

УДК 630*232.1: 502.171(072)

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Семенютина В.А., Беляев А.И., Свинцов И.П.

Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения
Российской академии наук, Волгоград, e-mail: VSem89@mail.ru

В Волгоградской области засуха является одним из главных экологических стрессов для древесных растений. В полевых условиях проведено экспериментальное изучение засухоустойчивости по содержанию биологических пигментов. В исследовании использовали портативный измеритель флавоноидов, антоцианов и хлорофилла DUALEX SCIENTIFIC+. Объектами исследований являлись листья 10-летних организмов древесного растения *Zizyphus jujuba* (крупноплодных – «Та-ян-цзао», «Южанин»; среднеплодных – «Дружба», «Финик»; мелкоплодных форм – «Сочинский», «Темрюкский»), произрастающих на каштановых почвах (Волгоградская область, коллекции ФНЦ агроэкологии РАН). Годы исследований: 2018 (с засушливым летним периодом) и 2019 (более благоприятный в гидрологическом отношении). Инструментально выявлены различия показателей содержания пигментов в зависимости от влияния экологических стрессов (летние засухи, освещенность в пределах кроны, климатические факторы места произрастания). В течение вегетационных периодов отмечено наибольшее содержание биологических пигментов в листовом аппарате крупноплодных форм (хлорофилл: 23,22–29,48 мг/см²; флавоноиды: 1,57–1,73 мг/см²; антоцианы: 0,10–0,16 мг/см²). Листья растений мелкоплодных форм характеризуются меньшим содержанием пигментов (хлорофилл: 13,99–24,80 мг/см²; флавоноиды: 1,79–1,96 мг/см²; антоцианы: 0,14–0,21 мг/см²). В засушливый период содержание хлорофилла снижается, содержание флавоноидов и антоцианов возрастает, что обуславливает механизмы адаптации растений к стрессовым факторам недостатка воды. В ответ на засушливые условия листья мелкоплодных форм интенсивнее накапливали и синтезировали флавоноиды и антоцианы, что подтверждает их адаптацию к неблагоприятным условиям среды. Исследование хлорофилла выявило различия в его содержании по вертикальному профилю кроны – оно увеличивается сверху вниз. Установлено, что в пределах кроны содержание антоцианов и флавоноидов находится в обратной зависимости от концентрации хлорофилла. У более засухоустойчивых растительных организмов *Zizyphus jujuba* («Темрюкский», «Сочинский») в условиях водного дефицита меньше повреждаются системы клеток за счет изменений в содержании биологических пигментов.

Ключевые слова: *Zizyphus jujuba*, хлорофилл, флавоноиды, антоцианы, засушливый период, стрессовый фактор, адаптация

ANALYSIS OF THE CONTENT OF BIOLOGICAL PIGMENTS IN LEAVES OF WOOD PLANTS UNDER STRESS

Semenyutina V.A., Belyaev A.I., Svintsov I.P.

Federal Scientific Centre of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of Russian Academy of Sciences, Volgograd, e-mail: VSem89@mail.ru

In the Volgograd region, drought is one of the main environmental stresses for woody plants. In the field, an experimental study of drought resistance by the content of biological pigments was carried out. The study used a portable meter of flavonoids, anthocyanins and chlorophyll – DUALEX SCIENTIFIC+. The objects of research were the leaves of 10-year-old plant organisms of the bush *Zizyphus jujuba* (large-fruited – 'Ta-yan-tszao', 'Yujanin'); medium-fruited – 'Friendship', 'Finik'; small-fruited forms – 'Sochinsky', 'Temryuksky') on chestnut soils (Volgograd region, collections of the Federal Research Center for Agroecology of the Russian Academy of Sciences). Years of research: 2018 (with a dry summer period) and 2019 (hydrologically more favorable). Using a portable instrument, differences in the pigment content were revealed depending on the influence of environmental stresses (summer droughts, light exposure within the crown, climatic factors of the place of growth). During the growing season, the highest content of biological pigments was noted in the leaf apparatus of large-fruited forms (chlorophyll: 23.22–29.48 mg/cm²; flavonoids: 1.79–1.96 mg/cm²; anthocyanins: 0.14–0.21 mg/cm²). The leaves of small-fruited plants are characterized by a lower pigment content (chlorophyll: 13.99–24.80 mg/cm²; flavonoids: 1.57–1.73 mg/cm²; anthocyanins: 0.10–0.16 mg/cm²). In the dry period, the chlorophyll content decreases; the content of flavonoids and anthocyanins increases, which determines the mechanisms of plant adaptation to stress factors of a lack of water. In response to arid conditions, light intensity and water scarcity, the leaves of small-fruited varieties accumulated and synthesized flavonoids and anthocyanins more intensively, which confirms the best adaptation of these varieties to adverse environmental conditions. A study of chlorophyll revealed differences in its content along the vertical profile of the crown – it increases from top to bottom within the crown. It was established that, within the crown, the content of anthocyanins and flavonoids is inversely related to the concentration of chlorophyll. In more drought-resistant plant organisms, *Zizyphus jujuba* ('Temryuksky', 'Sochinsky') under water deficiency, cell systems are less damaged due to changes in the content of biological pigments. The accumulation of flavonoids and anthocyanins can be part of the stress signal caused by drought and affect the adaptive reactions of plant organisms.

Keywords: *Zizyphus jujuba*, chlorophyll, flavonoids, anthocyanins, dry period, stress factor, adaptation

Засуха является одним из главных экологических стрессов, ограничивающих продуктивность растений [1]. Растения страдают от засухи, когда у них нет

доступа к достаточному количеству воды для установления баланса между поглощением и потерей воды [2]. Растительные организмы используют различные адаптации

для преодоления водного дефицита и выживания. Они делятся на две категории: предотвращение засухи и устойчивость к засухе – и зависят от интенсивности, продолжительности и вида стресса, а также способности растения адаптироваться на молекулярном, биохимическом и физиологическом уровнях [3]. При воздействии засухи снижается скорость фотосинтеза, что приводит к меньшей ассимиляции органического вещества для роста и урожайности. Растения могут частично защитить себя при мягком стрессе от засухи путем накопления осмолитов. Накопление биологических пигментов может быть частью сигнала стресса, влияющего на адаптивные реакции [4].

Флавоноиды представляют собой группу многофункциональных растительных вторичных метаболитов, которые играют ключевую роль в защите растений от ультрафиолетового излучения, патогенных микроорганизмов и абиотических стрессов [5].

Часть биохимической адаптации включает в себя изменение типа или количества флавоноидных соединений, а также изменение их транспорта и закономерности распределения в растительных тканях / органах [6]. Они определяют цвет плодов и семян, а также отвечают за аллелопатию, симбиоз растительных бактерий и контролируют рост и развитие растений через торможение транспорта ауксина. Кроме того, защитная задача флавоноидов в растениях связана с их антиоксидантной активностью. Гидроксильные группы флавоноидов, как доноры электронов или водорода, инициируют удаление свободных радикалов. Клетки высшего растения содержат не только основные органические вещества, такие как углеводы, белки, жиры или нуклеиновые кислоты, но также и широкий спектр других молекул с фенольной химической структурой. Доказано, что некоторые из их функций в растениях связаны с адаптацией к вредному УФ-излучению, взаимодействию растений и травоядных животных или химической защитой от вредителей и патогенов [3, 4, 7].

Актуально изучение накопления и динамики содержания биологических пигментов в клетках растительных организмов как части агроэкологического мониторинга устойчивости и адаптивных реакций растений.

Цель исследования: изучить влияние факторов среды (освещенность – нижняя, средняя и верхняя части кроны; воздействие климатических стресс-факторов –

засуха, интенсивность света) на накопление биологически активных веществ – флавоноидов, хлорофиллов, антоцианов у различных форм *Zizyphus jujuba* (мелко-, средне- и крупноплодных).

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись листья 10-летних растительных организмов кустарника *Zizyphus jujuba* (крупноплодных – «Та-ян-цзао», «Южанин»; среднеплодных – «Дружба», «Финик»; мелкоплодных форм – «Сочинский», «Темрюкский»), произрастающих на каштановых почвах (Волгоградская область, коллекции ФНЦ агроэкологии РАН). Годы исследований: 2018 (с засушливым летним периодом) и 2019 (более благоприятный в гидрологическом отношении). Изучен пигментный комплекс листьев растений двух представительных участков (г. Волгоград – шесть сортов и г. Камышин – растения мелкоплодной формы) [8].

Измерения проводились с июня по август в течение 2018 и 2019 гг. устройством DUALEX SCIENTIFIC + (рис. 1).



Рис. 1. Процесс измерения содержания биологически активных веществ в листьях *Zizyphus jujuba*

Для измерений биологических пигментов (хлорофилл $a + b$, флавоноиды, антоцианы) в полевых условиях с помощью переносного прибора (DUALEX SCIENTIFIC +) отмечались маркером прикрепленные листья в верхней, средней и нижней частях кроны. Для измерения УФ-поглощения эпидермисом зажим прибора размещали на участках листа без крупных боковых и центральной жилок. Измерения проводились в каждом ярусе на 10 листьях каждого

растения в 10-кратной повторности. Диаметр измеряемой поверхности 5 мм. Измерения проводились каждую декаду месяца (в полуденные часы). Температура (°C) и влажность воздуха (%) фиксировались с помощью HYGROMETER testo 608-H1.

Принцип работы прибора Dualex: измерение оптической абсорбции УФ-лучей при определении количества флавоноидов; при измерении содержания хлорофилла – пропускание в двух длинах инфракрасного излучения.

Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи программных пакетов Excel MS Office-2010 и Statistica 10.

Результаты исследования и их обсуждение

Под влиянием высокой температуры ксероморфность растений повышается как важный показатель адаптации к засушливым условиям [4, 7]. Это согласуется с анализом содержания биологически активных веществ флавоноидов, хлорофиллов и антоцианов (табл. 1).

Наблюдаются сортовые различия в накоплении биологически активных веществ.

Наибольшее накопление БАВ у листьев крупноплодных сортов, что очевидно связано с тем, что их листья более мясистые и сочные, характеризуются большей массой, толщиной и объемом (хлорофилл: 23,22–29,48 мг/см²; флавоноиды: 1,57–1,73 мг/см²; антоцианы: 0,10–0,16 мг/см²). Листья растений мелкоплодных форм кожистые с большим количеством жилок характеризуются меньшим содержанием пигментов (хлорофилл: 13,99–24,80 мг/см²; флавоноиды: 1,79–1,96 мг/см²; антоцианы: 0,14–0,21 мг/см²).

Водный стресс подавляет фотосинтез, воздействуя на компоненты хлорофилла. Содержание хлорофилла связано с водоудерживающей способностью листьев древесных растений. Меньше хлорофилла накапливалось под влиянием тепла и света в засушливый летний период 2018 г. 2019 год был благоприятен в гидрологическом отношении, характеризовался частыми обильными осадками на территории Нижнего Поволжья, в этот период зафиксировано максимальное содержание хлорофилла у крупноплодных сортов (27,15–29,48 мг/см²).

Таблица 1

Концентрации некоторых пигментов в тканях листьев сортов унаби (путем измерения содержания хлорофилла (Chl), флавоноидов (Flav), антоцианов (Anth) в листьях) DUALEX SCIENTIFIC +

Сорт	Содержание, мг/см ²					
	2018			2019		
	хлорофилл <i>a + b</i>	флавоноиды	антоцианы	хлорофилл <i>a + b</i>	флавоноиды	антоцианы
«Та-ян-цао»	$24,54 \pm 1,09$ 24,00–25,79	$1,73 \pm 0,08$ 1,64–1,78	$0,16 \pm 0,010$ 0,15–0,17	$29,48 \pm 1,13$ 28,70–30,79	$1,66 \pm 0,17$ 1,54–1,85	$0,10 \pm 0,018$ 0,08–0,12
«Южанин»	$23,22 \pm 1,13$ 22,27–24,18	$1,69 \pm 0,08$ 1,64–1,78	$0,16 \pm 0,009$ 0,15–0,16	$27,15 \pm 1,08$ 25,98–28,11	$1,57 \pm 0,21$ 1,33–1,71	$0,10 \pm 0,018$ 0,10–0,03
«Дружба»	$20,73 \pm 0,66$ 20,15–21,44	$1,76 \pm 0,14$ 1,63–1,90	$0,17 \pm 0,022$ 0,15–0,20	$26,90 \pm 1,95$ 24,50–28,85	$1,72 \pm 0,01$ 1,71–1,72	$0,13 \pm 0,004$ 0,12–0,13
«Финик»	$19,83 \pm 3,40$ 17,15–23,66	$1,76 \pm 0,09$ 1,66–1,84	$0,17 \pm 0,028$ 0,15–0,20	$26,09 \pm 2,34$ 24,42–28,78	$1,70 \pm 0,04$ 1,68–1,76	$0,13 \pm 0,022$ 0,10–0,14
«Сочинский»	$16,15 \pm 1,77$ 14,33–17,86	$1,96 \pm 0,13$ 1,81–2,04	$0,21 \pm 0,004$ 0,21–0,22	$24,80 \pm 2,77$ 21,83–27,32	$1,96 \pm 0,13$ 1,57–0,21	$0,15 \pm 0,005$ 0,14–0,15
«Темрюкский»	$13,99 \pm 1,79$ 12,54–15,99	$1,84 \pm 0,04$ 1,80–1,89	$0,18 \pm 0,015$ 0,17–0,19	$21,89 \pm 3,05$ 18,41–24,10	$1,79 \pm 0,01$ 1,77–1,80	$0,14 \pm 0,003$ 0,13–0,15
Температура воздуха, °C	33,84–36,26			31,02–31,92		
Влажность воздуха, %	25–34			46–49		

Примечание. *В числителе – среднее значение и стандартное отклонение значений; в знаменателе – минимальное и максимальное значения.

Флавоноиды и антоцианы поглощают избыточную солнечную радиацию, последние способны также выполнять роль осморегулятора клеток при водном стрессе. В ответ на засушливые условия, интенсивность света и дефицит воды листья мелкоплодных сортов интенсивнее накапливали и синтезировали флавоноиды и антоцианы, что подтверждает лучшее приспособление данных сортов к неблагоприятным условиям среды.

Исследование содержания хлорофилла выявило различия в содержании вертикального профиля кроны – содержание хлорофилла увеличивается сверху вниз в пределах кроны. Содержание антоцианов и флавоноидов, как показали наши результаты, находится в обратной зависимости от концентрации хлорофилла. Это связано с уменьшением освещенности. Листья верхней части кроны на однолетних зеленых побегах текущего года содержат боль-

ше хлорофилла и флавоноидов в сравнении с многолетними побегами, что типично для интенсивно растущих вегетативных органов (табл. 2; рис. 2).

Сравнение содержания биологически активных веществ в листьях мелкоплодной формы *Zizyphus jujuba* выявило, что наблюдается тенденция снижения накопления пигментов при продвижении субтропических растений в более северные условия произрастания. Этот факт объясняется снижением разрушающего действия солнечной радиации и воздействия водного стресса (рис. 3).

Полученные данные согласуются с данными других авторов [3, 4, 6]. В сухих условиях (Волгоградская область) под действием высокой температуры происходит разрушение хлоропластов, синтез хлорофилла *a* и *b* прерывается и прочность связи изменяется.

Таблица 2

Изменение концентрации пигментов в листьях сортов *Zizyphus jujuba* в пределах кроны (июль)

часть кроны	Содержание, мг/см ²					
	2018			2019		
	хлорофилл <i>a + b</i>	флавоноиды	антоцианы	хлорофилл <i>a + b</i>	флавоноиды	антоцианы
верхняя	$23,18 \pm 5,33$ 18,82–29,12	$1,51 \pm 0,11$ 1,38–1,58	$0,21 \pm 0,002$ 0,20–0,21	$25,49 \pm 4,18$ 20,67–28,23	$1,89 \pm 0,03$ 1,86–1,92	$0,12 \pm 0,004$ 0,11–0,13
средняя	$26,60 \pm 0,96$ 25,74–27,64	$1,31 \pm 0,06$ 1,25–1,37	$0,16 \pm 0,011$ 0,15–0,17	$28,29 \pm 1,53$ 26,62–29,64	$1,75 \pm 0,08$ 1,66–1,81	$0,09 \pm 0,014$ 0,08–0,10
нижняя	$27,26 \pm 1,95$ 26,62–28,12	$1,59 \pm 0,05$ 1,42–1,71	$0,14 \pm 0,024$ 0,13–0,15	$30,65 \pm 0,568$ 28,72–31,32	$1,78 \pm 0,114$ 1,67–1,85	$0,09 \pm 0,020$ 0,08–0,10

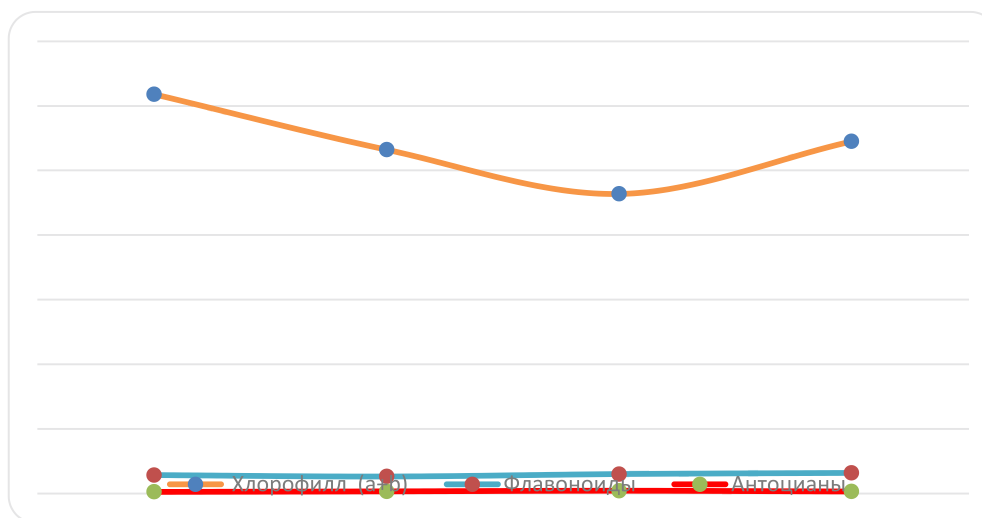


Рис. 2. Зависимость содержания биологически активных веществ в листьях мелкоплодной формы *Zizyphus jujuba* Mill. от условий освещенности (Камышин, 2018)

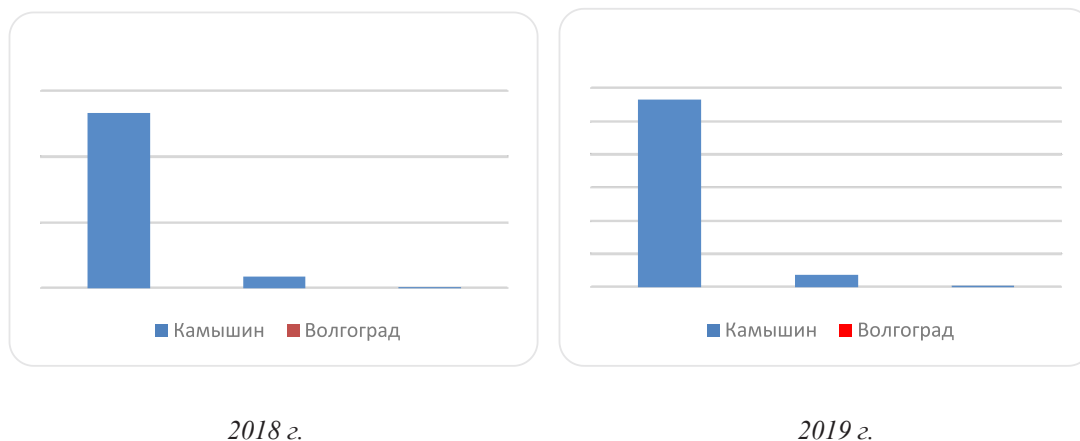


Рис. 3. Сравнение содержания ($\text{мг}/\text{см}^2$) биологически активных веществ в листьях мелкоплодной формы *Zizyphus jujuba*

Заключение

Выявлено, что в ответ на засушливые условия, интенсивность света и дефицит воды листья засухоустойчивых растительных организмов интенсивнее накапливали и синтезировали флавоноиды и антоцианы, что подтверждает лучшее приспособление данных сортов к неблагоприятным условиям среды. Использование устройства DUALEX SCIENTIFIC + для сбора данных на месте позволяет быстро количественно определять хлорофилл *a* и *b*, каротиноиды и антоцианы в растениях. Многие из функций флавоноидов в листе могут быть исследованы с помощью Dualex: защита от ультрафиолетового излучения; защита от атаки патогенов; защита от травоядных (насекомых или позвоночных животных); защита от окислительного стресса, удаление свободных радикалов; хелатирование металлов; устойчивость к засухе. С помощью Dualex можно оценить физиологическое состояние растений, которое влияет на содержание флавоноидов в листе.

Содержание пигментов в листьях изученных древесных растений *Zizyphus jujuba* различно. На него оказывают влияние летние засухи, освещенность в пределах кроны, климатические факторы места произрастания. Выявлено наибольшее накопление БАВ у листьев крупноплодных сортов (хлорофилл: 23,22–29,48 $\text{мг}/\text{см}^2$; флавоноиды: 1,79–1,96 $\text{мг}/\text{см}^2$; антоцианы: 0,14–0,21 $\text{мг}/\text{см}^2$). Листья растений мелкоплодных форм кожистые с большим количеством жилок, характеризуются меньшим содержанием пигментов (хлорофилл:

13,99–24,80 $\text{мг}/\text{см}^2$; флавоноиды: 1,57–1,73 $\text{мг}/\text{см}^2$; антоцианы: 0,10–0,16 $\text{мг}/\text{см}^2$). В благоприятные в гидрологическом отношении годы (2019) содержание хлорофилла меньше, а флавоноидов и антоцианов больше, чем в засушливый период (2018), что обуславливает механизмы адаптации растений к стрессовым факторам недостатка воды. Исследование содержания хлорофилла выявило различия по вертикальному профилю кроны – содержание хлорофилла увеличивается сверху вниз в пределах кроны. Установлено, что содержание антоцианов и флавоноидов находится в обратной зависимости от концентрации хлорофилла. Наблюдается тенденция снижения накопления пигментов при продвижении субтропических растений в более северные условия произрастания.

Флавоноиды и антоцианы накапливаются в растениях в ответ на дефицит воды. Результаты исследования предполагают, что реакции на стресс от засухи являются динамическими, а интенсивность и продолжительность стресса может играть ключевую роль в накоплении листьями флавоноидов и антоцианов в ответ на различные уровни дефицита воды.

Таким образом, в дополнение к экофизиологическим исследованиям, Dualex может найти применение в сельском и лесном хозяйстве, садоводстве, при защите от вредителей, анализе светообеспеченности, выборе лекарственных растений, независимо от условий проведения эксперимента. Изменение содержания биологических пигментов в листьях древесных растений при стрессовых воздействиях является од-

ним из критериев подбора и мобилизации ассортимента для обогащения деградированных территорий.

Исследования выполнены по теме Государственного задания № 0713-2019-0004 ФНЦ агроэкологии РАН.

Список литературы / References

1. Кулик К.Н., Барабанов А.Т., Жданов Ю.М., Крючков С.Н., Кулик А.К., Манаенков А.С., Острая Т.И., Пугачева А.М., Рулев А.С., Семенютина А.В. Стратегия развития защитного лесоразведения в Волгоградской области на период до 2025 года. Волгоград: ФНЦ агроэкологии РАН, 2017. 39 с.
Kulik K.N., Barabanov A.T., Zhdanov Yu.M., Kryuchkov S.N., Kulik A.K., Manaenkov A.S., Ostraya T.I., Pugacheva A.M., Rulev A.S., Semenyutina A.V. The development strategy of protective afforestation in the Volgograd region for the period until 2025. Volgograd: FNTS agroekologii RAN, 2017. 39 p. (in Russian).
2. Akıncı S., Lösel D.M. The effects of water stress and recovery periods on soluble sugars and starch content in cucumber cultivars. *Fresen. Environ. Bull.* 2010. Vol. 19 (2). P. 164–171.
3. Хоconostle-Cazares B., Ramirez-Ortega F.A., Flores-Elenes L., Ruiz-Medrano R. Drought Tolerance in Crop Plants. *Am. J. Plant Physiol.* 2010. Vol. 5. P. 241–256. DOI: 10.3923/ajpp.2010.241.256.
4. Boyer John S. Plant Water Relations: A Whirlwind of Change. In book: *Progress in Botany*. 2017. DOI: 10.1007/124_2017_3.
5. Fathi A., Barari D. Effect of Drought Stress and its Mechanism in Plants. *International Journal of Life Sciences*. 2016. Vol. 10.1. P. 1–6. DOI: 10.3126/ijls.v10i1.14509.
6. Bagheri A. Effects of drought stress on chlorophyll, proline and rates of photosynthesis and respiration and activity of superoxide dismutase and peroxidase in millet (*Panicum milena-ceum* L.). National conference on water scarcity and drought management in agriculture. Islamic Azad University Arsanjan, 2009. 16 p.
7. Семенютина А.В., Свинцов И.П., Хужахметова А.Ш., Семенютина В.А., Жукова О.И. Адаптация древесных видов в экстремальных условиях и критерии отбора хозяйственно ценных растений // *Международные научные исследования*. 2017 № 1. (30). С. 77–85.
Semenyutina A.V., Svintsov I.P. Khuzhakhmetova A.Sh., Semenyutina V.A., Zhukova O.I. Adaptation of tree species in extreme conditions and selection criteria for economically valuable plants // *International Scientific Research*. 2017. № 1 (30). P. 77–85 (in Russian).
8. Свинцов И.П., Семенютина В.А. Влияние эдафических и климатических факторов на экологическую пластичность растений *Zizyphus jujuba* Mill // *АгроЭкоИнфо*. 2018. № 3. [Электронный ресурс]. URL: http://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2018/3/st_366.doc (дата обращения: 24.06.2020).
Svintsov I.P., Semenyutina V.A. The influence of edaphic and climatic factors on the ecological plasticity of plants *Zizyphus jujuba* Mill // *AgroEcolInfo*. 2018. № 3. [Electronic resource]. URL: http://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2018/3/st_366.doc (date of access: 24.06.2020) (in Russian).