

УДК 582.573.81:581.134.6

DOI: 10.15372/ChUR2021325

Содержание вторичных метаболитов в листьях и корневищах лилейника гибридного в условиях лесостепи Новосибирской области

Л. Л. СЕДЕЛЬНИКОВА, Т. А. КУКУШКИНА

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
Новосибирск (Россия)

E-mail: lusedelnikova@yandex.ru

(Поступила 30.09.20; после доработки 13.10.20)

Аннотация

Определено содержание запасных и биологически активных веществ в листьях и корневищах лилейника гибридного (*Hemerocallis hybrida*) сорта Regal Air, возделываемого в Центральном сибирском ботаническом саду лесостепной зоны Западной Сибири. Представлены сравнительные данные особенностей накопления запасных и пектиновых веществ, фенольных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты в вегетативных органах растений этого сорта за 2013–2015 гг. Установлено увеличение количества в листьях аскорбиновой кислоты к периоду плодоношения в 1.2–2.5 раза в зависимости от года вегетации. Ее наибольшее содержание определено в 2014 г. и варьирует от $81.30 \cdot 10^{-3}$ до $202.91 \cdot 10^{-3}$ %. Стабильная концентрация в листьях флавонолов (0.75–0.83 %) выявлена в течение вегетационного периода 2015 г. Наибольшее количество сапонинов в корневищах установлено в периоды весенней вегетации и плодоношения, что по сравнению с листьями больше в 2 раза. Высокие показатели катехинов определены в листьях лилейника гибридного (0.89–1.00 %) в период раннелетней вегетации. Количество крахмала в корневищах в разные фенофазы и годы развития изменялось от 24.12 до 43.54 %. Установлено, что в листьях содержание аскорбиновой кислоты, сахаров, флавонолов выше, чем в корневищах, а в корневищах больше крахмала, пектинов, протопектинов, сапонинов. Содержание запасных и биологически активных веществ в листьях и корневищах *H. hybrida* сорта Regal Air, адаптированного к условиям лесостепной зоны Новосибирской области, зависит от особенностей развития и года вегетации растений.

Ключевые слова: лилейник, сорт Regal Air, лист, корневище, сахара, крахмал, катехины, флавонолы, пектины, протопектины, сапонины, аскорбиновая кислота, Новосибирская область

ВВЕДЕНИЕ

Исследование содержания различных групп биологически активных веществ в растениях, интродуцируемых в условиях лесостепной зоны Западной Сибири, позволяет выявить особенности их накопления в период сезонного развития. Их количественное содержание имеет многофакторную зависимость от биологических особенностей конкретного вида или сорта, их систематического положения, почвенно-климатических условий среды обитания. Благодаря

этому появляется возможность определить оптимальное накопление вторичных метаболитов в органах растений в определенные фенофазы и вегетационные периоды, что представляет научно-практическое значение и способствует рациональному их использованию. Виды рода *Hemerocallis* L. (Hemerocallidaceae) – красоднев, лилейник – издавна применяются в народной медицине как тонизирующее, жаропонижающее, ранозаживляющее средство. Лечебные свойства обусловлены уникальным набором биологически активных веществ – флавоноидов, кумаринов,

гликозидов, витаминов [1–5]. В фармакологических испытаниях лилейник (красоднев) проявил себя как сердечное и гипотензивное средство [6], обнаружен противоопухолевый эффект [7]. Сведения о наличии вторичных метаболитов и химических элементов в вегетативных органах некоторых видов и сортов лилейника представляют большой интерес в фитотерапии [8–14]. Сравнительных данных об особенностях накопления в органах биологически активных веществ у лилейника гибридного в течение вегетационного развития нет, что обуславливает актуальность и новизну работы.

Цель работы – определение содержания запасных и биологически активных веществ в листьях и корневищах лилейника гибридного (*Hemerocallis hybrida*) адаптированного сорта Regal Air при интродукции в лесостепной зоне Западной Сибири.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования служили образцы растений *H. hybrida* hort. (лилейника гибридного) раннелетнецветущего (июль–август) сорта Regal Air биоресурсной научной коллекции Центрального сибирского ботанического сада СО РАН “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте”, УНУ № USU 440534. Сбор сырья проводили в 2013–2015 гг. В работе использовали вегетативные органы (листья, корневища с корнями) пяти взрослых растений. Для количественного определения пектиновых веществ (пектины, протопектины), фенольных соединений (катехины, флавонолы), запасных веществ (сахара, крахмал) сапонинов, аскорбиновой кислоты использовали свежесобранное сырье. Пробы для анализа (навески 5–10 г) брали в соответствии с фенофазами развития сорта в течение трех вегетационных периодов: 02–03.VI – вегетация; 01–22.VII – цветение; 02–18.IX – осенняя вегетация, плодоношение.

Содержание флавонолов, пектиновых веществ и катехинов определяли спектрофотометрическим методом с использованием спектрофотометра Agilent 8453 (США).

Количественное определение флавонолов проводили спектрофотометрически по методу В. В. Беликова и М. С. Шрайбер [15], в котором использована реакция комплексообразования флавонолов с хлоридом алюминия. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 415 нм. Концентрацию флавонолов вычисляли

по калибровочному графику, построенному по рутину.

Пектиновые вещества (пектины и протопектины) определяли бескарбазольным спектрофотометрическим методом, основанным на появлении специфического желто-оранжевого окрашивания урновых кислот с тимолом в сернокислой среде. Для освобождения от сахаров, мешающих определению пектинов, навески образцов предварительно трехкратно экстрагировали 80–82 %-м этиловым спиртом. Оптическую плотность окрашенных растворов измеряли при длине волны 480 нм в кювете с рабочей длиной 10 мм. Количественное содержание пектиновых веществ рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по галактуроновой кислоте [16, 17].

Катехины определяли спектрофотометрически, используя их способность давать малиновое окрашивание с раствором ванилина в концентрированной соляной кислоте. В контрольной пробе к испытываемому раствору добавлялась соляная кислота. Оптическую плотность раствора замеряли при длине волны 504 нм. Пересчетный коэффициент рассчитан по (\pm)-катехину Sigma C-1788 (США) [18].

Содержание крахмала определяли методом кислотного гидролиза [19].

При определении количественного содержания сапонинов весовым методом (сырой сапонин) измельченные образцы экстрагировали хлороформом в аппарате Сокслета для извлечения липидов, смол и др. Образцы высушивали и экстрагировали на водяной бане при 70 °С 30 мин последовательно 50, 60 и 96 %-м этанолом. Объединенный экстракт упаривали до отсутствия запаха спирта и добавляли семикратный объем ацетона. Осадок через 18 ч отфильтровывали, высушивали при 70 °С и взвешивали [20]. Качественными реакциями на сапонины служили: 1) пенообразование, равное по объему и стойкости, при встряхивании экстракта с кислым и щелочным раствором; 2) выпадение белого хлопьевидного осадка при добавлении ацетона к экстракту, что указывает на присутствие тритерпеновых сапонинов в образцах.

Для определения количественного содержания сахаров использовали метод А. С. Швецова и Э. Х. Лукьяненко, основанный на восстановлении феррицианида калия редуцирующими сахарами в щелочной среде до ферроцианида. Количество сахаров рассчитывали по калибровочному графику, построенному по глюкозе [16].

Титриметрический метод определения аскорбиновой кислоты основан на ее редуцирующих

свойствах. Раствор 2,6-дихлорфенил-индофенола синей окраски восстанавливается при титровании в бесцветный раствор экстрактами растений, содержащими аскорбиновую кислоту. Тщательно измельченную навеску (3–5 г) экстрагировали (растирая в ступке) 5 мин 1 %-м раствором соляной кислоты, добавляя 1 %-й раствор щавелевой кислоты, которая улучшает стойкость аскорбиновой кислоты в экстракте [16].

Относительная влажность сырья составляла: в листьях – 77.99–89.38 %, в корневищах – 73.51–84.89 %. Все биохимические показатели, кроме аскорбиновой кислоты, рассчитаны на массу абсолютно сухого сырья. Определения проводили в трехкратной аналитической повторности, рассчитывая среднеарифметические значения биохимических показателей. Стандартная ошибка среднего соответствовала допустимым значениям достоверности и была крайне мала (0.001–0.004).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования количественного содержания биологически активных веществ в листьях и корневищах *H. hybrida* сорта Regal Air обнаружены их различия в органах в пери-

од сезонного развития. Полученные сравнительные данные содержания веществ в листьях и корневищах представлены в табл. 1.

При сравнении содержания сахара в листьях наибольшее значение (27.21 %) обнаружено в образцах, отобранных в 2013 г. Видно (см. табл. 1), что для образцов 2013 и 2014 годов отбора количество сахаров в листьях достигает максимального значения в период интенсивного весеннего отрастания, а затем, в период цветения и последующего плодоношения, снижается в 1.5–3 раза. Обратная ситуация отмечается в 2015 г.

В отличие от листьев, в корневищах наибольшее количество сахаров отмечено в период цветения во все годы наблюдений (см. табл. 1).

При рассмотрении результатов анализа сахаров в корневищах выявлено, что их количество в 1.3–5.7 раза меньше, чем в листьях, независимо от фаз развития во все годы сбора сырья.

Отмечено, что накопление аскорбиновой кислоты лилейником гибридным доминирует в листьях по сравнению с корневищами во все годы в течение сезонного развития (рис. 1). Ее количество в листьях в 2–12 раз выше, чем в корневищах.

В 2013 г. концентрация аскорбиновой кислоты в листьях отличалась стабильностью –

ТАБЛИЦА 1

Содержание биологически активных веществ (%) в листьях и корневищах лилейника гибридного сорта Regal Air в условиях Новосибирска за 2013–2015 гг.

Фенофаза (дата сбора)	Вещества				
	Сахара	Пектины	Протопектины	Сапонины	Катехины
2013 г.					
Отрастание (03.VI)	27.21	6.65	9.10	33.37	0.19
	8.79	0.51	2.62	39.54	1.00
Цветение (22.VII)	18.45	3.08	4.98	18.13	0.42
	13.17	0.62	6.97	7.44	0.16
Плодоношение (09.IX)	10.29	0.29	3.17	15.19	0.44
	5.43	2.43	3.63	42.21	0.15
2014 г.					
Отрастание (03.VI)	18.31	1.55	3.80	37.74	0.70
	10.08	4.76	6.85	34.00	0.27
Цветение (14.VII)	16.45	1.21	4.08	24.77	0.61
	11.77	6.08	7.10	32.29	0.24
Плодоношение (18.IX)	12.31	0.80	3.57	22.05	0.52
	6.53	6.72	8.39	32.99	0.52
2015 г.					
Отрастание (02.VI)	16.00	1.03	5.57	25.40	0.89
	10.78	3.19	4.82	45.36	0.33
Цветение (01.VII)	21.29	1.97	8.66	27.37	0.44
	10.69	4.13	0.51	32.39	0.27
Плодоношение (02.IX)	23.92	1.22	4.90	35.65	0.69
	4.53	3.70	5.06	43.70	0.33

Примечание. В числителе приведен показатель для листьев, в знаменателе – для корневищ.

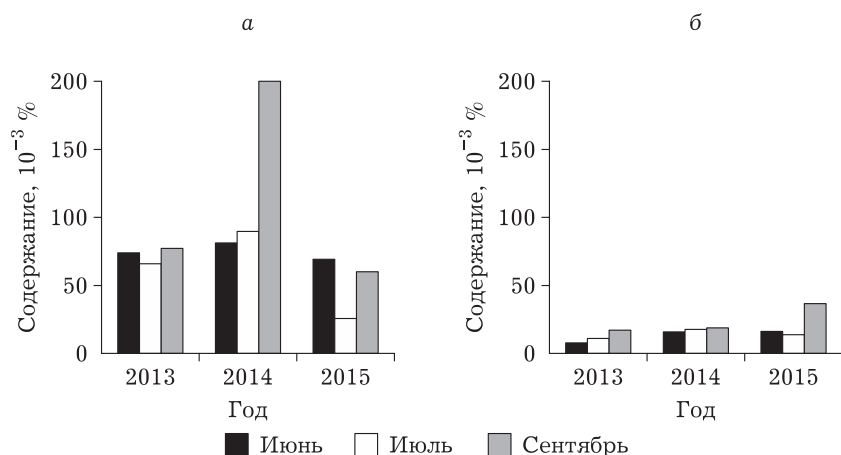


Рис. 1. Содержание аскорбиновой кислоты в листьях (а) и корневищах (б) лилейника гибридного сорта Regal Air.

($74.03 \cdot 10^{-3}$)–($77.33 \cdot 10^{-3}$) %. Особенностью 2014 г. было значительное увеличение содержания аскорбиновой кислоты к осени – до $202.9 \cdot 10^{-3}$ % (в 2.5 раза). Как правило, минимальные значения содержания аскорбиновой кислоты в листьях наблюдались в период цветения – в 1.5–2.7 раза меньше по сравнению с показаниями в период отрастания и плодоношения.

Пектиновые вещества отличались специфичностью накопления в органах лилейника гибридного. Количество пектинов в листьях было ниже, чем в корневищах, в 5–13 раз в 2013 г., в 3–8 раз в 2014 г., в 3–17 раз в 2015 г. Причем содержание пектинов в корневищах в 2015 г. характеризовалось стабильностью в течение всего периода вегетации (4.2–4.7 %), в 2014 г. увеличивалось в 1.5 раза от отрастания до плодоношения, а в 2013 г. уменьшалось в 2.5 раза.

Относительно протопектинов обнаружена аналогичная тенденция в наибольшем их накоплении в подземных органах (2.6–14.0 %) по отношению к надземным в 1.5–6 раз. При сравнении их содержания по годам исследования выявлено, что в корневищах растений сорта Regal Air протопектины с высокими показателями обнаружены в период отрастания (9.1 %) в 2013 г., в период цветения (14.0 %) в 2015 г. и в период плодоношения (8.4 %) в 2014 г.

В метаболизме растений флавонолы играют важную роль. Их количество изменялось в зависимости от года вегетации лилейника гибридного (рис. 2). В 2013 и 2015 гг. наибольшее количественное накопление флавонолов в листьях отмечено в период отрастания (0.70 и 1.39 % соответственно), что в 2.5–6.8 раза выше, чем в период цветения и плодоношения. Тогда как в

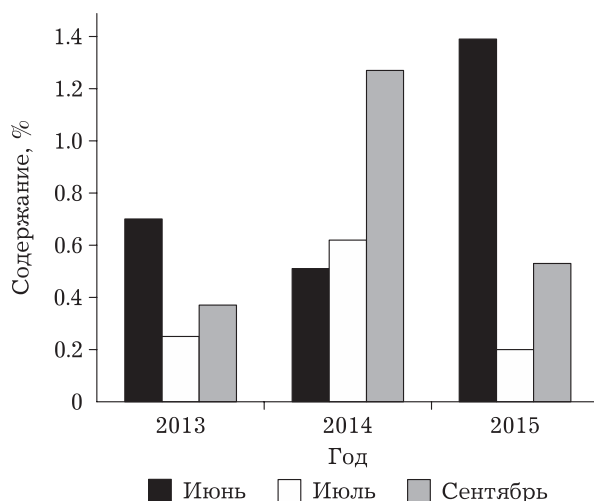


Рис. 2. Содержание флавонолов в листьях лилейника гибридного сорта Regal Air в зависимости от времени вегетации.

2014 г. высокие показания (в 1.5–2.5 раза) наблюдались в период плодоношения – 1.27 % (рис. 2).

Сапонины, как наиболее важные гликозиды, имеют многофункциональное значение как в жизнедеятельности растений, так и человека [21]. Содержание сапонинов в органах отличалось специфичностью в разные фазы развития сорта Regal Air. В период весенне-летнего отрастания и плодоношения сапонинов в корневищах отмечено в 1.4–2.8 раза больше, чем в листьях. В корневищах накопление сапонинов происходило интенсивно в разные фазы развития. В листьях самое высокое их содержание наблюдали в период весенней вегетации (до 45.36 %). Причем выявлена тенденция уменьшения их количества в листьях (в 1.5 раза) к осени в прохладные годы вегетации и увеличения (в 1.5 раза) – в теплый сезонный период 2015 г.

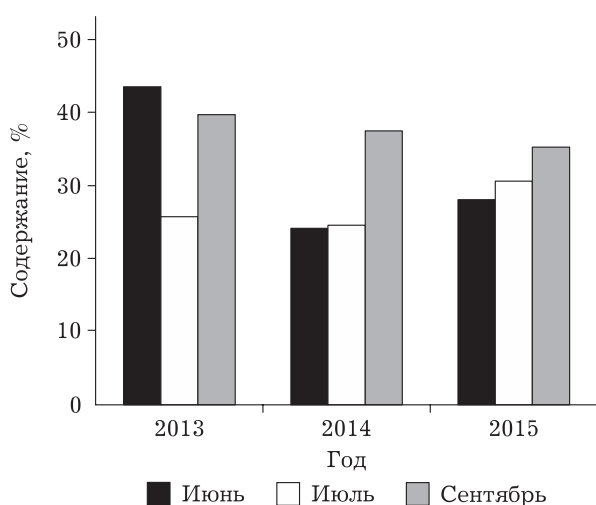


Рис. 3. Содержание крахмала в корневищах лилейника гибридного сорта Regal Air.

Катехины, обладающие Р-витаминной активностью, играют особую роль в адаптации растений. Данные показали, что количество катехинов в корневищах лилейника гибридного меньше по сравнению с листьями. Их наибольшее количество обнаружено в листьях (0.89–1.00 %) в период отрастания, а в корневищах (0.52 %) – в сентябре.

При рассмотрении наличия крахмала, обнаруженного в корневищах, показано, что его содержание в разные фазы развития варьирует в зависимости от года вегетации (рис. 3). При этом изменение концентрации крахмала в корневищах растений происходит на протяжении всего весенне-летне-осеннего периода. Так, если корневища в июне в 2013 г. имели максимальное количество крахмала (43.54 %), то в июле оно уменьшалось в 1.5 раза, а к сентябрю повышалось во столько же раз и составляло 39.72 %. В 2014 и 2015 гг. отмечено повышение содержания крахмала в корневищах к сентябрю в 1.5 раза (37.42 и 35.11 % соответственно).

Оценивая результаты сравнительного изучения содержания запасных и биологически активных веществ в надземных и подземных вегетативных органах сорта Regal Air лилейника гибридного, адаптированного к условиям лесостепной зоны Западной Сибири (Новосибирская обл.), можно отметить возможность всестороннего использования листьев и корневищ этого сорта в качестве источника сырья в фитотерапии. Анализируя данные, можно утверждать, что листья обладают С-витаминной активностью, накапливают сахара и фенольные соединения, а корневища отличаются высоким содержанием пектиновых веществ, сапонинов и

крахмала. При этом их содержание в 3–5 раз выше у культивируемого *H. hybrida* сорта Regal Air, чем у дикорастущих видов *H. minor* Mill., *H. citrina* Baroni, *H. middendorffii* Trautv. et C. A. Mey., *H. fulva* L. [11, 12] при выращивании в одних и тех же условиях интродукционного возделывания. По данным для других регионов России (Забайкалье [8], Башкирия [22]), происходит интенсивное накопление в листьях и стеблях этих дикорастущих видов, а также *H. dumortieri* Morr., *H. lilio-asphodelus* L. и сортов Summer Pride, Pice Sea 14 аминокислот, сахаров, каротина, метаболитов, макро- и микроэлементов. Отмечено высокое содержание полисахаридов в корневищах *H. fulva* и сорта Stella De Oro, среди которых преобладают сахароза и фруктоза [23]. Наличие антиоксидантных гликозидов и хлорогеновой кислоты [24, 25] также свидетельствует о возможности широкого использования растительного сырья лилейников в фитотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных по трем вегетационным периодам показал, что вторичные метаболиты в органах *H. hybrida* сорта Regal Air, произрастающего в климатических условиях Сибири, имеют высокое количественное содержание, которое зависит от фенофазы растений и гидротермических условий сезонного развития. Так, в прохладные избыточно увлажненные 2013–2014 гг. концентрация сахаров, флавонолов, пектинов, аскорбиновой кислоты в листьях увеличивалась к осеннему периоду вегетации. В теплый умеренно увлажненный вегетационный период 2015 г. содержание флавонолов и пектиновых веществ в листьях отличалось стабильностью. Количество протопектинов изменялось в разные фенофазы развития: наибольшее их количество отмечено в 2013 г. в период интенсивного отрастания (июнь), в 2015 г. – в период цветения (июль), а в 2014 г. – плодоношения (сентябрь).

Специфика накопления в надземных и подземных органах запасных и биологически активных веществ неоднозначна: в листьях содержится больше флавонолов (1.27–1.39 %), катехинов (1.00–1.26 %) и аскорбиновой кислоты (до $202.9 \cdot 10^{-3}$ %). В корневищах содержание сапонинов больше в 1.5 раза, чем в листьях, во все фенологические фазы развития растений сорта Regal Air, особенно в теплый засушливый

период 2015 г. по сравнению с прохладными избыточно увлажненными 2013–2014 гг. Содержание протопектинов больше, чем пектинов, в корневищах и листьях в 1.5–4 раза, однако в листьях их меньше, чем в корневищах. Количество крахмала в корневищах растений повышается в предзимний период (сентябрь) от 35.11 до 39.72 %.

По совокупности полученных результатов можно проследить как общие закономерности, так и различия в накоплении вторичных метаболитов в листьях и корневищах в зависимости от фенотипа развития растений и года вегетации, позволяющие рекомендовать определенные сроки сбора сырья. Таким образом, многолетнее интродукционное испытание позволяет определить сорт *Regal Air Hemerocallis hybrida* в качестве перспективного сырья для получения биологически активных веществ.

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН по проекту № АААА-А21-121011290025-2 “Анализ биоразнообразия, сохранения и восстановления редких и ресурсных видов растений с использованием экспериментальных методов”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Skrzypezakowa L. Flawonoidy w rodzinie Liliaceae // *Disser. Pharm. Pharmac.* 1967. Vol. XIX, No. 5. P. 537–541.
- Bate-Smith E. C. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance // *J. Linn. Soc. (Bot.)*. 1968. Vol. 60, No. 383. P. 325–329.
- Кльшев Л. К., Бандюкова В. А., Алюкина Л. С. Флавоноиды растений. Алма-Ата: Наука, 1978. 220 с.
- Лекарственные растения Сибири для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Новосибирск: Наука, 1991. 260 с.
- Цицилин А. Н. Лекарственные растения на даче и вокруг нас: Полная энциклопедия. М.: Эксма, 2014. 336 с.
- Блинова К. Ф., Костыгов Н. М. Сердечно-сосудистые средства флоры Забайкалья // *Мат. конф., посвященной итогам работы Ленинград. хим.-фармацевт. ин-та*. Л., 1960. С. 20–22.
- Гаман А. В., Яременко К. В. Определение противоопухолевой активности препаратов растительного происхождения // *Тез. докл. Всесоюз. конф. “Проблемы освоения лекарственных ресурсов Сибири и Дальнего Востока”*, 18–20 окт. 1983 г., Новосибирск. Новосибирск: Наука, 1983. С. 179–180.
- Жапова О. И. Эколого-фитоценотическая приуроченность *Hemerocallis minor* Miller и накопление в нем биологически активных веществ (Забайкалье). Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Чита, 2006. 19 с.
- Чупарина Е. В., Мартынов А. М., Жапова О. И. Рентгенофлуоресцентный анализ лекарственных растений Восточной Сибири // *Сибирский медицинский журнал*. 2008. № 3. С. 98–99.
- Chuparina E. V., Aiskeva T. S. Determination of heavy metal levels in medicinal plant *Hemerocallis minor* Miller by X-ray fluorescence spectrometry // *Environ. Chem. Lett.* 2011. Vol. 9, No. 1. P. 19–23.
- Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А. Содержание некоторых групп соединений у *Hemerocallis minor* в условиях интродукции // *Химия растительного сырья*. 2014. № 1. С. 177–183.
- Седельникова Л. Л., Кукушкина Т. А., Челтыгмашева Л. Р. Сравнительное изучение содержания запасных и биологически активных веществ в вегетативных органах некоторых видов рода *Hemerocallis* L. // *Вестник ВГАУ*. 2018. Т. 11, № 2 (57). С. 20–27.
- Седельникова Л. Л., Чанкина О. В. Элементный состав в листьях и корневищах лилейника гибридного (*Hemerocallis hybrida* hort.) // *Химия уст. разв.* 2019. Т. 27, № 5. С. 530–535.
- Седельникова Л. Л., Чанкина О. В. Элементный состав вегетативных органов сортов *Regal Air* и *Speak to me Hemerocallis hybrida* // *Химия растительного сырья*. 2020. № 1. С. 245–250.
- Беликов В. В. Методы анализа флавоноидных соединений // *Фармация*. 1970. № 1. С. 66–72.
- Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
- Кривенцов В. И. Бескарбазольный метод количественного спектрофотометрического определения пектиновых веществ // *Сб. науч. трудов Государственного Никитского ботанического сада*. Ялта, 1989. Вып. 109. С. 128–137.
- Кукушкина Т. А., Зыков А. А., Обухова Л. А. Манжетка обыкновенная (*Alchimilla vulgaris* L.) как источник лекарственных средств // *Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: Мат. VII Междунар. съезда “Фитофарм-2003”*, СПб.-Пушкин, 2003. С. 64–69.
- Бородова В. Методические указания по химико-технологическому сортоиспытанию овощных, плодовых и ягодных культур для консервной промышленности. М.: Россельхозакадемия, 1993. 108 с.
- Киселева А. В., Волхонская Т. А., Киселев В. Е. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири. Новосибирск: Наука, 1991. 135 с.
- Анисимов М. М., Чирва В. Я. О биологической роли три-терпеновых гликозидов // *Успехи современной биологии*. 1980. Т. 90, Вып. 3(6). С. 351–364.
- Реут А. А. Содержание биологически активных веществ в интродуцированных представителях рода *Hemerocallis* L. // *Известия Федерального научного центра овощеводства*. 2019. № 1. С. 93–96.
- Марчишин С. М., Заричанская Е. В., Гарных М. С., Ющенко Т. И. Исследование углеводов подземных органов лилейника буро-желтого (*Hemerocallis fulva* L.) и лилейника гибридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) // *Медицина и образование в Сибири*. 2015. № 6. С. 10.
- Cichewicz R. H., Nai M. G. Isolation and characterization of stelladerol, a new antioxidant naphthalene glycoside, and other antioxidant glycosides from edible daylily (*Hemerocallis*) flowers // *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50, No. 1. P. 87–91.
- Clifford M. N., Wu W., Kuhnert N. The chlorogenic acids of *Hemerocallis* // *Food Chem.* 2006. Vol. 95, No. 4. P. 574–578.