

УДК 582.573.81:581.134.6

## Содержание некоторых групп соединений в вегетативных органах безвременника *Colchicum autumnale* (Melanthiaceae)

Л. Л. СЕДЕЛЬНИКОВА, Т. А. КУКУШКИНА

Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения РАН,  
ул. Золотодолинская, 101, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: lusedelnikova@yandex.ru

(Поступила 30.12.13; после доработки 06.03.14)

### Аннотация

Определен количественный состав запасных веществ для безвременника *Colchicum autumnale*. Впервые установлено, что в условиях лесостепной зоны Западной Сибири в период вегетации в листьях и клубнелуковицах интродуцированного вида *Colchicum autumnale* накапливаются сахара, крахмал, сапонины, аскорбиновая кислота, пектины, протопектины, катехины, флавонолы.

**Ключевые слова:** клубнелуковица, лист, запасные вещества, *Colchicum autumnale*, Сибирь

### ВВЕДЕНИЕ

Разработка путей и возможностей адаптации в условиях интродукции имеет актуальное значение и связана с биохимическими процессами, в частности, с накоплением запасных веществ в вегетативных органах растений. Среди них особое место занимают клубнелуковичные растения, зимующие в лесостепной зоне Западной Сибири. Природа растительного сырья видоизмененных побегов декоративных растений изучена недостаточно. Одно из них – *Colchicum autumnale* L., безвременник, или колхикум осенний, сем. Мелантиевых (Melanthiaceae), из рода *Colchicum* L., популярный в декоративном цветоводстве нашего региона [1]. В природе данный таксон растет на сырых лугах и полянах в теплоумеренной зоне Средиземноморья, в Европе, на Кавказе, в Закавказье, Крыму и Краснодарском крае [2], мезофит. По данным [3, 4], растения рода *Colchicum* L. содержат ряд флавоноидов: лютеолин-7-ламинариобизид, апигенин-7-самбубизид, апигенин, лютеолин, апигенин-7-диглюкозида. В клубнелуковицах обнаружены алкалоиды – кол-

хамин и колхицин. Колхамин используют при лечении лейкоза и онкологических заболеваний кожи [5]. Колхицин, как основной алкалоид безвременника осеннего (содержание до 0.25 % [6]), в малых дозах применяется при лечении подагры [7]. Его биологические свойства специфически влияют на веретено деления клеток [8, 9] и часто используются в селекционных целях, для увеличения плоидности хромосом у растений [10]. Виды имеют лекарственное и декоративное значение. Однако сведения о содержании метаболитов основных групп веществ в клубнелуковицах и листьях *Colchicum autumnale* нами не найдены, что стало основанием для выполнения данного исследования.

Цель работы – сравнительное изучение состава некоторых групп соединений в клубнелуковицах и листьях колхикума осеннего в условиях лесостепной зоны Западной Сибири.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили в Центральном сибирском ботаническом саду (ЦСБС) СО РАН

в 2009–2011 гг. Опытные растения выращивали на интродукционном участке, расположенном в юго-восточном районе Приобья г. Новосибирска. В работе использованы клубнелуковицы генеративного возрастного состояния *Colchicum autumnale* L. – колхикум осенний, интродуцированный с 1989 г. [1]. Материал получен из отдела декоративных растений опытной станции Всероссийского института растениеводства (г. Пушкино). В условиях Новосибирска вид вегетирует во второй-третьей декадах мая-июня, в июле-августе находится в относительном летнем покое, цветет осенью (сентябрь). В 2009–2010 гг. вегетация надземных органов (листьев) продолжалась и в сентябре, поскольку по гидротермическим условиям 2009 г. был прохладным, избыточно увлажненным, а 2010 г. – теплым, умеренно увлажненным. Год 2011 был слабозасушливым, поэтому вегетация листьев закончилась в августе.

Для количественного определения веществ (пектины, протопектины, катехины, сахара, крахмал, сапонины, дубильные вещества, аскорбиновая кислота) использовали свежесобранное сырье. Пробы для анализа (навески 5–10 г) отбирали в соответствии с фенофазами развития на протяжении вегетационного периода (май, июнь, сентябрь) до наступления устойчивых морозов.

Пектиновые вещества определяли карбазольным методом, основанным на получении специфического фиолетово-розового окрашивания уроновых кислот с карбазолом в сернокислой среде [11]. Наличие в образцах сахаров затрудняет определение пектиновых веществ. Для их удаления измельченную навеску свежесобранного сырья заливали горячим этиловым спиртом (из расчета получения конечной концентрации спирта примерно 80 %) и экстрагировали на кипящей водяной бане в течение 20–30 мин. Экстракцию повторяли трижды. Остаток высушивали при небольшой температуре до отсутствия запаха спирта, экстрагировали водой для выделения водорастворимых пектинов, затем гидролизовали оставшиеся в навеске протопектины.

Для определения количественного содержания сахаров использовали спиртовой экстракт, полученный в предыдущем эксперименте. В нем содержатся только простые са-

хара и нет белков, которые осложняют определение. Спирт удаляли в вакуумном испарителе, количество сахаров в водном остатке определяли по методу, описанному в [11]. Сумму катехинов (флаван-3-олы) определяли спектрофотометрическим методом, используя 70 % этанольный экстракт [12]. Катехины с 1 % раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте дают малиновое окрашивание. Крахмал определяли методом кислотного гидролиза [13] с использованием соляной кислоты. Из полученного после гидролиза количества глюкозы вычитали количество ранее образовавшихся сахаров, разность умножали на 0,9, так как одна массовая часть (м. ч.) глюкозы соответствует 0,89996 м. ч. крахмала.

При определении сапонинов измельченные образцы экстрагировали хлороформом в аппарате Сокслета для извлечения липидов, смол и др. Образцы высушивали и экстрагировали на водяной бане при 70 °С по 30 мин последовательно 50, 60 и 96 % растворами этанола. Количество сапонинов определяли весовым методом [14, 15].

Количественное определение флавонолов проводили по методике [16] с использованием реакции комплексообразования флавонолов с хлоридом алюминия. Экстрагирование 1 г сырья проводили трехкратно на кипящей водяной бане 70 % этанолом с обратным холодильником в течение 30 мин. Оптическую плотность объединенного экстракта измеряли на спектрофотометре при длине волны 415 нм. Концентрацию флавонолов рассчитывали по графику, построенному по рутину.

Для определения содержания аскорбиновой кислоты отбирали среднюю пробу (не менее 10 растений), в которой в соответствующих пропорциях находились все ткани каждой особи. Пробы растирали в ступке до однородного состояния в присутствии 1 % раствора соляной кислоты, затем добавляли 1 % раствор щавелевой кислоты для придания аскорбиновой кислоте стойкости в экстракте. Количественное определение аскорбиновой кислоты проводили титрованием краской Тильманса. Для исключения веществ, реагирующих с 2,6-дихлорфенолиндофенолом, проводили параллельный опыт. При нагревании

с раствором сернокислой меди аскорбиновая кислота разрушается. Полученную поправку вычитали из данных титрования опытных экстрактов [10]. Кислотность (свободные кислоты) определяли путем титрования щелочью водного экстракта измельченного свежесобранного материала [17]. Все биохимические показатели, кроме аскорбиновой кислоты, рассчитаны на массу абсолютно сухого сырья. Определения проводили в трехкратной повторности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов биохимического исследования состава клубнелуковиц и листьев в период весенне-осенней вегетации колхикума осеннего позволил выявить индивидуальные и общие закономерности. В составе клубнелуковиц и листьев обнаружены восемь соединений. Семь из них присутствуют во всех исследованных органах.

ТАБЛИЦА 1

Содержание запасных веществ в надземных и подземных органах *Colchicum autumnale*

Месяцы	Годы					
	2009		2010		2011	
	1	2	1	2	1	2
<i>Сахара, %</i>						
Май	22.06	13.44	22.27	11.00	22.91	12.48
Июнь	33.18	3.56	30.07	1.93	30.65	7.24
Сентябрь	8.70	8.70	30.82	5.01	–	2.27
<i>Аскорбиновая кислота, мг/%</i>						
Май	114.69	25.91	128.94	19.13	137.14	22.34
Июнь	56.14	35.71	60.39	17.29	177.80	19.03
Сентябрь	15.07	15.07	21.68	8.67	–	11.03
<i>Пектины, %</i>						
Май	0.22	0.09	1.05	0.49	1.05	0.66
Июнь	0.29	0.15	0.11	0.59	–	0.80
Сентябрь	0.65	0.65	0.73	0.76	–	0.69
<i>Протопектины, %</i>						
Май	6.52	4.87	3.97	6.37	4.60	7.10
Июнь	3.33	3.31	5.24	4.25	5.83	5.15
Сентябрь	3.45	3.45	9.41	0.02	–	3.18
<i>Катехины, %</i>						
Май	0.19	0.22	0.06	0.12	0.13	0.10
Июнь	0.16	0.04	0.33	0.22	0.29	0.29
Сентябрь	0.03	0.03	0.14	–	–	–
<i>Сапонины, %</i>						
Май	–	0.58	5.07	5.30	15.87	8.74
Июнь	17.37	2.71	6.87	2.48	15.56	6.48
Сентябрь	1.84	1.84	30.98	8.05	–	6.10
<i>Влажность, %</i>						
Май	84.50	77.24	84.60	75.10	87.65	84.38
Июнь	86.59	72.65	85.17	75.10	86.59	73.61
Сентябрь	68.49	68.49	87.93	67.86	–	66.58

Примечание. 1 – надземные органы (лист), 2 – подземные (клубнелуковица).

### Сахара

Анализ показал, что самое высокое содержание сахаров (30.07–33.18 %) отмечено во все годы наблюдения в надземных органах у *S. autumnale* в первой декаде июня, т. е. в период массового отрастания листьев. Соответственно, к осени оно уменьшалось в 2–4 раза. Установлено, что наибольшее содержание сахаров в листьях обнаружено в 2010 г. (22.27–30.82 %). Очевидно, это связано с погодными условиями вегетации, поскольку по гидротермическим условиям этот вегетационный период был теплым и умеренно увлажненным. Высокое содержание сахаров в клубнелуковице зафиксировано в мае (11.0–13.44 %), однако оно в два раза меньше по сравнению с данными для листьев (табл. 1). К осени количество сахаров в клубнелуковице уменьшилось в 2.5–6 раз.

### Аскорбиновая кислота

Установлено, что содержание этого вещества во всех органах снижалось с мая по сентябрь во все годы наблюдений. Однако в мае и июне оно в 2–6 раз больше в листьях (114.6–137.1 %) по сравнению с клубнелуковицей.

### Пектины

Пектиновые вещества присутствуют в растениях в форме водорастворимого пектина, кальциевых и магниевых солей пектиновой кислоты и протопектина – нерастворимого в воде производного пектиновых веществ. Анализ полученных данных показал, что содержание пектинов в надземных и подземных органах *S. autumnale* незначительно и варьирует по годам. Так, в период массового весеннего отрастания количество пектина в листьях в 2–3 раза больше, чем в клубнелуковицах. К осени пектины накапливаются в подземных органах и по количеству отличаются в 8 раз (2009 г.), в 1.5 раза (2010 г.) и незначительно (2011 г.) от данных для мая (см. табл. 1). Для надземных органов такая тенденция отмечена только в 2009 г. (увеличение в 3 раза) по сравнению с 2010–2011 гг.

### Протопектины

Во все годы наблюдений содержание протопектинов в клубнелуковицах уменьшалось к осеннему предзимью в 2–10 раз. Максимальные данные получены для листьев (4.6–6.52 %) в период весеннего отрастания.

### Катехины

Самая восстановленная группа флавоноидов, обладающая широким спектром биологического действия. Наибольшее количество катехинов содержат перезимовавшие (материнские) клубнелуковицы колхикума осеннего в мае (0.10–0.22 %). К сентябрю их содержание снижается, и в молодой клубнелуковице в 2009 г. оно было незначительным (всего 0.03 %), а в 2010–2011 гг. катехины не обнаружены. В листьях высокое содержание этих компонентов наблюдали в мае (0.19 %).

### Сапонины

Относятся к ядовитым гликозидам стероидного и нестероидного типа. Их количественный состав для данного таксона сильно варьировал по годам исследования и имел индивидуальные показатели. Так, в клубнелуковицах с мая по сентябрь отмечен постепенный рост содержания сапонинов в 3 (2009 г.) и в 1.5 раза (2010 г.). В 2011 г. оно уменьши-

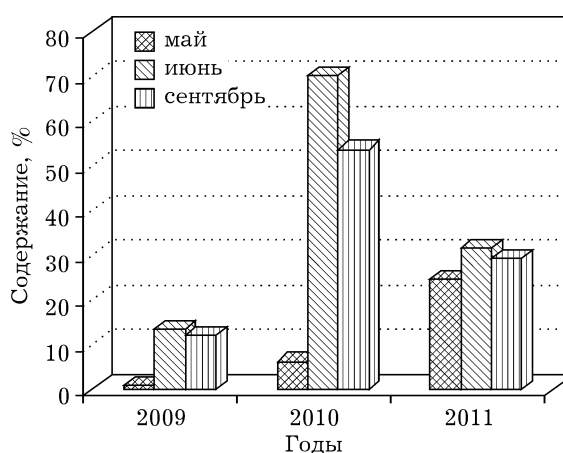


Рис. 1. Содержание крахмала в клубнелуковицах *Colchicum autumnale* в 2009–2011 гг.

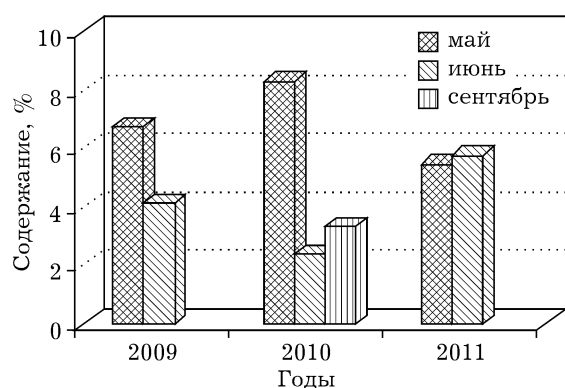


Рис. 2. Содержание флавонолов в листьях *Colchicum autumnale* в 2009–2011 гг.

лось в клубнелуковице с 8.74 до 6.10 %. Самое высокое содержание сапонинов в листьях отмечено в мае-июне – 15.87–17.37 % (см. табл. 1).

#### Крахмал

Как полимер глюкозы, состоящий из двух полисахаридов (линейного полисахарида амилозы и "ветвистого" амилопектина), крахмал обнаружен в клубнелуковицах. В мае его содержание было минимальным. К сентябрю накопление крахмала составило 12.08 % (2009 г.), 53.65 % (2010г.) и 29.40 % (2011 г.), что в 12, 9, 1.5 раза соответственно больше по сравнению с периодом весенней вегетации вида (рис. 1).

#### Флавонолы

Обнаружены в надземных органах (листьях). Их максимум отмечается в мае-июне (5.76–8.31 %). К осени их содержание уменьшалось (рис. 2) во все годы наблюдений.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в условиях Новосибирска (Приобская лесостепная климатическая провинция) для *C. autumnale* нами впервые установлено, что количественное содержание крахмала в клубнелуковицах увеличивалось с весны к предзимью, а сахара – уменьшалось. Увеличение содержания крахмала как нерастворимого полисахарида способствует ускорению метаболических процессов в запасующих тканях клубнелуковицы, что обус-

ловливает их значительную морозоустойчивость и усиливает адаптационные возможности в период зимнего покоя в Сибири. *C. autumnale* – многолетний поликарпик, т. е. его клубнелуковицы ежегодно замещаются (возобновляются). Эти процессы интенсивно проходят в весенне-летне-осенние периоды. К осени (предзимье) у данного таксона сформирована молодая (дочерняя) клубнелуковица, которая зимует при низких положительных температурах до начала весенней вегетации. Таким образом, нами установлено, что у зимующего в открытом грунте в условиях лесостепной зоны Западной Сибири *C. autumnale* содержание сахара в клубнелуковицах к предзимью уменьшается в два раза по сравнению с весной, а крахмала – увеличивается. Очевидно, накопление и распределение крахмала в запасующих органах, которым является клубнелуковица, играет существенную роль в зимостойкости. Следовательно, высокое содержание крахмала в предзимье свидетельствует о хорошей морозостойкости клубнелуковиц *C. autumnale* и возможности их перезимовки в открытом грунте в суровых условиях Сибири.

Наличие сапонинов, аскорбиновой кислоты и катехинов в составе перезимовавших клубнелуковиц способствует устойчивости этого вида к неблагоприятным факторам среды, к микрофлоре в период интенсивного роста и развития. Небольшое количество пектинов и протопектинов в течение всего вегетационного периода обусловлено их низким содержанием в подземных органах по сравнению с надземными в период формирования дочерней клубнелуковицы. Количественное содержание крахмала в клубнелуковицах *C. autumnale*, зимующих в открытом грунте, в предзимье в 2–9 раз выше, а сахара – в 2–6 раз меньше. Содержание аскорбиновой кислоты в период весеннего отрастания у листьев больше в 5–6 раз, чем у перезимовавших клубнелуковиц. Динамика накопления сапонинов, катехинов, пектинов, протопектинов в течение сезонного развития изменяется в надземных и подземных органах, что связано с ритмом роста и развития *C. autumnale*.

Авторы благодарят куратора ВИР, канд. биол. наук Н. А. Петренко за предоставленный материал для интродукции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Седельникова Л. Биоморфология геофитов в Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 2002.
- 2 Черняковская Е. // Флора СССР. Л., 1935. Т. 4. С. 23–30.
- 3 Бандюкова В. // Химия природ. соед. 1969. № 6. С. 595.
- 4 Клышев Л., Бандюкова В., Алюкина Л. Флавоноиды растений. Алма-Ата: Наука, 1978.
- 5 Атлас лекарственных растений СССР. М.: Наука, 1962.
- 6 Стефанов Б. Монография на род *Colchicum* L. София, 1926.
- 7 Wallace S. // Arthritis rheum. 1959. № 2. P. 389–395.
- 8 Havas L. // J. Heredity. 1940. Vol. 31, No. 3. P. 115–117.
- 9 Bhattacharyya B., Panda D., Gupta S., Banerjee M. // Med. Res. Rev. 2008. No. 28. P. 155–183.
- 10 Матвеева Т. Полиплоидные декоративные растения. Л.: Наука, 1980.
- 11 Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. Ермакова. Л.: Агропромиздат, 1987.
- 12 Кукушкина Т., Зыков А., Обухова Л. Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения. СПб.: Адаптоген, 2003. С. 64–69.
- 13 Бородова В., Горенков Э., Клюева О., Малофеева Л., Мегердичев Е. Методические указания по химико-технологическому сортоиспытанию овощных, плодовых и ягодных культур для консервной промышленности. М.: РАСН, 1993. С. 64–65.
- 14 Государственная фармакопея. М.: Медицина, 1968.
- 15 Киселева А., Волхонская Т., Киселев В. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири. Новосибирск: Наука, 1991. 134 с.
- 16 Беликов В., Шрайбер М. // Фармация. 1970. № 1. С. 66–72.
- 17 Кривенцов В. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав. Ялта: Изд-во Гос. Ник. бот. сада, 1982. С. 7–9.