

## ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И БИОХИМИЯ

УДК 581.5:582.681.61:577.13

doi: 10.17223/19988591/33/9

Е.А. Карпова, Т.Д. Фершалова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Россия

### Динамика содержания пигментов в листьях *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* при интродукции в Западной Сибири (г. Новосибирск)

Впервые изучена динамика содержания пигментов листьев (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов, антоцианов) и показателей физиологического состояния (соотношений хлорофилл *a* / хлорофилл *b*, хлорофилл / каротиноиды, хлорофилл / антоцианы) в течение сезона вегетации у растений *Begonia grandis* subsp. *grandis*, интродуцированных в Западной Сибири в условиях оранжерей и открытого грунта. В весенний период активного роста выявлены максимальные показатели содержания хлорофилла (8–9 мг/г абсолютно сухой массы), каротиноидов (4–5 мг/г) и антоцианов (18–20 мг/г). Установлено, что характер динамики пигментов с мая по конец сентября аналогичен в оранжерее и в открытом грунте. Для периодов адаптации характерны более низкие величины соотношений хлорофилл / каротиноиды (1,3–4,4) и хлорофилл / антоцианы (0,3–1,0) по сравнению с благоприятными периодами (5,5–6,2 и 2–2,1 соответственно). В условиях воздействия низкой температуры значительно больше антоцианов содержат листья оранжерейных растений, находящихся в более благоприятных условиях и имеющих более высокий физиологический статус. Переход к состоянию покоя *B. grandis* subsp. *grandis* при интродукции в оранжерею не сопровождается значительным уменьшением содержания хлорофилла и накоплением антоцианов.

**Ключевые слова:** *Begonia grandis* subsp. *grandis*; адаптация; хлорофилл *a+b*; каротиноиды; антоцианы.

### Введение

Физиолого-биохимические характеристики ассимилирующих органов, определяющих ростовые и репродуктивные процессы, чувствительны к изменениям окружающей среды и используются для ранней диагностики состояния растений. Содержание хлорофиллов и каротиноидов – главных фоторецепторов клетки – является одним из биохимических показателей степени адаптации растений к экологическим условиям. Содержание антоциановых пигментов, участвующих в обеспечении устойчивости растений к стрессовым факторам, также может быть использовано для оценки их физиологического состояния [1, 2].

*Begonia grandis* subsp. *grandis* (синонимы *B. discolor* R. Brown, *B. evansiana* Andrews, *B. grandis* subsp. *evansiana* (Andrews) Irmsch.) – единственный пред-

ставитель рода *Begonia*, встречающийся в суббореальных летне-зелёных лесах [3], в отличие от большинства видов рода, в естественных условиях обитающих в зоне тропических лесов или в субтропической зоне.

В литературе нами не обнаружено данных о содержании фотосинтезирующих пигментов и антоцианов *B. grandis* subsp. *grandis*. В составе антоцианов представителей рода *Begonia* найдены гликозиды цианидина (3-О-глюкозид, 3-О-самбукозид, 3-О-софорозид, 3-О-глюкозилрутинозид, 3-О-ксилозилрутинозид) [4], каффеил- и кумароилгликозиды цианидина [5], 3-О-глюкозид пеларгонидина [4], 5-О-глюкозид пеонидина [6]. В качестве основного антоцианового компонента 18 видов рода установлен 3-О-(2''-ксилозил-6''-рамнозилглюкозид) цианидина [7].

Целью исследования является изучение динамики содержания пигментов (хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды, антоцианы) и соотношений (хлорофилл *a* / *b*, хлорофилл / каротиноиды и хлорофилл / антоцианы) в листьях растений *B. grandis* subsp. *grandis*, интродуцированных в условиях открытого и закрытого грунта, в течение вегетационного периода.

### Материалы и методики исследования

В качестве образцов использованы листья растений *Begonia grandis* subsp. *grandis*, интродуцированных в условиях оранжереи и открытого грунта Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (ЦСБС СО РАН) в г. Новосибирске, в различные фазы вегетационных периодов 2013–2015 гг. (таблица).

Новосибирск находится в лесостепной зоне с континентальным климатом. Самый жаркий месяц – июль, когда среднемесячная температура достигает +20,7°C, максимальная +37°C. Средняя продолжительность безморозного периода – 119 суток. Первые заморозки наблюдаются с третьей декады августа [8]. Период высокого уровня суммарной солнечной радиации (471–652 МДж/м<sup>2</sup>) длится с апреля по август, максимум солнечной радиации приходится на июнь [9].

Почвенный покров участка культивирования представлен дерново-подзолистыми почвами. Реакция почвенной среды слабокислая (pH 5–6). В открытый грунт клубни высаживают в третьей декаде мая под пологом соснового леса (г. Новосибирск). Освещенность, измеренная в полдень, составляла от 500 до 6 000 лк в зависимости от погодных условий. Измерения освещенности проводились на высоте, равной средней высоте *B. grandis* subsp. *grandis* в этих условиях (50 см от поверхности почвы). Период вегетации длится до отмирания надземной части растений в третьей декаде сентября. В оранжерее клубни высаживают в феврале в почвосмесь, аналогичную почве участка культивирования. Период вегетации в оранжерее заканчивается в конце ноября переходом к состоянию покоя.

Фондовые оранжереи ЦСБС СО РАН представляют собой железобетонную конструкцию, двускатную, закрытую поликарбонатом. Растения, высаженные в пластмассовые горшки, размещены на бетонных стеллажах, поднятых на высоту 75 см от поверхности пола.

**Характеристика вегетационного периода *Begonia grandis* subsp. *grandis***  
**[Characteristics of *Begonia grandis* subsp. *grandis* growing season]**

Месяц [Month]	Оранжерея [Greenhouse]		Открытый грунт [Open ground]	
	Фаза развития растения [Phase of plant development]	Стрессовые факторы [Stress factors]	Фаза развития растения [Phase of plant development]	Стрессовые факторы [Stress factors]
IV	Активный рост [Active growth]	Высокая инсоляция [High insolation]	—	—
V	Активный рост [Active growth]	Суточные перепады температур до 10°C [Daily temperature drops to 10°C]	Высадка растений из оранжереи в открытый грунт, адаптация [Planting from the greenhouse to the open ground, adaptation]	Высокая инсоляция, суточные перепады температур [High insolation, daily temperature drops]
VI	Активный рост [Active growth]	—//—	Активный рост [Active growth]	—//—
VII	Замедление роста, бутонизация [Plant growth retardation, budding]	О	Рост [Growth]	Высокая инсоляция [High insolation]
VIII	Цветение [Flowering]	Суточные перепады температур до 5°C [Daily temperature drops to 5°C]	Цветение [Flowering]	Высокая инсоляция, суточные перепады температур до 10°C [High insolation, daily temperature drops to 10°C]
IX	Цветение, плодоношение [Flowering, fructification]	Суточные перепады температур до 5°C [Daily temperature drops to 5°C]	Цветение [Flowering]	—//—
X*	Цветение, плодоношение [Flowering, fructification]	Суточные перепады температур до 10°C [Daily temperature drops to 10°C]	Отмирание надземной части [Dieback of above-ground parts]	Низкая температура [Low temperature]
XI	Единичное цветение, плодоношение, переход к состоянию покоя [Single flowering, fructification, transition to dormant state]	О	—	—

*Примечание.* О – минимальное воздействие неблагоприятных факторов; «—» – отсутствие вегетации растений в этот период; \* – конец сентября.

[Note: O - minimal impact of unfavorable factors; — absence of plant growth during this period; \* end of September]

В период вегетации освещенность составляет 500–5 000 лк в зависимости от облачности. Для предотвращения теплового шока у растений в весенний и летний периоды над стеллажами натягиваются пологи из акрила (с третьей декады апреля по третью декаду сентября).

Температурный режим в оранжереях зависит от времени года. С октября по апрель работает стационарная система отопления. В это время температура воздуха составляет в среднем +20°C. С мая по сентябрь отопительная система не работает, и температура воздуха во многом зависит от погодных условий. Иногда перепады температур могут достигать 20°C в течение суток. Период вегетации в оранжерее длится до отмирания надземной части растений в ноябре–декабре. Вступление в состояние покоя с отмиранием надземной части жестко детерминировано эндогенной ритмикой [10].

Как и большинство представителей рода, *B. grandis* subsp. *grandis* относится к теневыносливым растениям. В условиях интродукции характеризуется цветением один раз в год в осенне-зимний период.

Средняя проба состояла из фрагментов центральной части вызревших листьев среднего яруса (между крупными жилками), не имеющих повреждений, отобранных с 5–10 растений. Листья для анализа собирали 1 раз в месяц (с 15-го по 20-е число каждого месяца) в первой половине дня, за исключением сентября, когда листья собирали дважды – в начале месяца (до 5 сентября) и сразу после наступления заморозка (с 15 по 20 сентября).

Для исследования пигментов растений, находящихся в конце фазы перехода к состоянию покоя, в пределах одного растения вырезали неповрежденные участки здоровых листьев и листьев, имеющих выраженные участки некроза.

Для определения содержания хлорофилла и каротиноидов свежие листья экстрагировали 96%-ным этанолом. Расчет вели по формулам:

$$\begin{aligned}C_a &= (13,36 \cdot A_{664} - 5,19 \cdot A_{649}); \\C_b &= (27,43 \cdot A_{649} - 8,12 \cdot A_{664}); \\C_c &= (1000 \cdot A_{470} - 2,13 \cdot C_a - 97,64 \cdot C_b)/209,\end{aligned}$$

где  $C_a$ ,  $C_b$ ,  $C_c$  – содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов, мг/л экстракта,  $A_{664}$ ,  $A_{649}$  и  $A_{470}$  – оптическая плотность экстракта, измеренная при 664, 649 и 470 нм [11] с последующим пересчетом содержания на 1 г абсолютно сухой массы листьев.

Экстракцию антоцианов проводили 1%-ным водным раствором соляной кислоты. Отделение антоцианов от других флавоноидов производили фильтрованием через концентрирующий патрон Диапак С 16. Состав антоцианов изучали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Silufol 15×15 см в системах растворителей хлороформ – этилацетат – муравьиная кислота – вода 24:20:16:1 (система 1) и хлороформ – этанол – муравьиная кислота 9:1:0,5 (система 2).

Идентификацию агликонов проводили сравнением со стандартом цианидин-хлорида (Sigma), идентификацию гликозидов – сравнением с 3-глю-

козилрутинозидом, 3-рутинозидом и 3-глюкозидом цианидина из экстракта вишни садовой *Prunus cerasus* L. [12] и 3-глюкозидом цианидина из экстракта земляники садовой *Fragaria x ananassa* Duch. сорт Junia Smayds [13].

Содержание антоцианов определяли спектрофотометрическим методом на UV-Vis спектрофотометре «Agilent 8453» (США). Содержание суммы антоцианов (мг/г абсолютно сухого веса) рассчитывали с применением молярного показателя поглощения цианидин-3-рутинозида в 1%-ном водном растворе HCl, равного 28 840 [14]. Оптическую плотность полученного экстракта измеряли при длинах волн 529 и 650 нм. Поправку на содержание хлорофилла и продуктов его деградации учитывали по следующей формуле:

$$A = A_{529} - 0,288 \times A_{650}$$

где  $A_{529}$  и  $A_{650}$  – оптическая плотность экстракта, измеренная при 529 и 650 нм [15].

Кислотный гидролиз антоцианов проводили 2 N соляной кислотой на кипящей водяной бане в течение 30 мин.

Для каждого показателя вычисляли среднее арифметическое и стандартную ошибку среднего арифметического из показателей трех лет исследования [16]. Статистическая обработка полученных данных и построение графиков выполнены в программе Excel 2007 for Windows.

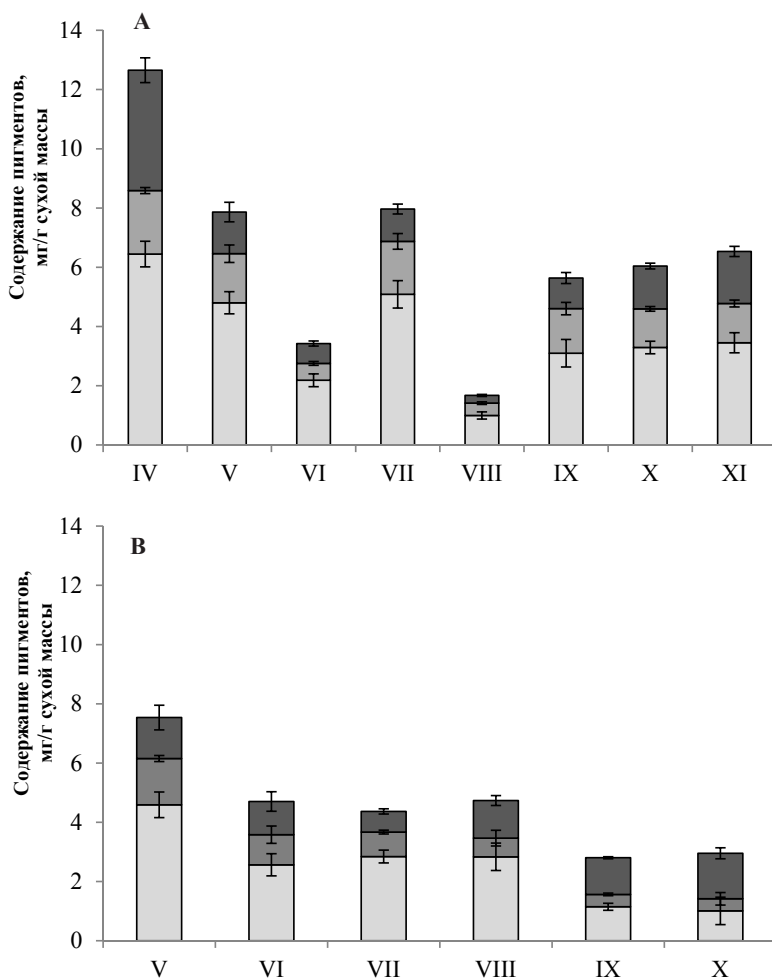
### Результаты исследования и обсуждение

*Содержание хлорофилла и каротиноидов.* Содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях и отношение их суммы к содержанию каротиноидов являются надежными показателями физиологического состояния растений и индикаторами стресса. Высокая концентрация хлорофилла характерна для здоровых растений, тогда как содержание каротиноидов, как правило, увеличивается у растений, подверженных стрессу [11, 17].

В течение периода вегетации в оранжеее содержание суммы хлорофиллов *a* и *b* в листьях *B. grandis* subsp. *grandis* снижалось от максимального значения 8,6 мг/г в апреле до 2,75 мг/г в июне, в июле наблюдался второй максимум 6,80 мг/г. Затем содержание хлорофиллов уменьшалось до минимума в августе (1,42 мг/г), возрастало к сентябрю (до 4,56 мг/г) и не снижалось до периода покоя в ноябре (рис. 1).

В открытом грунте содержание суммы хлорофиллов варьировало в значительно меньших пределах с максимумом в мае (6,16 мг/г) и минимумом в конце сентября (1,40 мг/г).

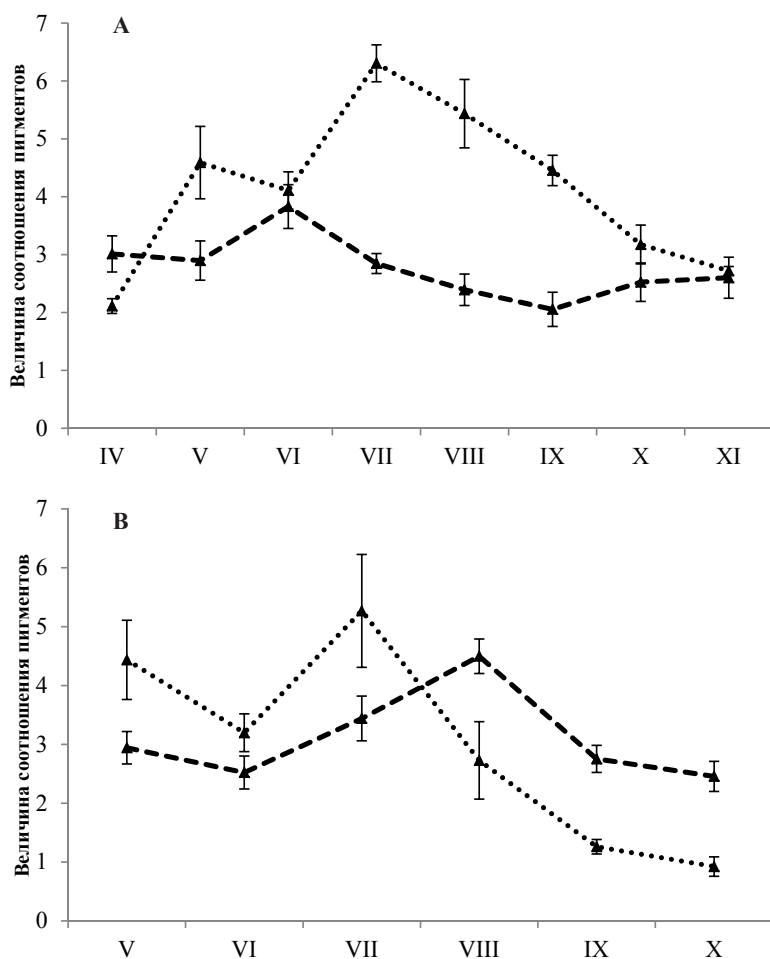
Следует отметить, что минимумы содержания хлорофилла в листьях в оранжеее (июнь, август) и в открытом грунте (сентябрь) всегда были связаны со значительным понижением среднесуточной температуры воздуха. Более позднее уменьшение содержания хлорофиллов в открытом грунте, вероятно, связано с большей степенью адаптации растений открытого грунта к экстремальным факторам среды, развившейся за 4 месяца вегетации в этих условиях.



**Рис. 1.** Содержание хлорофиллов *a* (□), *b* (■) и каротиноидов (■) в листьях *Begonia grandis* subsp. *grandis* в течение периода вегетации в оранжерее (А) и в открытом грунте (В)

[Fig. 1. Content of chlorophylls and carotenoids in *Begonia grandis* subsp. *grandis* leaves during the growing season in the greenhouse (A) and in the open ground (B)]

Динамика соотношения хлорофилл *a* / хлорофилл *b* в условиях оранжереи в целом соответствовала динамике солнечной радиации с максимумом в июне (3,82) (рис. 2). К сентябрю происходило уменьшение величины соотношения до минимума (2,12) и далее – незначительное увеличение до 2,59 к ноябрю. В открытом грунте летом этот показатель был значительно выше (до 4,57 в августе), но к октябрю он уменьшался приблизительно до того же уровня, что и в оранжерее (2,50). Значительно меньший интервал изменения соотношения хлорофиллов *a* и *b* в оранжерее свидетельствует о более стабильном режиме освещенности.



**Рис. 2.** Соотношения хлорофилла  $a + b$  / каротиноиды (.....) и хлорофилл  $a$  / хлорофилл  $b$  (---) в листьях *Begonia grandis* subsp. *grandis* в течение периода вегетации в оранжерее (А) и в открытом грунте (В)  
 [Fig. 2. Chlorophyll  $a + b$  / carotenoids (.....) and chlorophyll  $a$  / chlorophyll  $b$  (---) ratios in *Begonia grandis* subsp. *grandis* leaves during the growing season in the greenhouse (A) and in the open ground (B)]

Содержание каротиноидов в листьях оранжерейных растений падало с апреля по август с 4 до 0,26 мг/г, а затем увеличивалось к ноябрю до 1,76 мг/г. В листьях растений открытого грунта наблюдалась аналогичная динамика с понижением с мая по июль с 1,39 до 0,70 мг/г и повышением к концу сентября до 1,54 мг/г.

В соответствии с показателями пигментного состава наиболее благоприятным месяцем вегетационного периода в оранжерее является июль. Этот месяц характеризуется высоким содержанием суммы хлорофиллов и максимумом соотношения хлорофилл / каротиноиды. При этом относительно высокая ве-

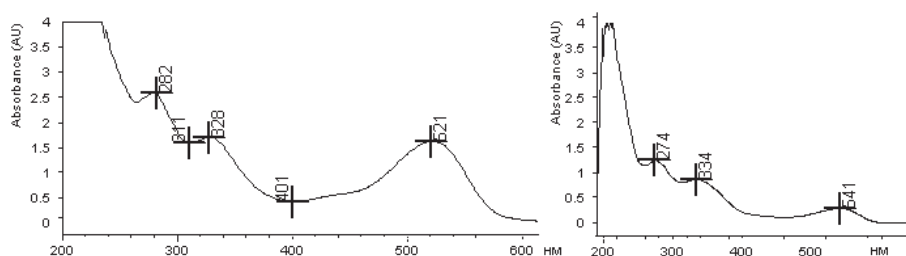
личина соотношения хлорофилл *a* / хлорофилл *b* (2,83) является показателем определенной избыточности освещения. В осенний период соотношение хлорофилл *a* / хлорофилл *b* ближе к оптимуму для фотосинтетического аппарата тенелюбивого растения (2,12–2,59) [11, 18].

Высокая величина соотношения хлорофилл / каротиноиды в августе (5,52) свидетельствует об удовлетворительном физиологическом состоянии оранжевых растений, несмотря на значительное уменьшение содержания суммы хлорофиллов. Аналогичное резкое снижение содержания хлорофилла отмечено и в листьях растений открытого грунта в сентябре. Однако при этом соотношение хлорофилл / каротиноиды более чем в 4 раза ниже (1,27). Это говорит о снижении физиологического статуса растений открытого грунта, вызванном воздействием низкой температуры. В листьях оранжевых растений в период с нестабильной температурой не происходит падения соотношения хлорофилл / каротиноиды ниже 3, т.е. в такие периоды физиологический статус оранжевых растений значительно выше.

**Содержание антоцианов.** В результате ТСХ гидролизованного экстракта антоцианов листьев *B. grandis* subsp. *grandis* было показано наличие только одного агликона – цианидина. Антоциановые компоненты экстрактов в соответствии с величинами  $R_f$  характеризуются как ди- и тригликозиды. Основной компонент по хроматографической подвижности соответствует 3-глюкозилрутинозиду цианидина [12].

Спектры поглощения экстрактов антоцианов имеют максимумы 282, 521 нм, характерные для производных цианидина [5], а максимумы спектра поглощения гидролизатов 274, 541 нм соответствуют спектру цианидина [19].

В спектре поглощения экстрактов листьев, собранных в весенний и летний периоды, обнаруживался дополнительный пик 328 нм, что указывает на наличие антоцианов, ацилированных кофейной или феруловой кислотой (рис. 3) [20].

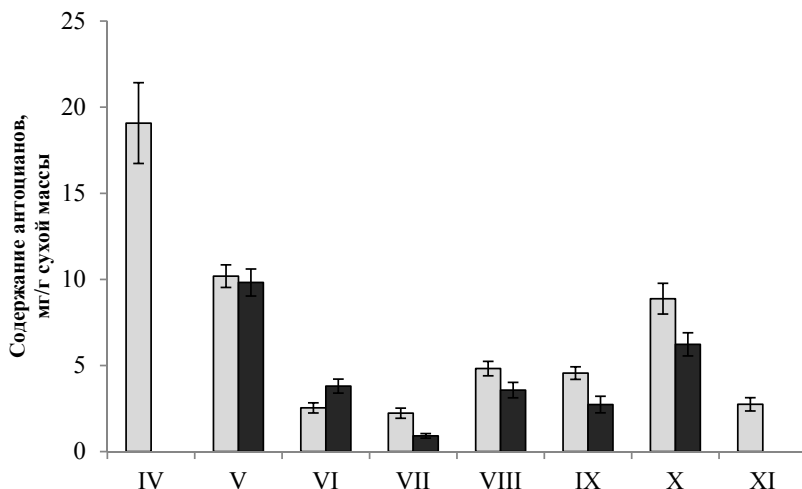


**Рис. 3.** Спектры поглощения экстракта и гидролизата антоцианов листьев *Begonia grandis* subsp. *grandis*, находящейся в фазе активного роста в условиях оранжереи. По оси ОХ – длина волны (нм), по оси ОУ – поглощение  
[Fig. 3. Absorption spectra of the extract and hydrolyzate of anthocyanins in *Begonia grandis* subsp. *grandis* leaves in the phase of active growth in the greenhouse. On X axis - Wave length, (nm), on the Y axis - Absorption]



Соотношение максимумов  $A_{440}/A_{vismax} = A_{440}/A_{521}$  (33%) свидетельствует о замещении гидроксильной группы в положении 3 и о свободной гидроксильной группе в положении 5 [19], что также подтверждает наличие в экстракте 3-гликозидов цианидина.

Максимумы содержания антоцианов в листьях оранжевых растений *B. grandis* subsp. *grandis* наблюдаются в период активного роста весной (19,08 мг/г), в августе и в конце сентября в условиях перепадов температуры воздуха (4,82 и 8,87 мг/г соответственно), а минимумы – в оптимальных условиях в июле (2,23 мг/г) и при переходе к состоянию покоя в ноябре (2,75 мг/г) (рис. 4).



**Рис. 4.** Содержание антоцианов в листьях *Begonia grandis* subsp. *grandis* в течение периода вегетации в оранжерее (□) и в открытом грунте (■)  
[Fig. 4. Content of anthocyanins in *Begonia grandis* subsp. *grandis* leaves during the growing season in the greenhouse and in the open ground]

Динамика содержания антоцианов в листьях растений открытого грунта имеет аналогичный характер. Максимумы содержания наблюдаются в мае после высадки в грунт (9,82 мг/г), в августе (3,57 мг/г) и в конце сентября в условиях заморозков (6,65 мг/г).

Следует отметить, что в августе–сентябре в открытом грунте, где растения подвергаются более серьезному воздействию низкой температуры, содержание антоцианов в листьях ниже, чем в оранжерее.

*Антоцианы в адаптации Begonia grandis* subsp. *grandis*. Для оценки роли антоцианов в адаптации *B. grandis* subsp. *grandis* проведено сопоставление динамики содержания антоцианов и основных индикаторов стресса в листьях растений оранжереи и открытого грунта. Динамика этих показателей в оранжерее и в открытом грунте характеризуется значительным понижением содержания хлорофилла, соотношения хлорофилл / каротиноиды и повышением

содержания антоцианов в периоды адаптации растений к перепадам температуры (рис. 4), в благоприятных условиях, наоборот, повышаются содержание хлорофилла, соотношение хлорофилл / каротиноиды и понижается содержание антоцианов.

В листьях оранжевых растений динамика содержания антоцианов имеет обратный характер по отношению к динамике отношений хлорофилл / антоцианы и хлорофилл / каротиноиды (минимумы / максимумы в апреле и июле). Минимум содержания антоцианов достигается уже в июне, когда соотношение хлорофилл *a* / хлорофилл *b* максимально. Это может свидетельствовать о низкой температуре как основном стрессовом факторе для оранжевых растений в весенний и осенний периоды.

В листьях растений открытого грунта также наблюдается обратный характер динамики содержания антоцианов по отношению к динамике отношений хлорофилл / антоцианы и хлорофилл / каротиноиды (минимумы / максимумы в июле и в конце сентября). При этом августовское понижение соотношения хлорофилл / каротиноиды и максимум содержания антоцианов совпадают с максимумом отношения хлорофиллов *a* и *b*, что может говорить о большем вкладе фактора избыточной освещенности в стрессовое воздействие на растения открытого грунта.

Несмотря на то, что в открытом грунте колебания температуры и освещенности выражены сильнее, интервал изменения содержания антоцианов в листьях растений открытого грунта меньше, чем в листьях оранжевых растений. Наиболее высокое содержание антоцианов, выявленное в листьях оранжевых растений в весенний период, вероятно, связано с защитой незрелого фотосинтетического аппарата в молодых клетках [21]. Интенсивность солнечной радиации в начале апреля значительно выше, чем в зимние месяцы, поэтому отсутствие защитного экрана может служить причиной повышения стрессовой нагрузки на растения. Об этом свидетельствует относительно высокая величина отношения хлорофиллов *a* и *b*, достигающая 3. Относительно благоприятное состояние растений в целом описывается высокой величиной отношения хлорофилл / каротиноиды. В открытый грунт высаживают адаптированные к условиям оранжевые растения, вегетирующие уже 3 месяца, их адаптация к условиям открытого грунта не сопровождается значительным повышением содержания антоцианов.

Для оценки зависимости содержания антоцианов от условий выращивания проведено сравнение диапазонов изменения показателей листьев растений из оранжевой и открытого грунта в сопоставимые периоды (май–октябрь).

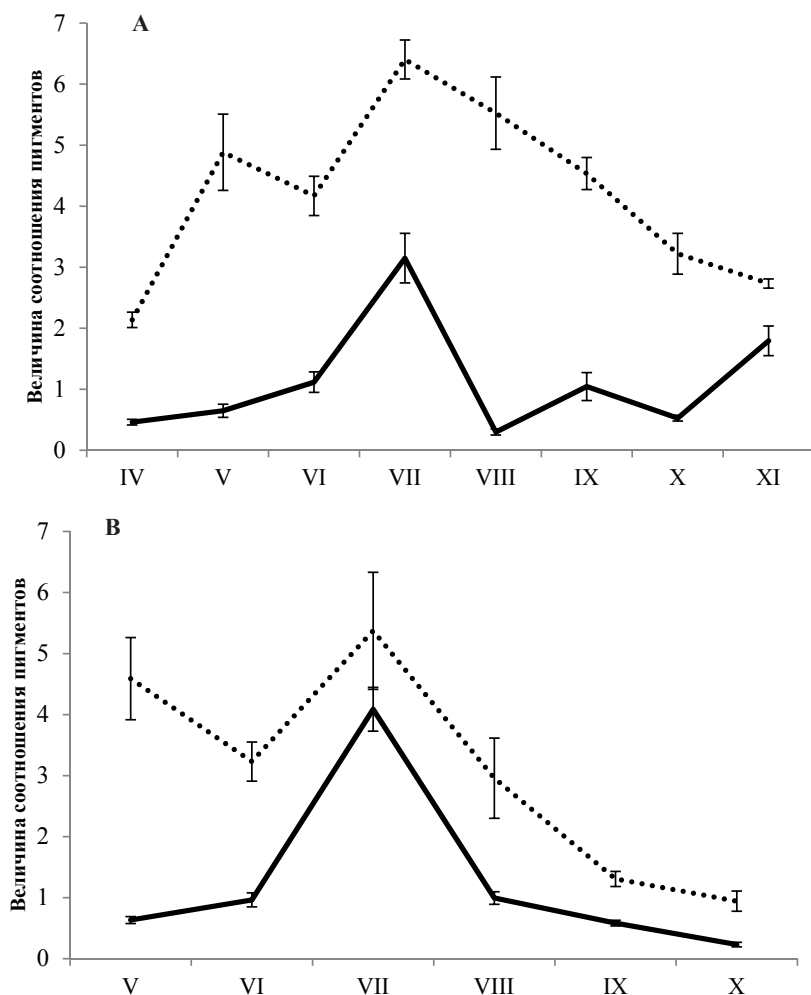
Рост содержания антоцианов в листьях при понижении температуры воздуха в открытом и закрытом грунте, сопровождающийся падением при минимальном воздействии стрессового фактора, а также минимальное содержание антоцианов в листьях оранжевых растений в ноябре подтверждают тот факт, что содержание антоцианов в значительной степени опреде-

ляется соответствием условий произрастания физиологическому оптимуму вида. При развитии низкотемпературного стресса падение отношения хлорофилл / каротиноиды с июля по октябрь наиболее существенно в листьях растений открытого грунта (с 5,25 до 0,91) по сравнению с оранжевыми растениями (с 6,23 до 3,19). Однако содержание антоцианов в листьях оранжевых растений в августе и сентябре всегда значительно выше (на 25–50%), чем в листьях растений открытого грунта. Таким образом, в условиях воздействия низкой температуры значительно больше антоцианов содержат листья оранжевых растений, находящихся в более благоприятных условиях и имеющих более высокий физиологический статус.

Этот факт согласуется с представлениями об антоцианах как менее эффективных компонентах защиты по сравнению с другими флавоноидами, например флавонолами. По мнению большинства исследователей, основной функцией антоцианов является снижение интенсивности процессов фотоингибирования и фотоокисления в ювенильных, стареющих листьях и листьях растений, находящихся в условиях стресса [22]. Механизм индукции биосинтеза антоцианов еще не вполне выяснен. Важнейшими факторами, вызывающими накопление антоцианов, являются низкая температура, свет, минеральное питание. При этом ответ на воздействие факторов и их комплексов является видоспецифичным в значительной степени [23]. Полученные результаты говорят о том, что накопление антоцианов при развитии низкотемпературного стресса не является эволюционно выработанной стратегией *B. grandis* subsp. *grandis*. И можно предположить, что при повышении стрессовой нагрузки синтез антоцианов в листьях *B. grandis* subsp. *grandis* замедляется, в то время как увеличивается содержание главных компонентов защиты [23, 24].

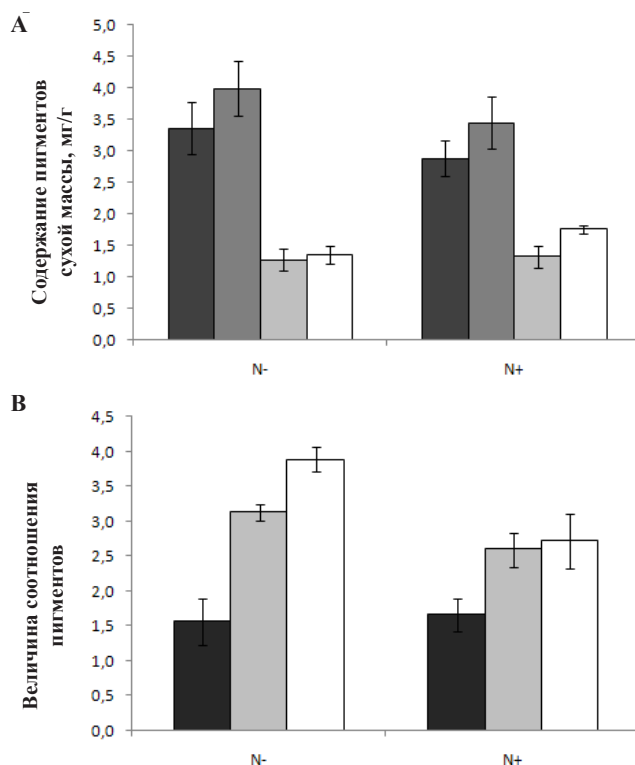
Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о более низком содержании антоцианов в листьях растений в открытом грунте, т.е. при более сильном стрессовом воздействии низкой температуры. Следовательно, содержание антоцианов в листьях *B. grandis* subsp. *grandis* само по себе не является показателем стресса растений. Более информативным показателем, аналогичным соотношению хлорофилл / каротиноиды, является соотношение хлорофилл / антоцианы. Характер динамики этих показателей очень близкий. В периоды адаптации соотношение хлорофилл / антоцианы значительно падает до минимальных значений 0,2–0,3, в благоприятные периоды – возрастает. Максимальное его значение составляло 4,21 (открытый грунт, июль) (рис. 5).

Красное окрашивание абаксиальной стороны листьев, выраженное на всей поверхности или только по жилкам, является одним из признаков таксона *B. grandis* subsp. *grandis* [3]. Постоянно высокая концентрация антоцианов обеспечивает защиту фотосинтетического аппарата листьев растений этого таксона, приспособленных к росту под пологом леса, от избыточной освещенности [25]. Однако содержание этих компонентов в листьях изменяется в течение вегетационного периода.



**Рис. 5.** Динамика соотношений хлорофилл / каротиноиды (.....) и хлорофилл / антоцианы (--) в листьях *Begonia grandis* subsp. *grandis* в оранжерее (А) и в открытом грунте (В)  
 [Fig. 5. Dynamics of chlorophyll / carotenoids (.....) and chlorophyll / anthocyanins (--) ratios in *Begonia grandis* subsp. *grandis* leaves in the greenhouse (A) and in the open ground (B)]

Значительное повышение содержания антоцианов в период активного роста весной свидетельствует об аккумуляции растением компонентов защиты фотосинтетического аппарата молодых листьев в период высокой освещенности в весенние месяцы. Относительно высокое содержание антоцианов в зрелых листьях в осенние месяцы говорит о вовлеченности этих соединений в защитные реакции на воздействие низких температур. Подтверждением этого предположения является невысокое содержание антоцианов при переходе растений к состоянию покоя в благоприятных условиях оранжерей.



**Рис. 6.** Содержание антоцианов (■), хлорофилла *a* (▒), хлорофилла *b* (▤) и каротиноидов (□) (А) и соотношений хлорофилл / антоцианы (■), хлорофилл *a* / хлорофилл *b* (▤) и хлорофилл / каротиноиды (□) (В) в листьях растений *Begonia grandis* subsp. *grandis*, переходящих к состоянию покоя в оранжерее. Условные обозначения:

N– здоровые листья без участков некроза, N+ – листья с участками некроза

[Fig. 6. Content of anthocyanins, chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and carotenoids (A) and chlorophyll / anthocyanins, chlorophyll *a* / chlorophyll *b* and chlorophyll / carotenoids (B) ratios in *Begonia grandis* subsp. *grandis* leaves transitioning to dormant state in the greenhouse.

Legend: N- healthy leaves without areas of necrosis, N+ leaves with areas of necrosis]

*Состав пигментов листьев растений, переходящих к состоянию покоя.* При интродукции в условиях Западной Сибири жизненный цикл растений соответствует природному только в условиях оранжерей. Переход к состоянию покоя и отмирание надземной части растений *B. grandis* subsp. *grandis* в условиях естественного ареала (Китай) происходит с наступлением осени в октябре–ноябре после завершения цветения и завязывания плодов [25]. У растений в открытом грунте в условиях Западной Сибири под воздействием заморозков в сентябре происходит отмирание надземной части цветущих растений, которые еще не реализовали большую часть потенциала, и фаза перехода к состоянию покоя у них отсутствует.

Исследование пигментного состава листьев растений, переходящих к состоянию покоя в оранжерее, показало, что в этот период растения характеризуются значительным содержанием хлорофилла (рис. 6).

Соотношения хлорофилл *a* / хлорофилл *b* и хлорофилл / каротиноиды в листьях с участками некроза ниже, чем в здоровых. Содержание антоцианов и соотношение хлорофилл / антоцианы при развитии некроза существенно не изменяются.

Пигментный состав листьев растений *B. grandis* subsp. *grandis*, переходящих к состоянию покоя, свидетельствует об их относительно высоком физиологическом статусе. Таким образом, переход к состоянию покоя *B. grandis* subsp. *grandis* при интродукции в оранжерее не сопровождается значительным уменьшением содержания хлорофилла и накоплением антоцианов, обнаруженным у многих растений [22]. Это может быть связано с некоторым замедлением перехода к состоянию покоя, вызванным отсутствием сигнальных факторов старения надземной части растения (снижение температуры, влажности почвы и воздуха, сокращение продолжительности светового дня).

### Выводы

Впервые изучена динамика содержания пигментов листьев (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноиды, антоцианы) и показателей физиологического состояния (соотношения хлорофилл *a* / хлорофилл *b*, хлорофилл / каротиноиды, хлорофилл / антоцианы) в течение сезона вегетации у растений *B. grandis* subsp. *grandis*, интродуцированных в Западной Сибири (г. Новосибирск) в условиях оранжереи и открытого грунта.

Весенний период активного роста характеризуется максимальными показателями содержания хлорофилла (8–9 мг/г), антоцианов (18–20 мг/г) и каротиноидов (4–5 мг/г).

Характер динамики пигментов в оранжерее и открытом грунте в сопоставимые периоды (с мая по конец сентября) аналогичен. Содержание хлорофилла варьирует от более 6 мг/г в благоприятных условиях до 1,4 мг/г в периоды перепадов температуры и заморозков. Динамика каротиноидов и антоцианов противоположна динамике хлорофилла, минимумы наблюдаются в июне–июле (0,3–0,7 и 1–2 мг/г соответственно), а максимумы – в условиях перепадов температур (1–2 и 2–9 мг/г).

Соотношение хлорофиллов *a* и *b* в листьях оранжерейных растений на протяжении практически всего периода вегетации находится в интервале, оптимальном для тенелюбивых растений 2,12–3,01, а в листьях растений открытого грунта в летний период наблюдается рост этого показателя значительно выше оптимума, что свидетельствует о не всегда благоприятном режиме освещенности.

В условиях воздействия низкой температуры значительно больше антоцианов содержат листья оранжерейных растений, находящихся в более благоприятных условиях.

ятных условиях и имеющих более высокий физиологический статус, чем растения открытого грунта.

Для периодов адаптации *B. grandis* subsp. *grandis* характерны более низкие величины соотношений хлорофилл / каротиноиды (1,3–4,4) и хлорофилл / антоцианы (0,3–1,0) в листьях по сравнению с благоприятными периодами (5,5–6,2 и 2–2,1 соответственно).

Переход к состоянию покоя *B. grandis* subsp. *grandis* при интродукции в оранжерею не сопровождается значительным уменьшением содержания хлорофилла и накоплением антоцианов.

### Литература

1. Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // Photochemistry and photobiology. 1999. Vol. 70, № 1. P. 1–9.
2. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н., Бессережнова М.И. Реакция пигментной и антиоксидантной систем растений на загрязнение окружающей среды г. Калининграда выбросами автотранспорта // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 2 (18). С. 171–185.
3. Gu C., Peng C.-I., Turland N.J. *Begoniaceae*. Flora of China. Vol. 13 (*Chusiaceae* – *Araliaceae*) / ed. by Wu Z.Y., Raven P. H., Hong D.Y. 2007. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. P. 176.
4. Harborne J.B., Hall E. Plant polyphenols-XIII. The systematic distribution and origin of anthocyanins containing branched trisaccharides // Phytochemistry. 1964. Vol. 3, № 3. P. 453–463.
5. Chirol N., Jay M. Acylated anthocyanins from flowers of *Begonia* // Phytochemistry. 1995. Vol. 40, № 1. P. 275–277.
6. Gould K.S., Kuhn D.N., Lee D.W., Oberbauer S.F. Why leaves are sometimes red // Nature. 1995. Iss. 378. P. 241–242.
7. Langhammer L., Grandet M. Über die Verbreitung eines seltenen Anthocyans in der Familie der *Begoniaceae* // PlantaMedica. 1974. Vol. 26, iss. 7. P. 260–268.
8. Куселёва А.П. Метеорологические условия в районе Центрального сибирского ботанического сада в 1966–1972 гг. // Ритмы развития и продуктивности полезных растений сибирской флоры. Новосибирск, 1975. С. 164–176.
9. Климат России / под ред. Н.В. Кобышевой. СПб. : Гидрометеиздат, 2001. 655 с.
10. Фершалова Т.Д., Байкова Е.В. Интродукция бегоний в оранжереях и интерьерах. Новосибирск : Гео, 2013. 157 с.
11. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy / In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry. F4.3.1-F4.3.8. N.Y. : John Wiley&Sons, 2001.
12. Blando F., Gerardi C., Nicoletti I. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods // Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2004. Vol. 5. P. 253–258.
13. Lopes da Silva F., Escribano-Bailón M.T., Alonso J.J.P., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C. Anthocyanin pigments in strawberry // LWT-Food Science and Technology. 2007. Vol. 40, № 2. P. 374–382.
14. Horbowicz M., Mioduszevska H., Koczkodaj D., Saniewski M. The effect of methyl jasmonate and phenolic acids on growth of seedlings and accumulation of anthocyanins in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) // ActaAgrobotanica. 2009. Vol. 62, № 1. P. 49–56.

15. Sims D.A., Gamon J.A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages // *Remote Sensing of Environment*. 2002. Vol. 81. P. 337–354.
16. Зайцев Г.Н. Математический анализ биологических данных. М. : Наука, 1991. 184 с.
17. Kancheva R., Borisova D., Georgiev G. Chlorophyll assessment and stress detection from vegetation optical properties // *Ecological Engineering and Environment Protection*. 2014. № 1. P. 34–43.
18. Burritt D.J., Mackenzie S. Antioxidant metabolism during acclimation of *Begonia x erythrophylla* to high light levels // *Annals of Botany*. 2003. Vol. 91. P. 783–794.
19. Harborne J.B. Spectral methods of characterizing anthocyanins // *Biochem. J.* 1958. Vol. 70. P. 22–28.
20. Escribano-Bailón M.T., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.C. Anthocyanins in cereals // *Journal of Chromatography A*. 2004. Vol. 1054. P. 129–141.
21. Karageorgou P., Manetas Y. The importance of being red when young: anthocyanins and the protection of young leaves of *Quercus coccifera* from insect herbivory and excess light // *Tree Physiology*. 2006. Vol. 26. P. 613–621.
22. Merzlyak M.N., Chivkunova O.B., Solovchenko A.E., Naqvi K.R. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves // *Journal of Experimental Botany*. 2008. Vol. 59, № 14. P. 3903–3911.
23. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект). Калининград : Изд-во БФУ им. И. Канта, 2011. 111 с.
24. Solovchenko A., Schmitz-Eiberger M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits // *Journal of Experimental botany*. 2003. Vol. 54, № 389. P. 1977–1984.
25. Tebbitt M.C. *Begonias: cultivation, identification, and natural history*. Portland, 2005. 270 p.

Поступила 24.12.2015 г.; повторно 28.02.2016 г.; принята 10.03.2016 г.

**Авторский коллектив:**

**Карпова Евгения Алексеевна** – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории фитохимии Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (г. Новосибирск, Россия).

E-mail: [karyevg@mail.ru](mailto:karyevg@mail.ru)

**Фершалова Татьяна Дмитриевна** – канд. биол. наук, н.с. группы ландшафтной архитектуры и дизайна Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (г. Новосибирск, Россия).

E-mail: [fershalova@ngs.ru](mailto:fershalova@ngs.ru)

Karpova EA, Fershalova TD. Dynamics of leaf pigments content of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* introduced in West Siberia (Novosibirsk). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2016;1(33):140–158. doi: 10.17223/19988591/33/9. In Russian, English summary

**Evgeniya A. Karpova, Tatyana D. Fershalova**

*Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

**Dynamics of leaf pigments content of *Begonia grandis*  
Dryander subsp. *grandis* introduced in West Siberia (Novosibirsk)**

The aim of this work was to study the dynamics of pigment content in leaves (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids and anthocyanins) and indicators of physiological state (chlorophyll *a/b* ratio, chlorophyll *a+b*/total carotenoids, chlorophyll *a+b*/ anthocyanins) during the growing season of *B. grandis* subsp. *grandis* plants,



introduced in Western Siberia (Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk) in the greenhouse and the open ground. We determined pigment content in fresh leaves by the spectrophotometric method. We measured the absorption of ethanol extracts at 649 nm, 664 nm and 470 nm (chlorophylls, carotenoids) and aqueous extracts acidified with hydrochloric acid at 529 nm and 650 nm (anthocyanins). We studied anthocyanin composition by the thin layer chromatography on Silufol plates of 15 x15 cm in the solvent systems chloroform - ethyl acetate - formic acid - water 24 : 20: 16: 1 and chloroform - ethanol - formic acid 9:1:0.5.

We found maximum values of chlorophyll *a+b* (8-9 mg/g dry weight), anthocyanins (18-20 mg/g) and total carotenoids (4-5 mg/g) during the spring period of active growth. We established that the dynamics of pigments in the greenhouse and the open ground from May to the end of September were similar. Chlorophyll *a+b* content ranges from 6 mg/g and above in a favorable environment to 1.4 mg/g during periods of temperature drops and frost. Dynamics of carotenoids and anthocyanins are opposite to the dynamics of chlorophyll, minimal values are seen in June-July (0.3-0.7 mg/g and 1.2 mg/g, respectively), while maximal values are observed in the conditions of temperature drops (1-2 mg/g and 2-9 mg/g). We found that anthocyanin content under low temperature conditions was higher in leaves of greenhouse plants being under more favorable conditions and having higher physiological status than plants of open ground. We revealed that ratio values of chlorophyll *a+b*/total carotenoids (1,3-4,4) and chlorophyll *a+b* / anthocyanins (0.3-1.0) in leaves for a period of *B. grandis* subsp. *grandis* adaptation were lower in comparison to the favorable period (5,5-6,2 and 2-2 1, respectively). We demonstrated that the transition to a dormant phase of *B. grandis* subsp. *grandis* introduced in the greenhouse was not accompanied by a significant decrease in chlorophyll content and accumulation of anthocyanins.

*The article contains 6 Figures, 1 Table, 25 References.*

**Key words:** *Begonia grandis* subsp. *grandis*; adaptations; chlorophyll *a+b*; carotenoids; anthocyanins.

## References

1. Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and photobiology*. 1999;70(1):1-9.
2. Tchoupakhina GN, Maslennikov PV, Skrypnik LN, Besserezhnova MI. Reaction of pigmental and antioxidant systems of plant on environmental pollution of Kaliningrad by motor transport emission. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2012;2(18):171-185. In Russian, English summary
3. Gu C, Peng CI, Turland NJ. *Begoniaceae*. In: *Flora of China*. Vol. 13 (*Clusiaceae – Araliaceae*). Wu ZY, Raven PH, Hong DY, editors. Beijing: Science Press and St. Louis: Missouri Botanical Garden Press; 2007. P. 153-207.
4. Harborne JB, Hall E. Plant polyphenols. XIII. The systematic distribution and origin of anthocyanins containing branched trisaccharides. *Phytochemistry*. 1964;3(3):453-463.
5. Chiról N, Jay M. Acylated anthocyanins from flowers of *Begonia*. *Phytochemistry*. 1995;40(1):275-277.
6. Gould KS, Kuhn DN, Lee DW, Oberbauer SF. Why leaves are sometimes red. *Nature*. 1995;378:241-242.
7. Langhammer L, Grandet M. Über die Verbreitung eines seltenen Anthocyans in der Familie der *Begoniaceae*. *Planta Medica*. 1974;26(7):260-268. doi: [10.1055/s-0028-1099385](https://doi.org/10.1055/s-0028-1099385)

8. Kiseleva AP. Meteorologicheskie usloviya v rayone Tsentral'nogo sibirskogo botanicheskogo sada v 1966-1972 gg [Weather conditions in the Central Siberian Botanical Garden area in 1966-1972]. In: *Ritmy razvitiya i produktivnosti poleznykh rasteniy sibirskoy flory* [Rhythms of development and productivity of useful plants of Siberian flora]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1975. pp. 164-176. In Russian
9. Klimat Rossii [Climate of Russia]. Kobysheva NV, editor. St Petersburg: Gidrometeoizdat Publ.; 2001. 655 p. In Russian
10. Fershalova TD, Baykova EV. Introduktsiya begoniy v oranzhereyakh i inter'erakh [Introduction of *Begonia* in greenhouses and interiors]. Koropachinskiy IYu, editor. Novosibirsk: Geo Publ.; 2013. 157 p. In Russian.
11. Lichtenthaler HK, Buschmann C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F4.3.1-F4.3.8. New York: John Wiley&Sons;2001. Available at: [http://www.thyssen-web.de/assets/files/fd\\_documents/sp\\_buche/uv\\_vis\\_pigmente.pdf](http://www.thyssen-web.de/assets/files/fd_documents/sp_buche/uv_vis_pigmente.pdf) (accessed 03.02.2016).
12. Blando F, Gerardi C, Nicoletti I. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2004;5:253-258. doi: [10.1155/S1110724304404136](https://doi.org/10.1155/S1110724304404136)
13. Lopes da Silva F, Escribano-Bailón MT, Alonso JJP, Rivas-Gonzalo JC, Santos-Buelga C. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT-Food Science and Technology*. 2007;40(2):374-382. doi: [10.1016/j.lwt.2005.09.018](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.018)
14. Horbowicz M, Mioduszevska H, Koczkodaj D, Saniewski M. The effect of methyl jasmonate and phenolic acids on growth of seedlings and accumulation of anthocyanins in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Acta Agrobotanica*. 2009;62(1):49-56.
15. Sims DA, Gamon JA. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*. 2002;81:337-354.
16. Zaicev GN. Matematicheskiy analiz biologicheskikh dannykh [Mathematical analysis of biological data]. Moscow: Nauka Publ.; 1991. 184 p. In Russian
17. Kancheva R, Borisova D, Georgiev G. Chlorophyll assessment and stress detection from vegetation optical properties. *Ecological Engineering and Environment Protection*. 2014;1:34-43.
18. Burritt DJ, Mackenzie S. Antioxidant metabolism during acclimation of *Begonia x erythrophylla* to high light levels. *Annals of Botany*. 2003;91:783-794.
19. Harborne JB. Spectral methods of characterizing anthocyanins. *Biochem. J*. 1958;70:22-28.
20. Escribano-Bailón MT, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*. 2004;1054:129-141.
21. Karageorgou P, Manetas Y. The importance of being red when young: anthocyanins and the protection of young leaves of *Quercus coccifera* from insect herbivory and excess light. *Tree Physiology*. 2006;26:613-621. doi: [10.1093/treephys/26.5.613](https://doi.org/10.1093/treephys/26.5.613)
22. Merzlyak MN, Chivkunova OB, Solovchenko AE, Naqvi KR. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany*. 2008;59(14):3903-3911. doi: [10.1093/jxb/ern230](https://doi.org/10.1093/jxb/ern230)
23. Chupakhina GN, Maslennikov PV, Skrypnik LN. Prirodnye antioksidanty (ekologicheskii aspekt): monografiya [Natural antioxidants (ecological aspect)]. Kaliningrad: University of Immanuel Kant Publ.; 2011. 111 p. In Russian
24. Solovchenko A, Schmitz-Eiberger M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *Journal of experimental botany*. 2003;54(389):1977-1984. doi: [10.1093/jxb/erg199](https://doi.org/10.1093/jxb/erg199)

25. Tebbitt MC. Begonias: cultivation, identification, and natural history. Portland; Timber Press, 2005. 270 p.

*Received 24 December, 2015;*

*Revised 28 February, 2016;*

*Accepted 10 March, 2016*

**Author info:**

**Karpova Evgeniya A.**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Phytochemistry, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

E-mail: [karyevg@mail.ru](mailto:karyevg@mail.ru)

**Fershalova Tatyana D.**, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Group of Landscape Architecture and Phytodesign, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

E-mail: [fershalova@ngs.ru](mailto:fershalova@ngs.ru)