

## АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА *QUERCUS ROBUR* L. В ПОЛЕЗАЩИТНЫХ ЛЕСОПОЛОСАХ НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ ВЕЩЕСТВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА

© 2021

Сауткина М.Ю.

Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии  
(г. Воронеж, Российская Федерация)

*Аннотация.* В статье представлены результаты исследований различных групп веществ вторичного метаболизма фенольной природы в листьях модельных деревьев дуба черешчатого, произрастающего в полезащитных лесных полосах агролесомелиоративного комплекса «Каменная Степь». Физиолого-биохимический анализ проводили на образцах листьев дуба, в два этапа – в I декаде июня и в начале августа. С каждого модельного дерева отбирали по 4–6 побегов нижнего яруса южной экспозиции. Выявлено существенное биохимическое разнообразие контрольной и опытной групп модельных деревьев дуба. Показано, что наиболее существенные колебания уровня фенольных веществ происходят в начале вегетационного сезона, а затем их содержание стабилизируется. Подтверждена информативность биохимических мониторинговых исследований при комплексной оценке текущего состояния дубовых насаждений. Доказано, что содержание веществ вторичного обмена фенольной природы и их сочетание может служить критерием потенциальной устойчивости вида к средовому стрессу. Различия по содержанию вторичных метаболитов в листьях контрольных и опытных деревьев могут свидетельствовать о наличии адаптационных механизмов, позволяющих особям выживать в неблагоприятных гидротермических и эдафических условиях Каменной Степи.

*Ключевые слова:* дуб черешчатый; полезащитные лесные полосы; биохимический мониторинг; фенольные соединения; вещества вторичного метаболизма; низкомолекулярные катехины; флавонолы; проантоцианидины.

## THE STATE OF THE ADAPTIVE POTENTIAL OF *QUERCUS ROBUR* L. IN FIELD-PROTECTIVE FOREST BELTS BASED ON THE STUDY OF SUBSTANCES OF SECONDARY METABOLISM

© 2021

Sautkina M.Yu.

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russian Federation)

*Abstract.* The paper studies various groups of substances of secondary metabolism of phenolic nature in the leaves of model trees of English oak growing in the field-protective forest belts of the agroforestry complex «Kamen-naya Steppe». A physiological and biochemical analysis was carried out on samples of oak leaves from each tree in two stages – in the first decade of June and in early August. From each model tree 4–6 shoots of the lower tier of the southern exposure were selected. Significant biochemical diversity of the control and experimental groups of model oak trees was revealed. It is shown that the most significant fluctuations in the level of phenolic substances occur at the beginning of the growing season and then their content is stabilized. The informativeness of biochemical monitoring studies in the complex assessment of the current state of oak stands was confirmed. It is proved that the content of substances of secondary metabolism of phenolic nature and their combination can serve as a criterion of potential energy efficiency.

*Keywords:* English oak; field-protective forest belts; biochemical monitoring; phenolic compounds; substances of secondary metabolism; low molecular weight catechins; flavonols; proanthocyanidins.

### Введение

В последние десятилетия климат Земли претерпевает значительные изменения: растет повторяемость, продолжительность и интенсивность засух, нарушается экологическое равновесие, снижается биологическое разнообразие видов. Одним из главных препятствий по сдерживанию темпов остепнения южных областей Европейской части России являются полезащитные лесные полосы [1, с. 5–8]. Роль основной лесобразующей породы данных полос принадлежит дубу черешчатому. Дуб является засухоустойчивой породой повышенной хозяйственной ценности. В связи с этим в настоящее время проблемы сохранения и поддержания экологического потенциала дубовых древостоев вышли на уровень наиболее актуальных. Для комплексной оценки состояния дубовых насаждений необходимо более широко использовать биохимические критерии биоин-

дикации. Одним из ключевых моментов экологического мониторинга является изучение адаптационных механизмов устойчивости дуба на биохимическом уровне, который включает особенности синтеза веществ первичного и вторичного метаболизма. В качестве маркеров устойчивости дубрав к повреждению листьев различными видами патогенов и вредителей используются вещества вторичного метаболизма. Известно, что в листьях дуба черешчатого синтезируется большое количество разнообразных вторичных метаболитов фенольной природы – низкомолекулярные катехины, конденсированные и гидролизующиеся танины, флавонолы и проантоцианидины. Эти вещества обладают высокой антиоксидантной активностью и относятся к компонентам неспецифической защиты [2, р. 282–391]. Биосинтез фенольных соединений зависит от многих абиотических факторов (свет, влага, минеральное питание и т.д.), а

также от генотипических особенностей растительно-организма [3, с. 34–42].

Целью исследований являлась оценка в сезонной динамике биохимического разнообразия 69-летних деревьев дуба черешчатого, произрастающих в контрастных лесорастительных условиях лесной полосы № 133 «Каменной Степи».

#### Материалы и методы исследований

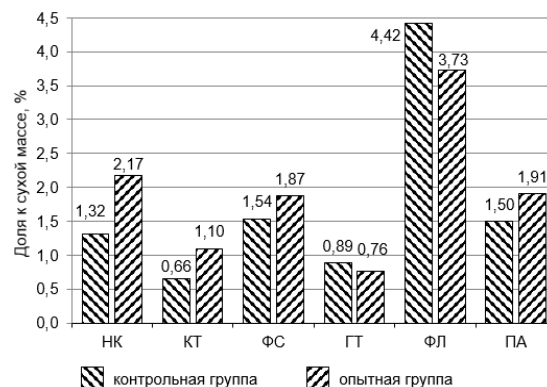
Объектом исследования служили деревья дуба черешчатого, произрастающие в полезащитной лесной полосе № 133 агролесомелиоративного комплекса «Каменная Степь» (Таловский район, Воронежская область). Данная лесополоса создана в 1950 г. академиком Е.С. Павловским коридорно-гнездовым способом, направлена с запада на восток, находится на водораздельном участке и располагается на трех типах местности: плакорном, междуречном недренированном (литеры *a* и *b*) и склоновом (литера *в*). В ней отобраны 40 модельных деревьев дуба: 20 деревьев, произрастающих в литере *a* и *b* (контрольный вариант), и 20 деревьев – на склоне в литере *в* (опытный вариант). Таксационные показатели насаждения и биометрические характеристики модельных деревьев дуба были рассмотрены нами ранее [4, с. 78–89]. Физиолого-биохимические исследования проводили на образцах листьев дуба черешчатого, в два этапа – I декада июня (листовая пластинка молодая полностью сформировавшаяся) и в начале августа (стадия зрелой листовой пластинки). С каждого модельного дерева отбирали по 4–6 побегов нижнего яруса южной экспозиции. Затем в течение 4–5 секунд фиксировали в кипящем этаноле отобранные системные листья и высушивали до воздушно-сухого состояния. Далее определяли содержание в листьях дуба вещества вторичного метаболизма фенольной природы. Для этого проводили экстракцию листьев 96; 70 и 50%-ным этиловым спиртом. В 96%-ном экстракте производили определение низкомолекулярных катехинов (НК) и флавонолов (ФЛ) [5, с. 350–358; 6, р. 213–217]; в 50%-ном экстракте – конденсированных танинов (КТ) и общую сумму фенольных соединений (ФС) [6, с. 213–217; 7]; в 70%-ном экстракте – проантоцианидины (ПА) [6, р. 213–217]. Сумму гидролизующих танинов (ГТ) в листьях дуба оценивали по разнице между содержанием ФС и КТ [8, р. 1693–1702].

#### Результаты исследований и их обсуждение

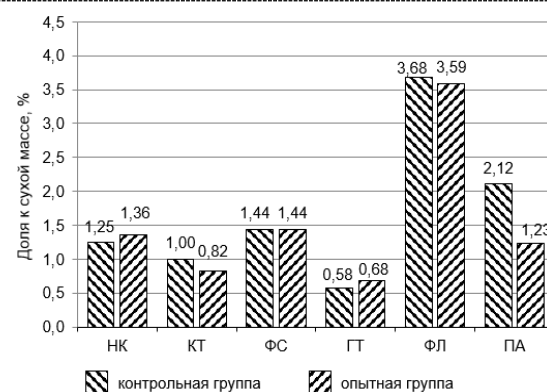
Анализ показал, что среди изученных групп веществ вторичного метаболизма максимальный уровень накопления характерен для ФЛ. Так, в июне в листьях контрольных деревьев их среднее содержание составляло  $4,419 \pm 0,172\%$  сухой массы (с.м.) (рис. 1). В листьях опытной группы уровень накопления ФЛ на 15,6% ниже –  $3,726 \pm 0,332\%$  с.м. Повышенное их содержание в июне может быть связано с особенностями защиты фотосинтетического аппарата растений от гидротермического стресса во время атмосферной и почвенной засухи. ФЛ широко известны как компоненты антиоксидантной защиты в условиях засухи и повышенной УФ-радиации [9, с. 61–66; 10, р. 67–76].

В июле 2019 г. выпало 161% от региональной нормы осадков и в почве накопились значительные запасы влаги. Вследствие этого в августе уровень накопления вторичных метаболитов снизился в листьях

обеих групп модельных деревьев дуба. Среднее содержание ФЛ в контрольной группе снизилось на 16,7% и составило  $3,683 \pm 0,164\%$  с.м. Уровень накопления этих веществ в листьях опытной группы снизился менее существенно и составил  $3,594 \pm 0,153\%$  с.м. (рис. 2).



**Рисунок 1** – Накопление фенольных соединений в листьях дуба черешчатого (лесная полоса № 133, Каменная Степь, июнь 2019 г.)



**Рисунок 2** – Накопление фенольных соединений в листьях дуба черешчатого (лесная полоса № 133, Каменная Степь, август 2019 г.)

В ходе анализа определен уровень накопления еще одной группы вторичных метаболитов, которые так же, как и флавонолы, синтезируются из дигидрокверцетина, – конденсированных танинов (КТ). Известно, что под воздействием флавонолсинтазы из этого компонента образуются ФЛ, а при протекании другой ферментативной реакции с дигидрофлавонолредуктазой осуществляется синтез флавонолов (КТ и ПА). Однако из-за высокой способности к полимеризации конденсированные танины обладают менее выраженными антиоксидантными свойствами [11, р. 153–159].

В динамике по уровню накопления конденсированных танинов выявлены следующие различия. Так, в июне отмечен максимальный уровень накопления КТ у опытных деревьев –  $1,104 \pm 0,160\%$  с.м. Листья контрольных деревьев содержат КТ на 59,4% меньше –  $0,656 \pm 0,093\%$  с.м. (рис. 1). Вероятно, увеличение содержания данной группы вторичных метаболитов обусловлено дополнительным синтезом этих веществ в ответ на повреждение тканей листа насекомыми или поражения болезнями. На 1 этапе (июнь) энтомо-фитопатологической оценки филлосфера опытных деревьев была более поражена мучнистой росой, что, в свою очередь, могло индуцировать дополнительный синтез конденсированных танинов. Однако анализ сбора августа показал, что уровень накопления КТ несколько выровнялся: в листьях контроль-

ных деревьях дуба произошло увеличение уровня накопления КТ до  $1,007 \pm 0,178\%$  с.м., а в листьях опытных деревьев, наоборот, снижение их уровня до  $0,824 \pm 0,221\%$  с.м. (рис. 2). Вероятно, элиситоры патогенов (например, мучнистой росы) могут влиять на регуляцию общего предшественника флавонолов и конденсированных танинов – дигидрокверцетина. В случае восприимчивости к патогену происходит преимущественное образование флавонолов, а в случае с устойчивостью регуляторной системы растения уровень накопления веществ вторичного метаболизма остается достаточно стабильным [12, с. 396–403].

На основе июньской диагностики содержания веществ вторичного метаболизма в листьях дуба всю выборку деревьев можно разделить на 2 биохимических фенотипа. Первый – контрольные деревья, устойчивые к мучнистой росе формы, характеризующиеся повышенным содержанием ФЛ и пониженным содержанием КТ; второй – опытные деревья, восприимчивые к мучнистой росе, с пониженным содержанием ФЛ и повышенным КТ. Необходимо отметить, что полученные соотношения уровней накопления ФЛ и КТ в опыте и контроле и результаты энтомофитопатологической оценки подтверждаются данными визуальной оценки санитарного состояния деревьев, произрастающих в контрастных экологических условиях (плакор и склон лесополосы № 133). Разделение деревьев дуба черешчатого на устойчивые и восприимчивые к мучнистой росе на основе биохимических фенотипов ранее было обосновано Л.В. Поляковой и В.И. Литвиненко [13, с. 128–137].

Анализ результатов количественного определения компонентов фенольного комплекса позволил определить уровень накопления еще одной группы флавонолов, обладающей антиоксидантными свойствами, – низкомолекулярных катехинов (НК). Максимальный уровень накопления НК характерен для молодых полностью сформировавшихся листьев дуба опытной группы июньского сбора –  $2,168 \pm 0,312\%$  с.м. (рис. 1). В листьях дуба контрольной группы низкомолекулярных катехинов выявлено почти в 2 раза меньше –  $1,318 \pm 0,185\%$  с.м. (рис. 1). Ко второй декаде августа отмечается одновременное снижение уровня накопления НК в обеих группах исследуемых деревьев: до  $1,356 \pm 0,272\%$  с.м. у опытных и до  $1,247 \pm 0,248\%$  с.м. у контрольных деревьев (рис. 2).

Установлено, что содержание гидролизуемых танинов (ГТ) несущественно варьирует в течение вегетационного сезона. В целом, уровни накопления ГТ в первой его половине несколько выше в обеих группах:  $0,888 \pm 0,131\%$  с.м. в листьях контрольных деревьев и  $0,761 \pm 0,180\%$  с.м. (рис. 1). Во второй декаде отмечено некоторое снижение содержания этих веществ во всей выборке: до  $0,579 \pm 0,124\%$  с.м. (группа контроля) и до  $0,679 \pm 0,136\%$  с.м. (группа опыта) (рис. 2).

Л.В. Поляковой и др. [14, с. 24–32] предложен принцип деления насаждений дуба черешчатого на 3 биохимических фенотипа. 1-й фенотип характеризуется содержанием белка, выше среднего для популяции и пониженным содержанием ГТ. 2-й фенотип – содержание белка ниже среднепопуляционного уровня, а ГТ – выше. 3-й фенотип – повышенный уровень белка и ГТ. Известно, что предшественником гидролизуемых танинов, синтезируемых из галловой кислоты, является дегидрошикимовая кислота, которая одновременно служит в роли предшественника фенилаланина [15, р. 3–16]. Вероятно, негатив-

ная корреляция между накоплением белка и ГТ является следствием их конкуренции за общий предшественник – фенилаланин – для синтеза белка и галловой кислоты. Существуют мнение, что повышенному уровню (относительно среднепопуляционного) первичных метаболитов соответствует пониженный уровень вторичных веществ, и наоборот. При этом более тесная связь данных показателей отмечена в старовозрастных деревьях и деревьях лесных массивов, устойчивых к различным патогенам и вредителям [9, с. 61–66].

Еще одним компонентом фенилпропановой структуры, кроме ФЛ, НК и КТ, выявленным в листьях модельных деревьев, является связанная форма ПА. Показано, что в начале вегетационного сезона уровень накопления ПА в листьях деревьев опытной группы составлял  $1,911 \pm 0,335\%$  с.м., что на 21,8% выше уровня этих веществ у контрольных деревьев (рис. 1). К середине августа произошло существенное увеличение содержания ПА в листьях контрольных деревьев на 29,5% до  $2,120 \pm 248\%$  с.м. (рис. 2). У деревьев опытной группы, наоборот, на 35,8% снизился уровень накопления данных веществ. Вероятно, подобные особенности вторичного обмена не проявляются однозначно только на количественном уровне, а представляют собой комплекс компонентов фенольной природы, сочетающихся по характеру защитного действия в разные периоды вегетационного сезона [16, с. 252–259; 17, с. 581–586].

Об адаптивной пластичности изучаемых деревьев дуба можно судить по коэффициентам вариации признаков. Наблюдается значительная дифференциация деревьев по биохимическим показателям вторичного обмена. Наиболее высокий уровень пластичности у деревьев обеих выборок показан при анализе гидролизуемых танинов. Коэффициенты вариации данного признака составляют от 66 до 95,9% (июнь 2019 г.).

Высокий уровень пластичности на уровне 50–70% выявлен и при анализе других групп веществ вторичного метаболизма, за исключением ФЛ. Такие высокие коэффициенты вариации признаков дают достаточный размах адаптивности показателей. Подобную индивидуальную вариативность можно рассматривать как процесс поиска растениями внутренних путей адаптации к средовым стрессорам в рамках строго определенных адаптационных возможностей вида. Коэффициенты вариации выборок по ФЛ составляют от 17,1 (опытный вариант, август) до 35,7% (контрольный вариант, август).

Показатели коэффициентов вариативности по флавонолам соответствуют данным, полученным для природных популяций дуба черешчатого – 18,1% [14, с. 24–32]. Благодаря высокой вариативности веществ вторичного метаболизма сохраняется биохимическое разнообразие в популяциях, которое определяет различную степень устойчивости деревьев к различным абиотическим и биотическим факторам (высоким температурам, УФ-радиации, вредителям, патогенам и т.д.) [16, с. 252–259].

#### Выводы

Таким образом, в ходе исследования групп веществ вторичного метаболизма выявлено существенное биохимическое разнообразие контрольной и опытной групп модельных деревьев дуба черешчатого. Показано, что наиболее существенные колебания их уровня происходят в начале вегетационного сезона, а в августе их содержание несколько стабилизи-

руется. Подтверждена информативность биохимического мониторинга при оценке состояния дубовых насаждений. Выявлено, что содержание фенольных соединений может служить критерием потенциальной устойчивости вида к среде обитания. Устойчивость дубовых насаждений имеет многофакторную основу. Установлено, что способность растений противостоять средовому стрессу под влиянием абиотических и биотических факторов зависит во многом от уровня накопления различных групп веществ вторичного метаболизма и их сочетания [18, с. 140–147]. Так, особенности метаболизма, связанные с устойчивостью, в полной мере проявляются не только в их количестве, а представляют собой коадаптивный комплекс разных по характеру действия групп веществ в различные временные периоды вегетационного сезона. Такие коадаптивные комплексы обладают достаточно высоким уровнем наследуемости. Генетическая устойчивость к мучнистой росе подтверждена у полусибсовых потомств устойчивого 600-летнего дерева и 300-летнего восприимчивого дерева дуба. Наследуемость составили 0,78 для 600-летнего дерева и 0,42 для 300-летнего [16, с. 252–259]. Различия по содержанию вторичных метаболитов в листьях контрольных и опытных деревьев могут свидетельствовать о наличии адаптационных механизмов, позволяющих особям выживать в неблагоприятных гидротермических и эдафических условиях.

#### Список литературы:

1. Федотов В.И. Антропогенез – объективная реальность в географической оболочке Земли // Вестник ВГУ Сер. География. Геоэкология. 2014. № 3. С. 5–8.
2. Naviola S., Saloniemi J., Ossypov V. et al. Additive genetic variation of secondary and primary metabolites in mountain birch // OIKOS. 2006. № 112. P. 382–391.
3. Киракосян Р.Н., Калашникова Е.А. Содержание фенольных соединений в листьях растений-регенерантов капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.) // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2017. № 2. С. 34–42.
4. Сауткина М.Ю., Кузнецова Н.Ф., Тунякин В.Д. Современное состояние полезащитных лесных полос с преобладанием дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) // Лесохозяйственная информация. 2018. № 1. С. 78–89.
5. Беликов В.В. Оценка содержания флавонол-производных в плодах *Sylabium marianum* (L.) // Растительные ресурсы. 1985. № 3. С. 350–358.
6. Julkunen-Titto R. Phenolic constituents in leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1985. № 33. P. 213–217.

7. Харборн Дж. Биохимия фенольных соединений. М.: Изд-во «Мир», 1968. 448 с.
8. Salminen J.-P., Roslin T., Karonen M. Seasonal variation in the content of hydrolyzable tannins, flavonoid glycosides and proanthocyanidins in oak leaves // Journal of Chemical Ecology. 2004. № 30 (9). P. 1693–1702.
9. Полякова Л.В. Фенольные соединения листьев материнских деревьев и сеянцев полусибсового потомства дуба черешчатого // Биологический вестник. 2007. № 11. С. 61–66.
10. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids an antioxidants in plants: Location and functional significance // Plant Science. 2012. № 196. P. 67–76.
11. Lahtinen M., Kapari L., Ossipov V., et al. Biochemical transformation of birch leaf phenolics in larvae of six species of sawflies // Chemoecology. 2005. № 1 (3). P. 153–159.
12. Полякова Л.В., Литвиненко В.И. Регуляция синтеза некоторых групп фенольных соединений в листьях дуба черешчатого в условиях повреждения патогенной инфекцией и насекомыми // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. М., 2015. С. 396–403.
13. Полякова Л.В., Литвиненко В.И. Значение вторичных метаболитов в формировании устойчивости к мучнистой росе деревьев 16-летних культур дуба черешчатого // Лесоведение. 2019. № 2. С. 128–137.
14. Полякова Л.В., Литвиненко В.И. Биохимическое разнообразие полусибсового потомства деревьев дуба черешчатого как источник отбора генотипов для микроклонаирования // Бюллетень ГНБС. 2016. № 121. С. 24–32.
15. Ossipov V., Salminen J.-P., Ossipova S., Haukioja E., Pihlaja K. Gallic acid and hydrolysable tannins are formed in birch leaves from an intermediate compound of the shikimate pathway // Biochemical Systematics and Ecology. 2003. № 31 (1). P. 3–16.
16. Полякова Л.В. Сезонная изменчивость фенольных соединений в листьях деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur*) и красного (*Quercus rubra*), устойчивых и восприимчивых к мучнистой росе (*Microsphaera alphitoides*) // Лісівництво і агролісомеліорація. 2008. № 113. С. 252–259.
17. Шейн И.В., Шибистова О.Б., Зражевская Т.К., Астраханцева Н.Г., Полякова Г.Г. Содержание фенольных соединений и активность ключевых ферментов их синтеза в гипокотылях сосны обыкновенной при фузариозе // Физиология растений. 2003. № 50. С. 581–586.
18. Полякова Л.В., Кузнецова Н.Ф. Повышение устойчивости лесозащитных полос с участием сосны обыкновенной на основе изучения особенностей метаболизма веществ вторичного обмена // Бюллетень ГНБС. 2020. № 136. С. 140–147.

Информация об авторе(-ах):	Information about the author(-s):
<p><b>Сауткина Марина Юрьевна</b>, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник лаборатории экологической генетики; Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии (г. Воронеж, Российская Федерация). E-mail: sautmar@mail.ru.</p>	<p><b>Sautkina Marina Yurievna</b>, candidate of agricultural sciences, researcher of Ecological Genetics Laboratory; All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh, Russian Federation). E-mail: sautmar@mail.ru.</p>

#### Для цитирования:

Сауткина М.Ю. Анализ состояния адаптационного потенциала *Quercus robur* L. в полезащитных лесополосах на основе изучения веществ вторичного метаболизма // Самарский научный вестник. 2021. Т. 10, № 2. С. 86–89. DOI: 10.17816/snv2021102112.