

ВЛИЯНИЕ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ФЕНОЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС И ФОТОСИНТЕЗ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМ. OLEACEAE

А.Е. Палий, И.Н. Палий, Т.Б. Губанова

ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр» РАН

Поступила в редакцию 09.04.2024 г.

Аннотация. Существенные климатические изменения послужили причиной смещения сроков вегетации и наступления покоя у видов субтропического происхождения, в связи с чем возросла вероятность их повреждения отрицательными температурами в зимний сезон в районах интродукции. В связи с этим цель проводимых исследований заключалась в выявлении особенностей работы фотосинтетического аппарата и изменения содержания фенольных соединений при действии отрицательных температур у вечнозеленых видов сем. Oleaceae, с различной степенью морозостойкости.

В качестве объектов исследований были выбраны представители сем. Oleaceae: *Olea europaea* L., *O. europaea* subsp. *cuspidata* (Wall. and G. Don) Cif., *Ligustrum lucidum* W.T. Aiton, *Ligustrum compactum* Wall. Ex G. Don) Hook. f. & Thomson ex Brandis. Для определения влияния отрицательных температур на состояние фотосинтетического аппарата и содержание фенольных соединений была проведена серия экспериментов по искусственному промораживанию однолетних побегов при -8°C в течение 8 часов.

Выявлено, что изменения в работе ФС II связаны как со степенью морозостойкости, так и с генотипическими особенностями. У представителей семейства Oleaceae для которых -8°C ниже начальных повреждающих температур наблюдалась необратимая инактивация фотосинтеза. Генотипы, для которых -8°C была равна или выше границы начальных повреждающих температур изменения в работе ФС II носили обратимый характер. Показано, что у морозостойких генотипов происходили минимальные изменения содержания как суммы фенольных соединений, так и индивидуальных веществ. Установлено, что рутин принимал участие в процессах адаптации к действию отрицательных температур у видов рода *Ligustrum* L. При нарастании низкотемпературного стресса у представителей рода *Olea* L. происходила активизация биосинтеза флавоноидов (рутина, цинарозида и апигенин-7-О-глюкозида), в то же время наблюдалось снижение содержания олеуропеина. Выявленные изменения в содержании флавоноидов и олеуропеина зависели от степени морозостойкости изученных генотипов маслины.

Ключевые слова: *Olea europaea*, *Ligustrum lucidum*, *Ligustrum compactum*, морозоустойчивость, фотосинтез, фенольные соединения

Виды вечнозеленых листовых растений чрезвычайно популярны в озеленении южных регионов, поскольку их декоративность не ограничена только периодом цветения или вегетации, а сохраняется в течение длительного времени. Однако, в связи с климатическими изменениями, в результате которых переход растений (особенно интродуцентов из субтропических зон) в состояние покоя происходит в более поздние сроки, как следствие, возрастает вероятность их повреждения отрицательными температурами в течение

холодного периода [1]. По этой причине исследования, направленные на выявление физиологических и биохимических параметров, связанных с формированием морозо- и зимостойкости остаются актуальными, как в теоретическом, так и в практическом аспектах. Результаты таких исследований могут не только раскрыть механизмы процессов криоадаптации, но и позволят усовершенствовать ассортимент листовых вечнозеленых видов, имеющих хозяйственную ценность, а также определить физиолого-биохимические характеристики для объективной диагностики потенциальной устойчивости. В настоящее время,

в качестве показателей глубины стрессового состояния растения, часто используются параметры флуоресценции хлорофилла, поскольку они позволяют быстро оценить эффективность фотосинтетических процессов [2]. Ряд авторов считает, что анализ фоновой и вариабельной флуоресценции, их соотношения, а также индекса витальности ($Rfd = (F_m - F_{st})/F_{st}$) позволяют получить физиологически значимую информацию, для определения степени устойчивости растений к ряду абиотических стрессоров [3].

На юге европейской части России в качестве декоративных растений широко используются вечнозеленые виды семейства Oleaceae, относящиеся к родам *Osmanthus* Lour, *Ligustrum* L., *Phillyrea* L. и др. [4]. Кроме того, часто в качестве украшения садов и парков привлекается чрезвычайно популярная плодовая, техническая и декоративная культура – маслина европейская. Представители сем. Oleaceae являются источниками различных биологических соединений, таких как сапонины, флавоноиды, дубильные вещества и горечи, эфирные и жирные масла, и др. [5-7]. Наиболее ценными из них являются секоиридоиды олеуропеинового типа (олеуропеин, лигустрозид, олеозид и др) специфичные для маслиновых [8, 9]. Секоиридоиды обладают высокой антиоксидантной активностью и проявляют разнообразное фармакологическое действие (антимикробное, противовирусное, противоопухолевое, гипохолестеринемическое и др.) [5, 10]. Известно, что фенольные соединения, в т. ч. флавоноиды и секоиридоиды, в качестве элементов антиоксидантной системы участвуют в защитных реакциях растений на действие неблагоприятных условий окружающей среды [11, 12]. Тем не менее, в научной литературе недостаточно внимания уделяется участию этой группы соединений в процессах адаптации к гидротермическому стрессу.

Поэтому цель наших исследований заключалась в выявлении особенностей работы фотосинтетического аппарата и изменения содержания фенольных соединений при действии отрицательных температур у вечнозеленых представителей сем. Oleaceae с различной степенью морозостойкости.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объектов исследований были выбраны виды двух родов *Olea* L. и *Ligustrum* L. Род *Olea* представлен растениями маслины европейской (*Olea europaea* L.) местного сорта Никитская (выделен Никитским ботаническим садом), интродуцированные сорта, Кореджиоло, Асколяно, а также подвид *O. europaea* subsp. *cuspidata* (Wall. and G. Don) Cif. Род *Ligustrum* был представлен видами: *L. compactum* (Wall. Ex G. Don) Hook. f. & Thomson ex Brandis и *L. lucidum* W.T. Aiton. Степень их морозоустойчивости, значения критических и начальных повреждающих температур была установлена ранее (Табл. 1) [13].

Для определения влияния отрицательных температур на состояние фотосинтетического аппарата и содержание фенольных соединений у представителей сем. Oleaceae с различной степенью морозостойкости была проведена серия экспериментов по искусственному промораживанию однолетних побегов при -8°C в течение 8 часов. Известно, что интенсивность морозных повреждений зависит не только от значения температуры, но и от продолжительности ее действия. В связи с этим, в процессе изучения морозостойкости вечнозеленых видов семейства маслиновых были проведены опыты по влиянию различных временных экспозиций. Анализ полученных результатов позволил сделать вывод о целесообразности использования временного интервала 8-10 часов и температурного $-8...-10^{\circ}\text{C}$ для оценки потенциальной морозостойкости изучаемых видов данного семейства в условиях ЮБК [13, 14].

Опыты осуществляли в климатической камере Votsch VT 4004 («Vötsch Industrietechnik GmbH», Германия) в период максимальной вероятности наступления морозов на ЮБК (третья декада января), с предварительной закалкой при 0°C не менее 4 часов. Градиент изменения температуры в камере составил 2°C в час [15].

Состояние фотосинтетического аппарата определяли с помощью хронофлуориметра Floratest [16]. На основании фотоиндукционных кривых рассчитывали следующие параметры: $F_v = F_m - F_0$ – вари-

Таблица 1

Характеристика потенциальной морозостойкости представителей сем. Oleaceae

Генотип	Начальные повреждающие температуры	Критические температуры
<i>O. europaea</i> 'Асколяно'	$-6^{\circ}\text{C} \dots -8^{\circ}\text{C}$	$-12^{\circ}\text{C} \dots -14^{\circ}\text{C}$
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	$-4^{\circ}\text{C} \dots -6^{\circ}\text{C}$	$-10^{\circ}\text{C} \dots -12^{\circ}\text{C}$
<i>O. europaea</i> 'Кореджиоло'	$-6^{\circ}\text{C} \dots -8^{\circ}\text{C}$	$-12^{\circ}\text{C} \dots -14^{\circ}\text{C}$
<i>O. europaea</i> 'Никитская'	$-8^{\circ}\text{C} \dots -10^{\circ}\text{C}$	$-16^{\circ}\text{C} \dots -18^{\circ}\text{C}$
<i>L. lucidum</i>	$-8^{\circ}\text{C} \dots -10^{\circ}\text{C}$	$-12^{\circ}\text{C} \dots -15^{\circ}\text{C}$
<i>L. compactum</i>	$-6^{\circ}\text{C} \dots -8^{\circ}\text{C}$	$-10^{\circ}\text{C} \dots -12^{\circ}\text{C}$

абельная флуоресценция; F_v/F_m – эффективность световой фазы фотосинтеза; F_v/F_0 – соотношение констант скоростей реакции фотохимической и нефотохимической дезактивации, $Rfd=(F_m-F_{st})/F_{st}$ – индекс витальности, коэффициент спада флуоресценции, F_m/F_0 – в неповрежденных листьях это соотношение составляет примерно 4-5, при разрушении структур ФС II – может снижаться до 1 [17]. Эксперименты проводили в 3-кратной повторности.

Суммарное содержание фенольных веществ определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [18]. Контролем служили побеги, отобранные на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Концентрации олеуропеина, рутина, цинарозида и апигенин-7-О-глюкозида определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [19] на хроматографе Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США) с диодноматричным детектором DAD-3000. Анализ производили на аналитической хроматографической колонке Zorbax Eclipse Plus C18 (4.6 мм × 250 мм × 5 мкм) при градиентном режиме элюирования. Элюент подвижной фазы А – ацетонитрил, элюент В – 0.1% водный раствор муравьиной кислоты. Состав элюента изменялся по схеме: 0-5 мин – 5% А, 5-35 мин – подъем от 5 до 30% А, 35-40 мин – подъем от 30 до 90% А, 40-41 мин – подъем до 100% А, 41-46 мин – 100% А, 46-51 мин – снижение от 100% А до 5% А, 51-55 мин – 5% А. Скорость потока составляла 0.7 мл/мин, температура термостата колонок 400°C, объем вводимой пробы 7 мкл. Пики идентифицировали на основании совпадения времени удерживания аналита и стандартного образца, а также по совпадению УФ-спектров. Расчет количественного содержания каждого компонента производили по калибровочным графикам зависимости площади пика от концентрации вещества, построенным по растворам стандартных веществ. В качестве стандартов использовали рутин, апигенин-7-О-глюкозид, цинарозид и олеуропеин (Sigma-Aldrich, США). Для обеспечения однородности результатов содержание компонентов рассчитывали в пересчете на сухой вес.

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической и в 3-кратной аналитической повторностях. Для статистической обработки использовали программу MS Excel 2007. Достоверность различий между вариантами рассчитывали по *t*-критерию Стьюдента при 5% уровне значимости. В таблицах и на рисунке представлены средние значения и их стандартные ошибки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В предыдущих исследованиях нами было установлено, что отрицательные температуры близкие к абсолютному минимуму на ЮБК вызывают необратимые изменения в работе фотосинтетического аппарата у слабоустойчивых генотипов рода *Olea* L. Выявлена связь степени их морозостойкости с активностью окислительно-восстановительных ферментов и содержанием протекторных соединений в тканях листа. Поскольку температуры $\leq -7^\circ\text{C}$ являются опасными для субтропических растений и вероятность их наступления в этом регионе около 70% была проведена серия экспериментов по влиянию температуры -8°C [13, 20].

Анализ результатов показал, что действие температуры -8°C в течение 8 часов привело к инактивации фотосинтетического аппарата у слабостойких *L. compactum* и *O. europaea* subsp. *cuspidata*, о чем свидетельствовало низкое значение коэффициента спада флуоресценции (Rfd) – 0,96 и 0,5, соответственно. Снижение соотношения F_v/F_m до значений близких к 1 у этих таксонов связано с разрушением структур ФС II. (табл. 2).

У генотипов для которых температура -8°C является начальной повреждающей (сорта *O. europaea* Асколяно и Кореджиоло), в данных условиях наблюдалось существенное снижение параметров ИФХ, в отличие от морозостойкого – *L. lucidum*. У *L. lucidum* разница между контрольными значениями параметров ИФХ и данными, полученными через 24 часа после действия температуры -8°C , была достоверной только для коэффициента спада флуоресценции, который увеличился на 21%. (рис. 1).

Такая картина говорит о высоких репарационных способностях ФС II у этого вида, поскольку величина Rfd характеризует квантовую эффективность фотосинтеза [3].

Наиболее выраженные изменения в работе ФС II были характерны для *O. europaea* ‘Асколяно’. Следует отметить, что низкое значение вариабельной флуоресценции у *O. europaea* ‘Асколяно’, в отличие от *O. europaea* ‘Кореджиоло’, связано не только нарушением процессов восстановления акцепторов электронов в ФС II, но и с уменьшением количества молекул хлорофилла, входящих в антенный комплекс. Об этом свидетельствует снижение фоновой флуоресценции у *O. europaea* ‘Асколяно’ с 360 ± 14 у.е до 192 ± 8 у.е. Этот показатель у сорта *O. europaea* ‘Кореджиоло’ оставался неизменным и составил 360 ± 12 у.е. Подтверждением критических изменений в функциональном состоянии ФС II у *O.*

Таблица 2

Изменение параметров ИФХ у вечнозеленых видов семейства Oleaceae в результате действия температуры -8°C

Генотип	F_0	F_m	F_{st}	F_v/F_m
контроль				
<i>O. europaea</i> Асколяно	352±14	1416±39	408±15	0,75±0,25
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	208±10	560±25	208±11	0,63±0,21
<i>O. europaea</i> Кореджиоло	360±18	1608±46	448±26	0,78±0,23
<i>O. europaea</i> 'Никитская'	376±17	1560±48	408±23	0,76±0,26
<i>L. lucidum</i>	366±19	1141±41	369±14	0,68±0,24
<i>L. compactum</i>	272±10	994±32	224±12	0,63±0,24
опыт				
<i>O. europaea</i> Асколяно	192±8	416±23	192±8	0,54±0,14
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	224±13	336±19	224±11	1,5±0,02
<i>O. europaea</i> Кореджиоло	360±16	1360±43	432±21	0,73±0,22
<i>O. europaea</i> 'Никитская'	320±10	1136±42	368±13	0,72±0,21
<i>L. lucidum</i>	312±11	1024±37	290±9	0,69±0,22
<i>L. compactum</i>	312±10	465±18	232±10	1,49±0,03

europaea 'Асколяно' служит падение индекса vitality до пограничных значений, а также значительное снижение соотношения F_v/F_0 , в основном за счет уменьшения вариабельной флуоресценции, что связано с возрастанием количества невосстановленных Q_a в реакционных центрах [21].

Действие температуры -8°C в течение 8 часов стало причиной нарушения процессов электрон-

ного транспорта в ЭТЦ тиллакоидов и падения квантовой эффективности фотосинтеза на 24% у *O. europaea* 'Никитская'. Не смотря на выявленные изменения в параметрах ИФХ, а также снижение соотношения констант скоростей реакции фотохимической и нефотохимической дезактивации возбуждения в ФС II на 20%, достаточно высокое значение F_v/F_m , не позволяет сделать вы-

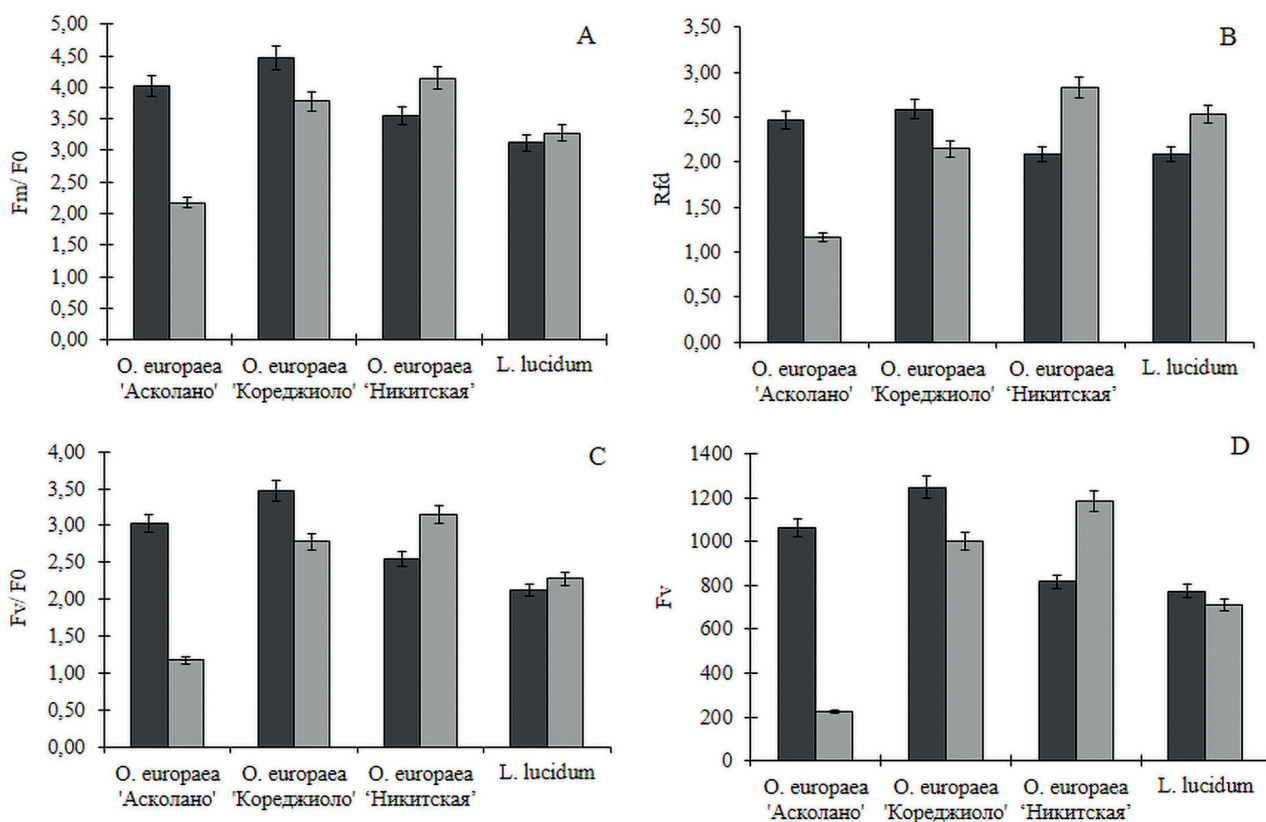


Рис. 1. Изменения соотношения F_m/F_0 (А), индекса vitality (В), соотношение констант скоростей реакции фотохимической и нефотохимической дезактивации (С) и вариабельной флуоресценции (D) у вечнозеленых видов семейства Oleaceae до (1) и после действия температуры -8°C (2).

вод о деструктивных изменениях в ФС II у этого сорта. Характер изменений в работе фотосинтетического аппарата у морозостойкого вида *L. lucidum*, вызванных с действием отрицательной температуры, значительно отличался от таковых у генотипов *O. europaea*. С нашей точки зрения, такая картина связана с как видовыми особенностями, так и с высокой степенью морозостойкости данного вида. В частности, спустя 24 часа, после окончания действия отрицательной температуры, у *L. lucidum* наблюдалось снижение количества хлорофилла в антенных комплексах (на 10%). При этом, квантовая эффективность фотосинтеза возрастала на 21%. Поскольку достоверных различий между контрольными и опытными значениями соотношения максимальной и фоновой флуоресценции, а также F_v/F_0 не выявлено, то мы можем говорить об отсутствии стрессового состояния у *L. lucidum* и сохранении эффективности использования энергии возбуждения.

Для определения роли биологически активных веществ в формировании устойчивости представителей сем. Oleaceae к воздействию отрицательных температур изучено содержание суммы фенольных соединений, а также, относящихся к данному классу веществ: рутина, цинарозид, олеуропеина и апигенин-О-7-О-глюкозида. В природных условиях, в период максимальной вероятности наступления морозных дней на ЮБК, (контроль) максимальное содержание фенольных соединений выявлено в листьях подвиды *O. europaea* subsp. *cuspidata*, минимальное – у *L. lucidum* (Табл. 3). При действии -8°C в течение 8 ч. суммарное содержание фенольных соединений снижалось у генотипов, для которых данные условия являются критическими (*O. europaea* subsp.

cuspidata и *L. compactum*), а также у среднестойкого *O. europaea* 'Асколяно'. В листьях устойчивых генотипов (*L. lucidum* и *O. europaea* 'Никитская'), а также среднестойкого *O. europaea* 'Кореджиоло' оно практически не менялось. Наиболее выраженные изменения наблюдались у *O. europaea* 'Асколяно' и *L. compactum*, по-видимому, данные генотипы в период воздействия стрессового фактора активнее расходовали фенольные соединения.

Изучение индивидуальных фенольных соединений показало, что в контроле у видов рода *Ligustrum* L. отсутствовали олеуропеин и цинарозид, концентрации рутина практически совпадали (28-29 мг/100 г), а концентрация апигенин-7-О-глюкозида в листьях *L. lucidum* почти в 2 раза превосходила таковую у *L. compactum* (Табл. 3). После действия отрицательных температур в листьях *L. compactum* содержание рутина снизилось на 50%, а в листьях *L. lucidum* оно осталось неизменным. Существенных изменений в содержании апигенин-7-О-глюкозида у видов *Ligustrum* не выявлено. Снижение концентрации рутина у слабоморозостойкого *L. compactum* и его стабильный уровень в листьях устойчивого *L. lucidum* указывает на непосредственное участие данного соединения в защитных реакциях на низкотемпературный стресс у видов рода *Ligustrum*.

Ранее нами было показано, что у представителей рода *Olea*. олеуропеин, цинарозид и рутин участвуют в процессах формирования морозо- и зимостойкости. Установлено, что активация биосинтеза фенольных веществ у устойчивых генотипов маслины происходит предварительно в начале холодного периода, а у неустойчивых – во время действия начальных повреждающих температур [22]. Роль апигенин-7-О-глюкозида ранее не

Таблица 3

Содержание фенольных соединений в листьях представителей сем. Oleaceae в результате действия температуры -8°C

Образец	Вариант	Содержание, мг/100 г				
		Сумма фенольных соединений	олеуропеин	рутин	цинарозид	апигенин-7-О-глюкозид
<i>Ligustrum lucidum</i>	контроль	510±13	-	27,9±2,7	-	37,0±3,7
	опыт	510±12	-	32,5±3,2	-	33,1±3,3
<i>L. compactum</i>	контроль	960±25	-	29,5±2,9	-	19,8±1,9
	опыт	690±20	-	15,2±1,5	-	17,3±1,7
<i>O. europaea</i> 'Никитская'	контроль	780±19	81,8±8,1	33,0±3,3	41,5±4,1	40,0±3,6
	опыт	750±18	45,0±4,5	31,5±3,1	32,8±3,2	48,0±3,0
<i>O. europaea</i> 'Асколяно'	контроль	990±25	130±13	60,4±6,0	67,2±6,7	61,1±6,1
	опыт	870±22	52,6±5,2	102±10	180±18	78,5±7,9
<i>O. europaea</i> 'Кореджиоло'	контроль	900±23	180±18	48,1±4,8	37,2±3,7	10,1±1,0
	опыт	855±21	162±16	44,0±4,4	63,5±6,3	17,7±1,7
<i>O. europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i>	контроль	1170±29	520±52	134±13	112±11	72,7±7,2
	опыт	1125±17	102±10	148±14	189±18	124±12

изучалась. Нами была предпринята попытка выяснить какие изменения в фенольном комплексе маслины происходят при действии отрицательных температур близких к начальным повреждающим, а также определить степень участия апигенин-7-О-гликозида в защитных механизмах у генотипов рода *Olea* L. Проведенные исследования показали, что в контроле самым высоким содержанием как суммы фенольных веществ, так и индивидуальных соединений характеризовался подвид *O. europaea* subsp. *cuspidata*. Минимальные концентрации апигенин-7-О-гликозида и цинарозида отмечены у *O. europaea* 'Кореджиоло', а рутина и олеуропеина – для *O. europaea* 'Никитская'. При действии -8°C в течение 8 ч. концентрация цинарозида значительно возросла у всех генотипов маслины, за исключением *O. europaea* 'Никитская', более выраженный рост наблюдался у *O. europaea* 'Асколяно'. У данного сорта также довольно сильно увеличивалась концентрация рутина, в то время как у остальных генотипов она изменялось в пределах погрешности. Воздействие отрицательных температур приводило к увеличению содержания апигенин-7-О-гликозида у всех генотипов рода *Olea* L., в наибольшей степени у подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* и *O. europaea* 'Кореджиоло', в наименьшей – у *O. europaea* 'Никитская'.

Олеуропеин играет ключевую роль в реализации защитных механизмов при действии низкотемпературного стресса у *O. europaea* [12, 23]. Концентрация олеуропеина в условиях эксперимента снижалась у всех генотипов рода *Olea* L., максимально в листьях подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* и *O. europaea* 'Асколяно', минимально – у *O. europaea* 'Кореджиоло'. В целом, устойчивый генотип *O. europaea* 'Никитская' при действии отрицательных температур близких к начальным повреждающим отличался от всех изученных генотипов менее выраженными изменениями в содержании, как суммы фенольных веществ, так и индивидуальных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования влияния температуры -8°C на состояние фотосинтетического аппарата вечнозеленых видов семейства Oleaceae с различной степенью морозостойкости выявлено, что изменения в работе ФС II связаны как со степенью морозостойкости, так и с генотипическими особенностями. В частности, у представителей семейства Oleaceae для которых -8°C

ниже начальных повреждающих температур – *L. compactum* и *O. europaea* subsp. *cuspidata* наблюдалась необратимая инактивация фотосинтеза. У генотипов со средней степенью морозостойкости *O. europaea* 'Асколяно' и 'Кореджиоло', в таких условиях отмечены сортовые различия. Так, развитие стрессового состояния у *O. europaea* 'Асколяно' было связано как со снижением количества молекул хлорофилла в антенных комплексах ФС II, так и с нарушением процессов восстановления первичных акцепторов электронов. В то время как у *O. europaea* 'Кореджиоло' количество хлорофилла в антенных комплексах оставалось неизменным, а нарушения в процессах реокисления пластохинонов были связаны со снижением максимальной флуоресценции. Генотипы, для которых -8°C была равна или выше границы начальных повреждающих температур (*L. lucidum* и *O. europaea* 'Никитская') изменения в работе ФС II носили обратимый характер. У *L. lucidum* после действия отрицательной температуры отмечено увеличение квантовой эффективности фотосинтеза, в то время как у *O. europaea* 'Никитская', наблюдалось ее снижение, так же как и соотношения между константами скоростей реакций фотохимического и нефотохимического использования энергии возбуждения. Однако эти изменения параметров ИФХ не были критичными.

Изучение влияния отрицательной температуры на содержание фенольных соединений у представителей сем. Oleaceae с различной степенью морозостойкости показало, что у *O. europaea* 'Никитская' и *L. lucidum*, для которых -8°C являлась начальной повреждающей, происходили минимальные изменения содержания как суммы фенольных соединений, так и индивидуальных веществ, что по-видимому, связано со стабильностью процессов их биосинтеза и расходования в стрессовых условиях. Наиболее сильные изменения в содержании фенольных соединений выявлены у генотипов, для которых -8°C были ниже начальных повреждающих температур и приближались к критическим.

Установлено, что у видов рода *Ligustrum* L. рутин принимает участие в процессах адаптации к действию отрицательных температур. Развитие низкотемпературного стресса приводит к активизации биосинтеза флавоноидов (апигенин-7-О-гликозида, рутина и цинарозида) у представителей рода *Olea* L. и этот процесс зависит от степени устойчивости генотипов. Так, в листьях *O. europaea* subsp. *cuspidata* содержание апигенин-7-О-гликозида увеличивалось на 40%, а у *O. europaea* 'Никитская'

только на 7%. Снижение содержания олеuropeина, по-видимому, связано с его непосредственным участием в защитных реакциях растений при действии отрицательных температур и также зависит от морозостойкости изученных генотипов маслины.

Полученные данные о состоянии фотосинтетического аппарата и изменении содержания фенольных веществ вечнозеленых видов сем. Oleaceae могут быть использованы для экспресс-диагностики морозостойкости, а также для оценки глубины стрессового состояния при действии отрицательных температур. В практическом отношении это позволит оптимизировать ассортимент ценных декоративных растений для зеленого строительства.

Исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Физиолого-биохимические методы исследования растительных объектов» ФГБУН «НБС – ННЦ» (Ялта, Россия).

Выражаем благодарность куратору коллекции маслины ФГБУН «НБС – ННЦ» с.н.с., к.с.-х.н. Цюпке С.Ю.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Корсакова С.П., Корсаков П.Б. Изменение климатических норм на Южном берегу Крыма за последние 90 лет. // Биология растений и садоводство: теория, инновации. – 2023. – № 2 (167). – С.84-95.
2. Kalaji H.M., Schansker G., Brestic M. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel // Photosynthesis Research. – 2017. Vol. 132. – № 1. – P. 13-66.
3. Лысенко В.С., Вардуни Т.В., Сойер В.Г., Краснов В.П. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода // Фундаментальные исследования. – 2013. – №4 (1). – С. 112-120.
4. Карпун Ю. Н. Перспективы интродукции древесных растений из южного полушария на Черноморское побережье Кавказа (район Сочи) // Итоги и перспективы интродукции древесных растений в России. – 1998. – Вып. 9. – С. 1-40.
5. Talhaoui N., Taamalli A., Gomez-Caravaca A.M., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. Phenolic compounds in olive leaves: analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits // Food Res. Int. – 2015. – Vol. 77. – P. 92.
6. Pang Z., Zhi-yan Z., Wang W., Ma Y, Feng-Ju N., Zhang X., Han C. The advances in research on the pharmacological effects of Fructus Ligustri Lucidi // Biomed Res Int. – 2015. – Vol. 2015. – Article ID 281873.
7. Fu C.C., Xu F.Y., Qian Y.C., Koo H.L., Duan Y.F., Weng G.M., Fan T.P., Chen M.X., Zhu F.Y. Secondary Metabolites of Osmanthus fragrans: Metabolism and Medicinal Value // Frontiers in Pharmacology. – 2022. – Vol. 13. – Article ID 922204
8. Bonechi C., Donati A., Tamasi G., Pardini A., Rostom H., Leone G., Lamponi S., Consumi, M., Magnani, A., Rossi C. Chemical characterization of liposomes containing nutraceutical compounds: Tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein // Biophys. Chem. – 2019. – Vol. 246. – P. 25.
9. Liu X., Wang C.Y., Shao C.L., Frang Y.C., Wei Y.X., Zheng C.J., Sun L.L., Guan H.S. Chemical constituents from the fruits of Ligustrum lucidum // Chem Nat Compd. – 2010. – Vol. 46. – P. 701-703.
10. Otero D., Lorini A., Oliveira F., Antunes B., Oliveira R., Zambiasi R. Leaves of Olea europaea L. as a source of oleuropein: characteristics and biological aspects // Research, Society and Development. – 2021. – Vol. 10. – No. 13. – P. e185101321130.
11. Запрометов М.Н. О функциональной роли фенольных соединений в растениях // Физиология растений. – 1992. – Т. 39. – № 6. – С. 1197-1205.
12. Ortega-García F., Peragón J. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (Olea europaea L. cv. Picual) // J. Sci. Food Agric. – 2009. – Vol. 89. – P. 1565.
13. Губанова Т.Б., Браилко В.А., Мязина Л.Ф. Зимостойкость некоторых видов семейства Oleaceae в коллекции Никитского ботанического сада // Hortus Botanicus. – 2018. – Т. 13. – С. 250-259.
14. Губанова Т.Б. Влияние отрицательных температур на состояние фотосинтетического аппарата вечнозеленых видов рода Osmanthus Lour. // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2020. – № 137. – С. 133-138.
15. Физиологические и биофизические методы в селекции плодовых культур. Методические рекомендации / Под ред. А.И. Лищук. – Москва, 1991. – 67 с.
16. Romanov V.A., Galelyuka I.B., Sarakhan Ie.V. Portable fluorometer Floratest and specifics of its application // Sensor Electronics and Microsystem Technol. – 2010. – Vol. 1 (7). – № 3. – P. 39-44.
17. Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С.И. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология растений. – 2016. – Vol. 63. – № 6. – С. 881-907.

18. Методы теххимического контроля в виноделии / Под ред. В.Г. Гержиковой. – Симферополь, 2002. – 259 с.

19. Plazonic A., Bucar F., Males Z., Mornar A., Nigovi B., Kujundzic N. Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpos* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry // *Molecules*. – 2009. – Vol. 14. – № 7. – P. 2466-2490.

20. Губанова Т.Б., Палий А.Е. Физиолого-биохимические аспекты морозостойкости *Olea europaea* L. // *Физиология растений*. – 2020. – Т. 67. – № 4. – С. 428-437.

21. Yordanov I., Stefanov D., Krasteva V., Gourmanova M., Goltsev V. Drought stress responses in plants – molecular biology, physiology and agronomical aspects // *Agricultural Sciences*. – 2012. – Vol. 4 (8). – P. 7-20.

22. Paliy A.E., Gubanova T.B. The role of some flavonoids and oleuropein in the formation of frost resistance of *Olea europaea* L. // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2023. – Vol. 70. No. 164. – P. 1-11.

23. Jiang C., Hu W., Lu H., Chen L., Niu E., Zhu S., Shen G. Alterations of phenotype, physiology, and functional substances reveal the chilling-tolerant mechanism in two common *Olea europaea* cultivars // *Front. Plant Sci*. – 2023. – Vol. 14. – Article ID 1046719.

ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр» РАН

*Палий Анфиса Евгеньевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений

E-mail: onlabor@yandex.ru

Палий Иван Николаевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений

E-mail: runastep@yandex.ru

Губанова Татьяна Борисовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений

E-mail: gubanova-65@list.ru

FSBSI "Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center" RAS

Paliy Anfisa E., PhD., leader researcher of biochemistry, physiology and reproductive biology of plants laboratory

E-mail: onlabor@yandex.ru

Paliy Ivan N., PhD., senior researcher of biochemistry, physiology and reproductive biology of plants laboratory

E-mail: runastep@yandex.ru

Gubanova Tatyana B. PhD., leader researcher of biochemistry, physiology and reproductive biology of plants laboratory

E-mail: gubanova-65@list.ru

LOW TEMPERATURES EFFECT ON PHENOLIC COMPLEX AND PHOTOSYNTHESIS IN SOME SPECIES OF OLEACEAE FAMILY

A.E. Paliy, I.N. Paliy, T.B. Gubanova

FSBSI "Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center" RAS

Abstract. Significant climate changes have caused a shift in the timing of the growing season and the onset of dormancy in species of subtropical origin, and therefore the probability of their damage by negative temperatures in winter has increased in the areas of introduction. In this regard, the goal of the research was to find out the characteristics of the photosynthetic apparatus functioning and changes in the amount of phenolic compounds under the pressure of negative temperatures in some evergreen Oleaceae species characterized by various degrees of frost resistance.

The following Oleaceae species were selected as objects of the research: *Olea europaea* L., *O. europaea* subsp. *cuspidata* (Wall. and G. Don) Cif., *Ligustrum lucidum* W.T. Aiton, *Ligustrum compactum* Wall. Ex G. Don) Hook. f. & Thomson ex Brandis. To determine the effect of negative temperatures on the state of the photosynthetic apparatus and the amount of phenolic compounds, a series of experiments was carried out on artificial cooling of one-year-old shoots at -8°C for 8 hours.

It has been revealed that changes in the functioning of PS II associate with both the degree of frost resistance and genotypic characteristics. In Oleaceae species for which -8°C was lower than initial damaging temperatures, irreversible inactivation of photosynthesis was observed. In genotypes for which -8°C was equal to or higher than the limit of initial damaging temperatures, changes in the functioning of PS II were reversible. It has been shown that in frost-resistant genotypes there were minimal changes in the amount of both the total phenolic compounds and individual substances. It was found out that rutin took part in the processes of adaptation to the effect of negative temperatures in *Ligustrum* L. species. With an increase in low-temperature stress in *Olea* L. species, the biosynthesis of flavonoids (rutin, cynaroside and apigenin-7-O-glucoside) was activated, at the same time, a decrease in oleuropein amount was observed. The detected changes in the amount of flavonoids and oleuropein depended on the frost resistance degree of the studied olive genotypes.

Key words: *Olea europaea*, *Ligustrum lucidum*, *Ligustrum compactum*, frost resistance, photosynthesis, phenolic compounds

REFERENCES

1. Korsakova S.P., Korsakov P.B. Izmenenie klimaticheskikh norm na Juzhnom beregu Kryma za poslednie 90 let. // *Biologiya rasteniy i sadovodstvo: teoriya, innovatsii*. – 2023. – No. 2 (167). – P.84-95.
2. Kalaji H.M., Schansker G., Brestic M. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel // *Photosynthesis Research*. – 2017. Vol. 132. – № 1. – P. 13-66.
3. Lysenko V.S., Varduni T.V., Sojer V.G., Krasnov V.P. Fluorescenciya hlorofilla rasteniy kak pokazatel' jekologicheskogo stressa: teoreticheskie osnovy primeneniya metoda // *Fundamental'nye issledovaniya*. – 2013. –No. 4 (1). – P. 112-120.
4. Karpun Ju. N. Perspektivy introdukcii drevesnyh rasteniy iz juzhnogo polushariya na Chernomorskoe poberezh'e Kavkaza (rajon Sochi) // *Itogi i perspektivy introdukcii drevesnyh rasteniy v Rossii*. – 1998. – Vyp. 9. – P. 1-40.
5. Talhaoui N., Taamalli A., Gomez-Caravaca A.M., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. Phenolic compounds in olive leaves: analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits // *Food Res. Int.* – 2015. – Vol. 77. – P. 92.
6. Pang Z., Zhi-yan Z., Wang W., Ma Y, Feng-Ju N., Zhang X., Han C. The advances in research on the pharmacological effects of Fructus Ligustri Lucidi // *Biomed Res Int.* – 2015. – Vol. 2015. – Article ID 281873.
7. Fu C.C., Xu F.Y., Qian Y.C., Koo H.L., Duan Y.F., Weng G.M., Fan T.P., Chen M.X., Zhu F.Y. Secondary Metabolites of *Osmanthus fragrans*: Metabolism and Medicinal Value // *Frontiers in Pharmacology*. – 2022. – Vol. 13. – Article ID 922204
8. Bonechi C., Donati A., Tamasi G., Pardini A., Rostom H., Leone G., Lamponi S., Consumi, M., Magnani, A., Rossi C. Chemical characterization of liposomes containing nutraceutical compounds: Tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein // *Biophys. Chem.* – 2019. – Vol. 246. – P. 25.
9. Liu X., Wang C.Y., Shao C.L., Frang Y.C., Wei Y.X., Zheng C.J., Sun L.L., Guan H.S. Chemical constituents from the fruits of *Ligustrum lucidum* // *Chem Nat Compd.* – 2010. – Vol. 46. – P. 701-703.
10. Otero D., Lorini A., Oliveira F., Antunes B., Oliveira R., Zambiasi R. Leaves of *Olea europaea* L. as a source of oleuropein: characteristics and biological aspects // *Research, Society and Development*. – 2021. – Vol. 10. – No. 13. – P. e185101321130.
11. Zaprometov M.N. O funkcional'noj roli fenol'nyh soedinenij v rastenijah // *Fiziologiya rastenij*. – 1992. – T. 39. – No. 6. – P. 1197-1205.
12. Ortega-García F., Peragón J. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual) // *J. Sci. Food Agric.* – 2009. – Vol. 89. – P. 1565.
13. Gubanova T.B., Brailko V.A., Mjazina L.F. Zimostojkost' nekotoryh vidov semejstva Oleaceae v kollekcii Nikitskogo botanicheskogo sada // *Hortus Botanicus*. – 2018. – T. 13. – P. 250-259.
14. Gubanova T.B. Vlijanie otricateľnyh temperatur na sostojanie fotosinteticheskogo apparata vечнозеленых видов рода *Osmanthus* Lour. // *Bulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*. – 2020. – No 137. – P. 133-138.

15. Fiziologicheskie i biofizicheskie metody v selekcii plodovyh kul'tur. Metodicheskie rekomendacii / Pod. red. A.I. Lishhuk. – Moskva, 1991. – 67 s.
16. Romanov V.A., Galelyuka I.B., Sarakhan Ie.V. Portable fluorometer Floratest and specifics of its application // Sensor Electronics and Microsystem Technol. – 2010. – Vol. 1 (7). – № 3. – P. 39-44.
17. Gol'cev V.N., Kaladzhi H.M., Paunov M., Baba V., Horachek T., Mojski Ja., Kocel H., Allahverdiev S.I. Ispol'zovanie peremennoj fluorescencii hlorofilla dlja ocenki fiziologicheskogo sostojanija fotosinteticheskogo apparata rastenij // Fiziologija rastenij. – 2016. – Vol. 63. – No. 6. – P. 881-907.
18. Metody tehnohimicheskogo kontrolja v vinodelii / Pod red. V.G. Gerzhikovej. – Simferopol, 2002. – 259 s.
19. Plazonic A., Bucar F., Males Z., Mornar A., Nigovi B., Kujundzic N. Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpos* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry // Molecules. – 2009. – Vol. 14. – № 7. – P. 2466-2490.
20. Gubanova T.B., Palij A.E. Fiziologo-biohimicheskie aspekty morozostojkosti *Olea europaea* L. // Fiziologija rastenij. – 2020. – T. 67. – № 4. – S. 428-437.
21. Yordanov I., Stefanov D., Krasteva V., Gourmanova M., Goltsev V. Drought stress responses in plants – molecular biology, physiology and agronomical aspects // Agricultural Sciences. – 2012. – Vol. 4 (8). – P. 7-20.
22. Paliy A.E., Gubanova T.B. The role of some flavonoids and oleuropein in the formation of frost resistance of *Olea europaea* L. // Russian Journal of Plant Physiology. – 2023. – Vol. 70. No. 164. – P. 1-11.
23. Jiang C., Hu W., Lu H., Chen L., Niu E., Zhu S., Shen G. Alterations of phenotype, physiology, and functional substances reveal the chilling-tolerant mechanism in two common *Olea europaea* cultivars // Front. Plant Sci. – 2023. – Vol. 14. – Article ID 1046719.