

УДК 581.1

## ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ОТДЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ БОБОВЫМИ РАСТЕНИЯМИ НА ПРИМЕРЕ ФАСОЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)

© 2012 А.В. Щербаков<sup>1</sup>, С.М. Фаизова<sup>1</sup>,  
С.П. Иванов<sup>2</sup>, И.Ю. Усманов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Башкирский государственный университет, г. Уфа

<sup>2</sup> Институт органической химии УНЦ РАН, г. Уфа

<sup>3</sup> Уфимская государственная академия экономики и сервиса, г. Уфа

Поступила 27.08.2011

Обсуждается эффект воздействия исключения некоторых минеральных элементов на качественный и количественный состав флавоноидов, накапливаемых зернобобовыми растениями. Показано, что наиболее важен для накопления флавоноидов бобовых растений – дефицит азота. Исключение этого элемента из смеси минерального питания привело к увеличению содержания большинства изученных флавоноидов и увеличению их антиоксидантной активности. Наблюдаемые явления объясняют сигнальную и защитную роль флавоноидов.

**Ключевые слова:** флавоноиды, антиоксидантные свойства, азот, минеральное питание.

Обсуждается влияние исключения отдельных элементов минерального питания на качественный и количественный состав флавоноидов, накапливаемых бобовыми растениями. Показано, что наиболее значимым для накопления флавоноидов бобовыми растениями является дефицит азота. Исключение этого элемента минерального питания из смеси привело как к возрастанию содержания большинства изучаемых флавоноидов, так и к увеличению их антиоксидантной активности. Наблюдаемые явления могут быть объяснены сигнальной и защитной ролью флавоноидов.

### ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды, в силу их высокой практической ценности являются одним из наиболее активно изучаемых классов веществ растительного происхождения [1, 10]. В настоящее время считается, что они встречаются у всех высших растений. При этом накопление флавоноидов растениями отличается достаточно высокой пластичностью, а ситуация с пониманием, как внешние условия в каждом конкретном случае сказались на накоплении растениями флавоноидов еще достаточно неясная. Существует лишь некий список гипотез, объясняющих накопление растениями флавоноидов в той или иной жизненной ситуации специфическими и неспецифическими функциями этих веществ [5, 9, 12, 14, 15]. Мало изучено и влияние на накопление флавоноидов различных элементов минерального питания.

В целом, научные исследования по повышению

общей стабильности биосинтеза растениями и улучшению качественного и количественного состава накапливаемых флавоноидов, ведутся достаточно активно и сразу по нескольким направлениям: от изучения эколого-физиологических механизмов регуляции их накопления до создания ген-модифицированных растений и других организмов, могущих выступать в качестве источников этих соединений [10].

Показано, что, у различных таксонов высших растений, традиционно как относимых так и не относимых к лекарственным, пути биосинтеза флавоноидов, в принципе, одинаковы. Однако, у представителей семейства бобовых (*Fabaceae*) в целом перечень накапливаемых флавоноидов значительно выше, чем у представителей других семейств. Здесь играют роль особенности задействованных у бобовых ферментных систем [11, 13], и как результат – дополнительные пути метаболизма [6], а также тот факт, что эти соединения используются в качестве сигнальных при установлении симбиотических отношений с почвенными микроорганизмами.

Поэтому целью данной работы было проследить, как у бобовых растений исключение отдельных элементов минерального питания может повлиять на качественный и количественный состав накапливаемых флавоноидов

### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектами служили проростки фасоли красной (*Phaseolus vulgaris* L.). Исследуемые растения выращивались на агровермикулите в течение двух недель с момента прорастания при различных режимах минерального питания по следующей схеме (табл. 1).

Количество экземпляров на каждый вариант составило 18 штук. Полив питательными растворами соответствующего состава каждого варианта осуществлялся ежедневно. По

Щербаков Аркадий Владимирович, канд. биол. наук, доц., Humanist314@rambler.ru; Фаизова Светлана Мансуровна, асп.; Иванов Сергей Петрович, канд. сель-хоз. наук, старш. науч. сотр.; Усманов Искандер Юсуфович, докт. биол. наук, проф.

достижении растениями двухнедельного возраста исследуемые образцы высушивались при естественных условиях до воздушно-сухого состояния. Анализ подвергались как надземные, так и подземные части растений.

**Таблица 1.** Варианты опыта и условия обеспеченности элементами минерального питания

Вариант опыта	Условия
1. CaSO <sub>4</sub>	раствор CaSO <sub>4</sub> в концентрации 10 <sup>-4</sup> моль/л
2. P,K	0,5 н питательная смесь X-A с исключением азота
3. P,N	0,5 н питательная смесь X-A с исключением калия
4. N,K	0,5 н питательная смесь X-A с исключением фосфора
5. N,P,K	0,5 н. полная питательная смесь Хогланда – Арнона

При экстракции флавоноидов из образцов была использована следующая последовательность экстрагирующих веществ различной полярности: гексан → диэтиловый эфир → этилацетат → этанол. При использовании этой последовательности растворителей в гексановую и диэтилэфирную фракцию переходили неполярные балластные органические соединения, а флавоноиды оказывались преимущественно в этилацетатной и этанольной фракциях. В дальнейшем содержание флавоноидов в растительных экстрактах определялось методом ВЭЖХ.

Хроматографический анализ проводился на хроматографической системе Waters Breese со спектрофотометрическим детектором. Применялась колонка Luna C18 250x4,6 мм, 5 мкм (Phenomenex). В качестве подвижной фазы применялся элюент следующего состава: вода: ацетонитрил = градиент. Скорость потока 1 мл/мин. Аналитическая длина волны – 275 нм.

Скорость потока подвижной фазы составляла 1 мл/мин. Пробу экстрактов фасоли обыкновенной объемом 40 мкл, вводили в инжектор в условиях, идентичных анализу калибровочных растворов. Концентрация экстрактов 0,5 мг/мл. Площадь пика соответствующих флавоноидов вычислялась через средние арифметические значения параллельных определений, и по калибровочным графикам определялась сначала концентрация веществ в экстракте, а впоследствии – содержание их в растительном сырье (мг/г сухой массы).

Антиоксидантная активность каждого идентифицированного соединения и оценивалась в тролокс-эквивалентах на основании данных, приведенных Н.А. Тюкавкиной [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованных растительных образцах были обнаружены следующие флавоноиды: байкалеин,

рутин, нарингин, нарингенин, дигидрокверцетин, физетин и кверцетин. Кроме того, было обнаружено большое количество не идентифицированных соединений, которые с большой долей вероятности также можно отнести к флавоноидам (рис. 1). Аналогичная зависимость накопления флавоноидов от других экологических факторов была нами выявлена ранее [8].

Из всех изучаемых флавоноидов наибольшим содержанием во всех вариантах опыта обладает нарингенин. Его содержание в несколько раз выше, чем других соединений. Так, пример, в варианте опыта с исключением фосфора, среднее его содержание в растениях составило 3,43, а байкалеина – 0,35, дигидрокверцетина – 0,9 мг/г сухой массы. Наименьшие значения показателя содержания в растениях зарегистрированы у байкалеина – в некоторых вариантах опыта он вообще не обнаружен (N,P,K), а максимальное его содержание составило 1 мг/г сухой массы.

Таким образом, по содержанию в растениях выявленные флавоноиды можно расположить в следующем порядке убывания: нарингенин → рутин → дигидрокверцетин → физетин → кверцетин → нарингин → байкалеин.

Анализ накопления флавоноидов растениями при различных уровнях минерального питания показал, что в целом по растению наибольшее накопление у большинства флавоноидов зарегистрировано в варианте опыта с исключением азота (рис. 2). Так, содержание нарингенина здесь максимальное по сравнению с другими вариантами (среднее значение по растению 6,3 мг/г сухой массы). В этом же варианте опыта содержание рутина в среднем по растению также имеет максимально значение (4,05 мг/г сухой массы).

Н.А. Тюкавкиной [7] был приведен сравнительный ряд антиоксидантной активности флавоноидов. Согласно представленным данным, антиоксидантная активность флавоноидов определяется только химической природой их молекул. Это, в свою очередь дает основание считать, что итоговый антиоксидантный эффект может быть результатом суммирования антиоксидантной активности отдельных флавоноидов.

Согласно Н.А. Тюкавкиной, одним из известных способов оценки общей антирадикальной активности веществ является соотношение их со стандартным веществом – тролоксом, который является синтетическим антиоксидантом. В этом случае антирадикальная активность выражается через единицы ТЕАС (тролокс-эквивалент, trolox equivalent antioxidant capacity, мМ, миллимоль), то есть в условных единицах концентрации, получаемых при сравнении антиоксидантной активности исследуемых веществ с активностью этого стандарта (табл. 2).

Для оценки потенциальной способности

каждого флавоноида выступать в растении при том или ином стрессе в качестве антиоксиданта представляется целесообразным введение термина «Антиоксидантный статус». Эта величина может быть оценена как произведение

показателя антирадикальной активности вещества в единицах ТЕАС на условный коэффициент, значение которого соответствует концентрации (мг/г сухой массы), в которой данное вещество было обнаружено в растениях.

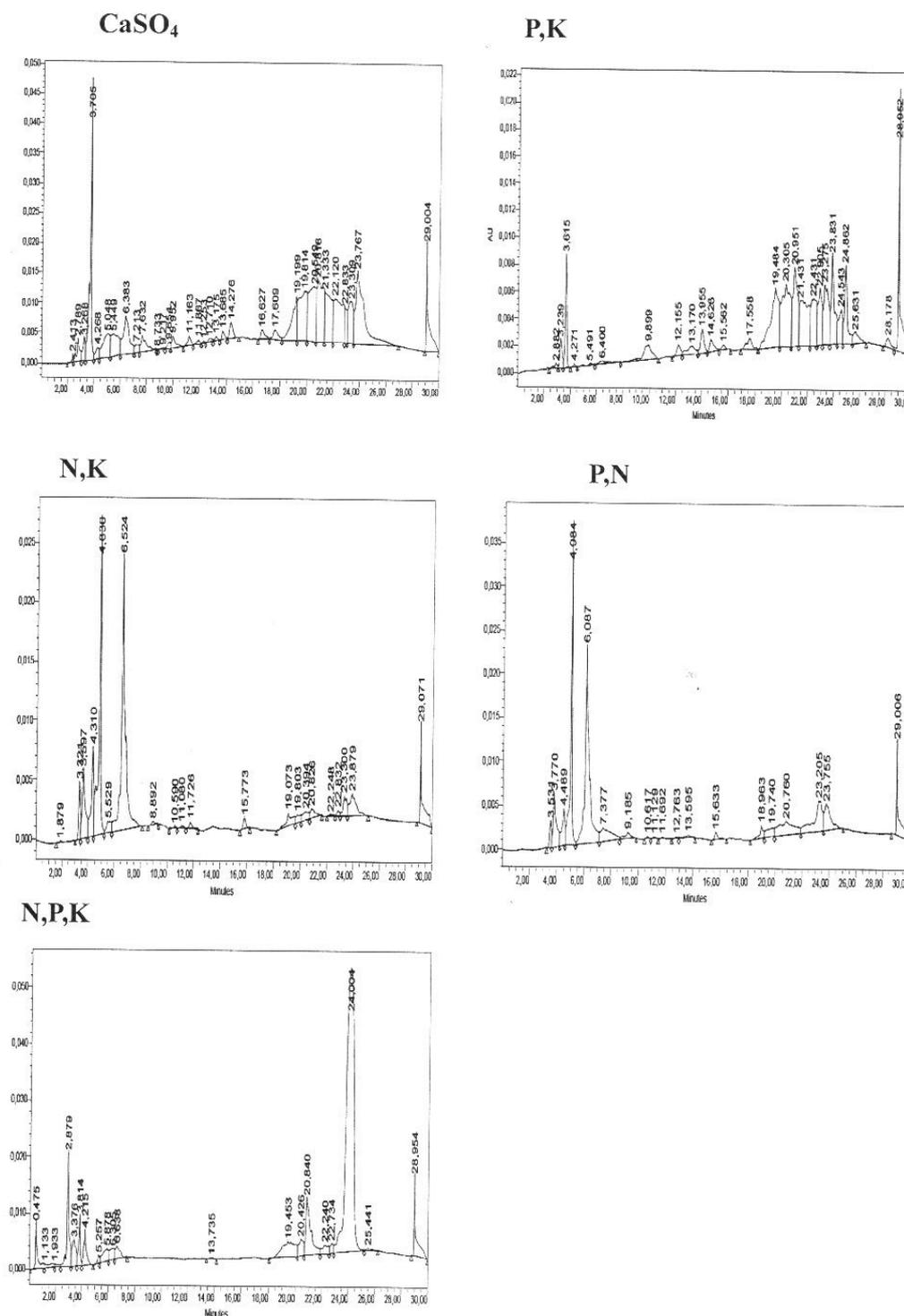


Рис.1. Примеры хроматограмм образцов растений, выращенных в различных условиях минерального питания

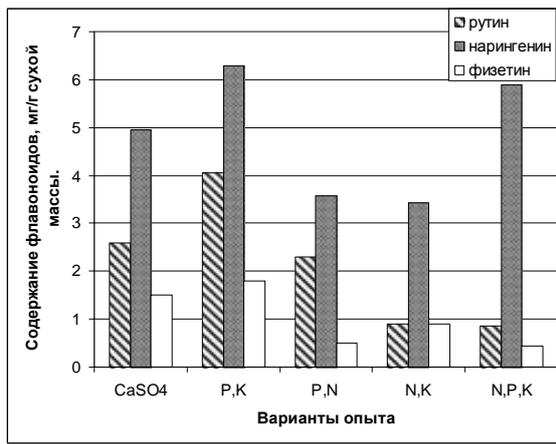


Рис. 2. Влияние режимов минерального питания на накопление растениями фасоли некоторых CaSO4

флавоноидов

Нами было получено следующее распределение значений этого показателя в зависимости от режима минерального питания (рис. 3).

Наиболее высокие значения антиоксидантного статуса в большинстве вариантов опытов выявлены у нарингенина. Это, очевидно с тем, что, обладая сравнительно невысоким значением показателя антирадикальной активности (1,53 ТЕАС), данное вещество во всех образцах встречается в наибольшем количестве. В случае дефицита азота и калия увеличение антиоксидантного статуса обеспечивается также и через возрастание содержания рутина.

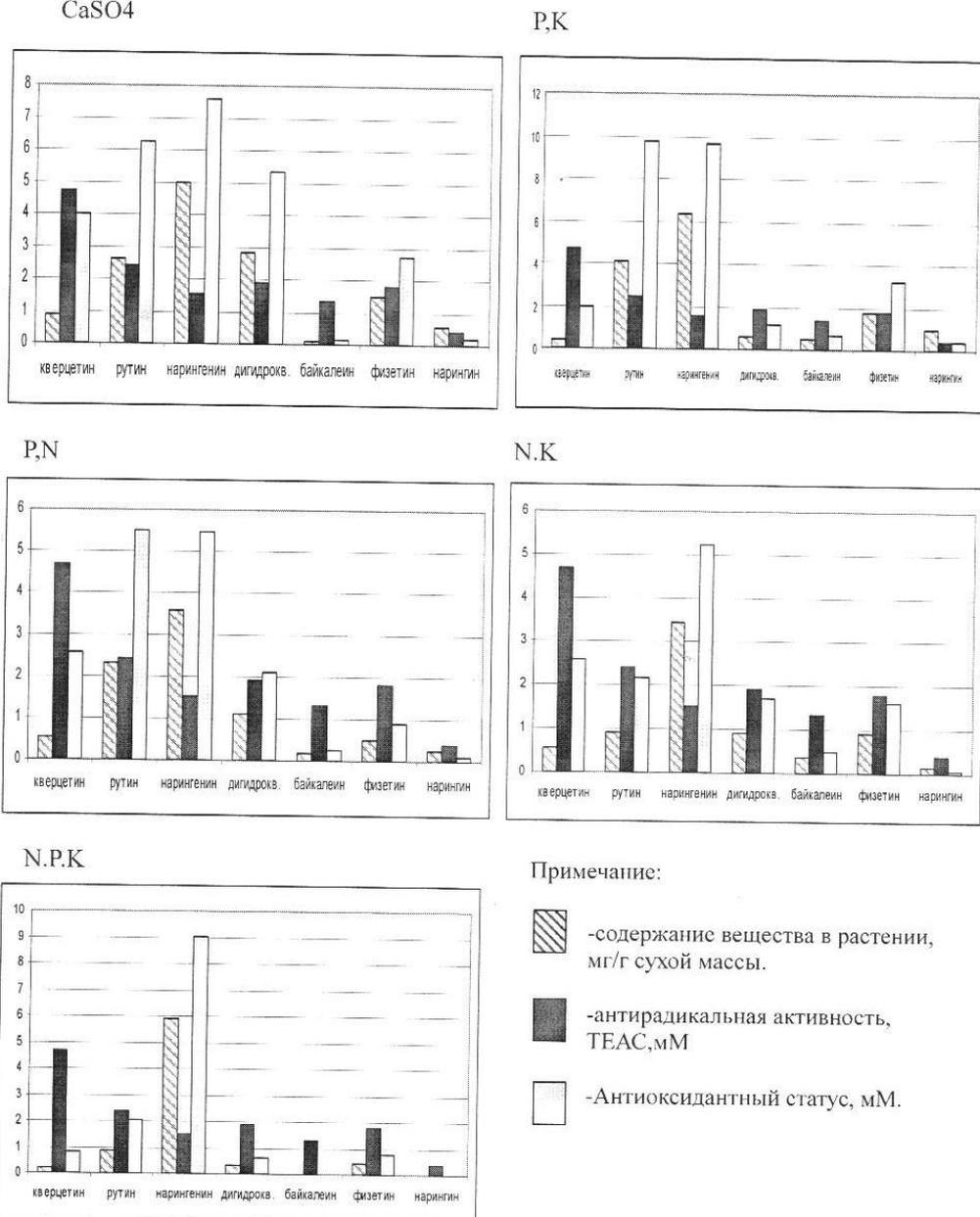


Рис. 3. Антиоксидантные свойства отдельных флавоноидов фасоли.

Таблица 2. Антирадикальная активность некоторых

флавоноидов, выраженная в единицах ТЕАС

Соединение	ТЕАС, мМ
Эпикатехингаллат	4,90
Кверцетин	4,70
Дельфинидин	4,44
Цианидин	4,40
Эпигаллокатехин	3,80
Генистеин	2,90
Морин	2,55
Рутин	2,40
Лютеолин	2,10
Дигидрокверцетин (таксифолин)	1,90
Физетин	1,8
Нарингенин	1,53
Байкалеин	1,33
Гесперидин	1,37
Нарингин	0,4



**Рис. 4.** Суммарный антиоксидантный статус флавоноидов, выявленных у фасоли при различных режимах минерального питания, ед. ТЕАС

Полученные данные позволили высчитать суммарный антиоксидантный статус выявленных флавоноидов для каждого варианта опытов. При этом было установлено, что наибольшим значением этого показателя обладали растения, выращенные на питательной смеси с исключением азота. Это позволяет сделать предположение, что дефицит азота, из всех использованных вариантов опыта был наиболее стрессовым воздействием. Несколько меньший стресс вызвало выращивание растений при полном отсутствии питательных элементов (рис. 4). Исключение из питательной смеси фосфора вызвало наименьшее негативное последствие на растения, так как суммарное значение антиоксидантного статуса в этом случае незначительно отличается от контроля – 13,86 и 13,37 мМ тролокс-эквивалентов, соответственно.

Таким образом, повышенные значения отдельных флавоноидов в варианте опыта с исключением азота на фоне повышенного антиоксидантного статуса может быть показателем развития следующих событий:

1) из всех элементов минерального питания исключение азота из питательной смеси явилось наиболее сильным стрессом;

2) в ответ на этот стресс растения запустили

соответствующие защитные механизмы, связанные с повышением накопления флавоноидов:

- неспецифический механизм – возросла общая антиоксидантная активность накапливаемых соединений [4]. Из выявленных в образцах флавоноидов, наиболее важную роль в развитии этих событий сыграли два соединения- рутин и наринтенин.

- специфический механизм – усилился процесс привлечения возможных симбионтов (клубеньковых бактерий), поскольку известно, что флавоноиды играют значительную сигнальную роль у бобовых в такого рода взаимоотношениях [2].

## БЛАГОДАРНОСТЬ

Хроматографический анализ проводился на оборудовании, приобретенном на средства гранта РФФИ № 08-03-05025-б.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барабой В.А. Фармакология флавоноидов / Материалы VII международного симпозиума по фенольным соединениям, Москва, 19-23 октября 2009 г. М.: Изд-во Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2009. С. 26-27.
2. Вольнец А.П. Росторегулирующая активность фенольных конъюгатов / Материалы VII международного симпозиума по фенольным соединениям, Москва, 19-23 октября 2009 г. М.: Изд-во Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2009. С. 61-62.
3. Выхочина Г.И. Фенольные соединения в систематика и филогении семейства гречишных. Новосибирск: Наука, 2004. 240 с.
4. Загоскина Н.В. и др. Образование фенольных соединений и фотосинтетический электронный транспорт в каллусных культурах чайного растения, подвергнутых действию УФ-В радиации / Материалы VI Международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования», 13-17 июня 2005. Москва; Пушкино: ПНЦ РАН. Т. 3. С. 293-297.
5. Полякова Л.В., Еришова Э.А. Изменчивость фенольных соединений у некоторых травянистых и древесных растений от межпопуляционного до внутрииндивидуального (эндогенного) уровня // Химия растительного сырья. 2000. № 1. С. 121-129.
6. Рудиковская Е.Г. и др. Влияние температуры выращивания на состав фенольных соединений в корнях гороха // Физиология растений 2008. Т. 55. № 5. С. 793-797.
7. Тюкавина Н.А. и др. Органическая химия / Спец курс в 2-х кн. Кн. 2. М.: Дрофа, 2008. 592 с.
8. Щербатов А.В. и др. Эколого-биохимические аспекты пластичности состава флавоноидов у можжевельника казахского *Juniperus sabina* L. в условиях Южного Урала // Вест. Оренбург. государственного университета. 2009. № 6. С. 458-460.
9. Buer C.S. et al. Flavonoids are differentially taken up and transported long distances in Arabidopsis // Plant Physiology. 2007. V. 145. P. 478-490.
10. Dixon R.A., Pasinetti G.M. Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience // Plant Physiology. 2010. V. 154. P. 453-457.
11. Kimura Y., Aoki T., Ayabe S. Chalcone isomerase isozymes with different substrate specificities towards 6'-hydroxy- and 6'-deoxychalcones in cultured cells of *Glycyrrhiza echinata*,

- a leguminous plant producing 5-deoxyflavonoids // *Plant Cell Physiol.* 2001. V. 42. № 10. P. 1169-1173.
12. *Nijveldt R.J. et. al.* Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // *Am. J. Clin. Nutr.* 2001. V. 74. P. 418-425.
13. *Ralston L. et. al.* Partial reconstruction of flavonoid and isoflavanoid biosynthesis in yeast using soybean type I and type II chalcone isomerases // *Plant physiology.* 2005. V. 137. P. 1375-1388.
14. *Winkel-Shirley B.* Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology // *Plant Physiology.* 2001. V. 126. P. 485-493.
15. *Winkel-Shirley B.* It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism // *Plant Physiology.* 2001. V. 127. P. 1399-1404.

**EFFECT OF SELECTED ELEMENTS OF MINERAL NUTRITION DEFICIT  
ON ACCUMULATION OF FLAVONOIDS IN LEGUME PLANTS  
FOR AN EXAMPLE OF COMMON BEANS**

© 2012 A.V. Scherbakov<sup>1</sup>, S.M. Faizova<sup>1</sup>, S.P. Ivanov<sup>2</sup>, I.J. Usmanov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bashkir State University, Ufa

<sup>2</sup>Institute of Organic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ufa

<sup>3</sup>Ufa State Academy of Economy and Service

The effect of the exclusion of certain mineral elements on the qualitative and quantitative composition of flavonoids accumulated by leguminous plants is discussed. It is shown that the most important for the accumulation of flavonoids of legumes is nitrogen deficiency. Exclusion of this element from a mixture of mineral nutrition has led to an increase both in content of most of the studied flavonoids and in their antioxidant activity. The observed phenomena can be explained by the signal and protective role of flavonoids.

**Key words:** flavonoids, antioxidant properties, nitrogen, mineral nutrition.

---

*Shcherbakov Arkady Vladimirovich*, candidate of biology, reader, Humanist314@rambler.ru; *Faizova Svetlana Mansurovna*, post-graduate; *Ivanov Sergey Petrovich*, candidate of agriculture, senior researcher; *Usmanov Iskander Yusufovich*, doctor of biology, professor