

УДК635.49:631.5:581.19

ЭЛЕМЕНТЫ ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ ЛИСТОВОЙ БИОМАССЫ АМАРАНТА С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТИОКСИДАНТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Гинс М.С.^{1,2} – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией интродукции, физиологии и биохимии и биотехнологии функциональных продуктов, профессор агробиотехнологического департамента

Гинс В.К.¹ – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории лабораторией интродукции, физиологии и биохимии и биотехнологии функциональных продуктов

Кононков П.Ф.³ – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Президент общероссийской общественной организации «Академия нетрадиционных и редких растений»

Пивоваров В.Ф.¹ – доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, директор

Гинс Е.М.² – студент агробиотехнологического департамента

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур» (ФГБНУ ВНИИССОК)

143080, Россия, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д.14

E-mail: anirr@bk.ru

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН)

117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

³ Общероссийская общественная организация

«Академия нетрадиционных и редких растений»

143080, Россия, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д.14

В растениеводстве широко используются разнообразные технологические приёмы, повышающие энергию прорастания семян, рост и развитие растений, и их продуктивность. Экологически безопасными приемами ускорения ростовых процессов является предпосевная обработка семян и некорневая подкормка растений ростстимулирующими препаратами природного происхождения. Необходимость в предпосевной обработке семян возникает у растений, семена которых одновременно созревают, как например у амаранта. Действие ростстимулирующих биопрепаратов обусловлено их способностью в небольших концентрациях влиять не только на морфо-биометрические показатели и продуктивность, но и на реакции биосинтеза, обмена веществ и физиологические процессы растений. Обработка семян препаратами, содержащими биологически активные вещества растительного происхождения, относится не только к экологически безопасным приемам, позволяющим повысить содержание важных биохимических веществ, но и к экономически выгодным. Следовательно, повышение качества листовых овощных растений путём увеличения в них содержания биологически активных веществ, например, полифенолов, можно решать с помощью технологий, основанных на использовании природных препаратов, содержащих биологически активные компоненты и биогенные химические элементы. Выявлено, что отличительной чертой краснолистных растений амаранта сорта Валентина в процессе вегетации является сильная изменчивость концентраций фенольных соединений в разновозрастных листьях: флавоноидов (кверцетина, апегенина и их гликозидов), оксикоричных кислот, простых фенолов, конденсированных и полимерных полифенолов. При этом изменчивость метаболитов – антиоксидантов во фракциях фенольных соединений, полученных из разновозрастных листьев, усиливается при обработке биопрепаратами природного происхождения, что позволяет предполагать, что они способны оказывать стресс-действие на защитные системы амаранта, повышая содержание антиоксидантов. Полученные данные свидетельствуют о том, что амарант, как перспективный источник антиоксидантов может использоваться при создании функциональных продуктов и фитопрепаратов.

Ключевые слова: амарант, вторичные метаболиты, воспроизводимое сырье, листья разного возраста, фенольные соединения, амарантин, аскорбиновая кислота.

Листовая биомасса амаранта представляет собой экологически безопасное воспроизводимое растительное сырье – источник получения ценных веществ для пищевой промышленности, медицины и сельского хозяйства. Основным компонентом растительного сырья – листья амаранта. Фотосинтезирующий лист амаранта – это многофункциональный орган растения, приспособленный к преобразованию световой радиации в энергию химических связей синтезирующихся в нем метаболитов, и представляет собой высокоинтегрированную метаболическую систему, объединяющую хлоропластные и цитоплазматические реакции, обеспечивая растения необходимыми соединениями для его роста, развития и продуктивности [1]. Полностью сформировавшийся лист выполняет многочисленные функции, осуществляя не только синтез и накопление необходимых для его функционирования метаболитов, но и направляет отток ассимилятов в более молодые листья и другие органы и ткани растения [2].

Молодой лист амаранта является акцептором ассимилятов только на ранней стадии развития, когда площадь листа составляет около 30-50% площади листа, закончившего рост. Импортируя ассимиляты из листьев с полностью оформленной листовой пластинкой, он использует их на построение структур и компонентов клетки интенсивно растущих органов амаранта. Потребление ассимилятов ювенильным и молодым листом способствует построению добавочного фотосинтетического аппарата, что ведет к увеличению фотосинтетической активности и, соответственно, фотосинтетической продуктивности растения. По мере роста молодого листа усиливается транспорт ассимилятов из него в другие листья и органы, и он посте-



пенно превращается в донора ассимилятов при достижении 60-90% конечной площади листа [3,4].

Взрослые листья с высокой фотосинтетической активностью отдают свои ассимиляты растущим органам растения, оставляя на свои нужды 10-40% ассимилятов. Старые листья отдают в аттрагирующие зоны амаранта (молодые листья, соцветия, боковые побеги) не только ассимиляты, но и продукты распада структур цитоплазмы [4]. Листья, ранее образованные на соцветии амаранта, обеспечивают ассимилятами растущие листья и формирующиеся на нем семена, при этом, чем длиннее соцветие, тем большее число листьев на нем образуется (до 15 штук).

Поэтому знание закономерностей смены функций листа амаранта в процессе его развития и старе-

ния необходимы для понимания возможности формирования высокого урожая листовой биомассы и ее биохимического качества. Учитывая, что вклад ассимилятов разновозрастными листьями (взрослый и стареющий лист – донор ассимилятов; старый лист – донор ассимилятов и продуктов распада цитоплазмы) влияет на скорость роста листовых пластинок молодых листьев и качество листовой массы, то следует стимулировать образование биологически активных веществ с антиоксидантной активностью. Листья амаранта обладают уникальной способностью аккумулировать высокое содержание антиоксидантов, в том числе полифенолов. Получены новые данные в отношении биологической роли фенольных соединений для жизнедеятельности человека. Это прежде всего, относится

к таким биологически активным соединениям, как различные группы флавоноидов (флавонолы и их гликозиды – кверцетин, кемпферол, рутин и др.; флавоны – лютеолин, апигенин и др.; флавононы – нарингенин, гесперидин и др.; дигидрофлавонолы – проатоцианидины, катехины и др.), физиологические функции которых чрезвычайно разнообразны и важны для снижения риска развития многих широко распространенных в настоящее время заболеваний;

Простые фенольные соединения (гидрохинон, арбутин, гидрооксикоричные кислоты и др.), обладающие специфическим биологическим влиянием на разнообразные функции отдельных метаболических систем и организма в целом [5].

Все перечисленные выше природные вещества характерны для овощных растений, однако их содержание там довольно низкое.

Листья амаранта богаты фенольными соединениями. Фенольные соединения, проявляющие Р-витаминную активность, крайне необходимые вещества для жизнедеятельности человека. Многие из них являются биологически активными веществами и антиоксидантами, которые участвуют в окислительно-восстановительных процессах и проявляют антиокислительную активность, защищая компоненты клеток от активных форм кислорода [6]. Кроме того, они обладают широким спектром биологического действия. Эти соединения повышают резистентность капилляров, нормализуют углеводно-фосфатный обмен и способствуют более эффективному использованию аскорбиновой кислоты. Полифенолы (и в том числе флавоноиды) широко распространены в овощных растениях, имеющих пищевое и фармакологическое значение [7].

Цель работы – изучить особенно-

сти накопления антиоксидантов, в том числе, фенольных соединений в разновозрастных листьях амаранта при предпосевной обработке семян и некорневой обработке листьев природными ростстимулирующими биопрепаратами.

Методика

Объектом исследований служили семена и растения амаранта сорта Валентина селекции ВНИИС-СОК (авторы Кононков П.Ф., Гинс В.К., Гинс М.С.). Предпосевную обработку семян амаранта проводили замачиванием их в растворах биопрепаратов Альбит, Амир и Амиросел в концентрациях 10-5% в течение 12 часов. В контроле семена амаранта замачивали в воде. Обработанные семена высевали в открытый грунт на опытном поле Всероссийского научно-исследовательского института селекции и семеноводства овощных культур (Московская область, Одинцово).

Растения обрабатывали в фазу бутонизации путем опрыскивания надземной массы растворами биопрепаратов в концентрации 10⁻⁵%. Листья контрольных растений опрыскивали водой. Отбор проб проводили через две недели после обработки, листья со всех ярусов были собраны одновременно в фазу цветения растений отдельно с каждого яруса. Первый ярус включал в себя ювенильные листья и листья с растущей пластинкой; второй – листья с закончившей рост пластинкой; третий – листья с полностью развитой пластинкой; четвертый – стареющие и старые листья. На одном растении в этот период вегетировало от 22 до 25 листьев в зависимости от варианта обработки.

Альбит – универсальный регулятор роста растений со свойствами фунгицида и комплексного удобрения. Защитно-стимулирующий состав для влажной обработки семян сельскохозяйственных куль-

тур следующий: поли-бетагидроксимасляная кислота – 6,2 г/кг, магний сернокислый – 29,8 г/кг, калий фосфорнокислый двухзамещенный – 91,1 г/кг, калий азотнокислый – 91,2 г/кг, карбамид – 181,5 г/кг. Препарат Альбит содержит биологически активные вещества из почвенных бактерий *Bacillus megaterium* & *Pseudomonas aureofaciens*. В естественных природных условиях данные бактерии обитают на корнях растений, стимулируют их рост, защищают от болезней и неблагоприятных условий внешней среды.

В состав препарата входят также хвойный экстракт (терпеновые кислоты), сбалансированный стартовый набор макро- и микроэлементов (NPK, Mg, S, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, C, Ni, Cl, Ca, I, Se, Si). Альбит применяют для предпосевной обработки семян и растений в течение вегетации. Биопрепарат разрешен для применения на зерновых, овощных и плодовых культурах. На овощных культурах было выявлено влияние биопрепарата Альбит на повышение их продуктивности и качества.

Амир – биопрепарат для влажной обработки семян и некорневой обработки растений, созданный на основе листьев амаранта. Действующая композиция: бета-цианин, фенольные соединения, в том числе, флавоноиды, набор незаменимых аминокислот. Препарат соответствует нормам и требованиям экологической безопасности.

Амиросел – комплексный препарат на основе препарата Амир с добавлением микроэлемента селена. Препараты Амир и Амиросел разработаны в лаборатории биохимии и физиологии ВНИИССОК.

Анализ содержания полифенолов включал определение в полученных фракциях флавоноидов, простых полифенолов и оксibenзойных кислот, оксикоричных кислот, а также полимерных и конден-

1. Фракционный состав фенольных соединений (ФС) в разновозрастных листьях амаранта сорта Валентина (% на абс. сухую массу)

Варианты	∑ ФС	Простые ФС и фенолкарбоновые кислоты (±0,05)	Флавоноиды (±0,11)	Конденсированные и полимерные ФС (±0,11)
Контроль I ярус	4,45	0,51	3,17	0,77
Контроль II ярус	4,51	0,53	3,24	0,74
Контроль III ярус	4,48	0,44	3,11	0,93
Контроль IV ярус	4,16	0,31	2,71	1,14
Альбит I ярус	5,24	0,44	4,01	0,79
Альбит II ярус	5,28	0,47	4,04	0,64
Альбит III ярус	5,17	0,41	3,83	0,93
Альбит IV ярус	4,94	0,34	3,50	1,10

сированных полифенолов. Методы выделения фракций и определения полифенольного состава и содержания указаны нами ранее [6]. Флавонолы определяли по специально разработанной методике, сравнивая спектры флуоресценции и возбуждения флуоресценции этанольных растворов пигментов со спектрами их комплексов с $AlCl_3$, H_3BO_3 и лимонной кислотой. Гликозиды пигментов предварительно гидролизовали в смеси 4 н HCl и 90% этанола (1:1) до свободных агликонов. Полученные агликоны идентифицировали по максимумам излучения в области 470-520

нм (этанольные растворы), 480-500 нм (комплексы с $AlCl_3$) и 520-540 нм (комплексы с H_3BO_3 и цитратом натрия). В спектрах возбуждения флуоресценции соответственно наблюдали полосы при 365-375, 420-430 и 440-470 нм.

В работе использовали спектрофлуориметр Флюорат-02-Панорама (фирма «ЛЮМЭКС», Россия), работающий в режиме двумерного сканирования спектров флуоресценции и возбуждения флуоресценции. Режим двумерного сканирования позволял получать полную картину флуоресценции растворов пигментов в диапазоне 400-600 нм.

Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрическим методом, рассчитывая содержание по формулам [8]. Количество амарантина в водных экстрактах определяли с учетом молярного коэффициента экстинкции $5,66 \times 10^{-4} \text{ лхмоль}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и молярного веса [8]. Содержание восстановленной формы аскорбиновой кислоты определяли йодометрическим титрованием по методу [10].

Результаты и обсуждение

Анализ данных, представленных в таблице 1, показывает, что листья растений амаранта, семена которых

2. Фракционный состав фенольных соединений (ФС) в разновозрастных листьях амаранта сорта Валентина (% на абс. сухую массу)

Варианты	∑ ФС	Простые ФС и фенолкарбоновые кислоты (±0,05)	Флавоноиды (±0,11)	Конденсированные и полимерные ФС (±0,11)
Амир I ярус	4,82	0,51	3,54	0,77
Амир II ярус	4,88	0,44	3,72	0,72
Амир III ярус	4,73	0,41	3,41	0,91
Амир IV ярус	4,38	0,30	2,97	1,11
Амиросел I ярус	5,24	0,47	4,04	0,73
Амиросел II ярус	5,25	0,41	4,17	0,67
Амиросел III ярус	5,18	0,44	3,90	0,84
Амиросел IV ярус	4,98	0,31	3,70	0,97

были обработаны ростстимулирующим препаратом Альбит, накапливали большее суммарное количество фенольных соединений по сравнению с контролем. Максимальный уровень аккумуляции суммы полифенолов, простых фенолов и фенолкарбоновых кислот, флавоноидов в контрольных и опытных растениях наблюдали в листьях второго яруса. По мере увеличения возраста листьев (I-IV ярусы) содержание флавоноидов снижается на 14,5% в контроле, на 13,1% при обработке препаратом Альбит. Общей тенденцией для контрольных и обработанных растений является увеличение содержания конденсированных и полимерных фенольных соединений по мере старения листьев, которые в большом количестве накапливались в листьях IV яруса. По сравнению с содержанием этой фракции фенольных соединений в первом ярусе листьев, в самом нижнем ярусе их содержание увеличилось в 1,3-1,5 раза. В то время как простых фенолов и фенолкарбоновых кислот накапливалось в большем количестве в листьях контрольных растений амаранта. Предпосевная обработка семян амаранта стимулировала быстрый рост растений и развитие корневой системы на начальном этапе, что ускорило нарастание листовой массы и обеспечило прибавку урожая на 15-20% листьев изученных ярусов.

Предварительная обработка

семян и некорневая листьев по вегетации биопрепаратами Амир и Амиросел, выявила большой ростстимулирующий эффект при действии препарата Амиросел, при этом, продуктивность листовой биомассы увеличилась, соответственно, на 10 и 15% (табл.2).

Суммарное содержание фенольных соединений в листьях растений амаранта, обработанных биопрепаратами Амир и Амиросел, по сравнению с контрольными растениями повысилось на 8-10%. Количество простых фенольных соединений и фенолкарбоновых кислот практически не изменилось или имело тенденцию к снижению.

Представленные данные свидетельствуют, что для получения растений амаранта с высокой продуктивностью листовой биомассы и повышенным содержанием антиоксидантов перспективно использовать ростстимулирующие биопрепараты растительного происхождения с добавлением биологически активных веществ типа полибетагидромасляной кислоты и антиоксидантов, в том числе, селена, которые способны воздействовать на окислительно-восстановительный потенциал в клетке и на реакции синтеза растительных пигментов – антиоксидантов: каротиноидов, амарантина, флавоноидов.

Показано, что предпосевная обработка семян амаранта биопрепаратом Альбит стимулирует в боль-

шей степени ростовые процессы: высоту стебля, число листьев, развитие корневой системы по сравнению с препаратами Амир и Амиросел. В то время как последние эффективно влияют на образование антиоксидантов в листьях при некорневой обработке. Хороший эффект был получен при обработке листьев биопрепаратом Амиросел в конце вегетативной фазы дважды с недельным промежутком между опрыскиванием.

Некорневая обработка листьев амаранта биопрепаратом Амиросел повысила содержание антиоксидантов кверцетина, рутина, апигенина, апегинин-7-О-глюкозида на 12-15%, а также фотосинтетических пигментов и амарантина - на 13% (табл. 3).

Содержание аскорбиновой кислоты в листьях амаранта (1,2 ярусов), обработанных биопрепаратом Амиросел, увеличилось на 12%.

Следует отметить, что листья верхних ярусов растений амаранта активно фотосинтезируют и отличаются более высоким содержанием суммы хлорофиллов и каротиноидов по сравнению с контролем.

Наши исследования подтвердили ранее полученные данные, что рострегулирующие препараты влияют на биосинтез антиоксидантов, которые проявляют антиокислительную активность и являются компонентами защитной системы амаранта. Предпосевная обработка семян и

3. Содержание антиоксидантов в листьях амаранта (1,2 ярусов), обработанных биопрепаратом Амиросел

Наименование	Размерность	Контроль	Амиросел
Кверцетин	%АСМ	0,681	0,772
Рутин	%АСМ	0,623	0,714
Апигенин	%АСМ	0,353	0,462
Апегинин -7-О-глюкозид	мг/г	0,231	0,344
Аскорбиновая кислота	мг/г	150,0	180,8
Каротиноиды	мг/г	0,400	0,552
Амарантин	мг/г	1,010	1,350
Σ хлорофиллов (a+b)	мг/г	1,752	1,913

опрыскивание листьев по вегетации биопрепаратами Амир и Амиросел, содержащими вторичные метаболиты фенольной природы стимулирует синтез антиоксидантов, в том числе, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, повышая качество листовой биомассы амаранта.

Выводы

1. Разновозрастные листья амаранта различаются между собой по уровню накопления фенольных соединений: простых фенолов и фенолкарбоновых кислот, флавоноидов, полимерных и конденсированных фенольных соединений

2. Предпосевная обработка семян амаранта ростстимулирующими препаратами Амиросел, Амир и Альбит и некорневая обработка растений по вегетации повышает продуктивность листовой массы на 10-20% соответственно.

3. Максимальное накопление флавоноидов, простых фенолов и фенолкарбоновых кислот обнаружено в листьях 2-го яруса, которые характеризовались полностью развитой пластинкой и повышенным содержанием фотосинтетических пигментов и амарантина, в то время как в старых листьях аккумуляровались в большем количестве полимерные и конденсированные фенольные соединения.

4. Для повышения качества листовой массы амаранта рекомендуется обрабатывать семена и листья амаранта растворами биопрепаратов Альбит и Амиросел в концентрации 10⁻⁵%.

5. Листья амаранта сорта Валентина перспективно использовать на пищевые цели: чайные напитки, холодные чаи, красители для кондитерских изделий, приготовление салатов, супов, вторых блюд, а также как сырье для медицинских препаратов

TECHNOLOGICAL ELEMENTS TO GROW LEAF BIOMASS IN AMARANTH WITH INCREASED CONTENT OF ANTIOXIDANTS FOR DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL PRODUCTS AND FOR PROPHYLACTIC PURPOSE

Gins M.S.¹, Gins V.K.¹, Kononkov P.F.³, Pivovarov V.F.¹, Gins E.M.²

¹ Federal State Budgetary Research Institution 'All-Russian Scientific Research Institute of vegetable breeding and seed production' 143080, Russia, Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14 E-mail: anirr@bk.ru

² People's Friendship University of Russia (RUDN)

117198, Moscow, Miklukho-Maklaya st. 6

³ All-Russian Public Organisation 'Academy of Non-traditional and Rare Plants'

143080, Russia, Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14

Summary

Diverse technological methods are widely used in horticulture to improve the energy of seed germination, as well as growth and development of plants and their productivity. Ecologically safe methods to accelerate the plant growth processes are known as a pre-sowing treatment of seeds and foliar feeding by plant growth-stimulating agents of natural origin. Pre-sowing seed treatment is necessary when plants grow and mature not simultaneously, as noticed in amaranth. The action of growth-stimulating agents is an influence in slight concentration not only on biometrical plant parameters, but also on photosynthetic reactions and whole plant physiology. The seed treatment by preparations containing biologically active substances is not only ecologically safe methods but also an economically profitable. Consequently, improvement of quality in vegetable crops by high content of biologically active substances in them, such as polyphenols can be reached with technologies based on the use of preparations, containing biologically active substances and biogenic chemical elements. It was shown that distinctive feature of red leaf plants of amaranth cultivar 'Valentina' was a very variable concentration of phenolic compounds such as flavonoids (quercetin, apigenin and their glycosides), hydroxycinnamic acids, simple phenols, polymeric and condensed polyphenols in different aged leaves at the time of vegetation. Moreover, the metabolite variation, antioxidant in fractions of phenolic compounds, obtained from different aged leaves, was increased by biopreparations of natural origin. It is supposed that those preparations had an effect on stress-action system as in protective plant reaction, increasing the antioxidants content. The data obtained has shown that the plants of amaranth, as a promising source of antioxidants, can be used to develop functional food products and phytopreparations.

Key words: amaranth, secondary metabolites, reproductive raw material, different aged leaves, phenolic compounds, amaranthine



Литература

1. Кононков П.Ф., Гинс М.С., Гинс В.К., Рахимов В.М. Технология выращивания и переработки листовой массы амаранта как сырья для пищевой промышленности // Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур. Москва, 2008.
2. Ничипорович А.А. Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982.
3. Мокроносов А.Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981.
4. Мокроносов А.Т., Гавриленко В.Ф. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Изд-во МГУ. 1992.
5. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ: методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04. - М.: Федеральный Центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. - 2004. - 46 с.

6. Гинс М.С., Гинс В.К., Колесников М.П., Кононков П.Ф., Чекмарев П.А., Каган М.Ю. методика анализа фенольных соединений в овощных культурах. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. Москва, 2010.
7. Загоскина Н.В. Вторичные соединения растений, их функции и применение // Материалы седьмого Международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» / М.: РУДН. -2007. - С. 140-145.
8. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. 1987.Vol. 148. P. 350–382.
9. Гинс М.С., Гинс В.К. физиолого-биохимические основы интродукции и селекции овощных культур. Москва, 2011.
10. Сапожникова Е.В., Дорофеева Л.С. Определение содержания аскорбиновой кислоты в окрашенных растительных экстрактах йодометрическим методом // Консервная и овощесушильная промышленность. - 1966. - № 5. - С. 29-31.