

УДК 581.151 + 581.192.2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ФЛАВОНОИДОВ В *PHYSICIA STELLARIS* (L.) NYL ИЗ МЕСТ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

© Р.Г. Фархутдинов*, А.В. Щербаков, З.Р. Саитова

Башкирский государственный университет, ул. Заки Валиди, 32, Уфа, 450076 (Россия), e-mail: frg2@mail.ru

Определение морфометрических параметров (рост и вес) показало, что лучшие условия для развития лишайников были на территории лесостепного и горно-лесного районов, в сравнении с показателями г. Стерлитамака. Выявлено 4–5-кратное превышение по биомассе и почти 2-кратное по числу апотециев у лишайников, произрастающих в менее загрязненных районах. В ходе *фитохимических* исследований был определен качественный и количественный состав флавоноидов в лишайниках вида *Physcia stellaris* (L.) Nyl., собранных в местообитаниях с различным уровнем антропогенной нагрузки. Изменение состава флавоноидов рассматривается в литературе как показатель, характеризующий направленность синтеза вторичных метаболитов, необходимых растению для защиты от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Было установлено, что наиболее разнообразный количественный состав (128 соединений) веществ фенольной природы обнаружен в наименее загрязненном Ишимбайском районе РБ, а наименьшее количество (58 соединений) было обнаружено в г. Стерлитамаке. Анализ качественного и количественного состава флавоноидов показал, что в образцах из Ишимбайского района было обнаружено накопление нарингина, дигидрокверцетина, кверцетина. В образцах, полученных в Альшеевском районе, отмечались максимумы по содержанию рутина, а в образцах из г. Стерлитамака – физетина и нарингенина. Расчет потенциального антиоксидантного статуса показал, что в образцах из Ишимбайского района формировался максимальный уровень защитных веществ фенольной природы. Это свидетельствует об отсутствии прямой коррелятивной связи между ростовой реакцией на загрязнение окружающей среды и уровнем содержания флавоноидов в талломе лишайников.

Ключевые слова: *Physcia stellaris* (L.) Nyl, лишеноиндикация, флавоноиды, ВЭЖХ, потенциальный антиоксидантный статус.

Введение

Известно, что видовой состав и степень угнетения роста лишайников может являться маркером уровня антропогенной нагрузки и особенно – вредных промышленных выбросов [1]. Выживаемость любого организма в условиях стресса различной природы зависит от их способности синтезировать определенные биологически активные вещества протекторного действия, к которым, в частности, относят флавоноиды [2]. Существуют данные, что воздействие тяжелых металлов также может сказываться на накоплении лишайниками флавоноидов [3]. Однако есть работы, в которых описываются прямо противоположные явления – при техногенном воздействии содержание тех или иных фенольных соединений снижается, при этом авторы объясняют наблюдаемую картину угнетением процессов синтеза исследуемых соединений вредными экологическими факторами [4, 5].

В связи с этим представлялось интересным изучить, как сказывается антропогенное загрязнение на качественном и количественном разнообразии веществ фенольной природы.

Экспериментальная часть

Стерлитамак, с одной стороны, является городом с высокой антропогенной нагрузкой (индекс загрязнения атмосферы равен 9,2) [6], а с другой – располагается на границе двух природных зон: горно-лесной (Ишимбайский район) и предуральской лесостепи (Альшеевский район).

Фархутдинов Рашид Габдулхаевич – доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии, e-mail: frg2@mail.ru

Щербаков Аркадий Владимирович – кандидат биологических наук, доцент, кафедры биохимии и биотехнологии, e-mail: Humanist314@rambler.ru

Саитова Зия Равилевна – аспирант, e-mail: fleurzily@yandex.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

В ходе проведения описания лишенофлоры в лесах Ишимбайского и Альшеевского районов Республики Башкортостан и парках в г. Стерлитамак было установлено, что вид *Physcia stellaris* (L.) Nyl хорошо представлен на всех пробных площадках. Лишайники для исследований собирали в генеративном возрасте в сухую погоду на одноствольных деревьях липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill.) с длиной окружности ствола 70–160 см на высоте 0,9–1,65 м, без механических повреждений коры. При определении пробной площадки (10×10 м) учитывалось следующее: плотность лесопосадки, близость дорог и водоемов приуроченность к рельефу, разнообразие древесных пород, коэффициент встречаемости *Physcia stellaris* (L.) Nyl на исследуемой территории [7, 8]. Количество пробных площадок в каждой местности составляло 5. Средняя масса собранного материала каждого варианта в сухом состоянии составляла 250±5 г. При сборе талломов с деревьев учитывалось следующее: порода дерева, общее видовое богатство, плотность популяции, положение в синузии каждого таллома, освещенность, сохранность таллома [8]. Определяли в слоевищах *Physcia stellaris* следующие морфометрические признаки: площадь слоевища, максимальный линейный размер, биомасса, количество лопастей и количество апотециев, а также окраска апотециев, поврежденность, окраска талломов, плотность ризин [8]. Полученный растительный материал сушили до воздушно-сухого состояния и использовали для проведения морфометрических показателей и определения флавоноидов. Перед экстракцией сырье измельчали до размера частиц 1–2 мм.

Предварительные исследования по определению состава растворителя и степени экстракции показали, что наиболее эффективной была экстракция с использованием растворителей различной полярности: гексан → диэтиловый эфир → метил-трет-бутиловый эфир → этилацетат → бутанол → 70%-этанол. Все растворители имели степень чистоты ОСЧ. При использовании данной последовательности в гексановую и диэтиловую фракцию переходили неполярные балластные органические соединения, а флавоноиды оказывались в последующих фракциях. В коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл помещали 25 г воздушно-сухого сырья лишайников и приливали 100 мл гексана. Настаивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Полученный раствор фильтровали через фильтр Шотта с пористостью 100 мкм. Настаивание повторяли еще 2 раза. Объединенный экстракт упаривали на роторном испарителе. Экстракты, полученные при помощи гексана, содержали в себе неполярные вещества и в дальнейшем при анализе не использовались. Затем аналогично последовательно осуществлялась экстракция сырья диэтиловым эфиром, метил-трет-бутиловым эфиром, этилацетатом, бутанолом и 70%-ным этиловым спиртом. Каждый образец подвергался трехкратной экстракции, полученные экстракты объединяли, высушивали до сухого остатка.

Определение количественного содержания и качественного состава флавоноидов в сухом экстракте лишайников проводили методом ВЭЖХ. Хроматографический анализ проводили на системе Waters Breeze. В предварительных опытах, в которых проводился подбор экстрагента, состав подвижной фазы элюирующего раствора и выбор длины волны идентификации (были апробированы длины волн 254, 275, 290, 360, 375 нм) было установлено, что лучшая идентификация флавоноидов проходила при длине волны 275 нм. Определение проводили при градиентном элюировании на колонке Nova-Pak C18 4 мкм, 3,9×300 мм. Для подвижной фазы использовался элюент следующего состава: вода : ацетонитрил = градиент. Скорость потока 1 мл/мин.

Пробу экстрактов лишайников объемом 50 мкл вводили в инжектор по 2–3 раза. Концентрация экстрактов была 1 мг/мл. Определяли площадь пика флавоноидов, вычисляя средние значения параллельных определений, и по калибровочным графикам находили концентрацию в экстракте. Использовались калибровочные кривые, построенные по стандартным образцам: физетина, нарингенина, нарингина, дигидрокверцетина, кверцетина, рутина. Для построения калибровочного графика использовали стандарты, растворенные в элюенте с концентрациями 0,5 и 1 мг/мл, который подвергали хроматографированию при тех же условиях, как и исследуемые экстракты. Сопоставление времен удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов со временами удерживания пиков стандартных образцов позволили идентифицировать флавоноиды, имеющие стандарты. Расчет количества флавоноидов X (% от массы сухого сырья) проводили по формуле

$$X = (Dm/M) \cdot 100\%,$$

где D – содержание флавоноида в 1 мл испытуемого раствора, найденное по калибровочному графику построенному по стандарту, мг/мл; m – масса сырья в экстракте, г; M – общая масса воздушно-сухого сырья, г [9, 10].

Для оценки общей антиоксидантной активности флавоноидов нами был использован показатель суммарной потенциальной неспецифической антиоксидантной активности флавоноидов – антиоксидантный статус (АС), который рассчитывался как сумма произведений содержания отдельных флавоноидов в растительном сырье (в мг/г сух. массы) на стандартные показатели оценки их антиоксидантной активности [11, 12]. Эти показатели определялись по стандартной методике и выражались в тролокс-эквивалентах (TEAC, trolox equivalent antioxidant capacity, мМоль, [11]), то есть в единицах концентрации в растворе синтетического антиоксиданта тролокса, используемого в качестве стандарта:

$$AC = \sum_n^{i=1} TEAC_i \times []_i$$

где АС – антиоксидантный статус; TEAC – тролокс-эквивалент флавоноида, мМ; []_i – содержание флавоноида в образце, мг/г сухого веса.

Таким образом, можно, проведя соответствующие вычисления, оценить то, какие флавоноиды в наибольшей степени участвуют в создании общей картины потенциальной антиоксидантной активности.

Обсуждение результатов

Анализ морфометрических признаков (рост и вес) показал, что лучшие условия для развития лишайников были на территории как лесостепного Альшеевского района, так и горно-лесного Ишимбайского района. В сравнении с показателями г. Стерлитамака было выявлено 4–5-кратное превышение по биомассе, почти 2-кратное – по числу апотециев (табл. 1). Содержание воды в талломах лишайников г. Стерлитамака было в 2–4 раза меньшим, чем в «районных» образцах. Эти данные свидетельствуют, что популяция *Physcia stellaris* (L.) Nyl., расположенная в г. Стерлитамаке, испытывала негативное действие окружающей среды.

При анализе данных содержания флавоноидов были установлены различия как в количественном содержании, так и качественном составе флавоноидов (табл. 2). Анализ хроматограмм образцов лишайников показал на неоднородный видовой состав соединений фенольной природы (табл. 2). Так, в образцах г. Стерлитамака было обнаружено 58 видов соединений, в исследованных образцах из Альшеевского района число соединений составило 78, а в образцах, собранных в Ишимбайском районе, обнаружено значительно больше соединений – 128. Различия в количественном и качественном составе между образцами Ишимбайского и Альшеевских районов, вероятно, связаны с нахождением их в разных природных зонах – горно-лесной и лесостепной соответственно. Ранее Н.В. Загоскиной с соавторами [2, 13] было установлено, что разные виды лишайников, произрастающие в сходных условиях, имели различный качественный и количественный состав. Однако при изучении одного вида на межпопуляционном уровне установление типичного для популяции «флавоноидного фенотипа» [14, 15] который позволил бы выявить достаточно четко его связь с определенным экологическим загрязнением, нам не удалось обнаружить.

В образцах из Ишимбайского района было установлено самое высокое суммарное содержание флавоноидов на единицу массы лишайника по сравнению с другими территориями (табл. 2). Самое меньшее содержание флавоноидов было в образцах лишайников из Альшеевского района. Более детальный анализ качественного состава флавоноидов показал, что «лидерство» Ишимбайского района связано с накоплением нарингина, дигидрокверцетина, кверцетина. В образцах, полученных в Альшеевском районе, отмечались максимумы по содержанию рутина, а в г. Стерлитамаке – по содержанию физетина и нарингенина. Разный уровень содержания различных групп флавоноидов, вероятно, связан с особенностями метаболизма фенольных соединений.

Таблица 1. Качественные признаки ценопопуляций *Physcia stellaris* (L.) Nyl.

Признак	г. Стерлитамак	Альшеевский район	Ишимбайский район
Биомасса, г	0,03±0,02	0,15*±0,06	0,12*±0,05
Длина, мм	13,81±2,72	15,86±2,52	16,44±3,04
Площадь, мм ²	118,17±18,47	168,13*±16,49	161,18*±12,26
Число апотециев, шт.	39,7±6,05	87,1*±8,94	84,3*±11,4
Число лопастей, шт.	20,0±3,61	31,0*±4,94	33,1*±4,14
Содержание воды, %	11,1±1,19	20,3*±2,46	46,4*±6,02

*Различия между образцами г. Стерлитамака и районов достоверны при P≤0,05.

Таблица 2. Количественный и качественный состав флавоноидов

Место сбора	Количество соединений фенольной природы	Содержание флавоноидов, $\times 10^{-3}$ мг/г сухой массы						
		Дигидрокверцетин	Нарингин	Рутин	Кверцетин	Нарингенин	Физетин	Сумма
г. Стерлитамак	58	0,55 \pm 0,01	4 \pm 0,2	4 \pm 0,2	4,8 \pm 0,2	4,25 \pm 0,18	7,85 \pm 0,4	23,45 \pm 3
Альшеевский район	78	6,5* \pm 0,47	0,95 \pm 0,01	7,5 \pm 0,33	1,6 \pm 0,03	2 \pm 0,05	0	18,55 \pm 2,4
Ишимбайский район	128	9,5* \pm 0,82	7,5 \pm 0,27	0,5 \pm 0,01	7,5 \pm 0,36	0,7 \pm 0,02	4,5 \pm 0,18	30,25 \pm 3

*Различия между образцами г. Стерлитамака и районов достоверны при $P \leq 0,05$.

Таблица 3. Содержание флавоноидов и их антиоксидантный статус в *Physcia stellaris*, произрастающих в разных условиях

Параметр	Соединение						Всего
	Дигидрокверцетин	Нарингин	Рутин	Кверцетин	Нарингенин	Физетин	
ТЕАС*, мМ	1,9	0,5	2,4	4,7	1,53	0,8	
г. Стерлитамак							
Содержание, мг/г сух. массы	0,55 \pm 0,01	4 \pm 0,2	4 \pm 0,2	4,8 \pm 0,2	4,25 \pm 0,18	7,85 \pm 0,4	23,45 \pm 3
Антиоксидантный статус	1,05	2	9,6	22,56	6,5	6,28	47,99
Альшеевский район							
Содержание, мг/г сух. массы	6,5 \pm 0,47	0,95 \pm 0,01	7,5 \pm 0,33	1,6 \pm 0,03	2 \pm 0,05	0	18,55 \pm 2,4
Антиоксидантный статус	12,35	0,48	18	7,52	3,06	0	41,41
Ишимбайский район							
Содержание, мг/г сух. массы	9,5 \pm 0,82	7,5 \pm 0,27	0,5 \pm 0,01	7,5 \pm 0,36	0,7 \pm 0,02	4,5 \pm 0,18	30,25 \pm 3
Антиоксидантный статус	18,05	3,75	1,2	35,49	1,07	3,6	63,16

Примечание. *Значение ТЕАС, мМ по Н.А. Тюкавкиной [11].

Н.А. Тюкавкиной (2008) был предложен способ определения антиоксидантной активности флавоноидов в зависимости от их химической формулы [11]. Нами был определен вклад установленных флавоноидов в формирование общего антиоксидантного статуса (табл. 3), который можно использовать как интегрированный показатель ответной реакции организма растения на стрессовую нагрузку [12].

Как следует из таблицы 3, максимальный потенциальный антиоксидантный статус был рассчитан в образцах лишайников из Ишимбайского района, в образцах, собранных в г. Стерлитамаке, было определено промежуточное значение, а минимальный статус был установлен в Альшеевском районе.

Расчеты показали, что важную роль в формировании антиоксидантного статуса в образцах из г. Стерлитамака и Ишимбайского района играл кверцетин, а в Альшеевском районе – рутин (табл. 3). Важным слагаемым в антиоксидантном статусе образцов Альшеевского и Ишимбайского районов являлся дигидрокверцетин, который почти отсутствовал в образцах из г. Стерлитамака. Интересным было то, что в образцах из Альшеевского района отсутствовал флавоноид – физетин, которого в свою очередь было больше всего в образцах г. Стерлитамака.

Выводы

Таким образом, наибольшее разнообразие веществ фенольной природы установлено в образцах, собранных в горно-лесном Ишимбайском районе – 128 соединений. Там же наблюдалось максимальное содержание флавоноидов в образцах, и был отмечен самый высокий потенциальный антиоксидантный статус веществ фенольной природы. В лесостепном Альшеевском районе было показано как более низкое число соединений фенольной природы (78), так и более низкие значения уровня содержания флавоноидов на единицу массы. Рост лишайников *Physcia stellaris* (L.) Nyl. в условиях загрязнения окружающей среды (г. Стерлитамак) привел к снижению числа представителей веществ фенольной природы. В наших исследованиях нам не удалось установить взаимосвязь между определенной нами суммарной антиоксидантной

активностью флавоноидов и ростом лишайников в условиях антропогенного загрязнения. Вероятно, наиболее значимой в реализации адаптационных механизмов является вариабельность состава и концентрации индивидуальных фенольных соединений в талломе лишайников как под действием естественных, так антропогенных факторов.

Список литературы

1. Fernández-Moriano C., Gómez-Serranillos M.P., Crespo A. Antioxidant potential of lichen species and their secondary metabolites. A systematic review // *Pharmaceutical Biology*. 2016. Vol. 54. N1, 2. Pp. 1–17.
2. Загоскина Н.В., Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Заварзин А.А., Заварзина А.Г. Водорастворимые фенольные соединения у лишайников // *Микробиология*. 2013. Т. 82. №4. С. 434–441.
3. Заварзина А.Г., Заварзин А.А. Лакказная и тирозиназная активности у лишайников // *Микробиология*. 2006. Т. 75. №5. С. 630–641.
4. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // *Физиология растений*. 2006. Т. 53. С. 285–308.
5. Баяндина И.И. Влияние сернокислого цинка на содержание гиперидинов и флавоноидов зверобоя продырявленного // *Материалы VII междунар. симпозиума по фенольным соединениям*. М., 2009. С. 30–31.
6. Государственный доклад о состоянии окружающей среды г. Стерлитамак за 2009 г. Стерлитамак, 2010. 189 с.
7. Михайлова В.А., Саитова З.Р., Фархутдинов Р.Г. Особенности видового состава лишайнобиоты Башкортостана // *Вестник Башкирского университета*. 2013. Т. 18. №2. С. 392–394.
8. Саитова З.Р., Фархутдинов Р.Г., Михайлова В.А. Лишайноиндикация качества воздуха в Ишимбайском заказнике Республики Башкортостан // *Вестник Удмуртского университета. Сер. Биология. Науки о Земле*. 2015. №5-2. С. 17–23.
9. Фархутдинов Р.Г., Кудашкина Н.В., Зайнуллин Р.А., Хасанова С.Р., Латыпова Г.М., Иванов И.И. Основы фитохимического анализа: учебное пособие. Уфа, 2016. 288 с.
10. Рудаков О.Б., Востров И.Л., Федоров С.В., Филиппов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А. Спутник хроматографа. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж, 2004. 528 с.
11. Тюкавкина Н.А. Органическая химия. Спецкурс: в 2 кн. Кн. 2. М.: Дрофа, 2008. 592 с.
12. Щербаков А.В., Даутова Г.Р., Усманов И.Ю. Межпопуляционная изменчивость флавоноидов хелатирующего комплекса солодки Коржинского *Glycyrrhiza Korshinskyi* на Южном Урале // *Вестник Башкирского университета*. 2014. Т. 19. №1. С. 67–74.
13. Загоскина Н.В., Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Заварзина А.Г., Заварзин А.А. О содержании фенольных соединений в различных видах лишайников Кольского полуострова // *Химия растительного сырья*. 2011. №4. С. 245–249.
14. Полякова Л.В., Ершова Э.А. Изменчивость фенольных соединений у некоторых травянистых и древесных растений от межпопуляционного до внутрииндивидуального (эндогенного) уровня // *Химия растительного сырья*. 2000. №1. С. 121–129.
15. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance // *Plant Science*. 2012. Vol. 196. Pp. 67–76.

Поступило в редакцию 20 июня 2016 г.

После переработки 3 июля 2017 г.

*Farkhutdinov R.G.**, *Shcherbakov A.V.*, *Saitova Z.R.* COMPARATIVE ANALYSIS OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION IN FLAVONOIDS *PHYSICIA STELLARIS* (L.) NYL WHO GREW UP IN PLACES OF DIFFERENT ANTHROPOGENIC LOAD

Bashkir State University, ul. Zaki Validi, 32, Ufa, 450076 (Russia), e-mail: frg2@mail.ru

The studies was defined qualitative and quantitative composition of flavonoids in lichen species *Physcia stellaris* (L.) Nyl., Collected in habitats with different levels of anthropogenic load. Changes in the composition of flavonoids is considered in the literature as an indicator of the direction of the synthesis of secondary metabolites by plants to protect against adverse environmental influences. It was found that the most diverse number of members (128 compounds), phenolic substances found in the least contaminated RB Ishimbai area and the fewest (58 compounds) was detected in Sterlitamak. Analysis of qualitative and quantitative composition of flavonoids showed that in the area of Ishimbaisky samples were found to accumulate naringin, dihydroquercetin, quercetin. The samples obtained in Alsheyevsky District noted in content highs routine, but samples Sterlitamak – fizetina and naringenin. The calculation of the potential antioxidant status showed that the samples of Ishimbaisky district formed the highest level of protection phenolic substances. It showed no direct correlation between the growth response to environmental pollution and the level of flavonoid content in the thallus of lichens.

Keywords: *Physcia stellaris* (L.) Nyl, lichenoidication, flavonoids, flavonoid extraction, HPLC, potential antioxidant status.

References

1. Fernández-Moriano C., Gómez-Serranillos M.P., Crespo A. *Pharmaceutical Biology*, 2016, vol. 54, no. 1, 2, pp. 1–17.
2. Zagorskina N.V., Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Zavarzin A.A., Zavarzina A.G. *Mikrobiologiya*, 2013, vol. 82, no. 4, pp. 434–441. (in Russ.).
3. Zavarzina A.G., Zavarzin A.A. *Mikrobiologiya*, 2006, vol. 75, no. 5, pp. 630–641. (in Russ.).
4. Seregin I.V., Ivanov V.B. *Fiziologiya rastenii*, 2006, vol. 53, pp. 285–308. (in Russ.).
5. Baiandina I.I. *Materialy VII mezhdunarodnogo simpoziuma po fenol'nym soedineniyam*. [Materials of the VII International Symposium on Phenolic Compounds]. Moscow, 2009, pp. 30–31. (in Russ.).
6. *Gosudarstvennyi doklad o sostoianii okruzhaiushchei sredy g. Sterlitamak za 2009 g.* [State report on the state of the environment in Sterlitamak for 2009]. Sterlitamak, 2010, 189 p. (in Russ.).
7. Mikhailova V.A., Saitova Z.R., Farkhutdinov R.G. *Vestnik Bashkirskogo universiteta*, 2013, vol. 18, no. 2, pp. 392–394. (in Russ.).
8. Saitova Z.R., Farkhutdinov R.G., Mikhailova V.A. *Vestnik udmurtskogo universiteta. Ser. Biologiya. Nauki o Zemle*, 2015, no. 5-2, pp. 17–23. (in Russ.).
9. Farkhutdinov R.G., Kudashkina N.V., Zainullin R.A., Khasanova S.R., Latypova G.M., Ivanov I.I. *Osnovy fitokhimicheskogo analiza: uchebnoe posobie*. [Fundamentals of phytochemical analysis: a textbook]. Ufa, 2016, 288 p. (in Russ.).
10. Rudakov O.B., Vostrov I.L., Fedorov S.V., Filippov A.A., Selemenev V.F., Pridantsev A.A. *Sputnik khromatografista. Metody zhidkostnoi khromatografii*. [The chromatograph's satellite. Methods of liquid chromatography]. Voronezh, 2004, 528 p. (in Russ.).
11. Tiukavkina N.A. *Organicheskaya khimiya. Spets kurs v 2 kn. Kn.2*. [Organic chemistry. Special course in 2 books. Book 2]. Moscow, 2008, 592 p. (in Russ.).
12. Shcherbakov A.V., Dautova G.R., Usmanov I.Iu. *Vestnik Bashkirskogo universiteta*, 2014, vol. 19, no. 1, pp. 67–74. (in Russ.).
13. Zagorskina N.V., Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Zavarzina A.G., Zavarzin A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ia*, 2011, no. 4, pp. 245–249. (in Russ.).
14. Poliakova L.V., Ershova E.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ia*, 2000, no. 1, pp. 121–129. (in Russ.).
15. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. *Plant Science*, 2012, vol. 196, pp. 67–76.

Received June 20, 2016

Revised July 3, 2017

* Corresponding author.