голоцена, а его фрагментация произошла, по-видимому, уже недавно, во время усиления хозяйственной деятельности человека и нарушения целостности лесов в XX веке.

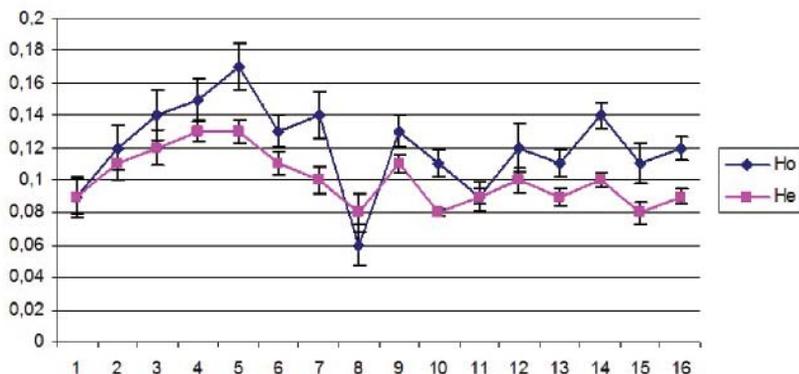


Рис. 38. Наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготность в 16 выборках *Aristolochia manshuriensis*, построенная на основе частот аллелей 5 полиморфных локусов.

Анализ распределения различных аллелей и генотипов внутри и между популяциями позволяет определить популяционно-генетическую структуру вида, степень его внутренней подразделённости, выявить процессы, происходящие в этих популяциях и оценить их интенсивность и возможные последствия (Алтухов и др., 1991, 1996; Алтухов, 1995). Анализ распределения частот аллелей внутри отдельных выборок, собранных с разных «пятен» в каждой популяции и общий тест на гетерогенность внутри популяций выявил внутрипопуляционную дифференциацию всех приморских популяций кирказона маньчжурского, кроме популяции МАН. Средние значения наблюдаемой гетерозиготности почти во всех исследованных выборках были выше средних значений ожидаемой гетерозиготности, при этом достоверное различие этих значений наблюдалось в выборках 5, 6, 7, 9, 10 и 13 (рисунок 38). Только в выборке 8 (популяция АН) среднее значение наблюдаемой гетерозиготности было ниже среднего значения ожидаемой гетерозиготности, однако эта разница недостоверна (рисунок 38). Данные анализа показывают, что популяции кирказона маньчжурского в Приморском крае гетерогенны, состоят из небольших групп, обладающих одинаковым набором аллелей, но отличающимся друг от друга по частотам аллелей, что может быть особенно важно при выживании каждой конкретной популяции.

Анализ популяционно-генетической структуры *A. manshuriensis* с помощью показателей F-статистик Райта (Wright, 1951) показал, что изученные популяции различаются по степени внутренней подразделённости. Интересно, что наиболее гетерогенны оказались выборки достаточно компактных популяций Неж и Ан (показатель F_{ST} , таблица 12), тогда как вну-

Таблица 12

Значения F-статистик Райта по 5 полиморфным локусам в 4 природных популяциях *Aristolochia manshuriensis*

Популяции	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Неж (5 выборок)	-0.1284	-0.0277	0.1209
Ан (3 выборки)	-0.1424	-0.0842	0.0576
МБ (5 выборок)	-0.0972	-0.0620	0.0393
МАН (3 выборки)	-0.1862	-0.1627	0.0224
Для всей совокупности выборок (16 выборок)	-0.1285	0.0049	0.1465
Для 4 популяций (совокупные выборки из популяций)	-0.0725	-0.0168	0.0650

Примечание: F_{IS} – коэффициент инбридинга особи относительно выборки; F_{IT} – коэффициент инбридинга особи относительно популяций; F_{ST} – показатель подразделённости выборок внутри популяций.

тренняя подразделённость отсутствовала в популяции МАН и была низкой в наиболее протяжённой популяции МБ. Степень подразделённости популяций определяется такими процессами, как дрейф генов, инбридинг и отбор (Солбриг, Солбриг, 1982; Antonovics, 1968; Hamrick, Godt, 1989; Jain, Bradshaw, 1966; Loveless, Hamrick, 1984). В подразделённых популяциях обмен генов между выборками способен противостоять «генетической эрозии», если его интенсивность достаточно высока (Hamrick, Godt, 1989; Loveless, Hamrick, 1984; Oostermeijer, 2000). Интенсивность миграции, или потока генов, зависит от наличия изоляционных барьеров и способности вида к распространению генетического материала (Loveless, Hamrick, 1984; Hamrick, Godt, 1989), которая у растений связана в первую очередь с системой размножения (вегетативное или семенное размножение, самоопыление, перекрёстное опыление, апомиксис) и со способом распространения семян (Солбриг, Солбриг, 1982). Кирказон маньчжурский специфически приспособлен к перекрёстному опылению, которое на данной территории осуществляют, как было показано выше, цветковые мухи рода *Pegoplata*, способные обеспечить эффективный перенос пыльцы только на небольшие расстояния. При мозаичной структуре популяций это способствует подразделённости популяций на отдельные скрещивающиеся внутри себя группы, в которых начинают преобладать такие микроэволюционные процессы, как дрейф генов и инбридинг.

Уровень генетической изменчивости и подразделённости вида определяется микроэволюционными процессами, протекающими в популяци-

ях: отбор, генетический дрейф и миграция генов. В стабильной популяции все эти процессы находятся в некотором равновесии, нарушение которого приводит к увеличению интенсивности прежде всего случайных процессов – генетического дрейфа. Генетический дрейф это стохастические изменения частот генов в последовательных поколениях в силу ограниченной численности любой популяции. Поскольку генетически эффективная численность популяции (N_e) практически всегда существенно ниже ее общей и репродуктивной численности, влияние дрейфа выражается в нарастающем из поколения в поколение инбридинге. Следствием дрейфа генов, таким образом, является убыль гетерозиготности, т.е. гомозиготизация популяции. Интенсивность дрейфа обратно пропорциональна величине N_e , то есть убыль генного разнообразия и деграция популяции происходит тем быстрее, чем меньше эффективный размер популяции (Алтухов, 1995).

Процессы миграции, или обмена генов, компенсируют эффекты случайного дрейфа генов. Природные популяции, как правило, не являются однородными по своей внутренней структуре, а представляют собой системы субпопуляций, которые одновременно испытывают воздействие и случайного дрейфа, и миграции генов, взаимно уравнивающих друг друга (Алтухов, 1995).

Резкое падение эффективной численности и обмена генами происходит практически всегда, когда наносят вред местам размножения вида. В этих случаях следует ожидать увеличения межпопуляционного и сокращения внутривидового разнообразия (Алтухов, 1995). Напротив, чрезмерное перемешивание прежде изолированных генофондов может привести к нежелательным последствиям аутбридинга, – к снижению жизнеспособности гибридных комбинаций («сегрегационный» генетический груз).

Для выявления смещения популяционного равновесия в популяциях киргиза маньчжурского вследствие дрейфа генов, связанного с недавним сокращением численности, была использована программа «Bottleneck» (Maruyama, Fuerst, 1985; Cornuet, Luikart, 1996; Luikart et al., 1998). Эта программа позволяет проанализировать вероятность равновесия между дрейфом генов и мутационным процессом в каждой популяции, исходя из модели множественных аллелей IAM (Maruyama, Fuerst, 1985). Результаты анализа приведены в таблице 13. Из трёх используемых тестов в популяциях Неж и Ан избыток генного разнообразия достоверно показали два теста, в популяции МБ – только один тест. Кроме того, качественный индикатор («mode-shift» indicator), который позволяет отличать популяции, прошедшие через «бутылочное горлышко», от стабильных популяций, также выявил смещение равновесия в популяциях Неж, Ан и МАН. Согласно модели

Таблица 13

Достоверность избытка (+) или недостатка (-) генного разнообразия в популяциях *Aristolochia manshuriensis* по трём тестам на основе множественной аллельной модели IAM (Maruyama, Fuerst, 1985)

Популяция	Sign test (Cornuet, Luikart, 1996)	Standardized differences test (Cornuet, Luikart, 1996)	Wilcoxon sign-rank test (Luikart, Cornuet, 1997)	"mode-shift" indicator
Неж	+0.010*	+0.005*	+0.016	наличие отклонения
Ан	+0.010*	+0.004*	+0.016	наличие отклонения
МБ	+0.284	+0.008*	+0.078	равновесие
МАН	+0.031	+0.003*	+0.031	наличие отклонения

Примечание: * – достоверность $p > 0.010$.

IAM, в популяциях, которые прошли через недавнее снижение их эффективного размера, число аллелей уменьшается быстрее, чем гетерозиготность. Так, в популяции, недавно прошедшей через «бутылочное горлышко», наблюдаемое генное разнообразие более высокое, чем ожидаемая величина, вычисленная из наблюдаемого числа аллелей при допущении равновесия процессов в популяции (Luikart et al., 1998). Таким образом, обнаруженный в ходе анализа избыток наблюдаемой гетерозиготности в популяциях Неж, Ан и МАН указывает на недавнее сокращение их численности. Результаты, полученные с помощью программы «Bottleneck», демонстрируют генетические последствия сокращения численности этих трёх популяций, в которых действие антропогенного фактора наиболее сильно.

Таким образом, результаты анализа позволяют говорить о равновесном состоянии только популяции МБ, демонстрируя в остальных популяциях смещение популяционного равновесия в сторону дрейфа генов, связанное с недавним сокращением численности.

Следует отметить, фрагментация лесов изменяет поток генов внутри популяций с мозаичной структурой, что было хорошо показано на канадских кленах при сравнении популяций с мозаичной и непрерывной структурой (Young, Merriam, 1994). Изученные популяции кирказона маньчжурского различаются по протяжённости ости, плотности и возрастному составу растений, степени антропогенной нагрузки. Самая большая и протяжённая популяция – МБ, растения в ней распределены более равномерно, мозаичная структура выражена слабо. Это единственная популяция, которая почти

не испытывает антропогенного влияния, поскольку находится в труднодоступных местах. Популяция представлена растениями разного возраста, от сеянцев до старых лиан, много репродуктивных особей. Низкий уровень подразделённости этой популяции, вероятно, связан с тем, что лес в этих местах не фрагментирован, представляет собой сплошную, непрерывную полосу. В таких ненарушенных местообитаниях поток генов ограничен только способностью самого вида к размножению и расселению.

Популяция МАН также достаточно удаленная, но только одна выборка растений (15) находится в ненарушенных местообитаниях, где не было рубок. Эта выборка очень компактная, представлена взрослыми, репродуктивными лианами, молодым подростом и сеянцами. Две другие выборки (14 и 16) взяты в местах, где ранее были значительные вырубки, в настоящее время лесной покров в основном замещен вторичными сукцессиями. В этих выборках были обнаружены только молодые растения в стадии вегетативного развития. Отсутствие подразделённости в этой популяции может объясняться двумя причинами: либо до вырубок эта популяция была также непрерывна, как и популяция МБ, либо после вырубок популяция восстанавливалась из сохранившихся репродуктивных особей выборки 15, то есть в выборках 14 и 16 мы наблюдаем «эффект основателя». Обе причины равновероятны, поскольку величина F_{ST} у долгоживущих видов часто отражает ту интенсивность обмена генами, которая была в момент установления нынешних популяций (Oostermeijer, 2000). В то же время, в пользу «эффекта основателя» говорят результаты анализа «Bottleneck» (таблица 13), которые демонстрируют смещение равновесия в популяции МАН. На эффект «бутылочного горлышка» в популяции МАН указывает и качественный индикатор («mode-shift» indicator), который в другой слабо подразделённой популяции, МБ, не показал отклонения от равновесного состояния.

Наиболее сильное антропогенное воздействие испытывают популяции Неж и Ан. Обе популяции находятся в нижнем течении рек Нежинка и Ананьевка, близко к районам интенсивной хозяйственной деятельности, где, помимо рубок лесов и вырубки самой лианы, часто происходят низовые пожары, уничтожающие зрелые, одревесневшие лианы. Обе популяции небольшие, компактные, выборки расположены недалеко друг от друга, состоят из молодых лиан в ювенильном состоянии, репродуктивных особей и сеянцев в этих местообитаниях не обнаружено. Эти популяции характеризуются высоким уровнем генетической дифференциации, особенно популяция Неж (таблица 12), несмотря на отсутствие видимых изолирующих барьеров между выборками. Ограничение генного потока внутри популяций Неж и Ан может быть следствием частых пожаров и вырубок лианы, которые привели к потере репродуктивных особей в данной местности и

усилению стохастических процессов в каждом «пятне» при сокращении их эффективного размера в последние годы. Показатель F_{ST} зависит от интенсивности обмена генов, и связан с величиной генного потока соотношением $N_E m = (1/F_{ST} - 1)/4$ (Slatkin, 1985). Рассчитанные из показателя F_{ST} величины генного потока ($N_E m$) между выборками *A. manshuriensis* составляют 1.82, 4.08, 6.10 и 10.91 мигранта на поколение в популяциях Неж, Ан, МБ и МАН, соответственно. Согласно правилу «один мигрант на поколение» (Slatkin, 1985), уточненному Л. Миллсом и Ф.В. Аллендорфом (Mills, Allendorf, 1996), для предотвращения негативных последствий генетического дрейфа необходим поток генов до 10 мигрантов на поколение (Mills, Allendorf, 1996) или больше (Ефремов, 2006). Очевидно, что в популяции Неж поток генов 1.82 недостаточно высок, чтобы предотвратить последствия генетического дрейфа. Таким образом, ограниченный обмен генами между выборками популяции Неж, наряду с отсутствием репродуктивных особей и низкой численностью, свидетельствует о крайней уязвимости этой популяции, особенно при постоянном антропогенном воздействии.

Кроме влияния дрейфа генов, нельзя исключать влияние вегетативного размножения на структуру популяций Неж и Ан. Как было отмечено выше, в этих двух популяциях не было обнаружено не только репродуктивных особей, но и семян, несмотря на то, что кирказон маньчжурский в основном размножается семенами. Способность к укоренению у *A. manshuriensis* слабая (Слизик, 19786), но стелющаяся часть лианы способна давать побеги и дополнительные корни из боковых почек, что иногда ошибочно принимают за вегетативное размножение. Такие дополнительные побеги одного и того же растения могут, вероятно, увеличивать плотность растений в «пятне». Постепенно накапливаются различия между отдельными «пятнами».

Таким образом, реликтовые популяции *A. manshuriensis* характеризуются невысоким уровнем генетической дифференциации в пределах ареала вида на территории России. Генетическая близость изученных популяций, вероятно, связана с историей расселения вида и взаимодействием различных факторов, таких как миграции и отбор. В то же время, результаты показывают, что в настоящее время баланс между систематическими и случайными факторами микроэволюции в популяциях кирказона маньчжурского смещается, особенно в нарушенных местообитаниях, вследствие генетического дрейфа, связанного с сокращением репродуктивного и эффективного размера популяций, в том числе обусловленным интенсивным антропогенным воздействием. Это хорошо видно на примере изученных популяций, две из которых, Неж и Ан, подвержены сильному антропогенному влиянию, третья, МАН, – испытывает более слабую антропогенную

нагрузку, но находится в нарушенных местообитаниях, и четвертая популяция, МБ, – практически не затронута изменениями. Система субпопуляций, связанных потоком генов, позволяет виду оставаться генетически более устойчивым в последовательных поколениях, чем не структурированная популяция (Алтухов, 2003; Kimura, 1968; Wright, 1951), что особенно важно для выживания редкого вида. У кирказона маньчжурского популяция МБ, видимо, является единственной на российской части ареала, где достаточно интенсивный поток генов противостоит неблагоприятным последствиям дрейфа генов и инбридинга. Однако, при наличии подобной структуры исчезновение даже одной субпопуляции может драматически сказаться на генетическом разнообразии и выживаемости всей популяции, как это произошло, вероятно, с популяцией МАН. В подразделённых популяциях Неж и Ан в каждом «пятне» усиливается влияние дрейфа генов и инбридинга, а поток генов между «пятнами» все более ослабевает.

3.2. *ARISTOLOCHIA CONTORTA*

Как и в случае с кирказоном маньчжурским, генетика кирказона скрученного до последнего времени оставалась неизученной, в то время как его популяции испытывали все большее давление антропогенных факторов. В Приморском крае местообитания *A. contorta*, как и *A. manshuriensis*, локализуются в основном в местах интенсивной хозяйственной деятельности, вследствие чего подвержены различным неблагоприятным воздействиям. Кирказон скрученный имеет узкую экологическую приуроченность к определённым местообитаниям, разрушение которых представляет основную угрозу существованию вида.

Чтобы оценить состояние природных популяций кирказона скрученного, уровень его генетической изменчивости и популяционная структура также была изучена методом аллозимного анализа. Для этого был проведён электрофоретический анализ листовой ткани 247 растений из 9 природных популяций *A. contorta* (таблица 14, рисунок 39). В ходе исследования изучено 15 ферментных систем, 13 из которых стабиль-



Рис. 39. Места выборки растений *Aristolochia contorta* (расшифровка сокращенных обозначений дана в таблице 14).

Таблица 14

Изученные популяции, объем выборок и характеристика мест обитания
Aristolochia contorta

Бассейн реки	Пункт сбора	Сокращение	N _{поп'} , размер популяции	N _v , размер выборки	Местообитание
Суходол	с. Романовка	РМ	35	14	Кустарниково-травянистые заросли у железной дороги
Петровка	п. Большой Камень	БК	60	19	Пойменный ольхово-ивовый лес рядом с автотрассой
Раздольная	с. Тереховка, Уссурийский р-н	УР	150	36	Пойменный ольхово-ивовый и черёмухово-ивовый лес
	с. Фадеевка, с. Ново-Георгиевка, Октябрьский р-н	ОР	350	59	
Борисовка	с. Борисовка	БР	110	26	
Артёмовка	с. Штыково	ШТ	100	27	Долина ручья рядом с автотрассой
Шкотовка	п. Шкотово	ШК	50	25	
	Среднее течение р. Шкотовка, в 20 км к востоку от п. Шкотово	СТ	150	22	Пойменный лес, участок сброса отходов
Оз. Птичьё	В 10 км к северо-востоку от п. Хасан	ПТ	100	19	Дубовое редколесье у подножья склона, разнотравье

Примечание: сокращенные названия приведены по названию близлежащих пунктов или по району произрастания. РМ – романовская популяция, БК – большекаменская, УР – популяция Уссурийского района, ОР – популяция Октябрьского района, БР – борисовская, ШТ – штыковская, ШК – шкотовская, СТ – популяция среднего течения р. Шкотовка, ПТ – популяция оз. Птичьё.

но выявлялись. Было идентифицировано 30 аллельных вариантов, предположительно кодируемых 22 локусами (таблица 15). Наглядное изображение электрофореграмм некоторых изученных локусов представлено на рисунках 40 и 41, подробное описание которых опубликовано (Наконечная и др., 2012б). Выявленные аллельные варианты интерпретировали на основе данных о четвертичной структуре фермента и принципа кодоминантного наследования.

Таблица 15

Исследованные ферментные системы и количество полиморфных локусов и аллелей, выявленных в листьях *Aristolochia contorta*

Фермент	Сокращение	Интерпретируемые локусы	Полиморфные локусы	Аллели
Алкогольдегидрогеназа	ADH	1	0	1
Аспартатаминотрансфераза	AAT	1	1	3
Глутаматпируваттрансаминаза	GPT	1	0	1
Глюкозофосфатизомераза	GPI	4	0	4
Изоцитратдегидрогеназа	IDH	2	0	2
Кислая фосфатаза	ACP	1	0	1
Колориметрическая эстераза	EST	1	0	1
Лейцинаминопептидаза	LAP	1	1	4
Малатдегидрогеназа	MDH	3	0	3
Малик-энзим	ME	1	0	1
Флюоресцентная эстераза	FE	2	2	4
Фосфоглюкомутаза	PGM	2	0	2
6-фосфоглюконатдегидрогеназа	6-PGD	2	1	3
Всего		22	5	30

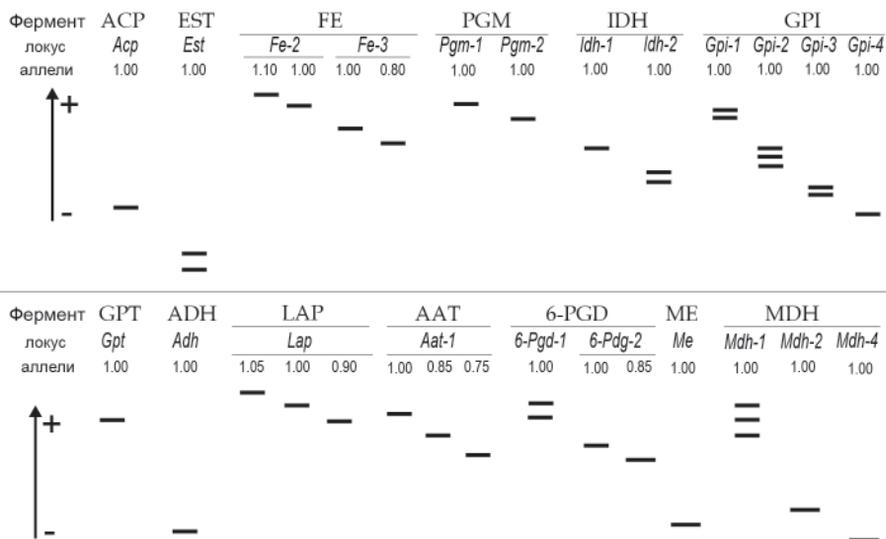


Рис. 40. Схематическое изображение некоторых электрофоретических вариантов ферментов в листьях *Aristolochia contorta*.

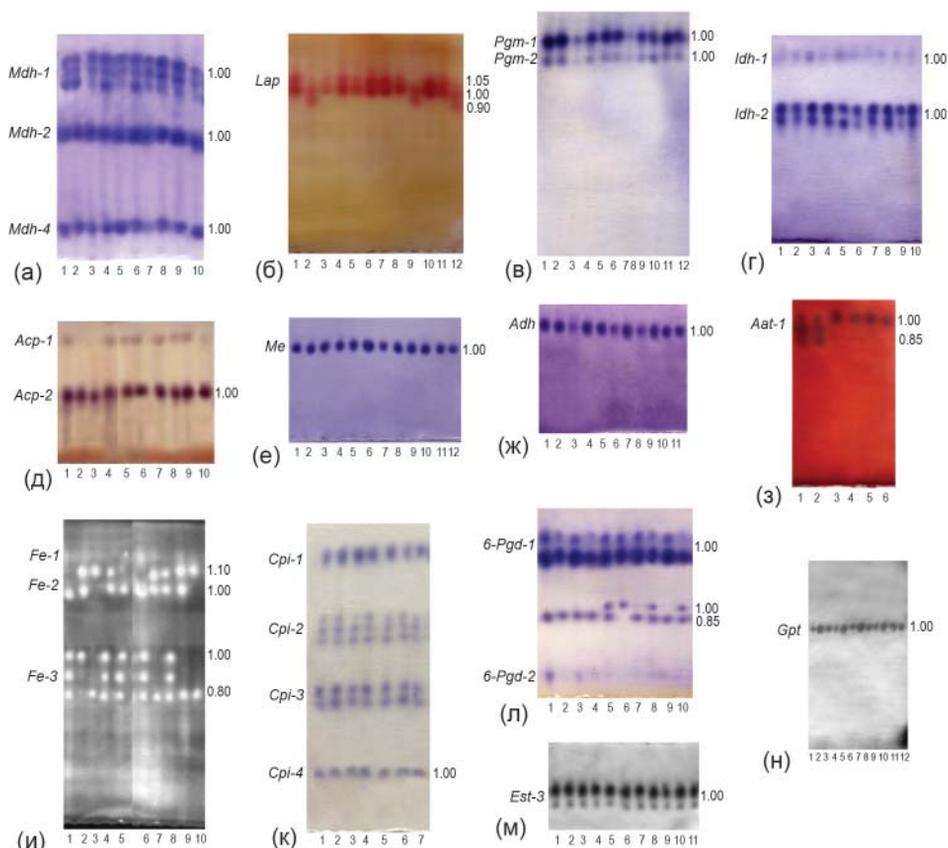


Рис. 41. Электрофореграммы ферментов *Aristolochia contorta*:

(а) – MDH: 1–10 – $Mdh-1^{1.00}$ / $Mdh-2^{1.00}$ / $Mdh-4^{1.00}$.

(б) – LAP: 1, 3–8, 10, 11 – $Lap^{1.00/1.05}$; 2, 9, 12 – $Lap^{0.90/1.00}$.

(в) – PGM: 1–12 – $Pgm-1^{1.00}$ / $Pgm-2^{1.00}$.

(г) – IDH: 1–10 – $Idh-1^{1.00}$ / $Idh-2^{1.00}$.

(д) – ACP: 1–10 – $Acp-2^{1.00}$.

(е) – ME: 1–11 – $Me^{1.00}$.

(ж) – ADH: 1–11 – $Adh^{1.00}$.

(з) – AAT: 1–2 – $Aat-1^{0.85/1.00}$; 3–6 – $Aat-1^{1.00}$.

(и) – FE: 1, 5, 6 – $Fe-2^{1.00}$ / $Fe-3^{0.80/1.00}$; 2 – $Fe-2^{1.00/1.10}$ / $Fe-3^{1.00}$; 3, 10 – $Fe-2^{1.10}$ / $Fe-3^{0.80}$; 4, 8 – $Fe-2^{1.00/1.10}$ / $Fe-3^{0.80/1.00}$; 7, 9 – $Fe-2^{1.00/1.10}$ / $Fe-3^{0.80}$.

(к) – GPI: 1–7 – $Gpi-1^{1.00}$ / $Gpi-2^{1.00}$ / $Gpi-3^{1.00}$ / $Gpi-4^{1.00}$.

(л) – 6-PGD: 1–4, 7, 9 – $6-Pgd-1^{1.00}$ / $6-Pgd-2^{0.85}$; 5, 8, 10 – $6-Pgd-1^{1.00}$ / $6-Pgd-2^{0.85/1.00}$; 6 – $6-Pgd-1^{1.00}$ / $6-Pgd-2^{1.00}$.

(м) – EST: 1–11 – $Est-3^{1.00}$.

(н) – GPT: 1–12 – $Gpt^{1.00}$.

В целом, по 13 исследованным ферментным системам из тканей листьев кирказона скрученного идентифицировано 17 мономорфных и 5 полиморфных (*Aat-1*, *Fe-2*, *Fe-3*, *6-Pgd-2*, *Lap*) генов. Предполагается, что 10 ферментов находятся под мультигенным контролем, три фермента – под контролем одного локуса. Полиморфные локусы стабильно выявляются и надежно интерпретируются, поэтому были использованы в качестве маркеров для исследования генетического разнообразия *A. contorta*.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *ARISTOLOCHIA CONTORTA*

Частоты аллелей в исследованных популяциях представлены в таблице 16. Все полиморфные локусы были высоко изменчивыми (наблюдаемая гетерозиготность – не ниже 35%). По каждому полиморфному локусу

Таблица 16

Частоты аллелей полиморфных локусов в популяциях *Aristolochia contorta* и тест на гетерогенность

Локус	Аллель	Популяция								
		РМ	БК	УР	ОР	БР	ШТ	ШК	СТ	ПТ
<i>Aat-1</i>	0.75	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.080	0.614	0.053
	0.85	0.786	0.868	0.306	0.458	0.462	0.370	0.540	0.000	0.158
	1.00	0.214	0.132	0.694	0.542	0.538	0.630	0.380	0.386	0.789
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 63.08$; $df = 8$; $p < 0.01$										
<i>Fe-2</i>	1.00	0.464	1.000	0.583	0.551	0.500	0.648	0.700	0.932	0.211
	1.10	0.536	0.000	0.417	0.449	0.500	0.352	0.300	0.068	0.789
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 78.29$; $df = 8$; $p < 0.01$										
<i>Fe-3</i>	0.80	0.214	0.026	0.597	0.322	0.308	0.352	0.280	0.523	0.632
	1.00	0.786	0.974	0.403	0.678	0.692	0.648	0.720	0.477	0.368
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 54.35$; $df = 8$; $p < 0.01$										
<i>Lap</i>	0.00	0.000	0.000	0.083	0.051	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000
	0.90	0.357	0.053	0.000	0.068	0.154	0.407	0.180	0.091	0.105
	1.00	0.500	0.500	0.445	0.449	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
	1.05	0.143	0.447	0.472	0.432	0.346	0.056	0.320	0.409	0.395
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 1.30$; $df = 8$; $p > 0.05$										
<i>6-Pgd-2</i>	0.85	0.679	0.500	0.750	0.424	0.673	0.000	0.720	0.318	0.000
	1.00	0.321	0.500	0.250	0.576	0.327	1.000	0.280	0.682	1.000
Тест на гетерогенность: $\chi^2 = 135.70$; $df = 8$; $p < 0.01$										
Тест на гетерогенность по всем локусам: $\chi^2 = 332.72$; $df = 40$; $p < 0.01$										

Таблица 17

Параметры аллозимного полиморфизма в популяциях *Aristolochia contorta*

Популяция	P_{95} , %	P_{99} , %	H_o	H_e	A	n_e
РМ	22.73	22.73	0.091	0.104	1.27	1.116
БК	13.64	18.18	0.086	0.062	1.23	1.066
УР	22.73	22.73	0.119	0.105	1.27	1.113
ОР	22.73	22.73	0.144	0.114	1.32	1.129
БР	22.73	22.73	0.177	0.115	1.27	1.130
ШТ	18.18	18.18	0.135	0.089	1.27	1.110
ШК	22.73	22.73	0.133	0.111	1.32	1.125
СТ	22.73	22.73	0.118	0.098	1.32	1.109
ПТ	18.18	18.18	0.108	0.081	1.27	1.088
В среднем	20.71	21.21	0.129	0.101	1.28	1.111
По виду	22.73	22.73	0.128	0.119	1.36	1.135

Примечание: P_{95} , P_{99} , % – полиморфность с учетом 95 и 99 %-го критерия, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, A – количество аллелей на локус, n_e – эффективное число аллелей на локус.

су обнаружено от 2 до 4 аллелей, при этом число аллелей на популяцию в среднем составило 28. Около 80% всех выявленных аллелей (24 аллеля включая 17 аллелей мономорфных локусов) были отмечены во всех 9 популяциях, 2 аллеля обнаружены только в трёх популяциях: *Aat-1*^{0.75} – ШК, СТ, ПТ и *Lap*^{0.00} – УР, ОР, ШТ. Максимальное количество аллелей (29) выявлено в популяциях ОР и ШК.

На основе аллельных частот 22 локусов были рассчитаны основные показатели генетической изменчивости (таблица 17): максимальные величины установлены в популяции БР ($P_{99} = 22.7\%$, A = 1.36, $H_o = 0.177$, $H_e = 0.115$), минимальные – в популяции БК ($P_{99} = 13.6\%$, A = 1.23, $H_o = 0.086$, $H_e = 0.062$). Средние показатели по 9 популяциям ($P_{99} = 21.2\%$, A = 1.28, $H_o = 0.129$, $H_e = 0.101$) были сопоставимы с величинами, полученными для *A. manshuriensis* (P = 24.1%, A = 1.24, $H_o = 0.12$, $H_e = 0.10$) и близки к средним значениям, установленным в популяциях редких видов (P = 29.9%, A = 1.53, $H_e = 0.095$) (Gitzendanner, Soltis, 2000), видов с небольшим размером ареала (P = 30.6%, A = 1.45, $H_e = 0.105$) (Hamrick, Godt, 1989) и видов, способных к половому и бесполому размножению (P = 29.4%, A = 1.47, $H_e = 0.103$) (Hamrick, Godt, 1989). Уровень разнообразия, выраженный как H_e , близок к таковому для видов, которые характеризуются смешанной системой скрещивания (наличие полового и бесполого размножения) и чьи семена рас-

пространяются ветром ($N_E = 0.118$) (Hamrick, Godt, 1996). Установленный в популяциях *A. contorta* в целом невысокий уровень полиморфизма определённо связан с узкой экологической приуроченностью вида, слабой конкурентной способностью и значительной фрагментированностью популяций, что способствует проявлению последствий дрейфа генов.

Однако мы полагаем, что в значительной степени наблюдаемый уровень генетического разнообразия формируется на основе особенностей биологии размножения вида. Известно, что система размножения является одной из наиболее важных биологических особенностей, ответственных за уровень и характер распределения аллозимного полиморфизма между популяциями (Hamrick, Godt, 1989, 1996). Для популяций, существующих в стрессовых условиях (в том числе и на периферии основного ареала), неоднократно было отмечено изменение преимущественного способа размножения (Наконечная и др., 2007; Холина и др., 2009; Barcaccia et al., 2006; Bruun et al., 2007). Там, где исчезают подходящие опылители, снижена фертильность пыльцы, нет условий для нормального вызревания семян, растения, имеющие смешанную систему скрещивания, нередко переходят к неполовой репродукции. Интересно отметить, что невысокие показатели генетического разнообразия, полученные в ходе исследования двух видов лиан (видов с такой же жизненной формой, как и у *A. contorta*) – *Bryonia alba* L. (Novak, Mack, 1995) и *Ancistrocladus korupensis* D.W. Thomas et Gereau (Foster, Sork, 1997), по мнению авторов, могут быть отчасти связаны с наличием апомиксиса у данных видов. В настоящее время установлено, что апомиксис довольно широко распространён в растительном мире (Наумова, 2008; Hörandl, 2010). С учетом того, что первичные данные по репродуктивной биологии *A. contorta* косвенно указывают на возможное наличие апомиксиса (высокая степень дефектности пыльцы, слабая завязываемость семян, допустимо предположить, что этот процесс может оказывать свое влияние на формирование уровня полиморфизма *A. contorta*. Для апомиктических видов свойственно превышение значений наблюдаемой гетерозиготности над ожидаемой (Foster, Sork, 1997), что отмечено и для *A. contorta*. Безусловно, достоверно утверждать о наличии апомиксиса у данного вида, и охарактеризовать конкретный тип апомиксиса можно только в результате цитоэмбриологических исследований.

Современные методы генетической статистики, разработанные на базе теоретических основ популяционной генетики и реально выявленных частот аллелей в популяциях, позволяют оценить вклад различных типов репродукции в размножение природных популяций. Один из таких методов, – анализ клонального (генотипического) разнообразия мультилокусных генотипов, – был проведён для *A. contorta*, поскольку имеющиеся

Таблица 18

Генотипическое разнообразие в популяциях *Aristolochia contorta*

Популяция	N	G	G/N	N/G	D	Число уникальных генотипов, (в %)
PM	14	9	0.64	1.6	0.91	3 (33.3)
БК	19	6	0.32	3.2	0.60	3 (50.0)
УР	36	15	0.42	2.4	0.92	9 (60.0)
ОР	59	37	0.63	1.6	0.98	22 (59.5)
БР	26	14	0.54	1.9	0.94	3 (21.4)
ШТ	27	9	0.33	3.0	0.82	7 (77.8)
ШК	25	15	0.60	1.7	0.93	7 (46.7)
СТ	22	9	0.41	2.4	0.80	8 (88.9)
ПТ	19	11	0.58	1.7	0.94	7 (63.6)
В среднем	27.4	13.9	0.51	2.2	0.87	7.7 (55.7)

Примечание: N – размер выборки, G – число различных генотипов, G/N – генотипическое разнообразие, N/G – число растений на клон, D – индекс разнообразия Симпсона для клональных растений (Pleasant, Wendel, 1989; Ellstrand, Roose, 1987).

данные предполагают возможность клонального или бесполого размножения у этого вида (таблица 18).

В целом для 247 исследованных растений было обнаружено 93 мультилокусных генотипа, из них 69 генотипов (74.2%) были уникальными (или «локальными», по: Ellstrand, Roose, 1987; Widen et al., 1994), то есть встречались только в одной популяции. Другие найдены в нескольких популяциях: 20 генотипов встречались в 2 популяциях, из них 13 – в двух близко расположенных популяциях; 4 генотипа отмечены в 3–5 популяциях («широко распространенные» генотипы, по: Ellstrand, Roose, 1987; Widen et al., 1994). Внутри каждой популяции встречалось в среднем 13.9 мультилокусных генотипов (таблица 18). Наименьшее число генотипов в популяции было 6 (БК), наибольшее – 37 (ОР). Показатель клонального разнообразия (G/N), указывающий долю индивидуальных генотипов в данной выборке, оказался довольно высоким и варьировал от 0.32 в популяции БК до 0.64 в популяции PM. Среднее значение G/N, полученное в популяциях *A. contorta* (0.51), было выше, чем величины, приведенные для 23 из 26 видов клонообразующих растений (Ellstrand, Roose, 1987) и среднего значения, определённого для 45 видов клонообразующих растений (G/N = 0.27 (Widen et al., 1994)). На уровне вида показатель G/N составил 0.377. Параметр G/N равен единице при максимальном генотипическом разнообразии, т.е. когда каждое

растение представляет собой отдельную генету (Pleasant, Wendel, 1989). Соответственно, уровень полового возобновления для *A. contorta* составил 37.7%, клонального возобновления – 62.3% (1 – G/N).

Индекс разнообразия Симпсона (D) был весьма высоким во всех популяциях за исключением БК (таблица 18), по сравнению со средним показателем для клонообразующих растений ($D = 0.62$ (Ellstrand, Roose, 1987); $D = 0.75$ (Widen et al., 1994)). Высокий уровень генотипического разнообразия и присутствие различных клонов может быть обусловлено как исходным заселением данного местообитания группой растений с различными генотипами, так и наличием семенного возобновления внутри локальностей в настоящее время. На это указывает также присутствие в каждой популяции определённого количества уникальных генотипов, доля которых варьирует от 21.4% в популяции БР до 88.9% в популяции СТ. Высокий процент уникальных генотипов на небольшое количество клонов в популяциях ШТ, СТ, ПТ свидетельствует о наиболее высоком уровне половой репродукции в этих локальностях. Примечательно, что в популяции БР, с самым высоким уровнем разнообразия, отмечено наименьшее количество уникальных генотипов и довольно высокий уровень клональной репродукции, что позволяет предположить закрепление гетерозиготных генотипов за счёт вегетативного размножения и/или апомиксиса. Одинаковые генотипы внутри одной популяции, вероятно, могут быть клонами одного растения, и число растений на клон (N/G) изменяется от 1.6 в популяциях РМ и ОР до 3.2 в популяции БК. Средний размер клона составил 2.2 растения. В то же время наличие одинаковых генотипов в двух близко расположенных, но изолированных расстоянием и преградами популяциях позволяет предположить возобновление растений из апомиктичных семян в результате их распространения ветром и водой, как было показано на других видах растений (Bruun et al., 2007). Также было показано, что в более суровых (засушливых) условиях увеличивается доля полового возобновления (Bruun et al., 2007). Существование в более суровых условиях на границе ареала может оказывать влияние и на соотношение способов размножения *A. contorta*. Различия в уровнях генотипического разнообразия, обнаруженные в популяциях кирказона скрученного, могут быть связаны с различием вклада полового и клонального возобновления в разных популяциях. Клональное возобновление в данном случае может предполагать как собственно вегетативное, так и бесполое, то есть какую-либо форму апомиктичной репродукции. Аналогичное влияние вклада полового размножения и апомиксиса в генотипическое разнообразие популяций было описано для *Bryonia alba* (Novak, Mack, 2000). Выраженная пластичность репродуктивной стратегии вида позволяет ему в ограниченных экологических пределах закреплять

ся на подходящих территориях, выживать в неоптимальных условиях и использовать различные механизмы размножения для поддержания генетического разнообразия.

В то же время, выявленная у *A. contorta* вариабельность уровня генетического разнообразия в популяциях, вероятно, отчасти связана с различной интенсивностью антропогенного давления на обследованной территории. В популяции БК такое давление наиболее интенсивно, что, в свою очередь, приводит к сокращению численности особей и, следовательно, к усилению генетического дрейфа. Чтобы оценить смещение популяционного равновесия вследствие дрейфа генов, связанного с недавним сокращением численности, была использована программа «Bottleneck» (Maruyama, Fuerst, 1985; Cornuet, Luikart, 1996; Luikart et al., 1998). Данные этого анализа (таблица 19) показали, что из трёх используемых тестов в популяциях УР, ОР, БР, ШТ и ШК избыток генного разнообразия достоверно показал только один тест. Качественный индикатор («mode-shift» indicator), также выявил смещение равновесия во всех популяциях кроме СТ. Так, обнаруженный избыток наблюдаемой гетерозиготности почти во всех популяциях, кроме СТ, указывает на недавнее сокращение их численности. Только СТ находится в равновесном состоянии. Важно, что в этой популяции число аллелей на

Таблица 19

Достоверность избытка (+) или недостатка (-) генного разнообразия в популяциях *Aristolochia contorta* по трём тестам на основе множественной аллельной модели IAM (Maruyama, Fuerst, 1985)

Популяции	Sign test (Cornuet, Luikart, 1996)	Standardized differences test (Cornuet, Luikart, 1996)	Wilcoxon sign-rank test (Luikart, Cornuet, 1997)	«mode-shift» indicator
По виду	+ 0.018	+ 0.0003*	+ 0.016	нормальное распределение
РМ	+ 0.025	+ 0.025	+ 0.016	наличие отклонения
БК	+ 0.623	+ 0.372	+ 0.438	наличие отклонения
УР	+ 0.018	+ 0.001*	+ 0.016	наличие отклонения
ОР	+ 0.017	+ 0.0002*	+ 0.016	наличие отклонения
БР	+ 0.033	+ 0.003*	+ 0.016	наличие отклонения
ШТ	+ 0.061	+ 0.006*	+ 0.031	наличие отклонения
ШК	+ 0.030	+ 0.007*	+ 0.016	наличие отклонения
СТ	+ 0.136	+ 0.023	+ 0.031	нормальное распределение
ПТ	+ 0.363	+ 0.122	+ 0.094	наличие отклонения

Примечание: * – достоверность $p > 0.010$.

локус и полиморфность максимальные при средних значениях гетерозиготности. Кроме того, в этой популяции редкий для вида в целом аллель *Aat-1*^{0.75} является преобладающим и составляет 0.614 (таблица 16), а число растений на клон N/G – 2.4. Вероятно, сформированное оптимальное генное разнообразие поддерживается за счёт вегетативного размножения. В то же время, особенности произрастания популяции (1/2 численности особей популяции находятся на склоне в 50 м от автомагистрали) до настоящего времени еще уберегали популяцию от уничтожения. Однако усиление давления антропогенного пресса на территории (близость реки Стеглянухи, привлекающей отдыхающих) может в ближайшее время негативно сказаться на состоянии пока еще благополучной популяции.

Интересны результаты по виду в целом. Один из трёх тестов также указывает на события «бутылочного горлышка», но два других теста и качественный индикатор характеризуют совокупность всех популяций как находящуюся в равновесном состоянии. В целом можно заключить, что на уровне вида смещения популяционного равновесия вследствие дрейфа генов пока не наблюдается, однако почти каждая популяция в отдельности уже несет негативные последствия сокращения численности. В этом не последнюю роль играет антропогенный фактор, действие которого возрастает.

ПОДРАЗДЕЛЁННОСТЬ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *ARISTOLOCHIA CONTORTA*

Оценка степени подразделённости популяций на основе коэффициентов инбридинга Райта свидетельствует, что на межпопуляционную изменчивость *A. contorta* приходится 16.8% от выявленной генетической изменчивости (таблица 20). Довольно высокий уровень дифференциации популяций близок к таковому у *Pueraria lobata* ($G_{ST} = 0.199$) (Кожевников

Таблица 20

Анализ популяционной структуры *Aristolochia contorta*

Локусы	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
<i>Aat-1</i>	0.011	0.216	0.207
<i>Fe-2</i>	-0.292	-0.075	0.168
<i>Fe-3</i>	-0.099	0.030	0.117
<i>Lap</i>	-0.719	-0.611	0.063
<i>6-Pgd</i>	-0.162	0.179	0.293
По всем локусам	-0.282	-0.067	0.168

Примечание: F_{IS} – коэффициент инбридинга особи относительно популяции; F_{IT} – коэффициент инбридинга особи относительно всего вида; F_{ST} – показатель подразделённости популяций.

и др., 2005), к средним показателям для перекрёстно-опыляемых видов ($G_{ST} = 0.197$) и видов, способных к половому и бесполому размножению ($G_{ST} = 0.213$) (Hamrick, Godt, 1989). Показатель потока генов ($N_e m$), определённый на основе F_{ST} , составил 1.24. Обнаруженный уровень межпопуляционной дифференциации связан как с современной фрагментацией ареала в результате антропогенных воздействий, так и с особенностями его размножения. Выраженная дефектность пыльцы, негативно влияющая на процесс оплодотворения, низкая продуктивность, плохая выживаемость проростков из-за конкурентных взаимодействий, – все это ограничивает обмен генами и приводит к генетической дивергенции популяций. При этом углублению дивергенции препятствует формирование семян в результате полового процесса и распространение их путем анемо- и гидрохории. Отрицательное значение F_{IS} ($F_{IS} = -0.282$) указывает на полное отсутствие инбридинга и избыток гетерозигот, маловероятный в случае свободного скрещивания. Это может указывать на действие отбора в пользу гетерозигот. В любом случае, размножение наиболее приспособленных гетерозиготных генотипов, очевидно, происходит путем неполового воспроизводства.

Таким образом, сложившаяся в северной части ареала *A. contorta* генетическая структура популяций, а также уровень и характер распределения генетического разнообразия вида отражают взаимодействие нескольких процессов. В основе лежит долговременная история вида, включающая распространение вида на север, фрагментацию ареала и изоляцию популяций. Все эти процессы усиливают интенсивность генетического дрейфа. С другой стороны, нельзя исключать влияние отбора, особенно учитывая существование приморских популяций кирказона скрученного на периферии ареала вида в жёстких климатических условиях.

Оценка степени близости между популяциями проведена на основе коэффициентов генетических расстояний M . Нея (Nei, 1972), учитывая как полиморфные, так и мономорфные гены. Популяции *A. contorta* в Приморском крае характеризуются высоким уровнем генетического сходства (таблица 21, рисунок 42).

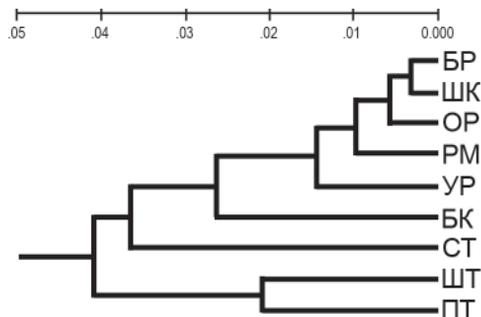
Вычисленные значения генетических расстояний (D_N) между популяциями составляют от 0.0032 до 0.0873 (таблица 21), составив в среднем 0.029. Это в два раза выше, чем приведенные данные для *A. manshuriensis*. Генетическая близость популяций частично соответствует географической, что может быть связано с разным влиянием случайных процессов в каждой конкретной популяции. То есть адаптивные сочетания генотипов и их частоты, сформированные в конкретных местообитаниях, могут быть по-разному изменены случайным образом при случайном падении численности. И

Таблица 21

Матрица генетических коэффициентов дистанций (D_N) (Nei, 1972), рассчитанных по 22 изученным локусам у девяти популяций *Aristolochia contorta*

Популяции	РМ	БК	УР	ОР	БР	ШТ	ШК	СТ	ПТ
РМ	---	0.0224	0.0272	0.0144	0.0080	0.0353	0.0071	0.0531	0.0578
БК		---	0.0444	0.0230	0.0266	0.0437	0.0150	0.0443	0.0873
УР			---	0.0108	0.0075	0.0423	0.0118	0.0310	0.0372
ОР				---	0.0038	0.0172	0.0075	0.0258	0.0238
БР					---	0.0288	0.0032	0.0345	0.0368
ШТ						---	0.0327	0.0312	0.0207
ШК							---	0.0293	0.0537
СТ								---	0.0450
ПТ									---

только наличие вегетативного размножения у особей способно в некоторой степени противостоять влиянию дрейфа генов на изменчивость в популяциях, за счёт воспроизводства набора уже существующих сочетаний генотипов. В тоже время некоторое влияние на генетическую разобщенность может оказывать отбор, действие которого, вероятно, не одинаково в близко расположенных друг к другу популяциях. Более высокие значения генетических расстояний у *A. contorta* по сравнению с *A. manshuriensis* могут быть объяснены большими географическими расстояниями между популяциями, то есть популяции кирказона маньчжурского произрастают только на территории Борисовского плато, в то время как популяции кирказона скрученного встречаются на самом юге Хасанского района (оз. Птичьё), простираются на восток, достигая Партизанского района, а также способны произрастать и в более северных районах, например, в Октябрьском районе Приморского края, и даже в Еврейской АО.



Теоретическое время разобщения популяций, полученное при применении формулы «молекуляр-

Рис. 42. UPGMA-дендрограмма сходства популяций *Aristolochia contorta*, построенная на основе коэффициентов генетической дистанции Нея (D_N).

ных часов», показывает, что среднее D_N между популяциями (0.029) соответствует периоду 14500 лет. Это время интенсивного потепления после плейстоцен—голоценового похолодания 18—20 тыс. лет назад. Это особенно интересно, поскольку для кирказона маньчжурского среднее время разделения популяций – 5000 лет, а согласно наибольшему показателю дистанции между популяциями Неж и МАН – 10000 лет. Для кирказона скрученного наибольший показатель дистанции соответствует примерно 44000 лет между популяциями БК и ПТ. Так, согласно полученным данным, оба вида длительный период времени произрастают на территории Приморского края. Это особенно интересно для *A. contorta*, поскольку в настоящее время свидетельств его длительного нахождения на этой территории не приведено. Поскольку наибольшее генетическое разнообразие отмечено в популяции ОР, наиболее близкой к основному ареалу на территории Китая, а максимальный показатель наблюдаемой гетерозиготности (H_o) в популяции БК, можно предположить, что ранее популяция была единой, и поток генов двигался направленно от популяции ОР к БР и УР. Популяция ПТ, вероятно, также является оставшейся частью общей популяции Китая. Поскольку уровень полиморфизма лишь чуть ниже, чем для группы популяций р. Раздольная, можно предположить, что популяции Шкотовского и Партизанского районов тоже части когда-то единой популяции, произраставшей на территории современного Приморского края.

Таким образом, современные популяции *A. contorta*, вероятнее всего, являются осколками когда-то обширной популяции. При этом поддержание численности особей происходило как семенным способом, так и вегетативным. Регулярные события перекрёстного опыления способствовали поддержанию изменчивости на определённом уровне. Вероятно, на территории Приморского края находится рефугиум для этого вида. При изменении условий существования произошла фрагментация ареала и в каждой популяции из-за различного действия стохастических процессов стали накапливаться различия, что отражено в показателях подразделённости. В настоящее время события бутылочного горлышка еще не фатально сказываются на существовании популяций, однако усиление антропогенного фактора, которое наблюдается в последние 50 лет в связи с расширяющейся хозяйственной деятельностью, могут привести к полной потере уже малочисленных популяций.

4. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

4.1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ *ARISTOLOCHIA MANSHURIENSIS* И ЕГО КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

A. manshuriensis содержит редко встречающиеся вещества с открытой нитрогруппой – аристолохиевые кислоты и их производные (аристолактамы, или фенатреновые алкалоиды) (Булгаков, Журавлев, 1989; Сернов и др., 1989; Bulgakov et al., 1996). В состав экстрактов из коры лианы входят лигнин (35.8 %), целлюлоза (23.5 %), гемицеллюлоза (8.7 %), эфирное масло (0.7 %). Основными компонентами эфирного масла являются моноциклические терпены и их нор-производные (88.6 %), главным образом α -пинен (19.2 %), (-)-камфен (23.6 %) и борнилацетат (31.3 %), придающие маслу своеобразный аромат и характерный горький вкус и обладающие противовоспалительным, обезболивающим и бактерицидным действием (Кротова, Ефремов, 2002). Ветви кирказона маньчжурского содержат сесквитерпеноиды: манширолин, (+)-изобициклогермакрена, аристолозид; стероиды: β -ситостерин; алкалоиды: магнофлорин; многоядерные ароматические соединения: аристолоховые кислоты А и D, аристолоховые кислоты I и IV (Раскательные ресурсы..., 1996), II, IIIa, IVa (Максимов и др., 2002).

Из разных частей *A. manshuriensis* выделены также следующие вещества: арисканин А, аристолактамы I, II и All, 9-метоксиаристолактамы I, аристолид В, аристолохиевая кислота, аристолохиевая кислота II, метиловые эфиры аристолохиевых кислот I, II и IVa, каулозид А, *p*-кумаровая кислота, N-(транс-*p*-кумароил) тирамин, дегидрооксиперезинон, деметиларистофолин Е, феруловая кислота, N-транс-ферулоулметокситирамин, N-транс-ферулоултирамин, хедерагенин, *p*-гидроскибензойная кислота, манжуроллид, олеанолевая кислота, β -цитостерол и его β -D-гликозид, стигмастерол, ванильная кислота и метилванилат (Zhou et al., 2011).

Систематическое изучение этих веществ и их лекарственных свойств было начато в Австрии в 50-х годах и продолжается до настоящего времени (Wu et al., 2003; Kumar et al., 2003; Zhao et al., 2006). Каждое из этих веществ обладает особым действием, так, например, арисканин А цитотоксичен, ингибирует агрегацию тромбоцитов; аристолохиевая кислота вызывает множественные некрозы, является канцерогенным и мутагенным факто-

ром, обладает иммуностимулирующим свойством; *p*-кумаровая кислота обладает противобактериальным, противогрибковым, антигепатотоксическим, противогиперхолестериновым, нейрозащитным и желчегонным действием. Феруловая кислота показывает противомитотическое, противотуберкулезное, цитотоксическое, противогрибковое, противоэстрогенное, противогепатоксическое свойство, также ингибирует агрегацию тромбоцитов, является антиоксидантом. *N*-транс-ферулоулметокситирамин и *N*-транс-ферулоулметокситирамин влияют на прорастание и рост. *p*-Гидроскибензойная кислота активирует синтез простогландинов, замедляет действие эритроцитов, является противоядием, антимутагеном. Магнофлорин – ганглионарный блокатор, препятствует повышению артериального давления. Олеаноловая кислота обладает противоопухолевым, кардиотоническим, мочегонным, гипогликемическим, противотуберкулезным, противоплазмодиевым и противомаларийным действием, снижает проницаемость капилляров крови, способствует восстановлению и появлению гепатоцитов, ингибирует агрегацию тромбоцитов, запускает апоптоз, является малотоксичным. β -Цитостерол имеет противоопухолевый, противовоспалительный, противокашлевый эффект, препятствует повышению холестерина, ингибирует склеивание тромбоцитов и тирозиназу. Стигмастерол проявляет противоопухолевое, противолейшманивое, противомаларийное, противовирусное действие. Ванильная кислота обладает противобактериальными, противогрибковыми, противовоспалительными, противоглистными свойствами, является антиоксидантом (Zhou et al., 2011).

В тибетской медицине применяют подземные части, древесину используют в корейской и китайской медицине как мочегонное; настой пьют при ревматизме и радикулите (Растительные ресурсы..., 1984; Чхве Тхэсон, 1987; Teng et al., 2006). Из стеблей *A. manshuriensis* был создан препарат, влияющий в разных дозах на частоту сердечных сокращений (Chiang et al., 1956). Применяется при сердечных и почечных отеках, воспалениях мочевыводящих путей. Назначают также для снижения температуры и увеличения лактации (Чхве Тхэсон, 1987). Кирказон маньчжурский издавна применяют наружно как болеутоляющее средство, а также используют при укусах змей, при териотоксикозах, также при стоматите, диуретических явлениях, гематурии (Растительные ресурсы..., 1984; Zhou et al., 2011).

Запасы кирказона в природе очень ограничены. Если говорить только о природных запасах, то их недостаточно даже для фармакологических и химических исследований. Количество возделываемых растений невелико, хотя кирказон – отдельные растения – произрастает в ряде ботанических садов РФ. Поэтому ни исследования, ни тем более практическое использо-

вание кирказона для медицинских целей до последнего времени не представлялись возможными.

Выход из такой ситуации предлагает биотехнология растительных клеток, которая решает вопрос о создании необходимых ресурсов редкого растительного сырья за счёт производства клеточной биомассы. Клетки редких растений выращивают в стерильных условиях и используют затем для выработки лекарственных препаратов.

СОЗДАНИЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК КИРКАЗОНА МАНЬЧЖУРСКОГО

Для становления биотехнологического производства основная задача заключается в создании продуктивного штамма культивируемых клеток, биохимические и фармакологические свойства которого были бы адекватны свойствам исходного растения. Очень редко такая задача решается автоматически в ходе получения стерильной клеточной культуры. Сложность заключается в том, что культивируемые клетки растут в виде недифференцированной каллусной массы, и программы биосинтеза вторичных соединений в них часто не активированы. Поэтому создание штаммов, имеющих промышленную ценность, как правило, требует многолетней кропотливой работы и привлечения методического арсенала молекулярной биологии и генетики растений.

Первые работы с клеточными культурами кирказона маньчжурского были начаты в Биолого-почвенном институте в 1986 г. с целью получения штамма-продуцента аристолохиевой кислоты. Примерно в это время за рубежом в Японии и США были получены препаративные количества этого вещества, что позволило исследователям этих стран выявить их высокую противоопухолевую активность и способность нейтрализовать различные токсины.

Для получения каллусов и первичных клеточных культур использовали дикорастущие лианы, собранные в Надеждинском районе Приморского края. Фрагменты однолетних и многолетних побегов, корней, цветков и листьев стерилизовали специальными растворами, из которых лучшим оказался раствор диоксида. Стерильные фрагменты растений (эксплантаты) помещали на агаризованные среды с различным содержанием питательных веществ и фитогормонов. Каллусы образовывались на многих эксплантатах, но рост их оставлял желать лучшего. Подбирая более удачную среду выращивания, было установлено, что для стабильного роста культур необходимо присутствие 6-бензиламинопурина, другие фитогормоны цитокининовой группы – кинетин, зеатин и зеатин рибозид оказались малопригодны для поддержания роста каллусов в длительной пересадочной культуре. В



Рис. 43. Структурные формулы аristoloxиевых кислот, содержащихся в растениях кирказона *Aristolochia manshuriensis*.

дополнение к 6-бензиламинопурина в питательную среду необходимо внести другой гормон ауксиновой природы – индолилуксусную кислоту.

В дальнейшем каллусы выращивали на питательной среде с минеральной основой Мурасиге и Скуга, содержащей по 1 мг/л 6-бензиламинопурина и индолилуксусной кислоты. Ростовые характеристики каллусов стабилизировались после 10 пересадок на этой среде. Теперь это была клеточная культура плотной консистенции, бело-жёлтого цвета, с запахом эфирных масел, свойственных целому растению. Ростовый индекс для каллусов начальной массой 100 мг составлял 20 ± 2 . Этот показатель обозначает среднюю скорость роста культуры, при которой масса клеток за время культивирования возрастает приблизительно в 20 раз (Булгаков, Журавлев, 1989).

Каллусы накапливали те же самые аristoloxиевые кислоты, которые содержатся в растении – аristoloxиевые кислоты 1, 4, Д и аristolозид (рисунки 43). Во всех каллусах, независимо от органа, из которого они были получены, накапливался постоянный набор аristoloxиевых кислот, причем аristoloxиевые кислоты 1 и 4 составляли до 90% от их общего содержания.

В это же время, различные части дикорастущего растения характеризуются разным соотношением этих веществ. Если листья и молодые побеги содержат преимущественно кислоты 1 и 4, то в многолетних побегах и корнях преобладают кислота Д и аristolозид. Общее содержание аristoloxиевых кислот в каллусах и различных органах кирказона представлено в таблице 22.

Каллусы корневого, стеблевого и листового происхождения накапливают одинаковое количество аristoloxиевой кислоты (0.42–0.46%), тогда как содержание этих веществ в органах интактного растения колеблется, различаясь более чем в два раза (таблица 22). На базе культуры клеток, полученной из стеблей, был создан штамм-продуцент аristoloxиевой кисло-

Таблица 22

Содержание аристолохиевых кислот в клеточных культурах и стеблях
Aristolochia manshuriensis

Материал	Содержание суммы аристолохиевых кислот (% от сухого веса)
Культура клеток, полученная из стеблей	0.42 ± 0.04
Культура клеток, полученная из корней	0.43 ± 0.08
Культура клеток, полученная из листьев	0.46 ± 0.12
Культура клеток, полученная из цветков	0.05 ± 0.02
Многолетние побеги лианы диаметром 2 см	0.31 ± 0.06
Однолетние побеги лианы диаметром 0.5 см	0.59 ± 0.07
Однолетние побеги лианы диаметром 0.3 см	0.84 ± 0.09

ты. Этот штамм под индексом А-1 депонирован во Всесоюзной коллекции клеточных культур растений в Институте физиологии растений РАН им. Тимирязева. Штамм накапливал свыше 0.4% аристолохиевой кислоты от сухой массы клеток (Патент РФ № 1551736).

Таким образом, созданный в институте штамм-продуцент мог стать основой для промышленного производства лекарственных препаратов. В это время выяснилось, что федеральная служба здоровья ФРГ запретила лицензионное использование препаратов, содержащих аристолохиевую кислоту, вследствие получения сведений, что в системе человеческих лимфоцитов *in vitro* аристолохиевая кислота вызывает хромосомные aberrации и увеличивает частоту обмена у сестринских хроматид. После получения этих данных исследования по аристолохиевой кислоте и родственным фенантроновым соединениям были свернуты во всем мире. Однако работы с культурой клеток кирказона продолжались, но уже с другой целью.

Наиболее известное лекарственное свойство кирказона – его кардиотропная активность. Арсенал растительных средств с такой активностью сравнительно невелик и представлен в основном гликозидами сердечного действия. О кирказоне же было известно, что его действие в принципе отличается от действия гликозидов наперстянки, и существовала вероятность создания принципиально нового кардиологического препарата. Первые опыты со стеблями лианы укрепили уверенность в возможности получения нового препарата. Однако параллельно проведенные исследования с каллусным штаммом А-1 показали, что эта культура по кардиотропной активности существенно уступает препаратам из растения. Кроме того, накапливающаяся в клетках штамма А-1 аристолохиевая кислота, которая прежде

считалась целевым продуктом, стала нежелательной примесью. Необходимо было создать новый клеточный штамм, не обладающий этим отрицательным свойством и в то же время способный к активному накоплению веществ кардиотропного действия.

Первые попытки в этом направлении показали всю сложность поставленной задачи: кардиотропная активность препаратов из каллусных клеток мало зависела от условий выращивания клеток и не поддавалась регуляции фитогормонами и компонентами питательных сред. Необходимо было изменить саму генетическую природу клеточного штамма, а это требовало использования арсенала методов совсем еще молодой тогда науки – генетической инженерии.

СОЗДАНИЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК КИРКАЗОНА МАНЬЧЖУРСКОГО, ОБЛАДАЮЩЕЙ КАРДИОТРОПНОЙ АКТИВНОСТЬЮ (ШТАММ А2)

Изменение генетической природы клеток кирказона в ходе получения нового штамма было достигнуто путем генетической трансформации клеток растения с помощью агробактерий *Agrobacterium tumefaciens*. В процессе трансформации происходит перенос части генов плазмидной ДНК агробактерий в ДНК клеток растений. Встроенная в растительную хромосому чужеродная генетическая информация стабильно наследуется растением и определяет новые свойства растительных клеток, в том числе способность к синтезу целевых биологически активных веществ. Предварительно для использования в опытах по трансформации были получены стерильные микрорастения и разработан метод их черенкования в условиях *in vitro*. Удовлетворительные результаты для микроклонального размножения побегов кирказона были достигнуты на среде Мурасиге и Скуга, содержащей 0.5 мг/л 6-бензиламинопурина и 5 мг/л феруловой кислоты (Булгаков и др., 1988). Для укоренения стерильные побеги обрабатывали раствором индолмасляной кислоты и высаживали на питательную среду без гормонов.

Для генетической трансформации стерильные растения разного возраста культивировали совместно со специально подготовленными бактериями *Agrobacterium tumefaciens* (штамм С58). В процессе кокультивации бактерий с растительной тканью происходил перенос части плазмидной ДНК агробактерий (Т-ДНК) в геном растительных клеток посредством индукции VIR-области бактериальных плазмид.

Для получения трансформированных культур стебли стерильных пробирочных растений кирказона разрезали на диски. Каждый диск инокулировали агробактериями С58 и помещали на питательную среду. Через 2 сут. диски пересаживали на среду, содержащую 500 мг/л карбенициллина. В

течение последующих 3–4 недель наблюдали появление в местах инокуляции рыхлой ткани бело-кремового цвета, местами слабо-жёлтого цвета. Фенотипически разные агрегаты изолировали и культивировали отдельно. Через три месяца получили быстрорастущую линию кремового цвета, которую обозначили как А2. Суспензионная культура А2s получена из линии А2 при выращивании клеток в жидкой среде в колбах Эрленмейера на орбитном встряхивателе при 100 об/мин.

Штамм А2 депонирован в Российскую коллекцию клеток высших растений под коллекционным номером ВСКК (ВР) 36 (Патент РФ № 1708836). Полученный штамм имеет измененную морфологию по сравнению с нетрансформированными каллусами, растет на средах, не содержащих фитогормоны, и дает положительную реакцию на опины, вещества специализированного обмена агробактерий.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММА А2s (А2 СУСПЕНЗИОННЫЙ ВАРИАНТ)

В течение продолжительного времени линия А2s росла в виде компактных глобулярных структур (агрегаты шарообразной формы до 10 мм в диаметре), но постепенно превратилась в мелкоагрегированную суспензию, обладающую высокой скоростью роста и достигающую высоких значений накопления биомассы (таблица 23).

Получение биомассы штамма А2s в промышленных биореакторах. Эти исследования проведёны на Омутнинском биохимическом заводе сотрудниками группы экспериментальных биореакторов под рук. Н.В. Шамкова. В аппарат V75, содержащий 50 л питательной среды, загрузили 6 л суспензии из колб. Культивировали 14 суток при скорости мешалки 100–110 об/мин и скорости подачи воздуха 15–18 л/л час. 50 л суспензии из этого ферментёра перенесли в аппарат 5У, содержащий 20 л питательной среды и культивировали 20 суток при скорости мешалки 95–105 об/мин и скорости подачи воздуха 14–17 л/л час. Затем суспензию перенесли в ферментёр 1Т, содержащий 300 л среды. Скорость мешалки в этом аппарате составляла 50 об/мин, скорость подачи воздуха 10–12 л/л час. Объемный

Таблица 23

Ростовые характеристики культуры А2s в лабораторных условиях

Период субкультивирования (сут)	Концентрация инокулюма, г/л	Сырая биомасса, г	Сухая биомасса, г	Индекс роста
7–10	20–40 (минимальная 12)	490–580	17–19	12–22

коэффициент массопередачи кислорода на всех стадиях составлял 8–10 ч⁻¹. Выращивание биомассы продолжалось 7–10 суток.

Характеристики полученной биомассы. Цикл роста культуры составил 7–10 суток, минимальная посевная доза 12 г/л, максимальный размер клеточных агрегатов не более 4.0 мм, содержание в суспензии клеточных агрегатов размером свыше 2 мм – не более 5%, цвет клеточных агрегатов в суспензии светло-бежевый или пепельный. Всего с ферментёра 1Т было получено 4.6 кг сухой биомассы остаточной влажностью 6.2% (Bulgakov et al., 1996).

Исследование химического состава биомассы было проведено в Тихоокеанском институте биоорганической химии. Также из нее получен препарат для фармакологического исследования.

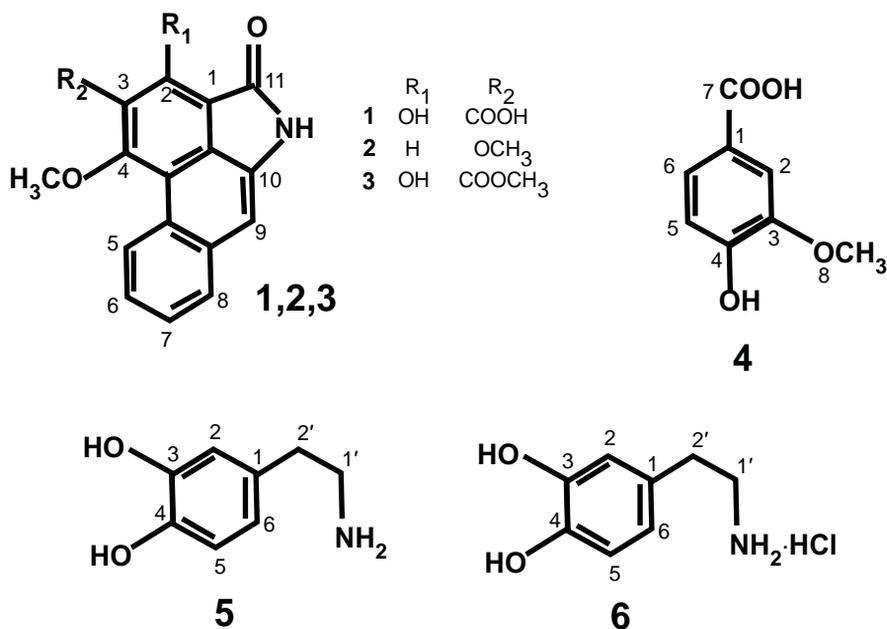
ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ ШТАММА A2s

Компоненты экстракта биомассы штамма A2s разделены посредством препаративной колоночной хроматографии и анализировались с использованием УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектроскопии (Bulgakov et al., 1996).

Сухую клеточную биомассу штамма A2s (43.3 г) экстрагировали в экстракторе Зайцева метанолом (250 мл) в течение 7 часов. После удаления растворителя под вакуумом получили 12.3 г темно-коричневого сиропа, который в дальнейшем хроматографировали на колонке с силикагелем (150 г) в системе растворителей CHCl_3 –MeOH с градиентным увеличением содержания MeOH. Колоночные фракции (250 мл) анализировали методом ТСХ, объединяли и дополнительно хроматографировали на сефадексе LH-20 в системе растворителей CHCl_3 –MeOH в соотношении 6:1. Собранные фракции упаривали и анализировали ТСХ и с помощью прибора Uvicord при длине волны 254 нм. В результате были получены вещества **1, 2, 3, 4, 5** и **6** (рисунок 44) с выходами 0.015%, 0.023 %, 0.068%, 0.020%, 0.030% и 0.052%, соответственно.

Лактам 10-амино-2-карбокси-4-метокси фенантрен-1-карбоновой кислоты (аристололактam D-II) (1).

Жёлтые кристаллы из ДМСО–MeOH, т.пл. 283–284° С, m/z 310 (M⁺+1), 309 M⁺, 291, 262, 248, 179, 137. ИК-спектр (KBr): 3550–3050, 1714, 1672, 1606, 1540, 1468, 1426 см⁻¹; абсорбционный спектр (MeOH): λ_{max} (lge) 241 (4.58), 280 (4.62), 289 (4.75), 297 (4.70), 417 (3.96) нм; ¹H и ¹³C ЯМР-спектры (ДМСО-d₆): ¹H ЯМР — d 4.11 (3H, c, OCH₃), 7.33 (1H, c, H-9), 7.65 (2H, m, H-6, H-7), 8.01 (1H, d, J=7.7 Гц, H-8,), 9.15 (1H d, J=7.5 Гц, H-5), 10.99 (1H, ш.с.);

Рис. 44. Метаболиты клеточной культуры *Aristolochia manshuriensis* (штамм A2s).

17.25 (2H, ш.с, OH); ¹³C ЯМР— d 59.4 (OCH₃), 126.1 (C-5), 127.3 (C-6), 128.1 (C-7), 129.1 (C-8), 107.2 (C-9), 169.8 (COOH), 169.6 (CONH), 156.0 (C-4).

Лактам 10-амино-3,4-диметоксифенантрен-1-карбоновой кислоты (аристололактam B-II) (2).

Жёлтые кристаллы из ДМСО, т.пл. 254–256° С., m/z 280 (M⁺+1), 279 M⁺, 264, 236, 181, 140. ИК-спектр (KBr): 3030-3000, 1685, 1606, 1528, 1492, 1456 см⁻¹): λ_{max} (lge) 216 (4.51), 233 (4.61), 263.2 (4.54) 277 (4.58), абсорбционный спектр (MeOH) 287 (4.58), 318 (4.01), 387 (3.97) нм; ¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆): d 4.05 (3H, с, OCH₃), 4.06 (3H, с, OCH₃), 7.16 (1H, с, H-9), 7.59 (2H, м, H-6, H-7), 7.87 (1H, с, H-2), 7.96 (1H м, H-8), 9.13 (1H, м, H-5); 10.87 (1H, ш.с, NH).

Получение лактама 10-амино-3-карбометокси-2,4-диметоксифенантрен-1-карбоновой кислоты (3).

К раствору аристололактама (1) (5 мг) в этиловом спирте (2 мл) по каплям добавили эфирный раствор диазометана (CH₂N₂) (3 мл). Реакционную смесь оставили на 12 часов при комнатной температуре. Полученный раствор сконцентрировали в вакууме и разделили на колонке с сефадексом LH-20 в системе CHCl₃/MeOH (5:1). Получили 4.6 мг (84%) жёлтых кристаллов аристололактама (3).

Т.пл. 175–176° С, m/z 338 ($M^+ + 1$), 337 M^+ , 278, 262, 235. ИК-спектр (KBr): 2847, 1715, 1672, 1601, 1502, 1459 см^{-1} ; абсорбционный спектр (MeOH): λ_{max} (lge) 233 (3.54), 287 (3.37), 385 (2.62) нм; ^1H ЯМР-спектр (CDCl_3): δ 4.06 (3H, с, OCH_3), 4.09 (3H, с, OCH_3), 4.19 (3H, с, COOCH_3) 7.15 (1H, с, H-9), 7.60 (2H, м, H-6, H-7), 7.83 (1H, м, H-8,), 9.22 (1H, м, H-5), 10.89 (1H, ш.с, NH).

4-окси-3-метоксибензойная кислота (ванилиновая кислота) (4).

Белые кристаллы из MeOH, т.пл. 204–206° С., m/z 310 ($M^+ + 1$), 309 M^+ , 291, 262, 248, 179, 137. ИК-спектр (KBr): 3460, 1692, 1558, 1516, 1462, 1444 см^{-1} ; абсорбционный спектр (MeOH): λ_{max} (lge) 218, 260 (4.23), 290 (3.94). (4.70), нм; ^1H и ^{13}C ЯМР-спектры (CDCl_3): ^1H ЯМР — δ 3.96 (3H, с, OCH_3), 6.12 (1H, с, OH), 6.97 (1H, д, $J=8,2$ Гц, H-5), 7.59 (1H, д, $J=1,8$ Гц, H-2), 7.71 (1H дд, $J=1,8$ Гц, H-2, $J=8,2$ Гц, H-6), 10.99 (1H, ш.с.); ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 59.4 (OCH_3), 126.1 (C-5), 127.3 (C-6), 128.1 (C-7), 129.1 (C-8), 107.2 (C-9), 169.8 (COOH), 169.6 (CONH), 156.0 (C-4), ^{13}C ЯМР δ 121.7 (C-1) 123.3 (C-2), 150.9 (C-3), 147.1 (C-4), 114.9 (C-5), 113.0 (C-6), 166.8 (C-7), 55.7 (C-8).

2-(3,4-дигидроксифенил)-этиламин (дофамин) (5).

Белые кристаллы из гексана, т.пл. 180–182° С., m/z 153 M^+ , 136, 124, 125, 123, 106, 78, 51. ИК-спектр (KBr): 3550–3000, 2848, 1606, 1498, 1462 см^{-1} ; абсорбционный спектр (MeOH): λ_{max} (lge) 220, (3.74), 283 (3.26) нм; ^1H и ^{13}C ЯМР-спектры: ^1H ЯМР — δ 2.79 (2H, т, $J=8,2$ Гц, H-2'), 3.11 (1H, с, OH), 3.11 (2H, т, $J=7,6$ Гц, H-1'), 6.57 (1H, м, $J=1,8$ Гц, $J=2,1$ Гц, H-6), 6.69 (1H д, $J=2,1$ Гц, H-2), 6.74 (1H, д, $J=8,2$ Гц, H-5); ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 129.8 (C-1), 117.4 (C-2), 147.2 (C-3), 146.0 (C-4), 117.4 (C-5), 42.9 (C-1'), 34.5 (C-2').

Гидрохлорид 2-(3,4-дигидроксифенил)-этиламина (гидрохлорид дофамина) (6).

Белые игольчатые кристаллы из гексана, т.пл. 243–245° С., ИК-спектр (KBr): 3028, 1606, 1588, 1492, 1462. см^{-1} ; абсорбционный спектр (MeOH): λ_{max} (lge) 283 (3.41) нм. ^1H ЯМР-спектр: δ 2.81 (2H, т, $J=7,0$ Гц, H-2'), 3.11 (2H, т, $J=7,0$ Гц, H-1'), 6.59 (1H, дд, $J=8,0$ Гц, $J=2,0$ Гц, H-6), 6.71 (1H, д, $J=2,0$ Гц, H-2), 6.75 (1H, д, $J=8,0$ Гц, H-5). ^{13}C ЯМР-спектры веществ 5 и 6 идентичны.

Таким образом, культура A2s, в отличие от интактной лианы, а также от обычных нетрансформированных каллусов A-1, не содержит аристолохиевых кислот. В то же время, в культуре обнаружены аристолактамы В II и аристолактамы D II, вещества, которые ранее в интактном растении кирказона не находили (Nakanishi et al., 1982; Chung et al., 1975). Впервые аристолактамы В II и D II найдены в аргентинском виде *Aristolochia argentina* (Priestap et al., 1985a).

В экстракте также обнаружены три метаболита шикимат-фенилаланинового пути: дофамин, гидрохлорид дофамина и ванилиновая кислота.

Таким образом, в результате трансформации клеток кирказона плазмидами агробактерий *Agrobacterium tumefaciens* C58 произошло изменение не только морфологических свойств каллусной культуры, но и существенная перестройка метаболизма вторичных соединений.

Аристолохиевые кислоты происходят от аристолактамов, которые в свою очередь образуются из субстратов модифицированного шикимат-фенилаланинового биосинтетического пути – 3-карбоксифенилаланина и 3-карбокси-4-гидроксифенилаланина (Priestap et al., 1985b). Поэтому биогенез аристолактамов, обнаруженных в культуре А2, представляется ясным.

В целом образование фенантроновых производных в культуре А2 уменьшено примерно на порядок в сравнении с культурой А-1; это наблюдение соответствует представлению об ингибировании биосинтеза вторичных метаболитов в культурах растительных клеток, трансформированных Ti-плазмидами агробактерий (Булгаков, Журавлев, 1992).

Особенное внимание привлекает обнаружение в экстракте биомассы штамма А2s дофамина и его гидрохлорида. Дофамин можно рассматривать как промежуточный метаболит первичного и вторичного обмена у растений. Он быстро превращается в различные продукты шикиматного пути и не накапливается в тканях из-за высокой химической активности (Гудвин, Мерсер, 1986). Хотя механизм защиты от разрушения дофамина в культуре клеток кирказона не ясен, можно предположить, что это вещество играет важную роль в физиологическом действии препаратов кирказона. По-видимому, аристолохиевые кислоты и аристолактамы образуются в клетках кирказона из дофамина или его производных через стадию образования ретикулина (Priestap, 1985b). В трансформированных клетках кирказона прерывается, вероятно, биохимический путь от дофамина к веществам фенантроновой природы (рисунок 45), что приводит к накоплению в клетках дофамина и отсутствию аристолохиевых кислот. Ниже мы покажем, что кардиотропная активность экстрактов из биомассы штамма А2 намного выше активности препарата из биомассы штамма А-1 и не уступает, а в ряде случаев и превосходит активность дикорастущей лианы.

Известно, что дофамин, который является синаптическим нейромедиатором, участвующим в проведении нервных импульсов, играет важную роль при лечении болезней, связанных с гипоксией и ишемией. Когда у крыс индуцировали состояние ишемии, уровень дофамина в тканевых диализатах увеличивался в 150 раз (Akiyama et al., 1991). Я. Акияма и коллеги (1991) полагают, что выброс дофамина при ишемии обусловлен потенциал-

миокарда, осложненного кардиогенным шоком. Показанием к применению дофамина также является застойная сердечная недостаточность, не поддающаяся лечению сердечными гликозидами и диуретиками.

По-видимому, некоторые виды кардиотропного действия препаратов кирказона обусловлены присутствием в них дофамина. Пока не ясно, как клетки кирказона сохраняют это вещество от разрушения. Возможно, кирказон продуцирует связанные формы дофамина (дофамин-депо), или в клетках есть вещества, препятствующие его деградации. Однако очевидно, что кирказон обладает уникальным сочетанием химических соединений с не менее уникальным физиологическим действием, что делает его важным перспективным средством для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Ванилиновая кислота также обнаружена в экстракте A2s. Эта кислота и ее аналоги также обладают кардиотропным действием, которое проявляется через влияние на метаболизм эндогенного дофамина и функции норадренергических рецепторов (Amin et al., 1994).

Водные и водно-спиртовые экстракты лианы и клеточных культур кирказона нестабильны. Даже после использования стерилизующей фильтрации из экстрактов выпадает мелкодисперсный черный осадок. Скорость его образования можно уменьшить, добавив в экстракт аскорбиновую кислоту, цистеин или восстановленный глутатион, но полностью подавить процессы окисления не удастся. В китайской медицине препарат из стеблей лианы, "Kwan-Mu-Tong" или "Guan-muton", готовят только *ex tempore*, экстракт или лиана с признаками почернения не используются. Поэтому препарат из биомассы клеток кирказона должен представлять собой сухой экстракт определенной степени очистки, используемый в различных сухих лекарственных формах.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ИЗ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР КИРКАЗОНА МАНЬЧЖУРСКОГО

В ходе выявления клеточных культур, представляющих собой наиболее активные продуценты веществ кардиотропного действия, акцент сделан на исследовании противоишемической и кардиотонической активности биомассы различных полученных штаммов.

Сравнительное изучение антиангинальной и противогипоксической активности водно-спиртовых вытяжек генно-инженерных вариантов клеточных культур кирказона маньчжурского показало, что кардиотропное действие наиболее выражено у суспензионного штамма A2s, который и стал объектом более детального фармакологического изучения.

В народной медицине как лечебный препарат кирказона маньчжурского (Kwang-Mu-Tong) используется настой из стеблей лианы. Побегов лиа-

ны диаметром 1.5–3.0 см заготавливают поздней осенью или зимой, высушивают на солнце или в помещении при умеренном нагревании воздуха.

Настой готовят за 1 час до ужина. Фрагмент стебля 1 см длиной при диаметре 1.5–2.0 см необходимо очистить от коры, измельчить до состояния крупы и залить в стеклянной или эмалированной посуде тремя столовыми ложками горячей воды (50–60 °С). Настаивать 30–40 мин и одну столовую ложку выпить перед едой, вторую через 1 час после еды перед сном. В течение первого месяца пить по 2 раза в неделю. Второго месяца пить 1 раз в 10 дней. Третьего месяца – 1 раз в 15 дней.

Таким образом, в народной медицине используется лечебный эффект водорастворимых фракций, извлекаемых из стеблей лианы.

Кроме настоя описано применение в народной медицине Китая и Кореи настойки лианы на спирте, однако такой способ использования кирказона по-видимому не может быть рекомендован, поскольку токсичные аристаролохиевые кислоты растворимы в этиловом спирте.

Способ приготовления препарата из кирказона маньчжурского для проведения испытания кардиотонического действия. В экспериментах использовалась настойка 1:10, приготовленная согласно указаниям Государственной фармакопеи методом перколяции. В качестве экстрагента применялся 24% этиловый спирт.

Измельченное сырье (100 г) замачивали в отдельном закрытом сосуде достаточным количеством экстрагента, добавляя его до полного и равномерного смачивания сырья. Через 4 часа набухший материал плотно укладывали в стеклянный перколятор и при открытом спускном кране добавляли такое количество экстрагента, чтобы слой его над поверхностью составил 5–10 мм. Вытекающую из крана жидкость заливали обратно в перколятор, закрывали кран и оставляли на 24 часа. Затем медленно перколировали, спуская за 1 час объем жидкости, соответствующий примерно 1/48 используемого объема перколятора. Перколяцию вели до получения 1 литра настойки. Настойку отстаивали в течение суток при 8 °С, затем фильтровали. В связи с тем, что штамм A2s не содержит аристаролохиевых кислот, использование с целью экстракции 24% раствора этилового спирта можно считать вполне допустимым. Для оценки возможного фармакологического эффекта этилового спирта поставлены контрольные эксперименты с введением 24% спирта.

В ряде экспериментов с целью дифференциации биологического эффекта водо- и спирторастворимых фракций биомассы штамма A2s проведено изучение фармакологического действия водного экстракта из сухой биомассы штамма A2s. Водные или водно-спиртовые экстракты штамма A2s обозначены далее как «экстракт 36A2s» или 36A2s, где первые две циф-

ры обозначают коллекционный номер штамма. В контролях использовались соответствующие растворители. Ниже в таблицах приведены данные по действию 36A2s, штамма А-1 и лианы кирказона. Для сопоставимости результатов все препараты готовились параллельно с применением одних и тех же растворителей и концентраций. Для фармакологических экспериментов использовалась лиана кирказона диаметром 1–1.5 см зимнего сбора, заготовленная в Надеждинском районе Приморского края. Лиану высушивали в токе горячего воздуха при 50 °С, не допуская потемнения материала, затем измельчали в шаровой мельнице.

Начальный этап фармакологического исследования клеточных культур кирказона был связан с выявлением активности биотехнологических препаратов в сравнении с эффектом настойки из стеблей дикорастущей лианы и действием наиболее активных кардиотропных препаратов, широко применяемых в лечебной практике.

Учитывая накопленную в народной медицине информацию о выраженной активности препарата при коронарной недостаточности, первые эксперименты были поставлены на животных с острой транзиторной ишемией миокарда и с индуцированной острой гипоксией.

Фармакологическое исследование кирказона проведёно в лаборатории кардиологии Всероссийского центра безопасности биологически активных веществ (ВНЦ БАВ) коллективом под руководством профессора В.В. Гацуря.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СТЕБЛЕЙ И БИОМАССЫ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР КИРКАЗОНА НА ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ОСТРОЙ ТРАНЗИТОРНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

В этих опытах было изучено влияние спиртовых вытяжек различных штаммов культуры тканей кирказона маньчжурского на порог ишемии у кроликов по сравнению с настойкой из стеблей интактного растения и неспецифическим β -адреноблокатором анаприлином, который ослабляет влияние симпатической импульсации на β -адренорецепторы сердца, уменьшает силу и частоту сердечных сокращений. Также уменьшает потребность миокарда в кислороде за счёт снижения величины сердечного выброса и понижает артериальное давление. Эксперименты выполнены на бодрствующих кроликах с предварительно имплантированным устройством, позволяющим осуществить постепенное сужение коронарной артерии. Критерием ишемии являлись электрокардиографические ее признаки (Sernov et al., 1996).

Из данных, представленных в таблице 24, следует, что настойка кирказона маньчжурского (1:10) на 24% этиловом спирте во всех опытах повышала порог ишемии у кроликов при внутривенном введении в дозе 0.5 мл/кг.

Таблица 24

Влияние препаратов из *Aristolochia manshuriensis* на порог ишемии миокарда

Показатель	Контроль (этанол)	Настойка лианы кирказона	Настойка клеток штамма		Анаприлин (0.4 мг/кг)
			A-1	A2s	
Количество опытов	6	6	6	6	6
Отсутствие эффекта	6	0	3	0	0
Наличие противоишемического эффекта	0	6	3	6	6

Введение этанола в аналогичной концентрации и дозе не оказывало противоишемического действия. Из исследованных штаммов культуры клеток кирказона наиболее активным в этих тестах оказался штамм A2s, который по эффективности был аналогичен натуральному растению. Настойка лианы кирказона и 36A2s в дозе 0.4 мг/кг, как и бета-адреноблокатор анаприлин, повышали резистентность миокарда к ишемическому воздействию во всех опытах.

АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ КИРКАЗОНА МАНЬЧЖУРСКОГО

Исследование антигипоксического эффекта потенциальных кардиотерапевтических средств широко используется в скрининге соединений с прогнозируемой противоишемической кардиопротекторной активностью. Существует тесная связь между антигипоксической активностью биологически активных веществ на определённых моделях гипоксии и их позитивным влиянием на биоэнергетику ишемизированного миокарда.

Ниже представлены экспериментальные материалы, характеризующие сравнительный защитный эффект гамма-аминомасляной кислоты, обладающей ноотропным и антигипоксическим действием, и препаратов кирказона в опытах с индуцированной гипоксией по тесту продолжительности биоэлектрической активности сердца (таблица 25). Эта модель рассматривается как одна из наиболее адекватных при анализе взаимосвязи антигипоксического и энергообеспечивающего эффектов потенциальных противоишемических средств (Sernov et al., 1996). Белых мышей массой 18–20 г наркотизировали этаминалом натрия (40 мг/кг внутривенно), затем выделяли трахею и подводили под нее лигатуру, используя кардиоскоп и снимая ЭКГ во II стандартном отведении. Время сохранения биоэлектрической активности миокарда фиксировали после перевязки трахеи.

Таблица 25

Влияние различных препаратов *Aristolochia manshuriensis* на длительность биоэлектрической активности сердца при асфиксии

Препарат	Количество опытов	Длительность биоэлектрической активности сердца (мин)
Контроль (физиологический раствор)	10	10.7 ± 0.86
Контроль (24% этанол)	10	13.1 ± 0.37
Настойка кирказона	10	18.9 ± 0.39*
Настойка штамма А-1	10	13.0 ± 0.58
Настойка штамма А2s	10	21.3 ± 0.83*
ГОМК ** (200 мг/мл)	10	13.1 ± 0.3

Примечание: * – различие с контролем (24% этанол) достоверно при $p < 0.05$;
** ГОМК – гамма-оксимасляная кислота.

Этиловый спирт, вводимый внутривенно в качестве контроля, несколько повышал длительность биоэлектрической активности сердца мышей при острой асфиксии. По сравнению с этими данными наиболее эффективным из представленных препаратов был штамм А2s.

ВЛИЯНИЕ 36А2s НА РАЗМЕРЫ ИНФАРКТА И ТЕЧЕНИЕ РАННИХ ПОСТОККЛЮЗИВНЫХ АРИТМИЙ

Важным интегральным показателем противоишемического кардиопротекторного действия 36А2s являются данные о его влиянии на размеры зон ишемии и некроза при остром инфаркте миокарда.

В настоящей главе представлены результаты изучения влияния настойки кирказона и экстракта 36А2s на процесс формирования зоны некроза в остром периоде экспериментального инфаркта миокарда у крыс. Проведена также оценка противоаритмического эффекта этих препаратов при ранних постокклюзионных аритмиях.

Методика исследования. Эксперименты поставлены на нелинейных крысах-самцах массой 250–300 г, наркотизированных этаминалом натрия (40 мг/кг внутривенно). У животных, переведенных на управляемое дыхание, моделировали инфаркт миокарда перевязкой нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне нижнего края ушка предсердия.

Размеры зоны некроза и зоны ишемии определяли через 4 часа после окклюзии коронарной артерии дифференциальным индикаторным методом (Sernov et al., 1996), принцип которого основан на раздельном количественном определении красителя Эванса (индикатор зоны ишемии) и красного формазана (индикатор зоны некроза).

Таблица 26

Влияние настойки кирказона и настойки штамма A2s на размеры зоны некроза при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс

Условия опыта	Зона ишемии в процентах к массе миокарда	Зона некроза в процентах к массе миокарда	Зона некроза в процентах к зоне ишемии
Контроль, 24% этанол	34 ± 2.5	22 ± 2.0	68 ± 4.4
Настойка кирказона	30 ± 4.3	10 ± 1.3*	41 ± 8.3*
Настойка штамма A2s	34 ± 1.6	13 ± 1.8*	40 ± 6.7*
Анаприлин (1 мг/кг)	30 ± 3.5	11 ± 1.6*	39 ± 5.5*
Нитроглицерин (0.5 мг/кг)	32 ± 2.8	17 ± 2.7	55 ± 7.0

Примечание: * – различие с контролем достоверно при $p < 0.05$.

В течение первого часа после перевязки коронарной артерии осуществляли визуальный контроль за состоянием сердечного ритма при помощи кардиоскопа, периодически записывая ЭКГ во II стандартном отведении (таблица 26). Экстракт 36A2s и настойку кирказона вводили внутривенно в дозе 0.5 мл на кг веса сразу после окклюзии коронарной артерии.

По эффективности и выраженности кардиопротекторного действия 36A2s не уступает настойке кирказона, а также анаприлину – наиболее активному противоишемическому кардиопротектору. Нитроглицерин в этом тесте был неактивен, что свидетельствует о разном механизме действия этого препарата и активных веществ кирказона. Нитроглицерин, как известно, применяется для купирования острых приступов стенокардии за счёт расслабления гладких мышц коронарных и периферических сосудов, перераспределяет кровоток в миокарде в пользу очагов ишемии, способствуя тем самым разгрузке миокарда. В опытах с механическим сужением артерии эти эффекты не проявлялись.

Противоаритмическая активность 36A2s исследована также на модели ранних постокклюзионных аритмий у крыс после перевязки передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии в средней ее трети (таблица 27).

Все испытанные препараты уменьшали более чем вдвое частоту развития ранних постокклюзионных аритмий и существенно сокращали длительность аритмии. В дополнение к этим свойствам 36A2s обладал способностью задерживать наступление аритмии.

Таким образом, результаты исследований позволяют сделать вывод о том, что экстракт из биомассы клеток суспензионной культуры кирказона (36A2s) по основным фармакологическим свойствам не отличается по

Таблица 27

Противоаритмическое действие препаратов кирказона

Условия опыта	Частота развития аритмий (%)	Длительность латентного периода (мин)	Длительность аритмии (мин)
Контроль, 24% этанол	72	3.9 ± 2.3	17.2 ± 2.3
Настойка кирказона	33	7.5 ± 2.5	3.5 ± 1.5*
36A2s	27	12.3 ± 2.7*	4.0 ± 0.6*
Анаприлин	27	3.7 ± 1.0	2.3 ± 1.0*

Примечание: * – различие с контролем достоверно при $p < 0.05$.

активности от сырья из натурального растения, что свидетельствует о перспективности 36A2s как потенциального противоишемического средства.

Представленные выше экспериментальные материалы свидетельствуют о высокой антиангинальной, противоишемической и антигипоксической активности 36A2s кирказона маньчжурского, сочетающейся с кардиотоническим действием препарата при сердечной недостаточности, развивающейся при острой ишемии миокарда и изадриновой интоксикации. Выраженная активность 36A2s по указанным выше аспектам фармакологического действия, равная или превосходящая эффект наиболее широко зарекомендовавших себя в клинике препаратов, указывает на перспективность разработки на его основе высокоэффективного противоишемического препарата.

Способ получения штамма A2s, методика его культивирования, получение биомассы и экстрактов, а также оценка их фармакологической активности запатентованы (Патент РФ № 1708836). В настоящее время любой может воспользоваться патентом без покупки лицензии. Анаприлин, как и другие β -адреноблокаторы, является токсичным препаратом с множеством побочных эффектов. По многочисленным наблюдениям, водный экстракт стеблей кирказона не токсичен. Однако, необходима проверка токсичности стеблей и 36A2s по полной программе, в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ПРОБЛЕМА СТАНДАРТИЗАЦИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ КАРДИОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ 36A2S КИРКАЗОНА МАНЬЧЖУРСКОГО

В связи с тем, что противоишемический эффект 36A2s кирказона маньчжурского является одной из ведущих черт его фармакологической активности, была предпринята попытка оценки его биологической активности в опытах на лягушках при ишемии и реперфузии головного мозга.

Эксперименты проводили на лягушках-самцах вида *Rana temporaria* массой 35.0 ± 2.5 г, моделируя ишемию ЦНС. Исследуемые дозы вводились в задний лимфатический мешок однократно за 15 мин до начала ишемии ЦНС.

На модели ишемии ЦНС определяли следующие параметры:

1. Сроки угасания простого рефлекса спинного мозга по тесту отдергивания лапки при ее раздражении 0.35% раствором серной кислоты. Удлинение срока угасания простого рефлекса спинного мозга расценивали как показатель общей положительной адаптогенной активности препарата.
2. Сроки восстановления простого рефлекса спинного мозга после начала реперфузии ЦНС; фиксировали восстановление простого рефлекса по первому реагированию лапки на раздражающее действие 0.35% раствора серной кислоты.
3. Сроки восстановления сложных рефлексов: по тесту переворачивания со спины на живот и прыжках при механическом раздражении задней лапы. Ускорение восстановления сложных рефлексов после периода ишемии является показателем повышения резистентности ЦНС к ишемическому воздействию.

Препарат 36A2s, назначаемый в дозах 0.5 мл/кг (приготовленный на 4% и 24% этиловом спирте), тонизирующего эффекта не оказывал. В дозе 0.05 мл/кг (4% этанол) препарат также не влиял на показатели ишемии за исключением повышения выживаемости при ишемии длительностью 100 мин.

При введении препарата во всех вышеперечисленных дозах у лягушек происходила активация поведения, животные набивали пену, возбуждение длилось 5–10 мин. 36A2s в дозе 0.5 мл/кг на 4% растворе спирта при однократном введении за 15 мин до начала ишемии оказывал отрицательный эффект на рефлекторную деятельность ЦНС при ишемии и реперфузии ЦНС. Препарат в дозе 0.5 мл/кг (на 24% растворе этанола) по изучаемым параметрам несколько ускорял восстановление сложных рефлексов при реперфузии по сравнению с контролем. При введении препарата в дозе 2.5 мл/кг (на 24% растворе этанола) в течение 2-х дней гибели у животных при воспроизведении ишемии не наблюдалось. Исследуемые дозы вводили в задний лимфатический мешок лягушкам контрольной и опытной групп по следующей схеме: в 1-й день 2 раза с интервалом в 3 часа, во 2-й день – однократно за один час до перевязки дуги аорты. При каждом введении препарата наблюдалось сильное возбуждение животных, которое длилось 10–15 мин (лягушки становились очень активными, пытались выпрыгнуть из банок, набивали пену). У контрольной группы такое возбуждение наблюдалось только лишь на первое введение 2.5 мл/кг 24% спирта и длилось 5–8 мин. Длительность ишемии составляла 120 мин – этот срок являлся

смертельным для контрольной группы животных. Опытная группа, получавшая препарат 36A2s, показала высокий защитный эффект по всем исследуемым параметрам. Гибели животных в эксперименте при 120-минутной ишемии не наблюдалось, рефлекторная деятельность ЦНС восстанавливалась под влиянием этой дозы препарата полностью.

В следующей серии опытов исследовали биологическую активность препарата 36A2s в дозе 2.5 мл/кг при 2-х кратном введении в течение суток с интервалом в 3 часа. На следующий день препарат не вводили. Продолжительность общей ишемии составила 85 мин. Гибель животных в опытной и контрольной группах по истечении этого срока ишемии наблюдалась в 33% случаев. При введении изучаемой дозы препарата также происходило возбуждение лягушек. Препарат оказывал тонизирующее действие на ЦНС при ишемии и последующей реперфузии, но менее выраженное по сравнению с опытами, в которых препарат вводили дополнительно за 1 час до начала ишемии. При такой схеме введения препарат задерживал угасание простого рефлекса на 28% и способствовал более скорому восстановлению этого рефлекса после реперфузии.

Следует отметить, что по своему протекторному эффекту эту дозу (2.5 мл/кг) можно сравнить с аналогичной активностью 0.15–0.3 г/кг пирацетама. Пирацетам (ноотропил) является представителем группы ноотропных препаратов. Стимулирует окислительно-восстановительные процессы, улучшает регионарный кровоток в ишемизированных участках мозга. Препарат увеличивает энергетический потенциал организма за счёт ускорения оборота АТФ, повышения активности аденилатциклазы и ингибирования нуклеотидфосфатазы.

Таким образом, эта методика, наряду с тестом на противогипоксическую активность, может быть использована для оценки биологической активности различных серий 36A2s впредь до выделения индивидуальных субстанций, ответственных за развитие противоишемического эффекта, и разработки методов их количественного определения. С этой целью предпочтения заслуживает вариант методики определения биологической активности 36A2s при 120-минутной ишемии и трёхкратным введением препарата (1-й день – двукратно с интервалом в 3 часа и 2-й день – однократно за 1 час до перевязки аорты).

4.2. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ПОЛЕЗНЫЕ СВОЙСТВА *ARISTOLOCHIA CONTORTA*

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ

Подземные части. Стероиды: β -ситостерин, даукостерин. Алкалоиды и другие азотсодержащие соед.: аллантаин, магнофлорин, 4,5-диоксидегидроасимилобин, лизикамин. Многоядерные ароматические соед.: аристолохиевая кислота E (7-метокси-8-гидроксиаристолохиевая кислота), аристолохиевая кислота A, N- β -D-глюкопиранозид аристолактама, N-(6'-транс-*p*-кумароил)- β -D-глюкопиранозид аристолактама, N-(6'-*p*-кумарил)- β -D-глюкопиранозид 8-деметоксиаристолактама (Максимов, 2002), N- β -D-глюкопиранозид 8-деметоксиаристолактама, N- β -D-глюкопиранозид 6-гидрокси-8-деметоксиаристолактама, аристолактамы AI и AII (Растительные ресурсы, 1996). N-(6'-транс-*p*-кумароил)- β -D-глюкопиранозид аристолактама и N-(6'-*p*-кумарил)- β -D-глюкопиранозид 8-деметоксиаристолактама обладают антибактериальной активностью против *Bacillus subtilis*, *Sarcina aureus* и *S. lutea* (Lee et al., 1992).

В корнях также найдены (Shum et al., 2007): 1-этенил-1-метил-2,4-бис(1-метилэтенил)-циклогексан; 1,2,3,4,4,5,6,8-октагидро-7-метил-4-метилен-1-(1-метилэтил)-(1a,4aa,8aa)-нафталин; 4 α ,8-диметил-2-изопропенил; 1-пентадецен; 4-этенил-а,а,4-триметил-3-(1-метилэтенил)-, [1R-(1 α ,3 α ,4 β)]-циклогексанметанол; 3-гидрокси-6-изопропенил-4,8 α -диметил-1,2,3,5,6,7,8,8-октагидронафтален-2-ил эфир уксусной кислоты; оксид кариофиллена; декагидро-1,4,4-диметил-7-(1-метилэтилиден)-, [1R-(1 α ,4 α ,8 α)]-1-нафталенол; трицикло [5.2.2.0(1,6)] ундекан-3-ол-2-метилен-6,8,8-триметил.

Плоды содержат эфирное масло, гликозид аристолохин (C₃₅H₂₂O₁₃N₂), два бифлавоноида (гидроксиаменитофлавоин и его метиловый эфир) (Chen et al., 2005). Найдены 5 аристолохиевых кислот (AA I, AA II, AA C, AA D, 7-OH AA I, Aristolic acid) и 4 аристолактама, при этом 7-OH AA I и AL III присутствовали в следовых количествах (Yuan et al., 2007).

ПОЛЕЗНЫЕ СВОЙСТВА

Корневища. Применяются в тибетской медицине.

Ароматические корневища улучшают пищеварение, полезны при поносе и гастралгии. По другим данным, используют корневища и семена (Шретер, 1975). В китайской медицине отвар — при лечении раковых опухолей, а также как отхаркивающее, жаропонижающее и противоядие.

Чхве: Корень кирказона скрученного на востоке называют девясилом. Декоративное (Растительные ресурсы, 1984).

Отвары и настойки корней вызывали у кошек и кроликов снижение артериального давления. Гипотензивный эффект сохранялся при введении атропина, пережатии сонной артерии. Под воздействием кирказона сосуды почек у животных расширялись, дыхание учащалось несущественно. Магнофлорин обладает гипотензивным действием при внутрибрюшинном или внутривенном введении (2–10 мг/кг) или при введении в желудок (40 мг/кг) действие препарата сохранялось 90–135 мин. Применяется как гипотензивное средство при гипертонии, как вяжущее и болеутоляющее при воспалении толстого кишечника. Доза – 3–6 г/день, побочное действие - тошнота.

Плоды. В китайской и корейской медицине используют плоды в качестве противокашлевого, отхаркивающего, жаропонижающего средства и противоядия, также при афонии, геморрое, бронхиальной астме, в сборе с другими травами - при тиреотоксикозах (Растительные ресурсы, 1996). Применяют при проблемах с печенью, для облегчения боли; как слабительное средство; для остановки кишечного кровотечения; для очистки легких, снятия отёков при воспалении легких; для снижения кровяного давления, (Zhou et al., 2011). Плоды назначают при астме, кашле и как отхаркивающее при гриппе, бронхоэктазии, туберкулезе легких.

Препараты плодов малотоксичны, вызывают устойчивое снижение давления крови. Чистый аристолохин вызывает кратковременное повышение давления и активацию дыхания, сильно раздражает почки и при передозировке происходит выделение крови в мочу и остановка мочеотделения; мелкие сосуды сильно сокращаются.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, в этой книге вы познакомились с двумя редкими растениями Дальнего Востока России, представителями древнего семейства Aristolochiaceae. Уникальная флора этого региона сложилась под влиянием глобальных изменений климата, миграций, специфического воздействия близости океана и ряда морских трансгрессий, вследствие чего она включает в себя представителей как северных, так и южных флористических провинций. На юге региона, благодаря отсутствию сплошного оледенения во время плейстоцен–голоценового похолодания, сохранились в рефугиумах многие теплолюбивые виды – остатки древних флор, - которые, подобно кирказонам, в настоящее время существуют на границе своего потенциального ареала. Вследствие сверхэксплуатации природных ресурсов в Китае и Корее, где находятся климатические оптимумы этих видов, краевые реликтовые популяции российского Дальнего Востока остались изолированными от центральных, а для некоторых видов – даже единственными, где эти растения сохранились в дикой природе.

Оба вида, описанные в книге, – *A. manshuriensis* и *A. contorta* – относятся именно к этим остаткам древних флор. Запасы этих растений в природе очень ограничены, а антропогенная нагрузка на их местообитания очень высока. В наши дни этим растениям угрожает не только браконьерская вырубка лиан, но и разрушение местообитаний вследствие индустриального освоения лесов и пожаров. Так, на одной из наших наблюдательных площадок *A. manshuriensis* в бассейне р. Эльдуги в 2000 г. были отмечены лишь единичные порослевые экземпляры лианы. В основном, массовая гибель растений произошла в результате низовых пожаров. За все последующие годы наблюдений на этом месте ни одно растение так и не достигло генеративного состояния. Более того, плодоносящих лиан не обнаружено в двух природных популяциях *A. manshuriensis*, а значит, эти популяции могут в скором времени исчезнуть совсем. И вместе с ними мы теряем не только уникальное разнообразие наших лесов, сохранивших остатки тропического прошлого, но и ценные биоресурсы для применения в будущем. И это в то время, когда современные технологии позволяют не только рационально использовать природные ресурсы редких видов, но и создавать альтернативные источники сырья.

Каковы перспективы выживания кирказонов в наших лесах? Несмотря на различия в жизненной форме, оба вида обладают слабой конкурентоспособностью, представлены малыми фрагментированными популяциями

на северной границе своих ареалов, и их нельзя назвать процветающими. Они не являются доминантами растительных сообществ, занимая определенные, довольно узкие экологические ниши, где их существование поддерживается длительное время более или менее успешно. Если бы не вмешательство человека в их местообитания, эти растения, наверное, могли бы существовать в таком состоянии и далее неопределенное время. Результаты наших популяционно-генетических исследований показывают, что оба вида все еще сохраняют определенный уровень генетической изменчивости, т.е. обладают некоторым «запасом прочности».

Результаты анализа генетической структуры популяций показывают, что в настоящее время баланс между систематическими и случайными факторами микроэволюции у обоих кирказонов нарушен. Это особенно хорошо видно при сравнении популяций в относительно благополучных и сильно нарушенных местообитаниях. В последних происходит утрата аллельного разнообразия и усиление неблагоприятных последствий инбридинга, тогда как восстановление генетического разнообразия за счет обмена генами между популяциями становится все более затруднительным из-за усиливающейся фрагментации. Особенно критичным для кирказонов является утрата взрослых плодоносящих растений в некоторых местообитаниях, поскольку семенное размножение является преобладающим у обоих видов. Популяции кирказонов все еще способны к самовозобновлению. Самовозобновление все еще происходит благодаря высокой семенной продуктивности и приспособленности семян к распространению ветром и водными потоками. Даже единственное успешное оплодотворение за несколько лет гарантирует самовозобновление популяции в подходящих для ее произрастания условиях. Главное сейчас – сохранить местообитания кирказонов от пожаров и вырубок. Если этого не сделать, то о чудесном растении ква-му-тонг наши внуки смогут узнать только из рассказов, и, может быть, даже не поверят, что совсем недавно это тропическое растение росло в наших лесах.

Как многие реликты, кирказоны содержат очень богатый набор вторичных метаболитов. Химическое исследование этих веществ еще не завершено. Вторичные метаболиты кирказонов надежно защищают растения от многочисленных вредителей – от патогенной микрофлоры до насекомых и высших животных. Некоторые вторичные метаболиты кирказонов подавляют рост соседних растений, что дает конкурентные преимущества этим видам. В культуре клеток кирказона маньчжурского удалось избавиться от многих токсичных вторичных метаболитов и получить препарат кардиотропного действия. По свидетельству проф. В.В. Гацура, сухая биомасса клеток кирказона уже сама по себе является «концентратом мощного кардио-

терапевтического средства». К сожалению, точный состав этого средства пока определить не удалось. С развитием методов культуры клеток, химии и фармакологии вторичных метаболитов, эта работа будет проведена и будет получена новая лекарственная форма – уникальный отечественный кардиотоник. Тем не менее, перспектива создания альтернативного источника сырья не решает проблему сохранения кирказона как вида, поскольку помимо лекарственной ценности, он обладает еще многими достоинствами.

ЛИТЕРАТУРА

- Айала Ф.Д. Введение в популяционную и эволюционную генетику. М.: Мир, 1984. 232 с.
- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: Наука. 1983. 280 с.
- Алтухов Ю.П. Молекулярная эволюция популяций. Молекулярные механизмы генетических процессов. М.: Наука, 1985. С. 100–131
- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: Наука, 1989. 328 с.
- Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика. 1995. Т. 31. С. 1333–1357.
- Алтухов Ю.П., Курбатова О.Л. Проблема адаптивной нормы в популяциях человека // Генетика. 1990. Т. 26. С. 583–598.
- Алтухов Ю.П., Корочкин Л.И., Рычков Ю.Г. Наследственное биохимическое разнообразие в процессах эволюции и индивидуального развития // Генетика. 1996. Т. 32. С. 1450–1473.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука, 1997. 285 с.
- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: ИКЦ Академкнига, 2003. 432 с.
- Аренс Л.Е. Кирказон ломоносовидный как народное лекарственное растение // Природа. 1949. № 2. С. 61–62.
- Ахундов Г.Ф. *Aristolochiaceae* Blume – кирказоновые – зеравэнд фэсилэси // Флора Азербайджана / отв ред. Д.И. Сосновский. Баку: издание АН Азербайджанской ССР, 1952. Т. 3. С. 149–151.
- Беляев Е.А., Чистяков Ю.А. Серицин монтепа // Красная книга Приморского края: Животные. Владивосток: АВК «Апельсин», 2005. С. 114–116.
- Бовсуновская Н.Н., Глущенко Ю.Н., Мартыненко А.Б. Серицин амурский – *Sericinus montela amurensis* Stg. (Lepidoptera, Papilionidae) на Дальнем Востоке России // Чтения памяти А.И. Куренцова. 2006. Вып. 17. С. 94–106.
- Булгаков В.П., Журавлев Ю.Н., Бабкина Э.Н., Радченко С.В. Клональное микроразмножение *Aristolochia manshuriensis* Kom. Тез. докл. Международн. конф. «Биология культивир. клеток и биотехнология». Новосибирск, 1988. Т. 2. С. 322–323.
- Булгаков В.П., Журавлев Ю.Н. Получение каллусных культур ткани *Aristolochia manshuriensis* Kom. // Раст. ресурсы. 1989. Т. 25. Вып. 2. С. 266–270.
- Булгаков В.П., Журавлев Ю.Н. Культуры трансформированных клеток растений как новый источник получения продуктов вторичного метаболизма // Успехи совр. биол. 1992. Т. 112. Вып 3. С. 342–349.
- Варминг Е. Систематика растений д-ра Варминга. М.: Книжный магазин Н.И. Мамонтова, 1893. 631 с.

- Васильев Н.Г., Колесников Б.П. Чернопихтово-широколиственные леса Южного Приморья. М.-Л.: изд-во Академии наук, 1963. 148 с.
- Волкова Е.В. Заметка о *Hocquartia manshuriensis* (Kom) Nakai // Бот. материалы гербария БИН им. В. Л. Комарова АН СССР. 1954. Т. 16. С. 32.
- Воробьев Д.П. Дикорастущие деревья и кустарники Дальнего Востока. Л.: Наука, 1968. 275 с.
- Воронкова Н.М., Нестерова С.В., Журавлев Ю.Н. Прорастание семян некоторых редких и исчезающих видов Приморского края // Раст. ресурсы. 1996. Вып. 3. С. 51–60.
- Воронкова Н.М., Нестерова С.В., Журавлев Ю.Н. Размножение редких видов растений Приморского края. Владивосток: Дальнаука, 2000. 144 с.
- Воронкова Н.М., Нестерова С.В., Прилуцкий А.Н., Холина А.Б. К вопросу о семенном размножении редких для Приморья видов древесных растений // Леса и лесообразовательный процесс на Дальнем Востоке. Владивосток, 1999. С. 81–83.
- Воронкова Н.М., Нестерова С.В., Холина А.Б. К биологии прорастания семян некоторых редких и исчезающих видов Приморья // Биологическое разнообразие. Интродукция растений. Сб. статей. СПб., 1995. С. 199–200.
- Ворошилов В.Н. Флора советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1966. 480 с.
- Ворошилов В.Н. Определитель растений Советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1982. 672 с.
- Гилпин М.Е. Пространственная структура и жизнеспособность популяции // Жизнеспособность популяций. Природоохранные аспекты / ред. М. Сулей. М.: Мир, 1989. С. 158–173.
- Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. В 2-х томах. М.: Мир, 1986. 312 с.
- Гоби Х.Я. Обзорные системы растений // Бот. записки. 1916. Вып. 30. 63 с.
- Головач А.Г. Аристолохия маньчжурская (кирказон маньчжурский) *Aristolochia manshuriensis* Kom. // Зелёное строительство: сб. ст. Л.: Наука, 1963. С. 35–52.
- Головач А.Г. Лианы, их биология и использование. Л.: Наука, 1973. 260 с.
- Гроссгейм А.А. Сем. XLIII. Aristolochiaceae Blume – Кирказоновые – Дзирмцарасебрни (г) // Флора Кавказа. Баку: изд-во АН Азербайджанской ССР, 1945. Т. 3. С. 81–84.
- Денисов Н.И. Деревянистые лианы Российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 2003. 349 с.
- Денисов Н.И. Интродукция деревянистых лиан на юге Приморья // Вестник ДВО РАН. 2004. № 4. С. 84–94.
- Дубинин Н.П., Алтухов Ю.П., Курбатова О.Л., Сусков И.И. Интегральная генетическая характеристика «адаптивной нормы» в популяциях человека // Докл. АН СССР. 1976. Т. 230. № 4. С. 957–960.

- Ефремов В.В. Правило «один мигрант на поколение» и генетическая дифференциация в подразделенной популяции // Журнал общей биологии. 2006. Т. 67. № 3. С. 198–205.
- Животовский Л.А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. Общая генетика. 1983. Т. 8. С. 76–104.
- Жизнь растений (цветковые растения) / ред. А.Л. Федоров. М.: Просвещение, 1980. Т. 5. 432 с.
- Иванова Н.А. Пор. Аristolohиецветные *Aristolochiales* Lindl // Флора СССР / отв. ред. В.Л. Комаров. М.-Л.: изд-во Академии наук, 1936. Т. 5. С. 431–442.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989. 591 с.
- Кернер А. Жизнь растений. СПб.: Просвещение, 1902. Т. 2. 840 с.
- Кожевников А.Е., Коркишко Р.И., Кожевникова З.В. Состояние и проблемы охраны флоры юго-западной части Приморского края // Комаровские чтения. 2005. Вып. II. С. 101–123.
- Колаковский А. Новый вид кирказона в плиоценовой флоре Меоре-атара // Бот. журн. 1956. Т. 8. С. 1206–1207.
- Колаковский А.А. Флора Абхазии. Т. 1. Тбилиси: Мецниереба, 1980. 210 с.
- Комаров В.Л. Флора Маньчжурии. СПб.: Герольд, 1903. Т. 2. 787 с.
- Корень О.Г., Наконечная О.В., Журавлев Ю.Н. Генетическая структура природных популяций редкого реликтового вида *Aristolochia manshuriensis* (Aristolochiaceae) в нарушенных и ненарушенных местообитаниях // Генетика. 2009. Т. 45. С. 773–780.
- Короткий А.М., Гребенникова Т.А., Пушкарь В.С. Климатические смены на территории юга Дальнего Востока в позднем кайнозое (миоцен – плейстоцен). Владивосток: Дальневосточный Государственный Университет, 1996. 57 с.
- Короткий А.М., Гребенникова Т.А., Пушкарь В.С., Разжигаева Н.Г., Волков В.Г., Ганзей Л.А., Мохова Л.М., Базарова В.Б., Макарова Т.Р. Климатические смены на Российском Дальнем Востоке в позднем плейстоцене – голоцене // Вестник ДВО РАН. 1997. № 3. С. 121–143.
- Косолапов А.Б. Противоопухолевые растительные средства (100 рецептов, возвращающих здоровье). Владивосток: Дальнаука, 1994. 52 с.
- Красная книга Российской Федерации (Животные). М.: АСТ и Астрель, 2001. 860 с.
- Кротова И.В., Ефремов А.А. Исследование химического состава коры лианы *Aristolochia manshuriensis* // Химия растительного сырья. 2002. № 3. С. 85–87.
- Куприянов П. Г., Жолобова В. Г. Уточнение понятий нормальная и дефектная пыльца в антморфологическом методе // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов: изд-во Саратовского ун-та, 1975. С. 47–52.
- Куренцов А.И. В убежищах уссурийских реликтов. Владивосток: Приморское кн. изд-во, 1961. 184 с.
- Куренцова Г.Э. Реликтовые растения Приморья. Л.: Наука, 1968. 72 с.

- Куренцова Г.Э., Валова З.Г. Аристолохия маньчжурская (*Aristolochia manshuriensis* Ком.) и сосна могильная (*Pinus funebris* Ком.) как элементы растительного покрова юго-западного Приморья // Комаровские чтения. 1969. Вып. 15–17. С. 51–61.
- Ларин И.В., Агабабян Ш.М. Кормовые растения сенокосов и пастбищ. Т. II. 1951. С. 77–78.
- Максимов О.Б., Кулеш Н.И., Горовой П.Г. Сем. *Aristolochiaceae* – кирказоновые // Полифенолы Дальневосточных растений. Владивосток: Дальнаука, 2002. С. 42.
- Мацюцкий С. Кирказон // Химия и жизнь. 1987. № 6. С. 48–50.
- Наконечная О.В., Горпенченко Т.Ю., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Строение гинецея и андроея *Aristolochia manshuriensis* (*Aristolochiaceae*) // Раст. ресурсы. 2006. Т. 62. Вып. 3. С. 37–41.
- Наконечная О.В., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Аллозимная изменчивость реликтового растения *Aristolochia manshuriensis* Ком. (*Aristolochiaceae*) // Генетика. 2007. Т. 43. № 2. С. 217–226.
- Наконечная О.В., Корень О.Г., Нестерова С.В., Сидоренко В.С., Холина А.Б., Батыгина Т.Б., Журавлев Ю.Н. Репродуктивная биология *Aristolochia manshuriensis* (*Aristolochiaceae*) в условиях интродукции // Раст. ресурсы. 2005. Т. 41. Вып. 3. С. 14–25.
- Наконечная О.В., Нестерова С.В., Воронкова Н.М. Онтогенез *Aristolochia contorta* (*Aristolochiaceae*) в Приморском крае // Бот. журн. 2012а. Т. 97. С. 1505–1515.
- Наконечная О.В., Нечаев В.А., Холина А.Б. Характеристика местообитаний кирказона скрученного *Aristolochia contorta* Bunge в Приморье // Вестник КрасГАУ. 2010. № 12. С. 35–41.
- Наконечная О.В., Холина А.Б., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Генетическое разнообразие редкого вида *Aristolochia contorta* Bunge (*Aristolochiaceae*) в Приморском крае // Генетика. 2012б. Т. 48. С. 175–185.
- Наконечная О.В., Нестерова С.В. Примитивные признаки и адаптации реликтовой лианы *Aristolochia manshuriensis* // Вестник КрасГАУ. 2013. № 1. С. 40–47.
- Наумова Т.Н. Апомиксис и амфимиксис у цветковых растений // Цитология и генетика. 2008. № 3. С. 51–63.
- Недолужко В.А., Нестерова С.В. Дикорастущие деревья и кустарники советского Дальнего Востока как резерв для зелёного строительства в южном Приморье // Некоторые аспекты рекреационных исследований и зелёного строительства. Сб. науч. тр. Владивосток: ДВО АН СССР, 1989. С. 132–140.
- Нестерова С.В. *Aristolochia manshuriensis* Ком. – кирказон маньчжурский – 1 (Е) // Растения Красной книги России в коллекциях ботанических садов и дендрариев. М.: ГБС РАН; Тула: Гриф и К, 2005. С. 30–31.
- Нестерова С.В. Кирказон маньчжурский // Красная книга Приморского края: Растения. Владивосток: Апельсин, 2008а. С. 66–68
- Нестерова С.В. Кирказон скрученный // Красная книга Приморского края: Растения. Владивосток: Апельсин, 2008б. С. 65–66.

- Нестерова С.В. Особенности семенного размножения и перспективы сохранения и восстановления генофонда кирказона маньчжурского // VII Арсеньев. чтения: сб. науч. тр. Уссурийск, 1993. С. 96–98.
- Нестерова С.В. Прорастание семян и ранние этапы онтогенеза некоторых редких растений Приморского края // Флора и фауна Приморского края и сопредельных регионов. Уссурийск, 1991. С. 70–73.
- Нестерова С.В. 4.2. Реинтродукция кирказона маньчжурского на российском Дальнем Востоке // Методические рекомендации по реинтродукции редких и исчезающих видов растений (для ботанических садов) / ред. А.С. Демидов. Тула: Гриф и К, 2008в. С. 40–43.
- Нестерова С.В. Устойчивость семян дикорастущих видов флоры Приморского края к замораживанию в жидком азоте // Растения в муссонном климате. Материалы III международной конференции. Владивосток: БСИ ДВО РАН, 2003. С. 268–273.
- Нечаев В.А., Наконечная О.В. Строение плодов, семян и способы диссеминации двух видов рода *Aristolochia* L. В Приморском крае // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. №. 4. С. 468–472.
- Норматова Р. К систематическому положению р. Кирказона – *Aristolochia* L. // Интродукция и акклиматизация растений / ред. Ф.Н. Русанов. Ташкент: Фан, 1970. Вып. 7. С. 83–86.
- Овсянников В.Ф. Лиственные породы. Владивосток: ОГИЗ-Далькрайотделение, 1931. 376 с.
- Орехова Т.П. Семена Дальневосточных деревянистых растений (морфология, анатомия, биохимия и хранение). Владивосток: Дальнаука, 2005. 160 с.
- Осипова Н.В. Лианы: справочное пособие. М.: Лесная промышленность, 1989. 160 с.
- Патент РФ N 1708836. Булгаков В.П., Журавлев Ю.Н., Кочергина Т.Ю., Гацура В.В., Бабкина Э.Н., Попов А.М., Артюков А.А., Сернов Л.Н., Альшевская Е.К., Розонов Ю.Б. Штамм культивируемых клеток растений *Aristolochia manshuriensis*, используемый для получения препарата, обладающего кардиотропной активностью. МКИ C12N 5/04. Приоритет от 6.03.1990 г.
- Патент РФ N 1551736. Булгаков В.П., Журавлев Ю.Н. Штамм каллусной культуры *Aristolochia manshuriensis* Kom. – продуцент аристолохиевых кислот. МКИ C12N 5/00. Приор. от 12.05.88. Оpubл. 23.03.90, Бюлл. № 11.
- Поддубная-Арнольди Т.К. Общая эмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1964. 484 с.
- Попов М.Г. Филогения, флорогенетика, флорогеография, систематика. Киев: Наукова думка, 1968. Ч. 1. 280 с.
- Растительные ресурсы России и сопредельных государств / отв. ред. Л.Н. Буданцев. СПб.: Мир и семья – 95, 1996. Ч. 1. С. 103–104.
- Растительные ресурсы СССР. Т. 1 Цветковые растения, их химический состав, использование // отв. ред. А.А. Федоров. Л.: Наука, 1984. 464 с.

- Редкие и исчезающие виды природной флоры СССР, культивируемые в Ботанических садах и других интродукционных центрах страны. М., 1983. С. 55–57.
- Рубцов Л.И., Шипчинский Н.В. Сем. Aristolochiaceae Blume // Деревья и кустарники СССР / отв. ред. С.Я Соколов. М.-Л.: АН СССР, 1951. Т. 2. С. 539–542.
- Рубцова Т.А. Семейство Кирказоновые Aristolochiaceae // Красная книга Еврейской автономной области. Новосибирск, 2006. С. 25.
- Самойлова Т.В. Результаты интродукции и введения в культуру на юге Приморского края ценных древесно-кустарниковых пород // Вопросы реконструкции и повышения продуктивности лесов Дальнего Востока: сб. тр. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1958. Т. 4-6. С. 89–137.
- Самойлова Т.В. Некоторые редкие и исчезающие виды природной флоры Дальневосточного региона в условиях культуры дендропарка // Изучение и использование растительных ресурсов Сахалина и юга Приморья / отв. ред. В.В. Чижигов, П.С. Зориков. Южно-Сахалинск: ДВНЦ АН СССР, 1980. С. 127–135.
- Сапожников А.П., Селиванова Г.А., Ильина Т.М., Дюкарев В.Н., Бутовец Г.А., Гладкова Г.А., Жильцов А.С. Почвообразование и особенности биологического круговорота веществ в горных лесах Южного Сихоте-Алиня (на примере Верхнеуссурийского стационара). Хабаровск: ДальНИИЛХ, 1993. 270 с.
- Сернов Л.Н., Гукасов В.М., Розонов Ю.В., Гацуря В.В., Булгаков В.П., Журавлев Ю.Н. Кардиотропное действие кирказона маньчжурского и возможности биотехнологического получения его активных фракций // Оценка фармакологической активности химических соединений: принципы и подходы: Всесоюзная научная конференция 15–19 нояб. 1989 г., М.: [сб. докл.]. М.: Мир, 1989. С. 293.
- Слизик Л.Н., Древецкая Р.К. Опыты по зелёному черенкованию декоративных деревянистых лиан (в условиях юга Приморья) // Экспериментальная экология и акклиматизация растений на Дальнем Востоке: сб. ст. / ред. О.А. Смирнова. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1975. С. 25–42.
- Слизик Л.Н. Сравнительный анализ сезонной ритмики развития деревянистых лиан Приморья в условиях коллекции // Природная флора Дальнего Востока (биология, использование, охрана): сб. ст. / отв. ред. О.А. Смирнова. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1977. С. 37–44.
- Слизик Л.Н. Особенности сезонной ритмики развития некоторых реликтовых древесных лиан флоры Приморья // Редкие и исчезающие древесные растения юга Дальнего Востока (биология, экология, кариология): сб. ст. / отв. ред. О.А. Смирнова. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1978 а. С. 105–112.
- Слизик Л.Н. Редкие и ценные виды деревянистых лиан Приморского края, возможности их охраны и воспроизводства // Актуальные вопросы охраны природы на Дальнем Востоке: сб. ст. / отв. ред. В.Г. Коноваленко, О.А. Смирнова. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1978 б. С. 47–55.
- Слизик Л.Н., Чашухина А.А. Особенности режимов прорастания семян деревянистых лиан Приморья. Интродукция древесных растений в Приморье. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1979. С. 26–40.

- Снежкова С.А. Строение древесины некоторых лиан Дальнего Востока // Бот. журн. 1986. Т. 71. С. 768–773.
- Соколов С.Я. Сем. Aristolochiaceae // Ареалы деревьев и кустарников СССР / отв. ред. С.Я. Соколов. Л. 1977. Т. 1. С. 136.
- Соколовская А.П. Географическое распространение полиплоидных видов растений (исследование флоры Приморского края) // Вестник Ленингр. Ун-та. 1966. № 3. Сер. биол. Вып. 1. С. 92–106.
- Соколовская А.П., Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г. Числа хромосом некоторых видов флоры Советского Дальнего Востока из семейств Actinidiaceae, Aristolochiaceae, Fabaceae, Ranunculaceae, Saxifragaceae // Бот. журн. 1989. Т. 74. С. 268–271.
- Солбриг О., Солбриг Д. Популяционная биология и эволюция. М.: Мир, 1982. 488 с.
- Строгий А.А. Деревья и кустарники Дальнего Востока. М.-Хабаровск: Дальневосточное краевое издательство, 1934. 236 с.
- Тахтаджян А.Л. Система и филогения цветковых растений. Л.: Наука, 1966. 611 с.
- Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. Л.: Наука, 1987. 439 с.
- Терехин Э.С. Порядок Aristolochiales // Сравнительная эмбриология цветковых растений. Л.: Наука, 1981. С. 91–95.
- Терехин Э.С. Семя и семенное размножение. СПб: Мир и семья – 95, 1996. 377 с.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Яблоков А.В., Глотов Н.В. Очерк учения о популяции. М.: Наука, 1973. 280 с.
- Травлеев А.П. Взаимодействие растительности с почвами в лесных биоценозах настоящих степей Украины и Молдавии. Автореф. дис. ...доктора биол. наук. Днепрпетровск, 1972. 24 с.
- Френкель Р., Галун Э. Механизмы опыления, размножение и селекция растений. М.: Колос, 1982. 385 с.
- Фруентов Н.К. Лекарственные растения Дальнего Востока. Второе издание. Хабаровск: Хабаровское книжное издательство, 1974. 396 с.
- Фруентов Н.К., Кадаев Г.Н. Ядовитые растения. Медицинская токсикология растений Дальнего Востока. Хабаровск: Кн. Изд., 1971. 256 с.
- Харкевич С.С. Сем. Aristolochiaceae // Сосудистые растения Советского Дальнего Востока / отв. ред. С.С. Харкевич. Л.: Наука, 1987. Т. 2. С. 19–21.
- Харкевич С.С., Качура Н.Н. Редкие виды растений советского Дальнего Востока и их охрана. М.: Наука, 1981. 234 с.
- Холина А.Б., Корень О.Г., Журавлев Ю.Н. Генетическая структура и дифференциация популяций тетраплоида *Oxytropis chankaensis* (Fabaceae) // Генетика. 2009. Т. 45. С. 81–91.
- Хохлов С.С. Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. Саратов: Наука, 1978. 223 с.
- Черепанов С.К. Aristolochiaceae Luss. // Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб.: Мир и семья, 1995. С. 62.

- Чхве Тхэсоп. Лекарственные растения. М.: Медицина, 1987. 607 с.
- Шретер А.И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока. М.: Медицина, 1975. 327 с.
- Эсау К. Анатомия высших растений. М.: Мир, 1969. 564 с.
- Яковлев Г.П., Челомбитько В.А. Ботаника / отв. ред. И.В. Грушвицкий. М.: Высш. шк., 1990. 366 с.
- Дунбэй мубэнь Чжиу. Иллюстрированное описание флоры деревьев и кустарников Северо-восточного Китая. Пекин: Академия наук, 1955. 568 с.
- Иллюстрированная флора деревьев и кустарников Северо-Восточного Китая / ред. Э. Лю Шень – Мукден: Академия наук Китая, 1955. – 568 с.: ил. – (На кит. яз.).
- Akiyama Y., Koshimura K., Ohue T., Lee K., Miwa S., Yamagata S., Kikuchi H. Effects of hypoxia on the activity of the dopaminergic neuron system in the rat striatum as studied by in vivo brain microdialysis // J. Neurochem. 1991. V. 57. P. 997–1002.
- Amin F., Seeman T.E., Mohs R.C., Davidson M., Knott P., Berkman L.F., Albert M., Blazer D. Plasma homovanillic acid and performance on motor and cognitive tasks in community-dwelling elderly: MacArthur studies of successful aging // Neuropsychopharmacol. 1994. V. 10. P. 29–35.
- Antonovics J. Evolution and closely adjacent plant populations. VI. Manifold effects of gene flow // Heredity. 1968. V. 23. P. 507–524.
- Artyukova E., Kozyrenko M., Koren O., Kholina A., Nakonechnaya O., Zhuravlev Yu. Living on the edge: various modes of persistence at the range margins of some Far Eastern species // Genetic Diversity in Plants / M. Caliskan (Ed.). InTech. 2012. P. 349–374.
- Baldacci A. Affinita delle Aristolochiacee e dei generi *Aristolochiacei* // Boll. Soc. Bot. Ital. 1894. S. 49–54.
- Barcaccia G., Arzenton F., Sharbel T., Varotto S., Parrini P., Lucchin M. Genetic diversity and reproductive biology in ecotypes of the facultative apomict *Hypericum perforatum* L. // Heredity. 2006. V. 96. P. 322–334.
- Barrett S.C.H., Kohn J.R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implication for conservation // Genetics and conservation of rare plants / D.A. Falk, K.E. Holsinger. New York: Oxford University Press, 1991. P. 3–30.
- Barringer K., Whittermore A.T. Aristolochiaceae Jusseu // Flora of North America, North of Mexico. 1997. V. 3. P. 44–53.
- Behnke H.D. Sieve-element plastids, phloem protein, and evolution of flowering plants: III. Magnoliidae // Taxon. 1988. V. 37. P. 699–732.
- Behnke H.D. Distribution and evolution of forms and types of sieve-element plastids in the dicotyledons // Aliso. 1991. V.13. P. 167–182.
- Bharathan G., Zimmer E. Early branching events in monocotyledons partial 18s ribosomal DNA sequence analysis // Monocotyledons: systematics and evolution, I. / P.J. Rudall (ed.). Royal Botanic Gardens: Kew. 1995. P. 81–107.

- Brantjes N.B.M. Flower morphology of *Aristolochia* species and the consequences for pollination // Acta Bot. Neerl. 1980. V. 29. P. 212–213.
- Briggs J.C. Global biogeography. Amsterdam-Lausanne-NY-Oxford-Shannon-Tokyo: Elsevier, 1995. 454 p.
- Bruun H.H., Scheepens J.F., Tyler T. An allozyme study of sexual and vegetative regeneration // Can. J. Bot. 2007. V. 85. P. 10–15.
- Bulgakov V.P., Zhuravlev Yu.N., Fedoreyev S.A., Denisenko V.A., Veselova M., Kulesh N.I., Alshevskaya E.K., Radchenko S.V. Constituents of *Aristolochia manshuriensis* cell suspension culture possessing cardiotonic activity // Fitoterapia. 1996. V. 67. P. 238–240.
- Burck W. Selbstbefruchtung bei geoeffneten Bluethen und verschiedene Anpassungen um dieselbe zu sichem // Ann. Jard. Bot. Btzig. 1890. Bd. 8. S. 149–157.
- Burck W. Über die Befruchtung der Aristolochia-Blüte // Bot. Zeit. 1892. Bd. 50. S. 121–129.
- Bush R.M., Smouse P.E., Ledig F.T. The fitness consequences of multiple-locus heterozygosity and growth rate in pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) // Evolution. 1987. V. 41. P. 787–798.
- Carr J.W. The Diptera pollinating the flowers of *Aristolochia siphon* // Entomol. Mon. Mag. 1924. V. 60. P. 258.
- Carlquist S. Wood and bark anatomy of Aristolochiaceae; systematic and habitat correlations // IAWA Bulletin. 1993. V. 14. P. 341–357.
- Chang H.M., But P.H. Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica. World Scientific, Singapore. 2001.
- Chen Y.-G., Yu L.-L., Huang R., Liu J.-C., Lv Y.-P., Zhao Y. 3'-Hydroxyamentoflavone and its 7-O-methyl ether, two new biflavonoids from *Aristolochia contorta* // Arch. Pharm. Res. 2005. V. 28. P. 1233–1235.
- Chiang P.-C., Chao T.-T., Wei Y.-K. Pharmacological studies on commercial «Mo-tung» – a Chinese drug from *Aristolochia manshuriensis* Komarov // Acta pharmaceutica sinica. 1956. V. 4. N. 3. P. 187–196.
- Chou Y.-L., Tung S.-L., Nie S.-Q. Ligneous flora of Heilongjiang. Heilongjiang: Heilongjiang Science Press, 1986. 585 p.
- Cocucci A.E. New evidence from embryology in Angiosperm classification // Nord. J. Bot. 1983. V. 3. P. 67–73.
- Cornuet J.M., Luikart G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data // Genetics. 1996. V. 144. P. 2001–2014.
- Cronquist A. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, 1981. 1262 p.
- Corrodi H., Fuxe K., Lidbrink P. Interaction between cholinergic and catecholaminergic neurones in rat brain // Brain Res. 1972. V. 43. P. 397–416.
- Cruden R.W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants // Evolution. 1977. V. 31. P. 32–46.

- Dahlgren R.T.M. General aspects of angiosperm evolution and macrosystematics // Nord. J. Bot. 1983. V. 3. P. 119–149.
- Dahlgren R.T.M., Bremer H.T. The Monocotyledons: A Comparative Study. Academic Press. 1985. 450 p.
- Davis P.H., Khan M.S. *Aristolochia* in the near east // Notes from the Royal Botanic Garden. 1960. P. 515–546.
- de Begona J.A., Gundry S.R., Razzouk A.J., Boucek M.M., Kawauchi M., Bailey L.L. Transplantation of hearts after arrest and resuscitation. Early and long-term results // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1993. V. 106. P. 1196–1201.
- Donoghue M.J., Doyle J.A. Phylogenetic analysis of angiosperms and the relationships of Hamamelidae // Evolution, systematic, and fossil history of the Hamamelidae. V. 1. Introduction and «Lower» Hamamelidae / P.R. Crane, S. Blackmore (eds.). Oxford: Clarendon Press, 1989. P. 17–45.
- Doyle J.A., Endress P.K. Morphological phylogenetic analysis of basal angiosperms: comparison and combination with molecular data // Int. J. Plant Sci. 2000. V. 161. P. 5121–5153.
- Elle E., Carney R. Reproductive assurance varies with flower size in *Collinsia parviflora* (Scrophulariaceae) // Am. J. Bot. 2003. V. 90. N. 6. P. 888–896.
- Ellstrand N.C., Elam D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation // Annual Review of Ecology and Systematics. 1993. V. 24. P. 217–242.
- Ellstrand N.C., Roose M.L. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species // Am. J. Bot. 1987. V. 74. P. 123–131.
- Endress P.K. Evolution of reproductive structures and functions in primitive angiosperms (Magnoliidae) // Mem. New York Bot. Gard. 1990. V. 55. P. 5–34.
- Endress P.K. Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances // Plant Syst. Evol. 1994. V. 192. P. 79–97.
- Evans M.K., Dolan R.B., Menges E.S., Gordon D.R. Genetic diversity and reproductive biology in *Warea carteri* (Brassicaceae), a narrowly endemic Florida scrub annual // Am. J. Bot. 2000. V. 87. N. 3. P. 372–381.
- Flowering plants of the world. London: Oxford University Press, 1971. 336 p.
- Foster P.F., Sork V.L. Population and genetic structure of the West African rain forest liana *Ancistrocladus korupensis* (Ancistrocladaceae) // Am. J. Bot. 1997. V. 84. P. 1078–1091.
- Franklin I.R. Evolutionary change in small population // Conservation Biology / M.E. Soule (ed.). Sunderland: Mass. 1980. P. 135–149.
- Gitzendanner M.A., Soltis P.S. Patterens of genetic variation in rare and widespread plant cogeners // Am. J. Bot. 2000. V. 87. N. 6. P. 783–792.
- González F.A. 1990. Aristolochiaceae. Flora de Colombia. Impreso Colombia en Puntos Graficos Ltda, Colombia.

- González F., Rudall P.J. Furness C.A. Microsporogenesis and systematics of Aristolochiaceae // Bot. J. Linn. Soc. 2001. V. 137. P. 221–242.
- González F., Rudall P.J. Structure and development of the ovule and seed in Aristolochiaceae, with particular reference to *Saruma* // Plant Syst. Evol. 2003. V. 241. P. 223–244.
- González F.A., Stevenson D.W. A phylogenetic analysis of the subfamily Aristolochioideae (*Aristolochiaceae*) // Botanica. 2002. V. 26. N. 98. P. 26–58.
- Gregory M.P. A phyletic rearrangement in the Aristolochiaceae // Am. J. Bot. 1956. V. 43. P. 110–122.
- Hall D.W., Brown B.V. Pollination of *Aristolochia littoralis* (Aristolochiales: Aristolochiaceae) by males of *Megaselia* spp. (Diptera: Phoridae) // Ann. Entomol. Soc. Am. 1993. V. 86. P. 609–613.
- Hallier H. L'origine et le système phylétique des Angiospermes exposés à l'aide de leur arbre généalogique // Arch. Néerl. Sci. Exact. Nat. Ser. 1912. V. 1. P. 146–234.
- Hame C., Costa N.E.L. Sobre *Megaselia* (M.) *aristolochiae* n. sp. (Diptera, Phoridae) cujas larvas se criam nas flores de *Aristolochia labiata* Willd. (Aristolochiaceae) // Rev. Brasil. Biol. 1985. V. 45. P. 621–625.
- Hamrick J.L., Godt M.J.W. Allozyme diversity in plant species // Plant population genetics, breeding and genetic resources / A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler, B.S. Weir (eds). Plant population genetics, breeding and resources. Massachusetts: Sinauer Associates, 1989. P. 43–63.
- Hamrick J.L., Godt M.J.W., Sherman-Broyles S. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species // New Forest. 1992. V. 6. P. 95–124.
- Hamrick J.L., Godt M.J.W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 1996. V. 351. P. 1291–1298.
- Hamrick J.L. Genetic variation and longevity // Topics in Plant Population Biology / O.T. Solbrig, S. Jain, J.B. Johnson, P.H. Raven (eds). N.Y.: Columbia Univ. Press, 1979. P. 84–133.
- Hamrick J.L. The distribution of genetic variation within and among natural plant populations // Genetics and Conservation : A Reference for Managing Wild Animal and Plant Populations / C. Schonewald-Cox, S. Chambers, B. MacBryde, L. Thomas (eds). London: Benjamin-Cummings. 1983. P. 335–348.
- Harris H. Enzyme polymorphism in men // Proceed. Roy. Soc., London B. 1966. V. 164. P. 298–310.
- Hayashi N., Maeshima K., Murakami T., Komae H. Chemosystematics of Japanese *Heterotropa* (Aristolochiaceae) // Z. Naturforsch. 1984. V. 39. N. 7–8. P. 705–709.
- Hegde V.R., Borges S., Patel M., Das P.R., Wu B., Gullo V.P., Chan T.M. New potential antitumor compounds from the plant *Aristolochia manshuriensis* as inhibitors of the CDK2 enzyme // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010. V. 20. P. 1344–1346.
- Heinrich M., Chan J., Wanke S., Neinhuis C., Simmonds M.S.J. Local uses of *Aristolochia* species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2. A global assessment based on bibliographic sources // J. Ethnopharmacol. 2009. V. 125. P. 108–144.

- Hoehne F.C. Monographia ilustrada das *Aristolochiaceas brasileiras* // Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 1927. S. 67–175.
- Hoehne F.C. *Aristolochiaceae* // Flora Brasilica. 1942. V. 15 P. 3–141.
- Hörandl E. The evolution of self-fertility in apomictic plants // Sex. Plant Reprod. 2010. V. 23. P. 73–86.
- Hou D. *Aristolohiaceae* // Flora Malesiana. 1984. V. 10. P. 53–108.
- Hu S.L., Zhang H.Q., Chan K., Mei Q.X. Studies on the toxicity of *Aristolochia manshuriensis* (Guanmuton) // Toxicology. 2004. V. 198. P. 195–201.
- Hubby J.L., Lewontin R.C. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura* // Genetics. 1966. V. 54. P. 577–591.
- Huber H. Samenmerkmale und Gliederung der *Aristolochiaceen* // Bot. Jahrb. Syst. 1985. Bd. 107. S. 107–320.
- Huber H. *Aristolochiaceae* // The families and genera of vascular plants / K. Kubitzki, I.G. Rohwer, V. Bittrich (eds). 1993. Berlin: Springer. V. 2. P. 129–137.
- Hutchinson J. The families of flowering plants. Oxford: Clarendon Press, 1959. V. 1–2. 245 p.
- Hwang Sh., Kelly L.M., Gilbert M.G.. *Aristolochiaceae* // Flora of China / Z.Y. Wu, P.H. Raven, D.Y. Hong (eds.). St. Louis: Missouri Botanical Garden Press + Beijing: Science Press. 2003. V. 5. P. 246–269.
- Jacobsson-Stiasny E. Zur Embryologie der *Aristolochiaceae* // Denkschr. Akad. Wiss. 1918. Bd. 95. S. 66–77.
- Jain S.K., Bradshaw A.D. Evolutionary divergence among adjacent plant populations. I. Evidence and its theoretical analysis // Heredity. 1966. V. 21. P. 407–441.
- Johri B.M., Bhatnagar S.P. A contribution to the morphology and life history of *Aristolochia* // Phytomorphology. 1955. V. 5. P. 123–137.
- Jordan S.A., Cunningham D.G., Marles R.J. Assessment of herbal medicinal products: Challenges, and opportunities to increase the knowledge base for safety assessment // Toxicol. Appl. Pharm. 2010. V. 243. P. 198–216.
- Kelly L.M., González F. Phylogenetic relationships in *Aristolochiaceae* // Syst. Bot. 2003. V. 28. P. 236–249.
- Kimura M. Genetic variability maintained in a finite population due to mutational production of neutral and nearly neutral isoalleles // Genet. Res. 1968. V. 11. P. 247–269.
- Kimura M. The neutral theory of molecular evolution: a review of recent evidence // Jpn. J. Genet. 1991. V. 66. P. 367–386.
- Kitagawa M. Neo-Lineamenta Florae Manshuricae. Hirschberg: J. Cramer, 1979. 715 p.
- Klotzsch F. Die *Aristolochiaceae* des Berliner Herbariums Monatsberichte der Koruglich-Preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. 1859. S. 571–625.
- Kubitzki K. The families and genera of vascular plants. Springer: Verlag. 1993. 250 p.

- Kumar V., Poonam, Prasad A.K., Parmar V.S. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activities // Nat. Prod. Rep. 2003. V. 20. P. 565–583.
- Lammers T.G., Stuessy T.F., Silva M.O. Systematic relationships of the *Lactoridaceae*: An endemic family of the Juan Fernandez Islands, Chile // Pl. Syst. Evol. 1986. V. 152. P. 3–4.
- Ledig F.T. Heterozygosity, heterosis, and fitness in outbreeding plants // Conservation biology. The science of scarcity and diversity / M.E. Soule (ed.). Sunderland: Sinauer Associates. 1986. P. 77–104.
- Lee C.B. Dendrology. Seoul. 1988. 335 p.
- Lee H.S., Han D.S. A new acylated N-glycosyl lactam from *Aristolochia contorta* // J. Nat. Prod. 1992. V. 55. P. 1165–1169.
- Leemann A. Contribution a l'etude de l'*Asarum europaeum* L. avec uine etude particuliere sur le developpement des cellules secretrices // Bull. Soc. Bot. Geneve. 1927. Bd. 19. S. 92–173.
- Leins P., Erbar C. Ein Beitrag zur Blütenentwicklung der Aristolochiaceen, einer Vermittlergruppe zu den Monokotylen // Bot. Jahrb. Syst. 1985. Bd. 107. N 1–4. S. 343–368.
- Levi L., Wolf A., Belzberg H. Hemodynamic parameters in patients with acute cervical cord trauma: description, intervention, and prediction of outcome // Neurosurgery. 1993. V. 33. P. 1007–1016.
- Lewontin R.C. Electrophoresis in the development of evolutionary genetics: milestone or millstone // Genetics. 1991. V. 128. P. 657–662.
- Lewontin R.C., Hubby J.L. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura* // Genetics. 1966. V. 54. P. 592–609.
- Li M., Ling K.-H., Lam H., Shaw P.-C., Cheng L., Techen N., Khan I.A., Chang Y.-S., P. But P.-H. Cardiocrinum seeds as a replacement for *Aristolochia* fruits in treating cough // J. Ethnopharmacol. 2010. V. 130. P. 429–432.
- Loconte H., Stevenson D.W. Cladistics of the Magnoliidae // Cladistics. 1991. V. 7. P. 267–296.
- Loveless M.D., Hamrick J.L. Ecological determinants of genetic structure in plant population // Ann. Rev. Ecol. Syst. 1984. V. 15. P. 65–95.
- Luikart G., Cornuet J.M. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data // Conserv. Biol. 1997. V. 12. P. 228–237.
- Luikart G., Allendorf F.W., Piry S., Cornuet J.M. Molecular genetic test identifies endangered populations // Conserv. Biol. 1998. V. 12. P. 228–237.
- Ma J.-S. A revision of *Aristolochia* Linn. from E. and S. Asia // Acta Phytotaxonomica Sinica. 1989. V. 27. P. 321–364.
- Maruyama T., Fuerst P.A., Population bottlenecks and non equilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck // Genetics. 1985. V. 111. P. 675–689.

- Mills L.S., Allendorf F.W. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management // *Conserv. Biol.* 1996. V. 10. P. 1509–1518.
- Morawetz W. Beitrage zur Karyologie und Systematik der Gattung *Thottea* (Aristolochiaceae) // *Bot. Jahrb. Syst.* 1985. Bd. 107. S. 329–342.
- Nair N.C., Narayanan K. R. Studies on the Aristolochiaceae. I. Nodal and floral anatomy // *Proceedings of the National Institute of Sciences of India.* 1962. V. 28B. P. 211–227.
- Nakai T. *Aristolochiaceae* // *Flora Sylvatica Koreana.* 1936. V. 21. P. 17–18.
- Nakanishi T., Iwasaki K., Nasu M., Miura I., Yoneda K. Aristoloside, an aristolochia acid derivative from stems of *Aristolochia manshuriensis* // *Phytochemistry.* 1982. V. 21. P. 1759–1762.
- Nandi O.I., Chase M.W., Endress P.K. A combined cladistic analysis of the angiosperms using rbcL and non-molecular data sets // *Ann. Mo. Bot. Gard.* 1998. V. 85. P. 137–212.
- Nei M. *Molecular evolutionary genetics.* N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 363 p.
- Nei M. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity // *Am. Nat.* 1971. V. 105. N. 945. P. 385–398.
- Nei M. Genetic distance between populations. // *Ibid.* 1972. V. 106. N. 949. P. 283–292.
- Neinhuis C., Hilu K.W., Borsch T. Systematics of Aristolochiaceae: molecular evidence // *Am. J. Bot.* 2000. V. 87. P. 146.
- Nickrent D.L., Blarer A., Qiu Y.L., Soltis D., Soltis P.S. Molecular data place Hydnoraceae with Aristolochiaceae // *Am. J. Bot.* 2002. V. 89. P. 1809–1817.
- Novak S.J., Mack R.N. Allozyme diversity in the apomictic vine *Bryonia alba* (Cucurbitaceae): potential consequences of multiple introduction // *Am. J. Bot.* 1995. V. 82. P. 1153–1162.
- Novak S.J., Mack R.N. Clonal diversity within and among introduced populations of the apomictic vine *Bryonia alba* (Cucurbitaceae) // *Can. J. Bot.* 2000. V. 78. P. 1469–1481.
- Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants // *Mol. Ecol.* 2004. V.13. P. 1143–1155.
- Oh S.-Y., Pak J.-H. *Distribution maps of vascular plants in Korea.* Seoul: Academy Book Publishing Co, 2001. 997 p.
- Ohwi J. *Flora of Japan.* Washington: Smithsonian Inst., 1965. 1067 p.
- Oostermeijer J.G.B. Is genetic variation important for the viability of wild plant population? // *Schriftenr. Vegetationskunde. Bundesamt für Naturschutz, Bonn.* 2000. H. 32. S. 23–30.
- Petch T. Notes on *Aristolochia* // *Ann. R. Bot. Gard. Perad.* 1924. V. 8. P. 1–108.
- Pfeifer H.W. Revision of the North and Central American hexandrous species of *Aristolochia* (Aristolochiaceae) // *Ann. Mo. Bot. Gard.* 1966. V. 53. P. 116–196.
- Pleasant J.M., Wendel J.F. Genetic diversity in a clonal narrow endemic, *Erythronium propullans*, and its widespread progenitor, *Erythronium albidum* // *Am. J. Bot.* 1989. V. 76. P. 1136–1151.

- Poon W.T., Lai C., Yan-Wo Albert C.H. Aristolochic acid nephropathy: The Hong Kong perspective // Kong J. Nephrol. 2007. V. 9. P. 7–14.
- Priestap H.A. Seven aristolactams from *Aristolochia argentina* // Phytochemistry. 1985a. V. 24. P. 849–852.
- Priestap H.A. Two carboxy- and two hydroxymethyl-substituted aristolactams from *Aristolochia argentina* // Phytochemistry. 1985b. V. 24. P. 3035–3039.
- Probatova N.S., Rudyka E.G., Seledets V.P., Nechaev V.A. *Aristolochia contorta* // Taxon. 2008. V. 57. P. 1268.
- Qiu Y.L., Lee J., Bernasconi-Quadroni F., Soltis D.E., Soltis P.S., Zanis M., Zimnier E.A., Chen Z., Savolainen V., Chase M.W. The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes // Nature. 1999. V. 402. P. 404–407.
- Raymond B., Wyatt R. An embryological study of four species of *Asarum* // J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 1955. V. 71. P. 64–82.
- Razzak M.A., Ali T., Ali S.I. The pollination biology of *Aristolochia bracteolata* Lamk (Aristolochiaceae) // Pak. J. Bot. 1992. V. 24. N. 1. P. 79–87.
- Sakai S. *Aristolochia* spp. (Aristolochiaceae) pollinated by flies breeding on decomposing flowers in Panama // Am. J. Bot. 2002. V. 88. P. 527–534.
- Schemske D.W., Husband B.C., Ruckelshaus M.N., Goodwillie C., Parker I.M., Bishop J. Evaluation approaches to the conservation of rare and endangered plants // Ecology. 1994. V. 75. P. 384–606.
- Schmidt O.C. Aristolochiaceae // Nat. Die natürllichen Pflanzenfamilien / A. Engler, K. Prantl. (eds.). Leipzig: Engelmann, 1935. P. 204–242.
- Sernov L.N., Zyuzina S.V., Rozonov Yu.B., Belova L.A., Gatsura V.V. The study of pharmacological activity of immobilized Cytochrome C // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1996. Т. 59. С. 14.
- Shum K.C., Chen F., Li S.L., Wang J., But P.P., Shaw P.C. Authentication of Radix Aucklandiae and its substitutes by GC-MS and hierarchical clustering analysis // J. Sep. Sci. 2007. V. 30. P. 3233–3239.
- Slatkin M. Gene flow in natural populations // Ann. Rev. Ecol. Syst. 1985. V. 16. P. 393–430.
- Smith K.E., Wall R. Estimates of population density and dispersal in blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) // Bulletin of Entomological Research. 1998. V. 88. P. 65–73.
- Soltis P.S., Soltis D.E. Genetic variation in endemic and widespread plant species: examples from Saxifragaceae and *Polystichum* (Dryopteridaceae) // Aliso. 1991. V. 13. P. 215–223.
- Soltis D., Soltis P.S., Nickrent D.L., Johnson L.A., Hahn W.H., Hoot S.B., Sweere J.A., Kuzoff R.K., Kron K.A., Chase M.W., Swensen S.M., Zimmer E.A., Chaw S.M., Gillespie L.J., Kress W.J., Sytsma K.J. Angiosperm phylogeny inferred from 18S ribosomal DNA sequences // Ann. Missouri Bot. Gard. 1997. V. 84. P. 1–49.
- Soltis P.S., Soltis D.E., Chase M.W. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology // Nature. 1999. V. 402. P. 402–404.

- Soltis P.S., Soltis D.E., Tucker T.L. Allozyme variability is absent in the narrow endemic *Bensoniella oregona* (Saxifragaceae) // *Conserv. Biol.* 1992. V. 6. P. 131–134.
- Soule M.E. Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential // *Conservation Biology: an Evolutionary–Ecological Perspective* / M.E. Soule, B.A. Wilcox (eds.). Sunderland: Mass, 1980. P. 151–169.
- Stevenson D.W., Loconte H. Cladistic analysis of monocot families // *Monocotyledons: systematics and evolution* / P.J. Rudall, P.J. Cribb, D.F. Cutler, C.J. Humphries (eds.). Royal Botanic Gardens: Kew. 1995. P. 543–578.
- Suessenguth K. Beitrage zur Frage des systematischen Anschlusses der Monocotylen // *Beih. Bot. Centralbl.* 1921. V. 38. P. 1–79.
- Takhtajan A.L. Diversity and classification of flowering plants. Columbia: University Press, 1996. 643 p.
- Teng L., Shaw D., Barnes J. Traditional Chinese herbal medicine // *Pharmaceutical J.* 2006. V. 276. P. 361–363.
- Thorne R.F. A phylogenetic classification of the Annoniflorae // *Aliso.* 1974. V. 8. P. 147–209.
- Tobe H., Stuessy T.F., Raven P.H., Oginuma K. Embryology and karyomorphology of Lactoridaceae // *Am. J. Bot.* 1993. V. 80. P. 933–946.
- Tucker S., Douglas A.W. Floral structure, development, and relationships of paleoherbs: Saruma, Cabomba, Lactoris, and selected Piperales // *Flowering Plant Origin, Evolution and Phylogeny* / D.W. Taylor, L.J. Hickey (eds.). New York: Chapman and Hall. 1996. P. 141–175.
- Van Tieghem P.H. *Traite de botanique.* Paris. 1884. 104 p.
- Wen Y.J., Lei Q.U., Li X.M. Ischemic injury underlies the pathogenesis of aristolochic acid-induced acute kidney injury // *Transl. Res.* 2008. V. 152. P. 38–46.
- Wettstein R. *Handbuch der Systematischen Botanik.* Leipzig: Wien, 1935. 321 p.
- Willis J.C. *A dictionary of the flowering plants and ferns.* Cambridge. 1955. 463 p.
- Widen B., Cronberg N., Widen M. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey // *Folia Geobot. Phytotax., Praha.* 1994. V. 29. P. 245–263.
- Wolda H., Sabrosky C.W. Insect visitors to form of *Aristolochia pilosa* in Las Cumbres, Panama // *Biotropica.* 1986. V. 18. P. 295–299.
- Wright S. The genetical structure of population // *Ann. Eugen.* 1951. V. 15. P. 323–354.
- Wu P.-L., Su G.-C., Wu T.-S. Constituents from the stems of *Aristolochia manshuriensis* // *J. Nat. Prod.* 2003. V. 66. P. 996–998.
- Young A.G., Merriam H.G. Effects of forest fragmentation on the spatial genetic structure of *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations // *Heredity.* 1994. V. 72. P. 201–208.

- Yuan J., Nie L., Zeng D., Luo X., Tang F., Ding L., Liu Q., Guo M., Yao S. Simultaneous determination of nine aristolochic acid analogues in medicinal plants and preparations by high-performance liquid chromatography // *Talanta*. 2007. V. 73. P. 644–650.
- Zanis M.J., Soltis P.S., Qiu Y.L., Zimmer E., Soltis D.E. Phylogenetic analyses and perianth evolution in basal angiosperms // *Ann. Mo. Bot. Gard.* 2003. V. 90. P. 129–150.
- Zhao Z., Yuen J., Wu J., Yu T., Huang W. A systematic study on confused species of Chinese materia medica in the Hong Kong Market // *Annals Academy of Medicine*. 2006. V. 35, N. 11. P. 764–769.
- Zhou J.H., Fu F.Y., Lei H.P. Recent advances in the pharmacological research of medical plants in the people's republic of China // *Pharmacology of oriental plants* / K.K. Chen, B. Mukerji (eds). London: Pergamon Press. 1965. P. 17–27.
- Zhou J., Xie G., Yan X. *Encyclopedia of traditional chinese medicines: molecular structures, pharmacological activities, natural sources and applications*. V. I – 557 p.; V. II – 525 p.; V. III – 669 p.; V. IV – 636 p.; V. V – 601p.; V. VI – 730p. Berlin - Heidelberg: Springer-Verlag. 2011.

Научное издание

Ольга Валерьевна Наконечная,
Юрий Николаевич Журавлев,
Виктор Павлович Булгаков,
Ольга Геннадьевна Корень,
Елена Васильевна Сундукова

РОД КИРКАЗОН НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ РОССИИ
(*Aristolochia manshuriensis* Kom. и *A. contorta* Bunge)

Отпечатано с оригинал-макета, подготовленного в
Биолого-почвенном институте ДВО РАН,
минуя редподготовку в «Дальнауке» ДВО РАН

Оригинал-макет Е.В.Сундуковой

Подписано к печати 08.12.2014 г.
Формат 70х100/16. Усл. п. л. 12,35. Уч.-изд. л. 1136.
Тираж 300 экз. Заказ 105

Издательство «Дальнаука»
690041, г. Владивосток, ул. Радио, 7

Отпечатано в Информационно-полиграфическом
хозрасчетном центре ТИГ ДВО РАН
690041, г. Владивосток, ул. Радио, 7