

УДК 57.044:582.682.7:577.13

DOI: 10.15372/ChUR20202530

## Влияние экотола на физиолого-биохимические показатели устойчивости растений *Begonia grandis* Dryander к низким температурам

Е. А. КАРПОВА, Т. Д. ФЕРШАЛОВА, А. А. ПЕТРУК

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,  
Новосибирск (Россия)

E-mail: karpova@csbg.nsc.ru

(Поступила 23.12.19; после доработки 10.06.20)

### Аннотация

*Begonia grandis* Dryander – уникальный представитель рода *Begonia*, обитающий в зоне умеренного климата. Механизмы адаптации этого растения к низким температурам, в том числе влияние на них физиологически активных веществ, представляют большой интерес. Изучено воздействие продукта переработки соломы (экотола) на динамику показателей физиологического состояния растений *B. grandis*, интродуцированных в Западной Сибири (Новосибирск) в условиях оранжереи и открытого грунта при понижении температуры воздуха в конце вегетационного периода. Определено содержание суммы хлорофиллов ( $a + b$ ), каротиноидов, антоцианов, флавонов (лютеолина, ориентина) и флавонолов (в том числе кверцетина, кемпферола, гиперозида, изокверцитрина и астрагалина), а также рассчитаны соотношения концентраций хлорофиллов  $a/b$ , хлорофиллы ( $a + b$ )/каротиноиды, хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы в листьях. При понижении среднесуточной температуры  $<10\text{ }^{\circ}\text{C}$  и кратковременном воздействии отрицательных температур в открытом грунте обработанные экотолом растения сохраняли большую долю листьев (59.9 % от исходного числа) по сравнению с контрольными образцами (5.8 %), а содержание хлорофиллов и антиоксидантов (каротиноидов, антоцианов, изокверцитрина) в них было значительно выше (до 3.1, 1.2, 12.8 и 11.2 мг/г соответственно), чем в листьях контрольных растений (до 1.4, 0.5, 1.8 и 7.0 мг/г соответственно). Подтверждены свойства экотола как комплексного стимулятора устойчивости растений. В условиях низкотемпературного стресса он обеспечивал более высокий физиологический статус растений *B. grandis* при переходе к состоянию покоя.

**Ключевые слова:** низкотемпературный стресс, хлорофиллы ( $a + b$ ), каротиноиды, антоцианы, изокверцитрин

### ВВЕДЕНИЕ

Адаптация растений к холодовому стрессу играет важнейшую роль в условиях умеренного климата, характеризующегося значительными перепадами температуры воздуха в весенний и осенний периоды. В зоне умеренного климата встречается *Begonia grandis* Dryander – уникальный представитель рода *Begonia* [1]. В местах естественного произрастания (юго-запад Китая) от гибели в условиях низких температур растение предохраняет переход в состоя-

ние покоя, что сопровождается полной утратой (опадением) побегов. В осенне-зимний период при понижении температуры до  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  под землей на глубине 3–7 см растение формирует клубень, сохраняющий жизнеспособность при температуре до  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  [2]. Изучение динамики показателей физиологического состояния растений *B. grandis* при понижении температуры воздуха важно для понимания адаптации этого редкого таксона и повышения эффективности интродукции бегоний в закрытом и открытом грунте. Наиболее информативными показателя-

ми физиологического состояния растений, характеризующими устойчивость в стрессовых условиях, являются содержание хлорофиллов, антиоксидантов различной природы (каротиноидов, антоцианов, флавонов и флавонолов) и некоторые соотношения концентраций пигментов [3–7].

Фотосинтезирующие пигменты (хлорофиллы и каротиноиды) являются частями системы, осуществляющей процессы преобразования солнечной энергии в энергию роста и развития растения. Их содержание характеризует интенсивность процессов ассимиляции [8]. При этом каротиноиды, наряду с антоцианами, служат защитными компонентами фотосинтетического аппарата [9]. Содержание таких соединений возрастает при любых отклонениях от оптимальных условий, в том числе и при понижении температуры воздуха [10–13]. Выявлена также аналогичная аккумуляция флавонов и флавонолов [4, 14].

В листьях теневыносливых растений, к которым относится и *B. grandis*, антоцианы обеспечивают рассеивание излишней солнечной радиации [4]. Хотя для некоторых растений установлено участие антоцианов и в адаптации к низкотемпературному стрессу, результаты большинства экспериментов не подтверждают их решающей роли в адаптивных реакциях [15].

Динамика фотосинтезирующих пигментов, антоцианов и других флавоноидов в листьях *B. grandis* при культивировании в открытом и закрытом грунте в Новосибирской области изучена нами ранее [16, 17]. Периоды адаптации к холодному стрессу характеризовались более низким содержанием суммы хлорофиллов ( $a + b$ ), соотношением концентраций хлорофиллы ( $a + b$ )/каротиноиды и хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы по сравнению с благоприятными периодами, а также более высоким содержанием флавонов и флавонолов, главными из которых являются С-гликозилфлавоны (ориентин) и О-гликозиды кверцетина [16, 18–20]. При понижении температуры воздуха состав О-гликозидов и свободных агликонов изменяется. Четыре О-гликозида, включая изокверцитрин, выявлены только в листьях растений открытого грунта [16].

На следующем этапе исследования представляет интерес изучить изменения в адаптивном ответе фотосинтезирующих пигментов и флавоноидов на низкотемпературный стресс различной интенсивности в присутствии экотолла. Экотолл (природный комплекс соединений) – продукт аэробной переработки растительного сырья (соломы, листьев) микроорганизмами и

грибами, содержащий лигнины, бензолы, фураны, хиноны, индолы, биогенные амины, меланины [21–23]. Показано положительное воздействие этого многокомпонентного препарата на рост древесных саженцев *Acer platanoides* L. при повышенных температурах, а также на показатели физиологического состояния (флуоресценцию хлорофилла в коре молодых побегов, содержание белка в листьях) *Fraxinus pennsylvanica* и *Sorbus aucuparia* при избытке свинца в почве [22]. Помимо этого, отмечено повышение устойчивости яровой пшеницы к засухе, что выражалось в значительном увеличении урожая [23].

Цель исследования – изучение воздействия экотолла на динамику содержания пигментов и фенольных соединений, а также величин соотношений концентраций хлорофиллов  $a/b$ , хлорофиллы ( $a + b$ )/каротиноиды и хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы в листьях растений *B. grandis* в условиях закрытого и открытого грунта при понижении температуры воздуха в конце вегетационного периода.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы и методы

В качестве образцов использованы листья растений *B. grandis* Dryander subsp. *grandis* (syn. *Begonia discolor* R. Brown, *Begonia evansiana* Andrews, *B. grandis* subsp. *evansiana* (Andrews) Irmsch.), интродуцированных в условиях оранжереи и открытого грунта Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (ЦСБС СО РАН, Новосибирск), выращенных в вегетационный период 2018 г. Динамика температуры воздуха и визуальной оценки состояния растений приведена в табл. 1. Образцы для определения биохимических показателей представляли собой фрагменты центральной части (между крупными жилками) вызревших листьев среднего яруса, без повреждений. Для определения пигментов фрагменты листьев, собранных с каждых пяти из 25 растений, объединяли. Полученные 5 средних проб гомогенизировали с помощью ступки и пестика и сразу же использовали для анализа. Для изучения фенольных соединений образцы готовили аналогично из листьев, высушенных на воздухе и гомогенизированных с помощью электрокофемолки Bosch МКМ 6004 (Robert Bosch GmbH, Словения).

Экотолл произведен в лабораторных условиях. Высушенную до воздушно-сухого состояния

ТАБЛИЦА 1

Температура воздуха и визуальная оценка состояния растений *Begonia grandis* в период исследования (2018 г.)

Дата	Оранжерея		Открытый грунт			
	Температура, °С	Признаки состояния растений; фаза развития (% листьев от их первоначального числа)		Температура, °С*	Признаки состояния растений; фаза развития (% листьев от их первоначального числа)	
		Э- (контроль)	Э+		Э- (контроль)	Э+
03.09	14	Здоровые растения без признаков некроза; вегетация (100.0±0.0)	Здоровые растения без признаков некроза; вегетация (100.0±0.0)	10 (7)	Здоровые растения без признаков некроза; вегетация (100.0±0.0)	Здоровые растения без признаков некроза; вегетация (100.0±0.0)
13.09	13	То же; бутонизация (100.0±0.0)	30 % листьев приобрели желтый оттенок; цветение (95.2±4.0)	7 (1)	30 % листьев приобрели желтый оттенок; цветение (85.6±4.1)	Большинство листьев приобрели желтый оттенок, 20 % листьев с некрозом по краю; цветение (89.4±7.6)
18.09	10	То же; цветение (96.2±3.8)	10 % листьев с желтым оттенком; цветение, плодоношение (93.6±5.8)	7 (-1)	30 % листьев с желтым оттенком; цветение, плодоношение (52.3±2.4)	Все листья приобрели бурый оттенок; цветение, плодоношение (77.1±4.5)
18.10	18	То же; плодоношение (90.0±4.3)	20 % листьев с желтым оттенком; плодоношение (91.0±3.5)	2 (-3)	Стебли с единичными листьями; отмирание надземной части (5.8±0.6)	Листья с бурым оттенком, около 5 % листьев с некрозом по краям; отмирание надземной части (59.9±5.8)

Примечание. Э-, Э+ – без обработки и с обработкой экотолом соответственно.

\* Среднесуточная температура воздуха; в скобках приведена температура воздуха ночью, предшествующей наблюдению.

солону пшеницы сорта Хакасская измельчали, помещали в биореактор емкостью 50 л, заливали водой в соотношении 1 : 1 и подключали к аэратору с расходом воздуха 35 л/мин [23]. Процесс вели до полного окончания аэробного брожения. Содержание экстрактивных веществ в препарате при обработке составляло 0.5 мг/мл. Обработка растений экотолом осуществлялась с начала сентября в условиях ночных температур, превышающих 7 °С (см. табл. 1). По 25 растений, находящихся в фазе активного роста, из оранжереи и открытого грунта были обработаны экотолом методом полива под корень по 200 мл на растение. Полив производился трехкратно с интервалом в 5 сут. Контролем служили необработанные растения, культивируемые в соответствующих условиях.

Новосибирск расположен в лесостепной зоне с континентальным климатом. Безморозный период средней продолжительностью 142 сут длится с мая по август [24]. Период вегетации *B. grandis* начинается с момента прорастания клубней в оранжерее в первой декаде февраля, продолжается до цветения (август–сентябрь) и затем отмирания надземной части. В откры-

тый грунт кашпо с растениями выносят в третьей декаде мая, а переход к состоянию покоя происходит в третьей декаде сентября – октябре. В оранжерее состояние покоя наступает в конце ноября.

Для проведения эксперимента все растения были высажены в одинаковые кашпо объемом 3 л. Почвосмесь состояла из листовой и садовой земли с добавлением торфа и песка. Одна группа растений была размещена в оранжереях (двускатных железобетонных конструкциях, закрытых поликарбонатом) на стеллажах высотой 1 м. Другая часть растений была вынесена на открытый воздух экспериментального участка и выставлена на такие же стеллажи. В природных условиях *B. grandis* растет под пологом леса, поэтому в обоих случаях над растениями были натянуты пологи из непромокаемой ткани для предохранения от ярких солнечных лучей и попадания дождевой воды. Освещенность под искусственным пологом в обоих вариантах эксперимента колебалась от 500 до 2000 лк. Таким образом, на протяжении эксперимента были исключены различия между оранжерейными и грунтовыми растениями по всем основным эко-

логическим параметрам, кроме температурного режима.

В открытом грунте наименьшая разность дневных и ночных температур наблюдается в июле (до 10 °С). С августа суточные перепады температур становятся более значительными, и в сентябре они могут достигать 20 °С. В оранжереях в период работы стационарной системы отопления (октябрь–апрель) температура воздуха составляет в среднем 20 °С. С мая по сентябрь температура воздуха во многом зависит от погодных условий. Колебания температуры в оранжерее составляют 5–10 °С [25].

В течение периода исследований среднесуточная температура воздуха в оранжерее понижалась с 31.08 по 18.09, а затем к 18.10 возросла (см. табл. 1). В открытом грунте в конце августа условия были аналогичные оранжерейным, а в сентябре характеризовались постепенным падением ночной и среднесуточной температур. Ночное понижение температуры воздуха до 1 °С наблюдалось 13.09, до –1 °С – 18.09, а до –3 °С – 18.10.

Оценка физиологического состояния растений проводилась по следующим критериям: визуальная оценка по количеству и состоянию листьев; прохождение растениями фаз развития (цветение, плодоношение, переход к состоянию покоя); содержание суммы хлорофиллов *a* и *b* (хлорофиллы (*a* + *b*)). В качестве критериев стресса и адаптации определяли: содержание каротиноидов и антоцианов; соотношения хлорофиллы (*a* + *b*)/каротиноиды и хлорофиллы (*a* + *b*)/антоцианы; содержание суммы фенольных соединений и основного флавоноидного компонента (ориентина), а также содержание суммы О-гликозидов флавонолов (гиперозида и изокверцитрина).

При определении содержания хлорофиллов и каротиноидов гомогенат свежих листьев взвешивали и экстрагировали 96 % этанолом. Оптическую плотность полученного экстракта измеряли при длинах волн 470, 649 и 664 нм с помощью UV-Vis спектрофотометра Agilent 8453 (Agilent Technologies, США). Расчет вели по формулам

$$C_a = (13.36A_{664} - 5.19A_{649})$$

$$C_b = (27.43A_{649} - 8.12A_{664})$$

$$C_c = (1000A_{470} - 2.13C_a - 97.64C_b)/209$$

где  $C_a$ ,  $C_b$  и  $C_c$  – концентрации хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов соответственно, мг/мл экстракта;  $A_{664}$ ,  $A_{649}$  и  $A_{470}$  – оптические плотности экстракта, измеренные при 664, 649 и 470 нм соответственно [26].

Для количественной оценки антоцианов навеску гомогената свежих листьев экстрагировали 1 % водным раствором HCl до обесцвечивания экстрагента. Оптическую плотность полученного экстракта измеряли при длинах волн 529 и 650 нм. Содержание суммы антоцианов рассчитывали с применением молярного показателя поглощения цианидин-3-рутинозида в 1 % водном растворе HCl, равного 28 840 [27]. Поправку на содержание хлорофиллов и продуктов их деградации учитывали по следующей формуле

$$A = A_{529} - 0.288A_{650}$$

где  $A_{529}$  и  $A_{650}$  – оптические плотности экстракта, измеренные при 529 и 650 нм соответственно [28].

Состав и содержание фенольных соединений листьев изучали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Точную навеску растительного материала (0.1 г) исчерпывающе экстрагировали 70 % этанолом на водяной бане при температуре 60–70 °С. Анализ проводили с помощью жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies, США), снабженного колонкой Zorbax SB-C18 (4.6 мм × 150 мм × 5 мкм; Agilent Technologies), детектором с диодной матрицей и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation. В качестве элюентов применяли 0.1 % водный раствор  $H_3PO_4$  (элюент А) и метанол (элюент В). Хроматографическое разделение проводили в градиентном режиме в следующих условиях: 0–27 мин 32–33 % В, 28–38 мин 33–46 % В, 39–50 мин 46–56 % В, 51–54 мин 56–100 % В, 55–56 мин 100–32 % В. Объем вводимой пробы 10 мкл; температура колонки 25 °С; скорость потока растворителя 1 мл/мин. Детектирование проводили при 255, 270, 290, 325, 340, 350, 360 и 370 нм. Идентификацию известных соединений осуществляли при сопоставлении времен удерживания и сравнении УФ-спектров анализируемых пиков и пиков стандартных образцов кверцетина, кемпферола, ориентина, лютеолина (Sigma-Aldrich, США), гиперозида, изокверцитрина, астрагалина (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Германия).

Расчет содержания неидентифицированных компонентов производили по стандартным площадям пиков галловой кислоты (для фенолкарбоновых кислот) и гиперозида (для флавоноидов). Класс соединений определяли в соответствии со спектральными характеристиками пиков (количество максимумов поглощения, длины волн максимумов, соотношения их интенсивностей).



Содержание пигментов и фенольных соединений измеряли трехкратно в каждом из 5 экстрактов, вычисляли среднее арифметическое и стандартную ошибку среднего арифметического из 15 показателей биологических и аналитических повторностей [29]. Содержание компонентов рассчитывали в 1 г абсолютно сухой массы. Для статистической обработки данных применяли программу Statistica 7.0 (Statsoft Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В течение 10 сут после обработки экотолом от 10 до 30 % листьев на растениях приобрели желтый оттенок. У обработанных оранжерейных растений (Э+) пожелтение определенной части листьев наблюдалось до конца эксперимента. Необработанные растения (Э-) выглядели здоровыми в течение всего периода. Доли опавших листьев от их первоначального количества на обработанных и контрольных растениях в оранжерее существенно не различались и значимо не изменялись в течение периода исследования. Содержание хлорофиллов ( $a + b$ ) в листьях оранжерейных растений от начала к концу эксперимента понизилось, при этом в листьях обработанных экотолом растений оно было достоверно выше (3.9 мг/г), чем в листьях контрольных образцов (2.8 мг/г) (рис. 1, а).

На листьях растений открытого грунта при понижении температуры до положительных значений (от 10 до 0 °С) после 13.09 также наблюдалось пожелтение, и появились участки некроза. При воздействии отрицательных температур большинство листьев приобрели бурый оттенок. Однако обработанные экотолом растения в течение всего периода исследования сохраняли значительно большую часть листьев по сравнению с контрольными. К концу наблюдений доля листьев от их первоначального числа у обработанных растений была во много раз выше (59.9 %), чем у контрольных образцов (5.8 %) (см. табл. 1). На рис. 2 показан общий вид обработанных экотолом и контрольных растений открытого грунта в начале (а и б соответственно) и в конце исследования (в и г соответственно). С понижением температуры содержание хлорофиллов в листьях грунтовых растений уменьшалось в обоих вариантах эксперимента (см. рис. 1, б). Практически весь период исследования (за исключением последнего заморозка 18.10) содержание хлорофиллов в листьях необработанных

растений было выше по сравнению с обработанными экотолом. Однако последний заморозок, критический для жизнедеятельности в открытом грунте, обработанные экотолом растения перенесли лучше контрольных: содержание хлорофиллов в их листьях (3.1 мг/г), как и в условиях оранжереи, было выше, чем в листьях необработанных образцов (1.4 мг/г).

Соотношение хлорофиллов  $a/b$  в листьях оранжерейных и грунтовых растений варьировало незначительно (рис. 3, а, б), за исключением точки наблюдения 13.09 у листьев необработанных растений в оранжерее. Содержание суммы хлорофиллов в этой точке наблюдения в листьях контрольных растений значительно возросло, в основном за счет хлорофилла  $b$ .

Содержание каротиноидов в листьях оранжерейных растений увеличивалось при понижении температуры, а при достижении оптимальных условий в конце сентября – октябре снова уменьшалось до величин начала сентября. Во всех точках наблюдения, кроме 18.09, в листьях необработанных растений содержание каротиноидов было значительно ниже, а в этот день исследуемые величины в двух вариантах эксперимента различались незначительно (см. рис. 1, в). В растениях открытого грунта динамика содержания каротиноидов была аналогичной: к концу исследования их количество также понижалось, особенно значительно – в листьях контрольных образцов. Листья обработанных экотолом растений характеризовались более выравненной динамикой содержания каротиноидов (см. рис. 1, г).

Содержание антоцианов в листьях обработанных экотолом оранжерейных растений на протяжении всего периода исследования превышало их содержание в листьях контрольных образцов (см. рис. 1, д). В открытом грунте до понижения температуры 18.09 содержание антоцианов в листьях обработанных экотолом растений было ниже, чем в листьях контрольных образцов. Однако в период заморозков в листьях контрольных растений содержание антоцианов понизилось критически (до 1.8 мг/г), а в листьях обработанных растений – существенно повысилось (до 12.8 мг/г) (см. рис. 1, е).

Величины соотношений хлорофиллы ( $a + b$ )/каротиноиды (см. рис. 3, в, г) и хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы (см. рис. 3, д, е) понижались от начала к концу периода исследований, за исключением точки наблюдения 13.09 в листьях необработанных оранжерейных растений. Динамики обоих соотношений были аналогичными.

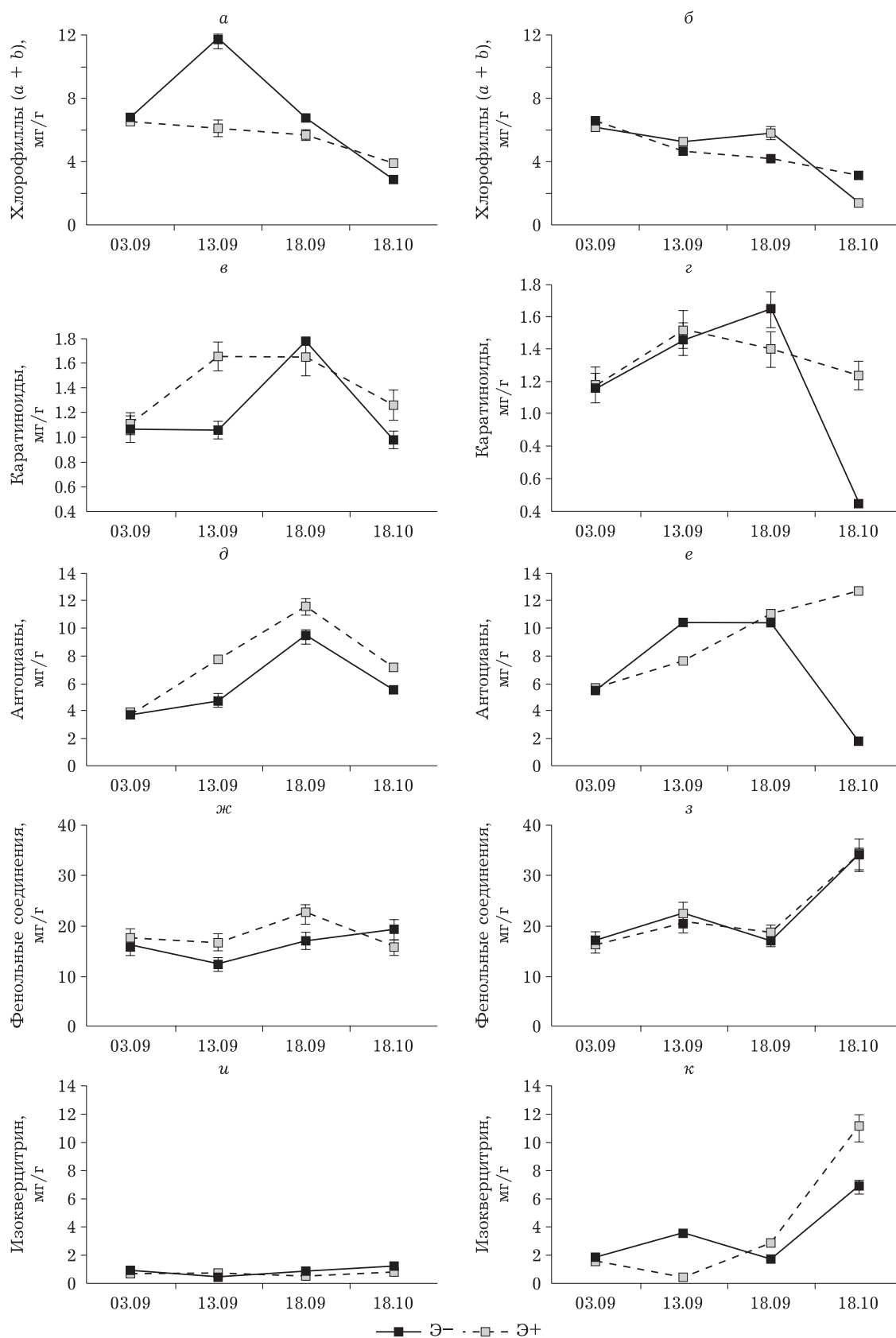


Рис. 1. Содержание суммы хлорофиллов (a + b) (a,б), каротиноидов (в,г), антоцианов (д,е), суммы фенольных соединений (ж з) и изокверцитрина (и,к) в листьях растений *Begonia grandis*, выращиваемых в оранжерее (a, в, д, ж и) и в открытом грунте (б, г, е з к), обработанных (Э+) и не обработанных экотолом (Э-), в период понижения температуры воздуха и заморозков (2018 г.).



Рис. 2. Общий вид обработанных экотолом и контрольных растений *Begonia grandis* открытого грунта сразу после обработки экотолом 03.09 (а и б соответственно) и в конце эксперимента после ночного заморозка 18.10 (в и г соответственно) (2018 г.).

Однако к концу периода наблюдений различия между обработанными экотолом и контрольными растениями в открытом грунте по соотношению хлорофиллы/антоцианы была выше, чем по соотношению хлорофиллы/каротиноиды.

Содержание суммы фенольных соединений (фенолкарбоновых кислот, О-гликозидов флавонолов и С-гликозилфлавонов) при понижении температуры воздуха возрастало в листьях грунтовых растений как обработанных экотолом, так и контрольных (см. рис. 1, з). В листьях необработанных растений повышение содержания фенольных соединений происходило в большей сте-

пени за счет ориентина (рис. 4, а), а при обработке экотолом – за счет О-гликозидов (см. рис. 4, б). При этом в листьях оранжевых растений оно существенно не изменялось (см. рис. 1, ж).

Содержание изокверцитрина в листьях оранжевых растений было незначительным во всех точках наблюдения (в листьях грунтовых растений – существенно выше) и при понижении температуры многократно возрастало, наиболее значимо – в листьях обработанных экотолом растений (см. рис. 1, и, к).

Понижение температуры в естественных условиях произрастания служит фактором, регу-



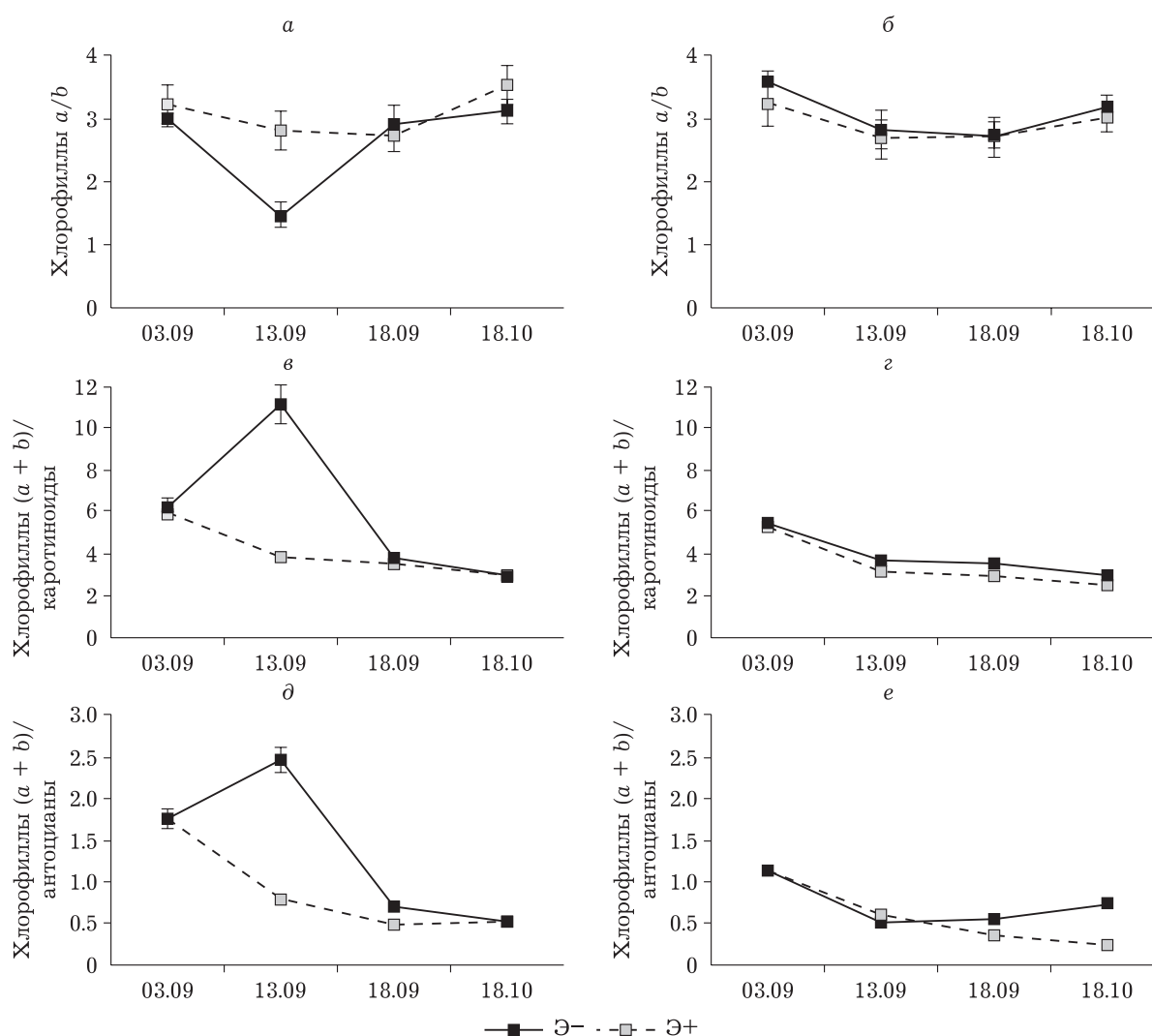


Рис. 3. Величины соотношений хлорофиллов  $a/b$  (а,б), хлорофиллы  $(a+b)/$  каротиноиды (в,г) и хлорофиллы  $(a+b)/$  антоцианы (д,е) в листьях растений *Begonia grandis*, выращиваемых в оранжерее (а, в, д) и в открытом грунте (б, г, е), обработанных (Э+) и не обработанных экотолом (Э-), в период понижения температуры воздуха и заморозков (2018 г.).

лирующим перекрестную адаптацию и жизнедеятельность самого растения и его потомства [30]. Варианты проведенного эксперимента демонстрируют воздействие экотола на растения *B. grandis* в течение двух этапов закаливания, в естественных условиях предшествующих периоду покоя, когда после низких положительных температур следуют отрицательные. Предварительное изучение динамики показателей физиологического состояния *B. grandis* в течение нескольких лет позволило нам оценить состояние обработанных экотолом растений и выявить у них признаки стресса и адаптации. Состояние растений *B. grandis* в оптимальных условиях характеризуется следующими диапазонами концентраций пигментов: 4–8 мг/г хлорофиллов, 1–1.5 мг/г каротиноидов и 2–4 мг/г антоцианов.

Значения соотношений хлорофиллы  $(a+b)/$  каротиноиды и хлорофиллы  $(a+b)/$  антоцианы составляют 4–6 и 2.5–4 соответственно. В состоянии стресса и адаптации в листьях повышается содержание каротиноидов и антоцианов, а величины указанных соотношений становятся ниже 4 и 2.5 соответственно [17].

Увеличение содержания каротиноидов и антоцианов относят к основным признакам состояний стресса и адаптации [3, 31, 32]. Повышение содержания каротиноидов и антоцианов при понижении содержания суммы хлорофиллов относительно величин контрольных образцов было выявлено в листьях оранжерейных растений после обработки экотолом уже к 13.09. Это свидетельствует о формировании у обработанных оранжерейных растений состояния адаптации.



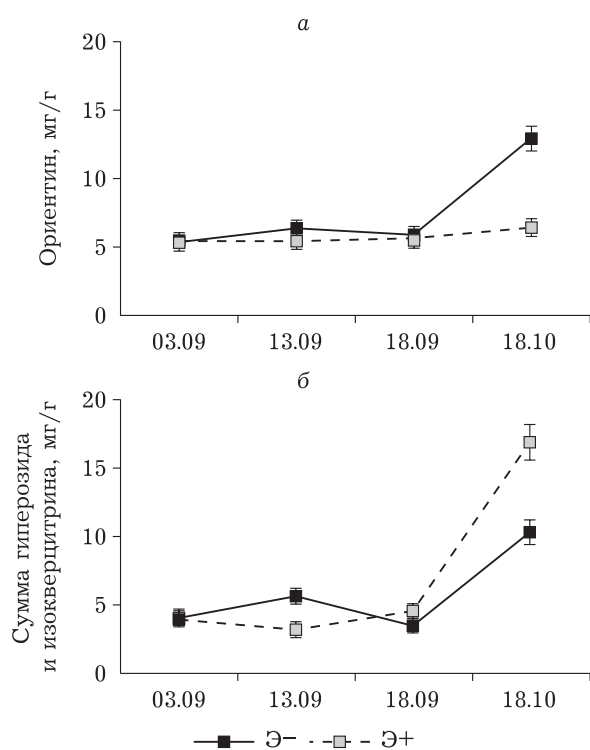


Рис. 4. Содержание ориентина (а) и суммы гиперозида и изокверцитрина (б) в листьях растений *Begonia grandis*, выращиваемых в открытом грунте, обработанных (Э+) и не обработанных экотолом (Э-), в период понижения температуры воздуха и заморозков (2018 г.).

Аналогичное состояние у контрольных образцов было отмечено только 18.09 (см. рис. 1, а, в, д). При этом в условиях постоянно понижающейся температуры воздуха в открытом грунте снижение содержания суммы хлорофиллов и повышение содержания каротиноидов и антоцианов в листьях обработанных экотолом и контрольных растений было практически синхронным. Это говорит об отсутствии признаков стресса, вызванного обработкой экотолом, у растений открытого грунта.

Заслуживает внимания и факт понижения содержания каротиноидов и антоцианов в поврежденных листьях контрольных растений (до 0.5 и 1.8 мг/г соответственно) в результате их разрушения под действием заморозка 18.10. При этом в начале наблюдения в листьях обработанных растений их концентрация была существенной – 1.2 и 12.8 мг/г соответственно (см. рис. 1, г, е). Ранее показано, что состояние адаптации в растениях *B. grandis* обеспечивается повышением содержания антоцианов только в пределах незначительных перепадов температур, а более существенное понижение температуры вызывает уменьшение их концентрации при возрастании концентрации флавонолов [12].

Уменьшение содержания антоцианов после заморозка 18.10 в листьях контрольных растений подтверждает эти результаты. Отмечено, что в листьях обработанных экотолом образцов содержание антоцианов существенно повысилось (см. рис. 1, е). Следовательно, экотол модифицировал адаптивный ответ растений путем аккумуляции антоцианов в листьях в условиях существенного понижения температуры воздуха. Аналогичные различия были выявлены в динамике содержания каротиноидов в листьях растений открытого грунта (см. рис. 1, г). При этом, в отличие от антоцианов, содержание каротиноидов в листьях обработанных экотолом растений после 18.09 понизилось, однако не столь значительно, как в листьях контрольных образцов. Таким образом, действие экотола по отношению к каротиноидам можно назвать протективным.

Известно, что холодовые воздействия изменяют и величины соотношений хлорофиллов *a/b*. Однако роль различных групп хлорофиллов в устойчивости к холоду до сих пор не до конца выяснена. Существует точка зрения об участии хлорофилла *a* в адаптации к низкой температуре. Однако ответ растений на охлаждение не всегда состоит в более интенсивном уменьшении содержания хлорофилла *a* по сравнению с хлорофиллом *b* и уменьшении величины соотношения хлорофиллов *a/b*. В некоторых случаях при охлаждении увеличиваются содержание хлорофилла *a* и соотношение хлорофиллов *a/b* [33]. Понижение температуры в обоих вариантах проведенного эксперимента способствовало более существенному уменьшению содержания хлорофилла *a* по сравнению с хлорофиллом *b* и понижению величины их соотношения (см. рис. 3, а, б). Это соответствует данным [34] о более значительном вкладе хлорофилла *a* в снижение концентрации суммы хлорофиллов при низкой температуре, которое обычно касается обеих его форм [35]. Величины этого соотношения в течение всего периода исследования во всех вариантах эксперимента находились на границе или выше уровня оптимальных значений для теневыносливого растения (2.1–2.6) [17]. Однако уменьшение величин соотношения хлорофиллов *a/b* даже у растений открытого грунта не было значительным, и обработка экотолом не оказывала на изменение его значений существенного влияния.

Невысокие величины соотношения хлорофиллы (*a + b*)/каротиноиды (<4) свидетельствуют о формировании состояния стресса и

адаптации у всех растений после 13.09 или 18.09, а величины соотношения хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы ( $<2.5$ ) – о наличии стресса у растений с самого начала наблюдений 03.09 (за исключением контрольных растений в оранжерее 13.09). Возрастание величины соотношений хлорофиллы ( $a + b$ )/каротиноиды и хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы в листьях контрольных растений в оранжерее к 13.09, вероятно, вызвано подготовкой к цветению (все остальные растения к этому моменту уже цвели). Понижение температуры воздуха могло послужить одним из стимулов для цветения растений в открытом грунте. А экотол мог проявить аналогичное действие на растения в оранжерее [36].

Содержание суммы фенольных соединений (фенолкарбоновых кислот, О-гликозидов флавонолов и С-гликозилфлавонов), как и в нашем предыдущем исследовании [16], при понижении температуры воздуха существенно возрастало. Наиболее значительное увеличение их суммы наблюдалось у грунтовых растений как обработанных экотолом, так и контрольных (см. рис. 1, з). Это указывает на серьезную роль фенольных соединений в формировании состояния адаптации растений к пониженной температуре. Экотол модифицировал реакцию растения путем дополнительного повышения содержания О-гликозидов флавонолов, в том числе изокверцитрина (см. рис. 1, к).

При исследовании динамики химического состава листьев в 2013–2015 гг. изокверцитрин не был обнаружен в листьях оранжерейных растений [16]. Однако в настоящем эксперименте он определялся в низкой концентрации в листьях оранжерейных растений в течение всего периода наблюдений (0.6–1.3 мг/г) (см. рис. 1, и).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что определенное стрессовое воздействие экотола на растения проявляется только в оптимальных для вегетации температурных условиях. По последствиям оно аналогично понижению температуры воздуха и, вероятнее всего, необходимо для перехода к цветению. Это показывает возможности регулирования цветения как путем понижения температуры воздуха, так и обработкой экотолом. Обработка экотолом особенно важна в оранжереях, где одновременно выращиваются растения из различных экологических групп, и понижение температуры воздуха для толерантных к охлаждению растений может привести к гибели более теплолюбивых видов.

В условиях низкотемпературного стресса обработка экотолом не приводит к дополнитель-

ной стрессовой реакции, однако реакция адаптации модифицируется, обеспечивая лучшее физиологическое состояние растений при переходе к состоянию покоя, а именно сохранение большей доли листьев, предотвращение разрушения в них каротиноидов, а также аккумуляцию антоцианов, флавонов и флавонолов.

Такое воздействие, скорее всего, стало причиной повышения жизнеспособности клубней обработанных растений и способствовало их прорастанию, которое началось в следующий вегетационный период 2019 г. на 2 недели раньше, чем у необработанных растений. Растения из этих клубней перешли к цветению во второй декаде июля, что намного раньше среднелетних сроков (август). Исследование влияния экотола на генеративные органы *B. grandis* – перспективная задача.

Положительное воздействие экотола на физиологическое состояние *B. grandis* в условиях низкотемпературного стресса согласуется с аналогичным его действием на древесные растения при повышенных температурах и избытке свинца в почве [22], а также на растения яровой пшеницы в условиях засухи [23]. Это свидетельствует о перспективности производства экотола как комплекса физиологически активных компонентов, активирующего адаптационные возможности растений, с помощью экологически безопасной технологии переработки отходов сельского и городского хозяйства (соломы и листьев).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучено воздействие продукта переработки соломы (экотола) на динамику показателей физиологического состояния растений *B. grandis*: содержание суммы хлорофиллов ( $a + b$ ), каротиноидов, антоцианов, флавонов и флавонолов, а также соотношений хлорофиллов  $a/b$ , хлорофиллы ( $a + b$ )/каротиноиды и хлорофиллы ( $a + b$ )/антоцианы в листьях растений *B. grandis* subsp. *grandis*, интродуцированных в Западной Сибири (Новосибирск) при понижении температуры воздуха в конце вегетационного периода в условиях оранжереи и открытого грунта.

При обработке экотолом адаптивный ответ растений на низкотемпературное воздействие модифицировался, что обеспечивало более высокий физиологический статус растений при переходе к состоянию покоя по сравнению с необработанными растениями. При этом обработанные растения сохраняли большее число листьев с более высоким содержанием в них суммы хло-

рофиллов ( $a + b$ ), каротиноидов, антоцианов и О-гликозидов флавонолов, в том числе изокверцитрина. Эти свойства, наряду с описанными ранее положительными воздействиями на физиологическое состояние растений при адаптации к высокотемпературному стрессу и техногенному загрязнению, характеризуют экотол как комплексный препарат, повышающий потенциал адаптивности растений.

Работа выполнена в рамках государственных заданий ЦСБС СО РАН № АААА-А17-117012610051-5 “Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами” и № АААА-А17-117012610053-9 “Выявление путей адаптации растений к контрастным условиям обитания на популяционном и организменном уровнях”.

При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте” УНУ № USU 440534.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gu C., Peng C. I., Turland N. J. Begoniaceae. In: Flora of China. Vol. 13 (Clusiaceae through Araliaceae) / Ed. by Z. Y. Wu, P. H. Raven, D. Y. Hong. Beijing: Science Press, and St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2007. P. 153–207.
- Li X., Tian D., Li C., Liu K., Li X., Nakata M. The history, culture, utilization, germplasm diversity and research advances of *Begonia grandis* Dry // Botanical Research. 2014. Vol. 3. P. 117–139 (In Chinese).
- Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // J. Photochem. Photobiol. B. 1999. Vol. 70, No. 1. P. 1–9.
- Merzlyak M. N., Chivkunova O. B., Solovchenko A. E., Naqvi K. R. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves // J. Exp. Bot. 2008. Vol. 59, No. 14. P. 3903–3911.
- Чудинова Л. А., Орлова Н. В. Физиология устойчивости растений. Учеб. пособ. к спецкурсу. Пермь: Перм. гос. ун-т, 2006. 124 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.psu.ru/files/docs/fakultety/bio/fiziologiya-ustojchivosti-rastenij.pdf> (дата обращения: 01.06.2020).
- Ненько Н. И., Киселева Г. К., Ульяновская Е. В., Караваева А. В. Физиолого-биохимическая оценка устойчивости растений яблони к стрессорам зимнего и летнего периодов // Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6, № 3. С. 65–71.
- Kancheva R., Borisova D., Georgiev G. Chlorophyll assessment and stress detection from vegetation optical properties // Ecological Engineering and Environment Protection. 2014. Vol. 1. P. 34–43.
- Liu C., Liu Y., Lu Y., Liao Y., Nie J., Yuan X., Chen F. Use of a leaf chlorophyll content index to improve the prediction of above-ground biomass and productivity // PeerJ. 2019. No. 1. e6240. URL: <https://doi.org/10.7717/peerj.6240> (дата обращения: 25.11.2019).
- Domonkos I., Kis M., Gombos Z., Ughy B. Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis // Prog. Lipid Res. 2013. Vol. 52, No. 4. P. 539–561.
- Haldimann P. Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in chilling sensitivity // Plant Cell Environ. 1998. Vol. 21. P. 200–208.
- Solecka D., Kasperska A., Boudet A. M. Phenylpropanoid and anthocyanin changes in low-temperature treated winter oilseed rape leaves // Plant Physiol. Biochem. 1999. Vol. 37, No. 6. P. 491–496.
- Tian J., Han Z., Zhang L., Song T., Zhang J., Li J., Yao Y. Induction of anthocyanin accumulation in crabapple (*Malus cv.*) leaves by low temperatures // HortScience. 2015. Vol. 50, No. 5. P. 640–649.
- Gould K. S., Lister C. Flavonoid Functions in Plants, in: Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications / Ed. by Ø. M. Andersen, K. R. Markham. New-York, etc.: Taylor & Francis Group, 2006. P. 397–443.
- Di Ferdinando M., Brunetti C., Fini A., Tattini M. Flavonoids as Antioxidants in Plants under Abiotic Stresses, in: Abiotic Stress Responses in Plants. Metabolism, Productivity and Sustainability / Ed. by P. Ahmad, M. N. V. Prasad. New York, etc.: Springer, 2012. P. 159–180.
- Чупахина Г. Н., Масленников П. В., Скрыпник Л. Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект). Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта, 2011. 111 с.
- Karpova E. A., Fershalova T. D., Petruk A. A. Flavonoids in adaptation of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* introduced in West Siberia (Novosibirsk) // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2016. Vol. 12, No. 3. P. 44–56.
- Карпова Е. А., Фершалова Т. Д. Динамика содержания пигментов в листьях *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* при интродукции в Западной Сибири (г. Новосибирск) // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2016. № 1 (33). С. 140–158.
- Zhang J., Chen Y., Li B., Wang M. Chemical constituents of *Begonia evansiana* Andr. // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 1997. Vol. 22, No. 5. P. 295–296, 320 (in Chinese).
- Iwashina T., Saito Y., Peng C.-I., Yokota M., Kokobugata G. Foliar flavonoids from two *Begonia* species in Japan // Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., Ser. B. 2008. Vol. 34, No. 4. P. 175–181.
- Joshi K. R., Devkota H. P., Nakamura T., Watanabe T., Yahara S. Chemical constituents and their DPPH radical scavenging activity of Nepalese crude drug *Begonia picta* // Rec. Nat. Prod. 2015. Vol. 9, No. 3. P. 446–450.
- Лебедев Г. В., Сабина Е. Д., Лебедева Н. Г., Бубенчикова З. И., Абраменкова Н. А., Жизневская Г. Я., Прохоров С. Ф., Востров И. С., Плешков Д. А., Леонова С. С., Демидов А. С. Экотолы. Производство и применение. М.: ФГУП “ВИМИ”, 2004. 116 с.
- Фитискина Н. В. Полифункциональность воздействия экотолы на древесные саженцы при неблагоприятных условиях среды: дис. ... канд. биол. наук. М., 2017. 159 с.
- Фитискина Н. В., Карташова Е. Р., Юрина Т. П., Олескин А. В., Курченко В. П., Калабин Г. А., Кудоярова Г. Р., Архипова Т. Н. Физиологически активные соединения в продуктах микробиологического разложения соломы злаков, и их влияние на рост и урожайность растений в неблагоприятных условиях // Экобиотех. 2018. Т. 1, № 3. С. 161–176.
- Луцицкая И. О., Белая Н. И., Арбузов С. А. Климат Новосибирска и его изменения. Новосибирск: Издательство СО РАН, 2014. 224 с.
- Фершалова Т. Д., Байкова Е. В. Интродукция бегоний в оранжереях и интерьерах. Новосибирск: Гео, 2013. 157 с.
- Lichtenthaler H. K., Buschmann C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spec-

- troscopy, in: Current Protocols in Food Analytical Chemistry [Electronic resource]. F4.3.1-F4.3.8. New York: John Wiley & Sons, 2001. URL: [http://www.thyssen-web.de/assets/files/fd\\_documents/sp\\_buche/uv\\_vis\\_pigmente.pdf](http://www.thyssen-web.de/assets/files/fd_documents/sp_buche/uv_vis_pigmente.pdf) (дата обращения: 25.11.2019).
- 27 Horbowicz M., Mioduszewska H., Koczkodaj D., Saniewski M. The effect of methyl jasmonate and phenolic acids on growth of seedlings and accumulation of anthocyanins in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) // Acta Agrobot. 2009. Vol. 62, No. 1. P. 49–56.
- 28 Sims D. A., Gamon J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages // Remote Sens. Environ. 2002. Vol. 81. P. 337–354.
- 29 Зайцев Г. Н. Математический анализ биологических данных. М.: Наука, 1991. 184 с.
- 30 Wojciechowska R., Kalisz A., Sękara A., Nosek M., Cebula S., Miszański Z., Kunicki E., Grabowska A. Alterations in chlorophyll a fluorescence and pigments concentration in the leaves of cauliflower and broccoli transplants subjected to chilling // Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca. 2016. Vol. 44, No. 1. P. 17–24.
- 31 Othman R., Mohd Zaifuddin F. A., Hassan N. M. Carotenoid biosynthesis regulatory mechanisms in plants // J. Oleo. Sci. 2014. Vol. 63, No. 8. P. 753–760.
- 32 Uarrota V. G., Stefen D. L. V., Leolato L. S., Gindri D. M., Nerling D. Revisiting Carotenoids and Their Role in Plant Stress Responses: From Biosynthesis to Plant Signaling Mechanisms During Stress, in: Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants / Ed. by D. Gupta, J. Palma, F. Corpas. Cham: Springer, 2018. P. 207–232.
- 33 Babenko L. M., Kosakivska I. V., Akimov Yu. A., Klymchuk D. O., Skaternya T. D. Effect of temperature stresses on pigment content, lipoxygenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedlings // Genet. Plant Physiol. 2014. Vol. 4, No. 1–2. P. 117–125.
- 34 Kalisz A., Jezdinsky A., Pokluda R., Sękara A., Grabowska A., Gil J. Impacts of chilling on photosynthesis and chlorophyll pigment content in juvenile basil cultivars // Hortic. Environ. Biotechnol. 2016. Vol. 57, No. 4. P. 330–339.
- 35 Oksanen E., Freiwald V., Prozherina N., Rousi M. Photosynthesis of birch (*Betula pendula* Roth) is sensitive to spring-time frost and ozone // Can. J. For. Res. 2011. Vol. 35. P. 703–712.
- 36 Пятыйгин С. С. Стресс у растений: физиологический подход // Журн. общей биологии. 2008. Т. 69, № 4. С. 294–298.