

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ  
ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ  
*HYDRANGEA MACROPHYLLA* ЗА ПЕРИОД ВЕГЕТАЦИИ**

**Маляровская В. И., Бехтерев В. Н.**

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур»,  
г. Сочи, Россия, e-mail: malyarovskaya@yandex.ru*

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии в динамике проведено изучение этанольных экстрактов листьев гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla*). Идентифицированы органические вещества, которые обладают стрессопротекторным действием, такие как сквален (Squalene) и фитостерины ( $\gamma$ -Sitosterol/ $\beta$ -Sitosterol). Установлено, что синтез фитостеринов к концу августа снижался на 2,7 %, а содержание сквалена в этот период вегетации увеличилось на 13,3 %. Также изучение уровня фитостеринов и сквалена в листьях *H. macrophylla* показало, что их содержание зависело как от генотипических особенностей растений, так и от периода вегетации.

**Ключевые слова:** *Hydrangea macrophylla*, органические вещества, сквален, фитостеролы, период вегетации.

На протяжении всей своей жизни растениям необходимо адаптироваться к переменам условий окружающей среды с помощью различных механизмов. Реакции растения на изменившиеся условия среды обязательно связаны с изменением его физиологических и биохимических процессов [13]. В условиях стресса у растений включаются механизмы ответных реакций, которые могут проявляться в синтезе различных метаболитов (таких как антиоксиданты, осмопротекторы, белки теплового шока и т. д.) активизирующие метаболические пути и процессы [8, 15].

Изучение реакций растений на стресс и механизмов их адаптации к стрессовым факторам абиотической природы является актуальным и современным направлением мировых исследований, что подтверждается многочисленными публикациями [1, 2, 4–7, 10–12, 14, 16]. В связи с этим изучение физиолого-биохимических механизмов адаптивности, а также поиск индикаторных органических веществ (маркеров) для оценки устойчивости *Hydrangea macrophylla* к стресс-факторам региона является актуальным.

**Целью исследования** было изучения содержания органических веществ в листьях *Hydrangea macrophylla* за период вегетации.

**Объекты и методы исследований.** Метеоусловия весеннего периода в исследуемые годы (2017–2018) были благоприятны для роста и развития *H. macrophylla*. Средняя температура марта-апреля составила – 10–14 °С,

а в мае температура воздуха повышалась до 20 °С. Осадков в апреле-мае 2017 г. выпало выше средней многолетней нормы на 112–166 %, а в 2018 г. – только 50 % (47 мм и 40 мм, соответственно). Летние месяцы (июнь – август) характеризовались дефицитом осадков. В связи с чем, в летний засушливый период растения гидрангеи крупнолистной испытывали стресс, который проявлялся на анатомо-морфологическом уровне – увяданием брактей и листьев.

Исследования проводили на базе лаборатории биотехнологии, физиологии и биохимии растений. В период 2017–2018 гг. методом газовой хромато-масс-спектрометрии проведено изучение этанольных экстрактов листьев различных сортов гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla*) коллекции института, расположенной на территории сада-музея «Дерево Дружбы». Сорта гидрангеи крупнолистной неодинаковы по своим физиолого-биохимическим показателям (водному режиму, пигментному составу, активности ферментной системы) и степени устойчивости к гидротермическим факторам региона. На основании этих показателей сорта были распределены в различные группы по их засухоустойчивости: ‘Admiration’, ‘Altona’, ‘Draps Wonder’ – устойчивые, ‘Bichon’, – среднеустойчивый и ‘Madame Faustin’, ‘Harlequin’ – неустойчивые.

Органические вещества идентифицировали путём сравнения времени удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки Wiley275 NIST98. Содержание индивидуальных веществ вычисляли по площади пиков, без использования градуировочных коэффициентов с программированным автоматическим интегрированием [3]. Учитывали компоненты с вероятностью совпадения масс-спектров более 40 %.

Обработка полученных результатов проводилась с применением программ Статистика-6,0 и Microsoft Excel.

**Результаты исследований.** В результате изучения этанольных экстрактов листьев различных сортов *H. macrophylla* методом газовой хромато-масс-спектрометрии были выявлены: сквален и фитостерины.

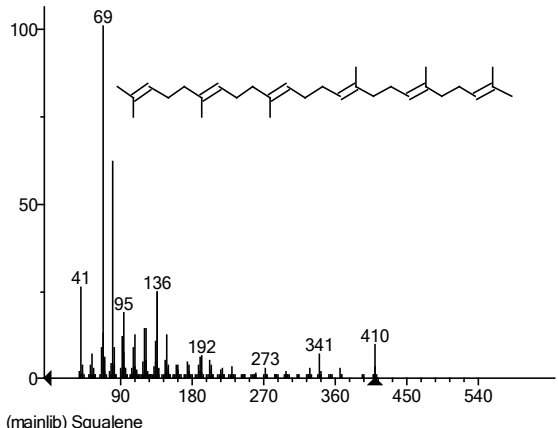
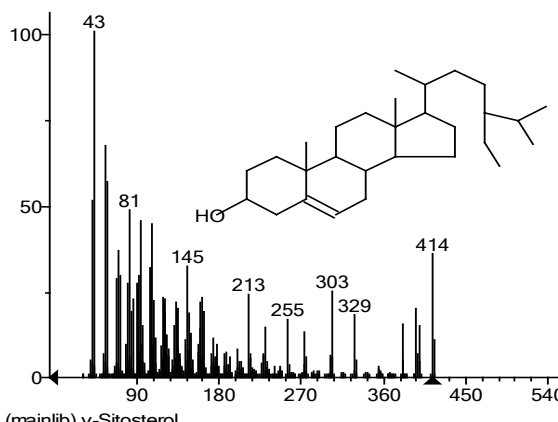
В таблице 1 приведены идентифицированные компоненты, время удерживания в указанных выше условиях хроматографирования, молекулярное строение и масс-спектр.

Изучение содержания выделенных и идентифицированных органических веществ в динамике показало существенное их различие у растений гидрангеи крупнолистной по накоплению в вегетационный период (рис. 1). Так, содержание в листьях фитостеринов в начале вегетации (апрель) в среднем для культуры *H. macrophylla* было 5,2 %, однако в конце августа (период, соответствующий фенологической фазе вегетации – окончание цветения) этот показатель снизился и достиг – 2,5 %.

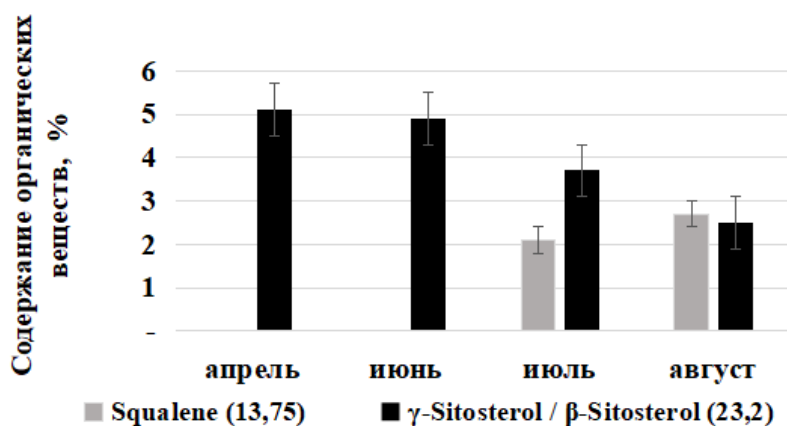
Известно, что фитостерины – стероидные спирты, которые регулируют свойства мембраны растительных клеток и участвуют в мембранно-связанных метаболических процессах. Фитостерины играют важную роль в развитии клеток растений в качестве предшественников brassinosteroidов, фитогормонов класса стероидов, поддерживающих нормальное функционирование их иммунной системы. Они также действуют в качестве субстратов для широкого спектра вторичных метаболитов, таких как гликоалкалоиды, сапонины [17].

Таблица 1

**Идентифицированные компоненты  
в этанольных экстрактах листьев *H. macrophylla***

Наименование вещества, (время удержания, мин)	Структура
<p>Сквален (Squalene), 13,75</p>	 <p>(mainlib) Squalene</p>
<p>Фитостеролы (<math>\gamma</math>-Sitosterol / <math>\beta</math>-Sitosterol), 23,15</p>	 <p>(mainlib) <math>\gamma</math>-Sitosterol</p>

Другое идентифицированное органическое вещество сквален, обнаружено в листьях растений в период цветения (июль) и его содержание в среднем для культуры было на уровне 2,1 % (рис. 1).



**Рис. 1.** Изменение содержания органических веществ в листьях растений *H. macrophylla* за период вегетации, 2018 г.

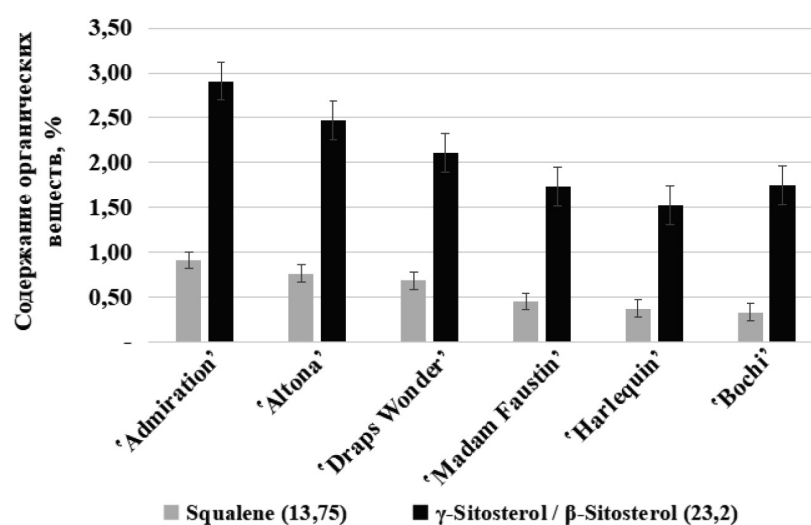
Как известно, органическое вещество сквален является предшественником фитостерина, природного ациклического тритерпена ( $C_{30}H_{50}$ ) с 6 двойными связями, выполняющего роль регулятора липидного и стероидного обмена, представляющего интерес как вещество с выраженной антиоксидантной активностью [3, 9]. Сквален принадлежит к группе каротиноидов, которые выполняют протекторную функцию, защищают зелёные пигменты хлорофилл *a* и *b* от высокой температуры воздуха, повышенной инсоляции.

Нами отмечены генотипические различия в накоплении этих органических веществ. Так, наибольшее содержание фитостеринов и сквалена синтезировали относительно устойчивые сорта: ‘Admiration’ (2,91 и 0,9 %), ‘Altona’ (2,47 и 0,76 %), ‘Draps Wonder’ (2,11 и 0,68 %), а наименьшее содержание отмечено у неустойчивых ‘Madame Faustin’ (1,73 и 0,45 %) и ‘Harlequin’ (1,75 и 0,33 %) (рис. 2).

**Заключение.** За период исследований выявлена общая зависимость для культуры гидрангеи крупнолистной по содержанию изучаемых органических веществ. Установлено, что содержание фитостеринов к концу августа снизилось на 2,7 %, а синтез сквалена в этот период вегетации увеличился на 13,3 %. Кроме того, изучение уровня фитостеринов и сквалена в листьях *H. macrophylla* выявило, что их содержание зависело как от генотипических особенностей растений, так и от периода вегетации.

Таким образом, изучение содержания органических веществ в листьях *H. macrophylla* выявило наличие некоторых закономерностей, а именно, изменение их синтеза в зависимости от фенологических фаз роста и развития растений. Так, максимальное содержание фитостеринов в листьях растений синтезировалось в ранне-весенний период,

по мере старения листьев и в связи со стрессовым воздействием засухи к концу августа уровень содержания изучаемых органических веществ уменьшался. В тоже время, обратная зависимость установлена при определении сквалена, которая выражалась в повышении концентрации этого вещества в период окончания цветения растений, совпадающий с летними засухами в регионе.



**Рис. 2.** Различия в содержании органических веществ в зависимости от генотипических особенностей, 2017–2018 гг.

#### Библиографический список

1. Белоус О.Г., Клемешова К.В., Маляровская В.И. Физиолого-биохимические методы оценки устойчивости сортов субтропических культур к гидротермическим стрессорам влажных субтропиков России // Современные методология, инструментарий оценки и отбора селекционного материала садовых культур и винограда: монография. – Краснодар, 2017. – С. 90-106. – ISBN 978-5-98272-114-3.
2. Белоус О.Г., Маляровская В.И. Оценка адаптивности красивоцветущих растений к стресс-факторам субтропиков России // Бюллетень Никитского ботанического сада. – 2016. – № 121. – С. 39-47. – ISSN 0513-1634.
3. Кроткова О.А., Бомбела Т.В., Петриченко В.М. Сравнительное изучение липофильных веществ растений рода *Euphrasia* L. // Химия растительного сырья. – 2014. – № 1. – С. 147-151. – doi: 10.14258/jcrpm.1401147.
4. Маляровская В.И., Белоус О.Г. Фотосинтетическая активность листьев *Hydrangea macrophylla* Ser. в условиях влажных субтропиков России // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2017. – Вып. 61. – С. 167-173. – ISSN 2225-3068.
5. Маляровская В.И., Бехтерев В.Н. Применение газовой хромато-масс-спектрометрии в изучении этанольных экстрактов листьев *Hydrangea macrophylla* // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2015. – Вып. 54. – С. 126-133. – ISSN 2225-3068.

6. Рындин А.В., Белоус О.Г., Маляровская В.И., Притула З.В., Абиьфазова Ю.С., Кожевникова А.М. Использование физиолого-биохимических методов для выявления механизмов адаптации субтропических, южных плодовых и декоративных культур в условиях субтропиков России // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 3. – С. 40-48. – ISSN 0131-6397.
7. Abilphazova J., Belous O. Adaptability of cultivars and hybrids of tangerine in a subtropical zone of Russia // Potravinarstvo. – 2015. – Vol. 9. – № 1. – S. 299-303. – doi: 10.5219/485.
8. Hasanuzzaman M., Haxar K., Mahabub Alam Md., Roychowdhury R., Fujita M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – Vol. 14. – № 5. – P. 9643-9684. – doi: 10.3390/ijms14059643.
9. He H.P., Cai Y., Sun M. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2002. – Vol. 50. – № 2. – P. 368-372.
10. Hirayama T., Shinozaki K. Research on plant abiotic stress responses in the postgenome era: past, present and future // Plant Journal. – 2010. – V. 61. – № 6. – P. 1041-1052. – doi: 10.1111/j.1365-3113.2010.04124.x.
11. Jaspers P., Kangasjärvi J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling // Physiologia Plantarum. – 2010. – Vol. 138. – № 4. – P. 405-413. – doi: 10.1111/j.1399-3054.2009.01321.x.
12. Miller G., Shulaev V., Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress // Physiologia Plantarum. – 2008. – Vol. 133. – № 3. – P. 481-489. – doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01090.x.
13. Rodriguez M., Canales E., Borrás-Hidalgo O. Molecular aspects of abiotic stress in plants // Plant Cell Environ. – 2008. – № 31. – P. 11-38.
14. Vaahtera L., Brosché M. More than the sum of its parts – How to achieve a specific transcriptional response to abiotic stress // Plant Science. – 2011. – Vol. 180. – № 3. – P. 421-430. – doi: 10.1016/j.plantsci.2010.11.009.
15. Wahid A. Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat // Plant Res. – 2007. – № 120. – P. 219-228. – doi: 10.1007/s10265-006-0040-5.
16. Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. Heat tolerance in plants: An overview. Environ // Exp. Bot. – 2007. – № 61. – P. 199-223. – doi: 10.1016/j.envexpbot.2007.05.011.
17. Yi Sheng, Xiao-Bin Chen. Isolation and identification of an isomer of  $\beta$ -sitosterol by HPLC and GC-MS // HEALTH. – 2009. – Vol. 1. – № 3. – P. 203-206. – doi: 10.4236/health.2009.13034.

## CHANGES IN THE CONTENT OF ORGANIC SUBSTANCES IN *HYDRANGEA MACROPHYLLA* LEAVES DURING VEGETATIONAL SEASON

**Malyarovskaya V. I., Bekhterev V. N.**

*Federal State Budgetary Scientific Institution  
“Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops”,  
c. Sochi, Russia, e-mail: malyarovskaya@yandex.ru*

The study of ethanol extracts in bigleaf hydrangea leaves (*Hydrangea macrophylla*) was carried out by gas chromatography-mass spectrometry in dynamics. We identified organic substances that have stress-protective action, such as squalene (Squalene) and phytosterols ( $\gamma$ -Sitosterol/ $\beta$ -Sitosterol). It was found that the synthesis of phytosterols by the end of August decreased by 2.7 %, and the content of squalene in this vegetational season increased by 13.3 %. Furthermore, the study of phytosterols and squalene levels in *H. macrophylla* leaves showed that their content depended both on the genotypic characteristics of plants and vegetational season.

**Key words:** *Hydrangea macrophylla*, organic substances, squalene, phytosterols, vegetational season.