

СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *AGRIMONIA EUPATORIA* L., *FILIPENDULA VULGARIS* MOENCH, *ANTHEMIS ARVENSIS* L. И ДВУХ ВИДОВ *ARTEMISIA* НА ТЕРРИТОРИИ БОЛГАРИИ И ИХ ДЕЙСТВИЕ КАК РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Д.Й. Якимов¹, Й.И. Тачева², В.В. Будаева³

¹ Высшая школа «Земледельческий колледж», г. Пловдив, Болгария

² Шуменский университет «Епископ Константин Преславски», г. Шумен, Болгария

³ Учреждение Российской академии наук Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН

Исследовано количественное содержание флавоноидов в растениях: Agrimonia eupatoria L., Filipendula vulgaris Moench, Anthemis arvensis L., Artemisia absinthium L., Artemisia caucasica Willd, которые собраны в районе города Шумена, Болгария. Обнаружено высокое содержание флавоноидов в сырье, самое высокое – в Filipendula vulgaris Moench – 29,68 мг/г воздушно-сухого сырья. Изучено влияние водно-этанольного извлечения и фракционного извлечения с преобладающим содержанием флавоноидов из Agrimonia eupatoria L. на начальный темп роста проростков свеклы. Установлено увеличение первоначального темпа роста как под влиянием суммарного водно-этанольного извлечения, так и фракционного флавоноидного извлечения, что доказывает роль флавоноидов в качестве растительных стимуляторов.

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды проявляют многофункциональное биологическое действие. В растениях они являются регуляторами роста, обладают фунгицидной и антибактериальной активностями, УФ-протекторами, а также в виде пигментов привлекают насекомых [1]. Кроме того, Запрометов М.Н. подробно описал, что они влияют на репродуктивность и интенсивность фотосинтеза [2]. Флавонолы обладают наиболее выразительным действием в сравнении с классом флавоноидов, в частности они являются сильными стимуляторами роста и ингибиторами патогенной микрофлоры [3], осуществляют роль металл-хелаторов и алопатических веществ [4].

Флавоноиды обладают и многими видами фармакологической активности: капилляроукрепляющей, противовоспалительной, противоаллергической, антибактериальной. В этом направлении флавонолы особенно активны [5]. Флавонолы также обладают противовирусной активностью [6]. Убедительно показана важная роль флавоноидов в регуляции активности ферментов метаболизма ксенобиотиков [7].

Большинству видов семейства *Rosaceae* и *Asteraceae* характерно высокое содержание флавоноидов и, в частности, флавонолов [8].

Использование биологически активных веществ и биопрепаратов в современном

земледельческом производстве является альтернативой высоким дозам минеральных удобрений и пестицидов, которые нарушают экологическое равновесие в агробиоценозах [9]. Включение биопродуктов в агротехнологии отражается благоприятно на рост, развитие, продуктивность и устойчивость к абиотическому и биотическому стрессу земледельческих культур. В этом отношении показательны исследования воздействий природных физиологически активных веществ, биоудобрений и биопестицидов, предложенных для обработки семян и самих растений во время вегетации овощных культур (помидоры, перец, огурцы), некоторых полевых культур (кукуруза, подсолнечник, пшеница, бобовые), включительно и сахарной свеклы [10-16]. С теми же намерениями успешно могут исследоваться извлечения легковозобновляемых диких растений с высоким содержанием флавоноидов [17].

Целью настоящего исследования является сопоставление количественного содержания флавоноидов в надземных частях видов *Rosaceae* (*Agrimonia eupatoria* L., *Filipendula vulgaris* Moench) и *Asteraceae* (*Anthemis arvensis* L., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia caucasica* Willd), произрастающих на территории Болгарии в одном и том же регионе, и изучение влияния флавоноидов на начальный темп роста свеклы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использовалось воздушно-сухое сырье указанных выше растений, собранных в фазе начала цветения. Средняя проба 1 г включала все части растения: стебель, листья и цветы. Для максимального извлечения флавоноидов материал подвергался трехступенчатой экстракции при температуре 70 °С в течение 3×1 ч. при периодическом перемешивании. Соотношение сырье : экстрагент составляло 1 : 30 (масса / объем). В качестве экстрагента использован 70 % этиловый спирт.

Анализ флавоноидов в экстракте проводили по методике количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин, основанной на спектрофотометрировании комплексов флавоноидов с хлоридом алюминия [18]. Аликвота экстрактов – 1 мл. Спектры снимали на регистрирующем спектрофотометре UV-VIS.

Было исследовано воздействие суммарных водно-этанольных извлечений и фракционных извлечений с преобладающим содержанием флавоноидов на энергию всхожести, всхожесть и начальный этап роста при лабораторных условиях сахарной свеклы *Beta vulgaris* L. var. *saccharifera* Alef, красной свеклы *Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef.

В виде сырья для экстракции использовали 2 г воздушно-сухого растения (цветки : листья = 1:1) репешка обыкновенного *Agrimonia eupatoria* L. Растительный воздушно-сухой материал измельчали на частицы до 2-3 мм и помещали двукратно в нагретый до 60°С и 70 °С этанол с концентрацией 70 %. Продолжительность экстракции 1 ч с перемешиванием через каждые 10 мин. Полученное извлечение фильтровали через фильтр Шотта G₃ и отгоняли спиртовую фазу по вакуумом при температуре 30±2 °С с целью полного сохранения биологически активных веществ (БАВ). Полученную таким образом водную фракцию разбавляли дистиллированной водой. Содержание БАВ в суспензиях отражено как количественное отношение массы использованного сырья к объему раствора, выраженное в мг/мл. В качестве стандарта использован водный раствор рутина, полагая, что высокое содержание рутина в растениях является причиной исследованной биологической активности растений. Так как большинство из подгрупп флавоноидов мало растворимы в воде, для их ресуспендирования использовано Tween 80 как поверхностно-активное вещество (ПАВ).

Фракционное извлечение флавоноидов провели по модифицированной авторами методике Кефели и Турецкой для извлечения

фенольных соединений [19]. Статистическая обработка выполнена по Student's *t test*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Спектры поглощения исследуемых экстрактов после добавления хлорида алюминия приведены на рисунке 1. Максимумы поглощения всех экстрактов находятся в интервале 408-420 нм, что обосновывает пересчет суммы флавоноидов на рутин. Спектр поглощения комплекса рутина с хлоридом алюминия также приведен на рисунке 1 и имеет характерный максимум поглощения при 415 нм.

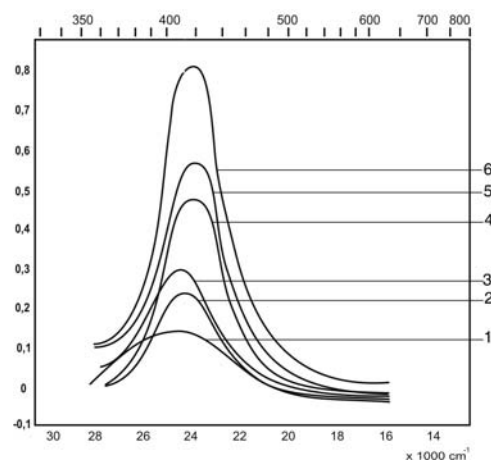


Рисунок 1. УФ-спектры поглощения комплексов флавоноидов с AlCl₃ в области 360 – 610 нм: 1 – экстракт *Artemisia absinthium* L. (404 нм), 2 – экстракт *Artemisia caucasica* Willd (409 нм), 3 – экстракт *Agrimonia eupatoria* L. (410 нм), 4 – экстракт *Anthemis arvensis* L. (417 нм), 5 – экстракт *Filipendula vulgaris* Moench (417 нм), 6 – рутин (415 нм)

Результаты количественного содержания флавоноидов в экстрактах и в 1 г воздушно-сухого сырья представлены в таблице 1.

Самое высокое содержание флавоноидов наблюдалось у *Filipendula vulgaris* Moench - 29,68 мг в 1 г воздушно-сухого сырья.

Для получения биопродуктов для земледелия, фармацевтических препаратов и т.д. особенно важно правильно выбрать растения с высоким содержанием флавоноидов. При этом желательно использовать простые и хорошо воспроизводимые методики оценки, поскольку количество объектов значительно.

В данном случае проведенные исследования позволяют отдать предпочтение только двум из пяти широко распространенных диких растений. Можно предположить, что в биологических тестах именно они проявят самую высокую активность.

СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *AGRIMONIA EUPATORIA* L.,
FILIPENDULA VULGARIS MOENCH, *ANTHEMIS ARVENSIS* L.

Таблица 1

Количественное содержание флавоноидов в экстрактах и в 1 г воздушно-сухого сырья

Наименование экстракта	Поглощение (A)	$C \times 10^3$ г/25 мл	Масса экстракта, г	Массовая доля (X), мг/100 г	C, г/л (в 90 мл экстракта)	Массовая доля флавоноидов в 1 г сырья
Экстракт <i>Anth. arvensis</i> Экстракт	0,240	0,2827	0,8265	34,21	0,0113	25,44
Экстракт <i>Agr. eupatoria</i> Экстракт	0,143	0,1685	0,8210	20,52	0,0067	15,16
Экстракт <i>Art. caucasica</i> Экстракт	0,118	0,1390	0,8190	16,97	0,0056	12,51
Экстракт <i>Art. absinthium</i> Экстракт	0,065	0,0766	0,8276	9,25	0,0031	6,89
Экстракт <i>Filip. vulgaris</i>	0,280	0,3298	0,8385	39,34	0,0132	29,68

Таблица 2

Влияние водно-этанольных экстрактов из *Agrimonia eupatoria* L. на начальный темп роста семян сахарной свеклы сорта «Пещера» и красной свеклы сорта «Глиска»

Показатель Варианты	Энергия всхожести		Всхожесть		Длина стебля		Длина корня	
	$X_{cp.}$ [%]	Отн. %	$X_{cp.}$	Отн. %	$X_{cp.} \pm Sx_{cp}$ [см]	Отн. %	$X_{cp.} \pm Sx_{cp}$ [см]	Отн. %
Сахарная свекла сорта «Пещера»								
Контроль (дист. H ₂ O)	81,7 %	100%	85%	100 %	4,5 ± 0,12	100 %	2,5 ± 0,17	100 %
Стандарт (0,0025 % рутин)	87,6 %	107%	89,7 %	106 %	5,0 ± 0,09	112 %	2,4 ± 0,14	98 %
<i>Agrimonia eupatoria</i> (25 мг/мл)	92,3 %	113%	99,3 %	117 %	5,4 ± 0,12	120 %	3,0 ± 0,18	120 %
Красная свекла сорта «Глиска»								
Контроль (дист. H ₂ O)	69,0 %	100%	75,3 %	100 %	4,9 ± 0,13	100 %	2,3 ± 0,11	100 %
Стандарт (0,0025 % рутин)	73,3 %	106%	83,3 %	110 %	5,0 ± 0,17	102 %	2,4 ± 0,12	104 %
<i>Agrimonia eupatoria</i> (25 мг/мл)	71,6 %	104%	85,3 %	113 %	5,2 ± 0,13	105 %	3,7 ± 0,15	161 %

Примечание: $p \leq 5\%$ (*); $p \leq 1\%$ (**); $p \leq 0,1\%$ (***); нет доказанной разницы (----)

Таблица 3

Влияние фракционного экстракта из *Agrimonia eupatoria* с преобладающим содержанием флавоноидов на начальный темп роста проростков красной свеклы в присутствии ПАВ

Показатель Варианты	Энергия всхожести		Всхожесть		Длина стебля		Длина корня	
	$X_{cp.}$ [%]	Отн. %	$X_{cp.}$ [%]	Отн. %	$X_{cp.} \pm Sx_{cp}$ [см]	Отн. %	$X_{cp.} \pm Sx_{cp}$ [см]	Отн. %
Контроль (дист. H ₂ O + 2 % Tween 80)	66,0 %	100 %	71,0 %	100 %	4,3 ± 0,14	100	4,0 ± 0,16	100
Стандарт (0,0040 % рутин)	61,4 %	93 %	65,5 %	92 %	5,4 ± 0,11	126 %	4,2 ± 0,13	105 %
<i>Agrimonia eupatoria</i> -флавоноидная фракция (25 мг/мл)	65,5 %	99 %	71,0 %	100 %	5,6 ± 0,09	130 %	5,4 ± 0,14	135 %
<i>Agrimonia eupatoria</i> -флавоноидная фракция (16,7 мг/мл)	64,5 %	98 %	69,3 %	98 %	5,0 ± 0,12	116 %	5,6 ± 0,18	140 %

Примечание: $p \leq 5\%$ (*); $p \leq 1\%$ (**); $p \leq 0,1\%$ (***); нет доказанной разницы (----)

Для биологических тестов была выбрана *Agrimonia eupatoria* L., так как количественное содержание флавоноидов находится в среднем положении по отношению к другим исследуемым растениям. Влияние водно-этанольных экстрактов из *Agrimonia eupatoria* L. на начальный темп роста семян сахарной свеклы сорта «Пещера» и красной свеклы сорта «Плиска» приведены в таблице 2.

Как следует из представленных в таблице 2 результатов, обнаружено увеличение значений всех исследованных показателей под влиянием воздействия суммарного водно-этанольного экстракта из *Agrimonia eupatoria*: энергии всхожести, всхожести, длины стебля, длины корня. Больше всего подвержена положительному влиянию экстракта красная свекла, а именно: увеличение длины корня на 61 %. При использовании стандарта рутин в концентрации 0,0025 % отмечено увеличение показателей в малой степени. Исключение наблюдается для показателя «длина стебля» у красной свеклы, но он очень близок к контролю.

Влияние фракционного экстракта из *Agrimonia eupatoria* с преобладающим содержанием флавоноидов на начальный темп роста проростков красной свеклы в присутствии ПАВ приведено в таблице 3.

Анализ полученных результатов позволяет установить увеличение длины стебля и длины корня при обработке семян красной свеклы флавоноидной фракцией из *Agrimonia eupatoria*. Это относится и к экспериментам с использованием 0,0040 % раствора рутина – соответственно 26 % и 5 %. При увеличении концентрации флавоноидов усиливается рост корня на 40 %, а рост стебля усиливается только на 16 %. Вероятнее всего это явление можно объяснить перераспределением пластичных компонентов в проростках, описанное в работе [20].

Энергия всхожести и всхожесть имеют величины, близкие к контролю. В отличие от использованной 0,0025 % концентрации рутина, большая концентрация рутина 0,0040 % влияет в небольшой степени подавляюще на энергию всхожести и всхожесть – соответственно на 8 % и 7 %.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что растения *Agrimonia eupatoria* L., *Filipendula vulgaris* Moench, *Anthemis arvensis* L. И *Artemisia caucasica* Willd, произрастающие в одном регионе Болгарии, имеют относительно высокое содержание флавоноидов.

2. Показана возможность успешного применения методики спектрофотометрического определения флавоноидов (в виде комплекса с хлоридом алюминия) в отношении образцов сухого растительного сырья *Agrimonia eupatoria* L., *Filipendula vulgaris* Moench, *Anthemis arvensis* L. И *Artemisia caucasica* Willd.

3. Обнаружено, что суммарное водно-этанольное извлечение из репешка обыкновенного *Agrimonia eupatoria* L. увеличивает энергию всхожести, всхожесть, длину стебля и длину корня проростков сахарной свеклы. Фракционное флавоноидное извлечение, использованное в двух различных концентрациях, стимулирует рост стебля и корня, почти не меняя величины энергии всхожести и всхожести. Причиной стимулирующего влияния извлечения репешка обыкновенного на начальный темп роста свеклы, по всей вероятности, является высокое содержание флавоноидов в нем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Якимов Д.Й. // Автореферат – 2009 – С. 3.
2. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М., 1974. – С. 195-203.
3. Рункова Л.В. // Рост растений и природные регуляторы. – М. 1977. – С. 52-64.
4. Николова, М., Иванчева Ст., Пеев Д. // Трудове на национална конференция по ботаника. София, 2001. – С. 489-493.
5. Маскютина Н.П. Растительные лекарственные средства. Киев, 1985.
6. Манолова Н., Максимова В. Лечебни растения и ингибитори на вируси. София, 1988.
7. Шабров А.В., Далали В.А., Макаров В.Г. Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи. – М.: Аввалон, 2003.
8. Andersen Q.M., Markham K.R. Flavonoids – Chemistry, Biochemistry and Applications. Taylor and Francis Group. – 2006. – pp. 617-917.
9. Танова Кр., Кирилов К., // Семепроизводство, селекция и семеконтрол за качествен посевен материал. – София, 2004. С. – 122-127.
10. Петрова Р., Танова, Кр. // Семепроизводство, селекция и семеконтрол за качествен посевен материал. 2004. – София. – С. 128-132.
11. Христова Л.А., Галушева А.М. Эффективность применения физиологически активных гумусовых веществ для предпосевной обработки семян. – Киев, 1994.
12. Popova L., Ananieva E., Hristova V., Christov K., Georgieva K., Alexieva V., Stoinova Zh. // Bulg. J. Plant Physiology., Special Issue. – 2003. – pp. 133-152.
13. Sergiev I., Aleksieva V., Ivanov S., Bankova V., Marelli, Karanov E. // Доклады на БАН. – Т. 58. № 4, 2005. – pp. 427-432.
14. Stefanov B., Iliev L., Popova N. // Biologia Plantarum. – 1998. – № 41. – pp. 57-63.

15. Toneva V.T., Dimitrova S.D., // Bulg. J. Plant Physiology.– 2002. – № 28. – pp. 92-98.
16. Weidenboerner M., Hindrif H, Jha h., Tsotsonos P. // Phytochemistry. – 1990. – Т. 4, № 29. – pp. 1103-1105.
17. Будаева, В.В., Якимов Д.Й. // Ползуновский вестник .– 2007. – № 3. – С. 15-24.
18. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. // Химия растительного сырья. – 2004. – № 1. – С. 47-52.
19. Якимов Д. Й. // Автореферат – 2009 – С. 6-7.
20. Регуляторы роста растений // Сборник статей под ред. Н.И.Якушкиной, 1964 – 256 с.

ВЛИЯНИЕ ПОДКОРМКИ АЗОТНЫМИ УДОБРЕНИЯМИ НА МИКРОФЛОРУ И ИНФЕКЦИИ СЕМЯН СОРГО ГРИБАМИ РОДА *ALTERNARIA*

К.Т. Танова¹, М.И. Георгиева-Андреева¹, В.В. Будаева²

¹Институт земледелия, г. Шумен, Болгария

²Учреждение Российской академии наук Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН (ИПХЭТ СО РАН)

В статье впервые приведены результаты определения влияния подкормки аммониевой селитрой 4 сортов сорго сахарного типа на микрофлору семян и зараженность семян грибами Alternaria. Исследования проведены в Институте земледелия г. Шумена в период 2009-2010 года. Установлено, что подкормка в концентрации 150 кг/га в фазе 5-6 листа сорго меняет состав микрофлоры семян в сторону увеличения видов рода Alternaria, Fusarium, Helminthosporium и повышает зараженность семян видами рода Alternaria на 11,0-16,5 % в зависимости от сорта.

Ключевые слова: сорго, подкормка, аммониевая селитра, микрофлора семян.

ВВЕДЕНИЕ

Процесс гниения семян зерновых при хранении является предметом исследования последних 10-15 лет. В связи с этим широко распространенным негативным явлением необходимо искать пути замены традиционной системы земледелия более экологосообразной. Зараженность семян является одним из факторов, оказывающих отрицательное действие на всхожесть семян и вызывающих гниение не только семян, но и корешков во время вегетации культуры [1, 2]. Эта проблема особо значима в Северо-Восточной Болгарии с ее традиционным производством зерновых культур.

Исследования наших и иностранных авторов микрофлоры семян зерновых культур в этом регионе (кукурузы, сорго для семян, суданки и сахарной метлы) показывают, что зараженность семян видами родов *Fusarium* и *Alternaria* сильно снижает эффективность их выращивания. Авторы статей [3, 4, 6] указывают, что эти виды патогенов могут в определенных условиях ассоциироваться и формировать патогенные комплексы, вызывающие корневое, базальное и стеблевое гниение во

время вегетации. Кроме того, виды *Fusarium* и *Alternaria* продуцируют микотоксины, снижающие качество полученного зерна [5]. Эти микроорганизмы являются эндофитными паразитами и могут заражать как поверхность семян, так и присутствовать бессимптомно в эмбрионе семян [4, 7, 9]. Следовательно, эти микроорганизмы являются причиной как увеличения риска гниения семян и всходов с одной стороны, так и развития зараженности последующих культур, а также всего севооборота.

Все это навело нас на исследование микрофлоры недавно введенной культуры в Северо-Восточной Болгарии – сорго.

Целью данной работы является исследование влияния подкормки аммониевой селитрой на микрофлору семян и зараженность семян сорго грибами рода *Alternaria*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проведены в лаборатории защиты растений Института земледелия в г. Шумене в периоде 2009-2010 гг.

Объектами исследования являются семена четырех сортов сорго, входящих в шес-