
ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 57.581.1+574.2+581.5

ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ, ПОЛИСАХАРИДОВ, ЛИПИДОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ *EPHEDRA DISTACHYA L.*

© 2017 Е.С. Богданова, О.А. Розенцвет, В.Н. Нестеров, В.М. Васюков

Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти

Статья поступила в редакцию 21.04.2017

Исследовано влияние эколого-географических условий на состав и содержание пигментов, полисахаридов, липидов и жирных кислот вечнозеленого кустарничка *Ephedra distachya* L. Показано влияние локальных абиотических и природно-климатических факторов на химический состав растений. Высокая температура и низкая влажность почвы способствовали большему накоплению полисахаридов (ГЦ А и ВРПС). В составе ЖК растений произраставших в южном регионе снижалась общая ННЖК и увеличивалось содержание ТАГ. В то же время индивидуальный состав фосфо- и гликолипидов менялся мало.

Ключевые слова: липиды, пигменты, полисахариды, жирные кислоты.

Растения рода *Ephedra* L. относятся к семейству Ephedraceae (хвойниковые) класса Gnetopsida отдела Pinophyta. *Ephedra* является единственным родом семейства и включает 67 видов. Высокий таксономический ранг, присвоенный монотипному семейству, свидетельствует о весьма древнем возрасте данного рода [1].

Ареал распространения растений *Ephedra* простирается от 26° з. д. до 97° в. д. и охватывает всю аридную зону от Молдавии до Алтая и Тувы. Произрастает на равнинах и предгорьях, приурочено к песчаным субстратам. В низкогорьях растет по щебнистым склонам и на галечниках, широко распространен в пустынях, полупустынях и степях [2]. Растения относятся к ксерофильным и полуксерофильным и адаптированы к жесточайшей экономии воды.

Ephedra distachya L. (эфедра двухколосковая) – вечнозеленый кустарничек высотой до 25 см. Особенностью данного вида, как и других представителей *Ephedra*, является отсутствие зеленых листьев, фотосинтетическую функцию осуществляют вечнозеленые побеги, которые со временем деревенеют и покрываются толстой корой [3].

Вечнозеленые виды растений, способные сохранять ассимилирующий аппарат в течение нескольких лет и постепенно заменять старые ассимилирующие органы молодыми, характерны для влажного тропического и субтропического климата. Они имеют эволюционно древний тип ритмики годичного роста и развития. В ум-

ренных и высоких широтах вечнозеленые растения переживают неблагоприятный зимний период, благодаря эволюционно сформированным механизмам – структурным и метаболическим. Для древесных хвойных видов показаны сезонная реорганизация тилакоидной системы хлоропластов, пигмент–белковых комплексов, количественные и качественные изменения пигментного фонда листьев [4]. Сезонные изменения пигментной системы выявлены также у зимующих под снежным покровом вечнозеленных кустарничков и травянистых растений [5].

Одни и те же виды развиваются в различной географической и экологической обстановке, в различных климатических и почвенных условиях, в разных фитоценозах. В то же время растения одного вида могут быть неодинаковы по внешнему облику, строению и экологическим особенностям [7]. Экстремальные климато-географические и экологические условия формируют неспецифический физиолого-биохимический потенциал растений, заключающийся в адаптивных структурных и метаболических перестройках [8].

Поскольку широкая экологическая амплитуда позволяют роду *Ephedra* занимать определенное положение и тип обитания в растительном сообществе, задачей исследования стало изучение изменчивости биохимических компонентов, отвечающих за функциональные и структурные свойства растений *E. distachya*, в различных эколого-географических условиях Среднего и Нижнего Поволжья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал отбирали на 4-х площадках в различных регионах Поволжья: Ульяновская обл. (П-1); Самарская обл. гора Лысая (П-2) и г. Могутова (П-3); Волгоградская обл.

Богданова Елена Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник. E-mail: cornales@mail.ru
Розенцвет Ольга Анатольевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник. E-mail: olgarozhen55@mail.ru
Нестеров Виктор Николаевич кандидат биологических наук, научный сотрудник. E-mail: nesvik1@mail.ru
Васюков Владимир Михайлович, кандидат биологических наук, научный сотрудник. E-mail: vvasjukov@yandex.ru

(П-4). Характеристика условий произрастания растений приведены в табл. 1.

Растения отбирали в середине дня в июле 2015–2016 гг. Для каждого вида анализов использовали среднюю часть побегов эфедра двухколосковой, из усредненной массы составляли три биологические пробы по 0,2–4 г массы сырого сырья. Растительный материал фиксировали жидким азотом (при температуре -78°C).

Содержание пигментов определяли в ацетоновой вытяжке (90%) на спектрофотометре «ПЭ-3000 УФ» («ПромЭкоЛаб», Россия) при λ 662, 645 и 470 нм. Для экстракции использовали 0,2-0,5 г сырой массы листьев [9]. Расчет концентрации хлорофиллов a, b и каротиноидов (Кар) производили по методу [10].

Содержание полисахаридов определяли по методу [11]. Полисахариды разделяли на водорастворимые (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлозы А и Б (ГЦ А и ГЦ Б) [12].

Липиды экстрагировали смесью хлороформа и метанола (1:2, v/v) с одновременным механическим разрушением тканей. Разделение липидов осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) как описано ранее [13]. Количество фосфолипидов (ФЛ) определяли по

содержанию неорганического фосфора, гликолипидов (ГЛ) и неполярных липидов (НЛ) – денситометрически (Денскан-04, Ленхром, Россия) [14]. Хроматограммы анализировали в режиме параболической аппроксимации по градуировочным зависимостям, используя моногалактозилдиацилглицерин (МГДГ) и трипальмитат в качестве стандартов. Общее содержание липидов рассчитывали, как сумму НЛ, ГЛ и ФЛ [15].

Жирные кислоты (ЖК) анализировали в виде их метиловых эфиров, которые получали кипячением в 5% растворе соляная кислота – метanol в течение 1 ч. Полученные зоны эфиров очищали препаративной ТСХ. Количество ЖК определяли методом ГЖХ на хроматографе Кристалл 5000.1 (Россия) в изотермическом режиме; капиллярная колонка «RESTEK» (США), длиной 105 м, диаметром 0,25 мм. Толщина пленки фазы в колонке 0,2 мкм. Температура колонки 180°C, испарителя и детектора – 260°C. Скорость тока газа-носителя (гелий) 2 мл/мин. ЖК идентифицировали с помощью 37 Comp. FAME Mix фирмы Supelco (США).

Данные в таблицах и рисунках представлены как среднее арифметическое со стандартной ошибкой.



Рис. 1. Картографическое обозначение мест отбора растений *E. distachya* в условиях Среднего и Нижнего Поволжья:
П-1 Ульяновская обл. д. Белогоровка; П-2, П-3 – Самарская обл. г. Лысая, г. Могутова;
П-4 - Волгоградская обл. Биологическая балка

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно данным табл. 1 растения эфедры двухколосковой способны произрастать в различных климатических и эколого-ценотических условиях Поволжья. По метеорологическим данным в июле среднесуточная температура воздуха в местах отбора растений варьировала от +24 до +36 °C. Значения pH водных вытяжек почвы равные 8,2 свидетельствуют о принадлежности почв к щелочному типу. В июле низкую влажность почвы регистрировали на площадках произрастания растений П-1 и П-4 (табл. 1).

Изменения в содержании зеленых и желтых пигментов фотосинтетического аппарата позволяет оценить способность растений приспособливаться к комплексу природно-климатических условий. На рисунке 2 показано, что содержание как суммарных, так зеленых пигментов у всех растений на данной стадии вегетации было практически равным. В то же время у растений П-1 отношение Хл/Кар было на 15-20% больше по сравнению с растениями, произрастающими в других условиях. Наименьшее в сравнении с другими растениями отношение Хл а/б у растений П-1 свидетельствует о большей доле свето-сбирающего комплекса в фотосинтетическом аппарате, а значит и об отличиях его структуры. Как известно уровень инсолиляции не одинаков в разных участках поверхности Земли и уменьшается с увеличением географической широты в связи со снижением высоты солнцестояния [16]. Широтные изменения режима солнечной ради-

ации могут отражаться на пигментной системе листьев, от эффективности работы которой напрямую зависит фотосинтетическая продуктивность растений. Адаптация к режиму инсолиляции может затрагивать как содержание фотосинтетических пигментов, так и соотношение их форм.

Кроме того известно, что максимальный фотосинтез у большинства надземных растений достигается при небольшом водном дефиците [17], что также может стать причиной повышенного содержания пигментов, обнаруженное у растений П-1.

В целом, данные пигментного фонда эфедры двухколосковой свидетельствуют о достаточно постоянном количественном уровне пигментов, но изменчивом соотношении Хл/Кар и Хл а/б в различных природно-климатических условиях.

В растениях синтезируются два класса полисахаридов – структурные и запасные. К структурным полисахаридам относятся целлюлоза, гемицеллюлоза и пектиновые вещества. Они необходимы для образования клеточных стенок, следовательно, их синтез должен происходить во всех частях растения, где происходит рост тканей. Также они синтезируются в тех случаях, когда образуют временный или постоянный запас связанного углерода и энергии [18]. В эфедре, произраставшей на участках П-1 и П-4, количество полисахаридов в среднем было выше в 1,2 раза, чем в растениях П-2 и П-3, главным образом за счет высокого содержания ГЦ А и ВРПС (Рис. 3). Из литературных данных известно, что гемицеллюзы и другие нецеллюлозные полисахариды обладают повы-

Таблица 1. Характеристика среды произрастания *E. distachya*

Параметры	П-1	П-2	П-3	П-4
Температура, °C	+ 27	+24	+24	+ 36
pH почвы	8,2	8,2	8,2	8,2
Влажность почвы, %	4,1	58,4	54,0	5,9
Эколого-ценотическая приуроченность	Степь луговая	Степь луговая	Степь каменистая	Степь луговая

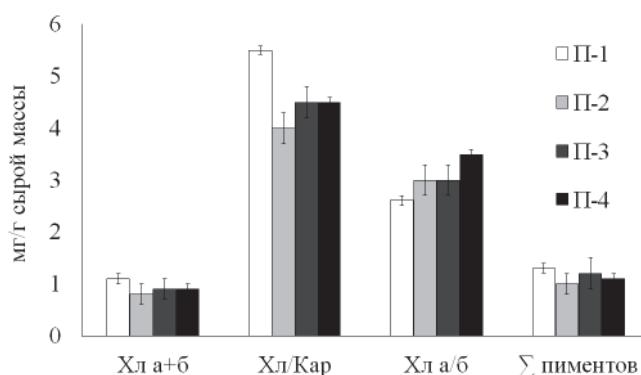


Рис 2. Содержание пигментов в растениях *E. distachya*:
П-1 Ульяновская обл. д. Белогоровка; П-2, П-3 – Самарская обл. г. Лысая, г. Могутова;
П-4 - Волгоградская обл. Биологическая балка

шенной адсорбционной способностью, которая обусловлена их аморфным строением, благодаря чему практически все гидроксильные группы доступны молекулам воды. В местах произрастания растений П-1 и П-4 влажность почв была самой низкой. Таким образом, высокое содержание ГЦ А и ВРПС вероятно способствует запасанию воды в условиях ее дефицита.

Кроме полисахаридов структурную функцию в клетке выполняют липиды, входящие в состав мембран. К таким липидам относятся ФЛ и ГЛ. Большая часть компонентов нейтральных липидов (НЛ) служат метаболическим и энергетическим резервом. Общее содержащих ГЛ, ответственных за структуру мембран тилакоидов, варьировало от 10,4 до 27,2 мг/г сухой массы в зависимости от условий. При этом их максимум отмечали в растениях П-3, произрастающих в условиях луговой степи и высокой влажности почвы (57% от суммы липидов) (рис. 4 А). В побегах растений каменистых степей (П-2) при равных условиях увлажнения почвы вклад ГЛ в общий пул липидов был меньше в 2,5 раза. В условиях умеренно континентального (П-1) и засушливого климата (П-4) при низкой влажности почвы вклад ГЛ также был ниже, чем в растениях П-1.

Доля ФЛ составляла 2,9–20,8 мг/г сухой массы и менялась в зависимости от места сбора растений. Максимальное содержание ФЛ отмечено в растениях, произраставших в условиях каменистой степи. Наибольшее содержание НЛ отмечали в растениях луговых степей П-1 и П-3 (34,2 мг/г и 33,2 мг/г сухой массы, соответственно).

Качественный состав полярных липидов представлен следующими компонентами: моногалактозидиацилглицерин (МГДГ), дигалактозидиацилглицерин ДГДГ, сульфохиновозодиацилглицерин СХДГ, фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилинозит (ФИ). В соотношении индивидуальных ГЛ отмечен более высокий уровень МГДГ, превышающий содержание

ДГДГ у растений, приуроченных к мезофитным условиям луговой степи. Преобладание ДГДГ в составе ГЛ, как правило, характерно для растений, обитающих в более ксерофитных условиях (рис. 4 В). Во фракции ФЛ, также как и в случае ГЛ, отмечено более высокое содержание ФХ для растений П-2, обитающих в ксерофитных условиях каменистой степи (рис. 4 Б).

Среди индивидуальных компонентов НЛ наиболее значимыми являются стерины (СТ), которые входят в состав мембран, а также триацилглицерины (ТАГ) и диацилглицерины (ДАГ), представляющие собой энергетический и метаболический резерв клетки. Побеги растений П-4 были в большей степени обогащены ТАГ, что может быть связано с необходимостью запасания органического углерода для обеспечения биосинтетических процессов в более суровых условиях засушливого климата (рис. 4 Г).

ЖК являются важным элементом в мемbrane клетки и определяют ее подвижность. Состав ЖК липидов растений включал 10 компонентов (рис. 5). Длина их углеродных цепей составляла от 12 до 24 атомов. На кислоты C16 и C18 ряда приходилось более 90%. Содержание насыщенных ЖК (НЖК) варьировало от 30,7 до 37,9 % от суммы ЖК. Основной НЖК являлась пальмитиновая кислота (C16:0), ее содержание составляло 19,7–22,8%. Доля стеариновой кислоты (C18:0) не превышала 5%, при этом низкие значения были отмечены у растений П-1 (2,5%). Следует отметить, что арахиновая (C20:0) и бегеновая (C22:0) кислоты присутствуют в фотосинтетических тканях практически у всех голосеменных в отличие от покрытосеменных растений [19]. Растения П-2 и П-3 характеризовались высоким содержанием C20:0 и C22:0 кислот, а также лигноцериновой кислоты (C24:0, более чем в 2 раза) по сравнению с растениями П-1 и П-4.

Суммарное содержание ненасыщенных ЖК (ННЖК) составляло от 54,9 до 59,7 %. Среди ННЖК были идентифицированы олеиновая (C18:1 ω 9), цис-вакценовая (C18:1 ω 7), линолевая

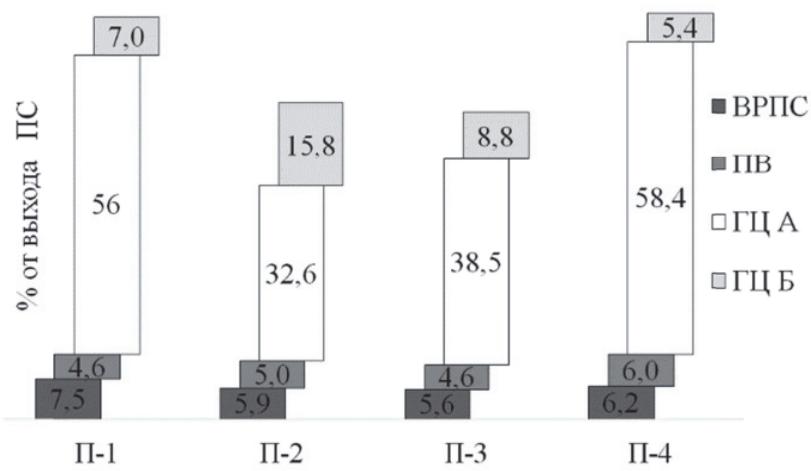


Рис. 3. Состав полисахаридов в растениях *E. distachya* в зависимости от условий произрастания.
Обозначения как на рис. 1

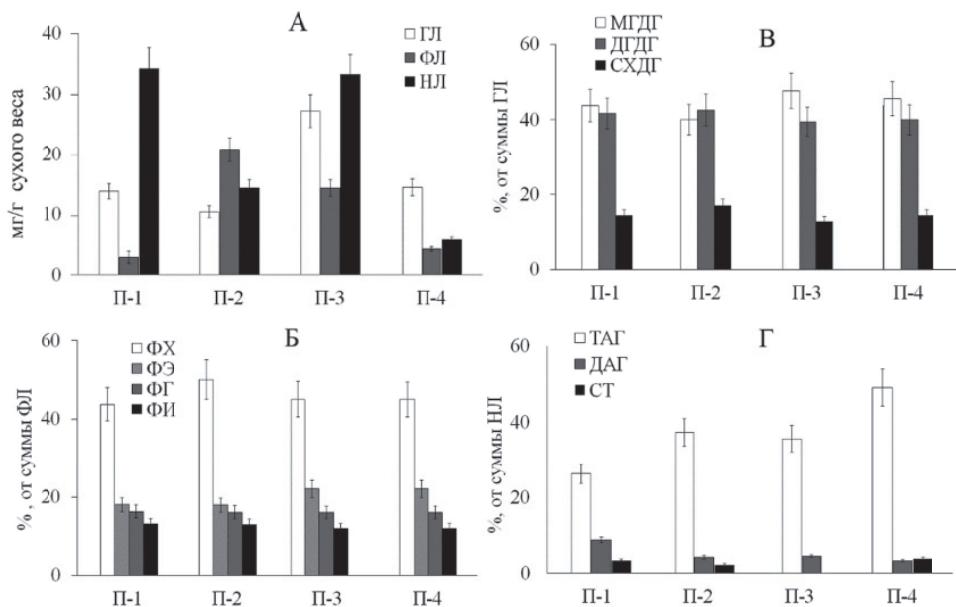


Рис. 4. Соотношение и индивидуальный состав липидных компонентов растений *E. distachya*.
П-1 Ульяновская обл. д. Белогоровка; П-2, П-3 – Самарская обл. г. Лысая, г. Могутова;
П-4 – Волгоградская обл. Биологическая балка.
А – соотношение липидных групп; Б – индивидуальный состав ГЛ;
В – индивидуальный состав ФЛ; Г – индивидуальный состав НЛ

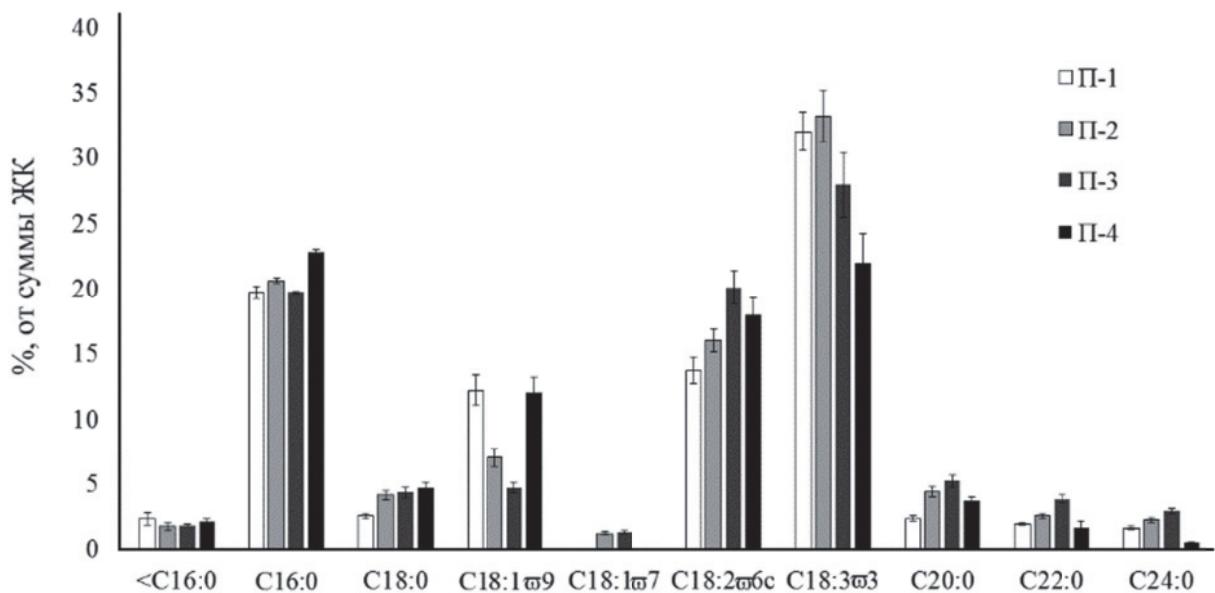


Рис. 5. Содержание жирных кислот *E. distachya*:
П-1 Ульяновская обл. д. Белогоровка; П-2, П-3 – Самарская обл. г. Лысая, г. Могутова;
П-4 – Волгоградская обл. Биологическая балка

(C18:2ω6) и α-линоленовая (C18:3ω3) ЖК. Анализ данных показал разнонаправленные изменения в содержании кислот. Так в составе ЖК растений П-1 и П-2 доминировала C18:3ω3 (33,2 и 32,0%, соответственно). Концентрация C18:2ω6 составляла 16,0 и 13,7%. В то время как в растениях П-3 и П-4 содержание этих кислот было практически равным. Во фракции ЖК растений П-2 и П-3 была идентифицирована цис-вакценовая ЖК (18:1ω7) в концентрации 1,2–1,3%, которая отсутствовала в растениях эфедры П-1 и П-4. В этих же образцах содержание C18:1ω9 было 1,5 раз выше, чем в П-2 и П-3.

Таким образом, проанализирован состав и содержание компонентов в растениях эфедры двухколосковой в разных эколого-географических условиях Среднего и Нижнего Поволжья. В частности исследовано влияние географического положения, климатических и фитоценологических особенностей, а также локальных абиотических факторов среды произрастания на содержание пигментов, полисахаридов, липидов и ЖК. Исходя из полученных данных можно отметить, что локальные абиотические факторы оказывают большее влияние на содержание и состав липидов и полисахаридов. Так, высокая температура и низ-

кая влажность почвы способствовали большему накоплению ГЦ А и ВРПС у растений, произраставших в Ульяновской и Волгоградской областях. С изменением природно-климатических условий связанно изменения в содержании пигментов, ЖК и НЛ. В частности в составе ЖК растений, произраставших в южном регионе, снижалась их насыщенность и увеличивалось содержание ТАГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пешкова Г.А. К происхождению рода *Ephedra* L. (Ephedraceae) // *Turczaninowia*. 2005. Т. 8. № 2. С. 54–68
2. Ареалы лекарственных и родственных им растений СССР / Атлас 2-е изд. Л. : Изд-во Ленинградского ун-та. 1990. С. 8–11.
3. Жизнь растений в шести томах [под ред. И.В. Грушвицкого, С.Г. Жилина]. М. : Просвещение. 1978. С. 299–314.
4. Софронова В.Е., Чепалов В.А., Дымова О.В., Головко Т.К. Роль пигментной системы вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma* в адаптации к климату центральной Якутии // Физиол. растений. 2014. Т. 61. № 2. С. 266–274.
5. Структурно-функциональные основы экспансии *Ephedra sinica* в степных экосистемах Монголии / Л.А. Иванов, Л.А. Иванова, Д.А. Ронжина, М.Л. Чечулин, Г. Церенханд, П.Д. Гунин, В.И. Пьянков // Физиол. растений. 2004. Т. 53. № 4. С. 1–8.
6. Comparison of contents of five ephedrine alkaloids in three official origins of *Ephedra* herb in China by high-performance liquid chromatography / H. Hong, H.B. Chen, D.H. Yang, M.Y. Shang, X. Wang, et al. // Jour. Natural Medicinal 2011.. Vol. 65. № 3-4. P. 623-628.
7. Филиппова Г.В. Роль экологических факторов в накоплении биологически активных веществ растениями Якутии. Дис.... канд. биол. наук. Якутск, 2003. 180 с.
8. Ackerly D.D., Dudley S.A., Sultan S.E., Schmitt J., Coleman J.S. et al. The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions // BioScience. 2000. Vol. 50. № 11. P. 979–995.
9. Maslova T.G., Popova I.A., Popova O.F. Critical appraisal of the spectrophotometric method of quantifying carotenoids // Rus. J. Plant Physiol. 1986. Vol. 33. P. 615–619.
10. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes // Eds. R. Dous, L. Packer. Methods in Enzymology. Academic Press Inc, New York. 1987. P. 350–382.
11. Государственная Фармакопея СССР. Выпуск 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье [под ред. М.Д. Машковского, Э.А. Бабаяна, А.Н. Обоймаковой и др.]. М. 1989. 400 с.
12. Кочетков Н.К. Химия биологически активных соединений. М. : Химия, 1970. 378 с.
13. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир. 1975. 323 с.
14. Vaskovsky V.T., Latyshev N.A. Modified jungnickels reagent for detecting phospholipids and other phosphorus compounds on thin-layer chromatograms // J. Chromatogr. 1975. Vol. 115. P. 24–249.
15. Модификация пула полярных липидов листьев при адаптации растений *Plantago media* L. к световому режиму в природных условиях / О.А. Розентсвет, Т.К. Головко, Е.С. Богданова, Г.Н. Табаленкова, В.Н. Нестеров, О.В. Дымова // Известия РАН. Сер. Биол. 2013. № 2. С. 1–9.
16. Изменения содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале / Л.А. Иванов, Л.А. Иванова, Д.А. Ронжина, П.К. Юдина // Физиол. растений. 2013. Т. 60. № 6. С. 856–864.
17. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учебник для вузов. М. : Высш. шк., 2005. 736 с.
18. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М. : Изд. дом ГЭОТАР-МЕД. 2004. С 210–215.
19. Leps J., Smilauer P. Multivariate analysis of ecological data. Ceský Budejovice: Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia. 1999. 110 p.

INFLUENCE OF ECOLOGICAL-GEOGRAPHICAL CONDITIONS ON THE STRUCTURE AND CONTENT OF PIGMENTS, POLYSACCHARIDES, LIPIDES AND FATTY ACIDS OF THE *EPGEDRA DISTACHYA* L.

© 2017 Е.С. Богданова, О.А. Розентсвет, В.Н. Нестеров, В.М. Васюков

Institute of Ecology of the Volga Basin of the Russian Academy of Sciences, Togliatti

The influence of ecogeographical conditions on the composition and content of pigments, polysaccharides, lipids and fatty acids of the evergreen shrub *Ephedra distachya* L. The influence of local abiotic and natural climatic factors on the chemical composition of plants is shown. High temperature and low soil moisture contributed to a greater accumulation of polysaccharides (hemicellulose A and water-soluble polysaccharides). In the fatty acids plants growing in the southern region, the total unsaturated fatty acids was reduced and the content of triacylglycerols increased. At the same time, the individual composition of phospho- and glycolipids changed little.

Keywords: lipids, pigments, polysaccharides, fatty acids

Elena Bogdanova, Candidate of Biology, Research Fellow.
E-mail: cornales@mail.ru

Olga Rozentsvet, Doctor of Biology, Chief Research Fellow.
E-mail:olgarozzen55@mail.ru

Viktor Nesterov, Candidate of Biology, Research Fellow.
E-mail: nesvik1@mail.ru

Vladimir Vasjukov, Candidate of Biology, Research Fellow.
E-mail: vvasjukov@yandex.ru