

УДК 581.192.2:582.736

ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА *TRIFOLIUM PANNONICUM* JACQ. СОРТА ПРЕМЬЕР В ЛЕСОСТЕПИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© Е.П. Храмова^{1*}, Е.В. Боголюбова², Т.А. Кукушкина¹, Т.М. Шалдаева¹, Г.К. Зверева^{2,3}

¹ Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,
ул. Золотодолинская, 101, Новосибирск, 630090 (Россия),
e-mail: khramova@ngs.ru

² Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН,
р.п. Краснообск, 630501 (Россия)

³ Новосибирский государственный педагогический университет,
ул. Вилюйская, 28, Новосибирск, 630126 (Россия)

В статье представлены данные по содержанию биологически активных соединений и суммарной активности антиоксидантов фенольного типа в листьях и соцветиях ценного кормового растения *Trifolium pannonicum* сорта Премьер, выращиваемого в разных агроклиматических подрайонах Новосибирской области – умеренно теплом увлажненном и умеренно теплом недостаточно увлажненном. Показано, что содержание флавонолов, катехинов, каротиноидов и пектиновых веществ в 1.1–1.6 раза выше у клевера паннонского из более увлажненного района, а танинов – в листьях растений (до 17.43%), выращиваемых в районе с недостаточным увлажнением. Антиоксидантная активность водно-этанольных экстрактов из листьев и соцветий *T. pannonicum* сорта Премьер варьировала от 1.48 до 2.20 мг/г. Максимум суммарной активности антиоксидантов обнаружен в соцветиях клевера паннонского из района с недостаточным увлажнением. Растительное сырье *T. pannonicum* сорта Премьер характеризуется достаточно высоким содержанием биологически активных веществ.

Ключевые слова: *Trifolium pannonicum*, флавонолы, танины, катехины, каротиноиды, пектиновые вещества, хлорофилл, антиоксидантная активность, Западная Сибирь.

Введение

Среди многообразия представителей семейства Fabaceae Lindl. привлекает внимание клевер паннонский (*Trifolium pannonicum* Jacq.) – травянистое поликарпическое растение. По таксономическому положению он относится к секции *Stenostoma*, одной из наиболее древних в подроде *Trifolium* [1]. В естественных местообитаниях *T. pannonicum* распространен в странах Средиземноморья – Франции, Италии, Греции, Болгарии, встречается также в Германии, Польше, Венгрии, Румынии. Восточная граница ареала проходит в

Западной Украине и Карпатах. В пределах своего географического ареала обитает на лугах, лесных опушках и светлых лесах, в степях. В горах встречается на высоте до 1700 м [2]. В сводках по кормовым растениям этот вид клевера характеризуется как ценный для сельскохозяйственного производства многолетник, хорошо поедаемый всеми видами скота [3, 4].

T. pannonicum интродуцирован в лесостепь Западной Сибири в 80-х годах прошлого века. Разнообразие экотипов вида свидетельствует о потенциальной пластичности и способности успешно

Храмова Елена Петровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фитохимии, e-mail: khramova@ngs.ru

Боголюбова Елена Васильевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: elenabogolyubova@yandex.ru

Кукушкина Татьяна Абдулхаиловна – старший научный сотрудник, e-mail: kukushkina-phyto@yandex.ru

Шалдаева Татьяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: tshaldaeva@yandex.ru

Зверева Галина Кимовна – доктор биологических наук, профессор кафедры биологии и экологии, главный научный сотрудник, e-mail: labsp@ngs.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

акклиматизироваться в условиях Сибири [5]. Среди нескольких популяций *T. pannonicum* разного эколого-географического происхождения наибольшее долголетие, зимостойкость, засухоустойчивость и приспособляемость к новым условиям проявила румынская, полученная из семян Ботанического сада г. Бухареста [6]. Методом многократного массового отбора была создана наиболее раннеспелая и продуктивная популяция, семена которой переданы в СибНИИ кормов Россельхозакадемии для дальнейшего испытания в качестве кормовой культуры и создания сорта для условий Сибири. Изучение *T. pannonicum* в одновидовых и смешанных посевах со злаками, а также при подсевах в естественный фитоценоз подтвердило его продуктивное долголетие, высокую конкурентоспособность, засухоустойчивость и зимостойкость [7, 8]. Первый в России сорт *T. pannonicum* Премьер, включенный в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию, создан в 2010 г. [9, 10].

В условиях лесостепи Западной Сибири в средневозрастном генеративном состоянии растение *T. pannonicum* представляет собой многостеблевой куст высотой 70–90 см с приподнимающимися по краям и прямостоячими в средней части генеративными и вегетативными побегами, общее число которых может составлять более двухсот. Стебель округлый, слабоветвящийся с 6–7 удлинёнными междоузлиями. Листья тройчатосложные крупные. Листочки нижних пластинок эллиптической формы, верхних – заостренные ланцетовидные. Длина пластинки у самых крупных 3-го и 4-го листьев составляет 5–7 см, ширина – 9–13 см. Нижние листья на длинных черешках – до 8 см длиной, у верхних – они более короткие. Стебель заканчивается верхушечным соцветием – широкоцилиндрической головкой длиной 4–7 см, шириной 3–4 см. В благоприятные по увлажнению годы или у хорошо развитых особей у краевых стеблей развиваются пазушные генеративные побеги с головками меньшего размера. Цветки молочно-белые 2.5–3 см длины. Плод – пленчатый односемянный боб. Большой размер листовых пластинок положительно отражается на уровне облиственности посевов. Так, у генеративных побегов в фазе начала бутонизации масса листьев составляет более 40%, во время цветения их доля снижается до 26%, но одновременно увеличивается масса соцветий, которые вместе с листьями являются наиболее питательной частью корма. Кроме того, в травостое клевера паннонского наряду с генеративными имеются удлинённые вегетативные побеги, которые также увеличивают общую массу листьев. В зависимости от долевого участия последних облиственность посевов в начале цветения составляет 40–45%. Устойчивости и долголетию *T. pannonicum* способствует строение корневой системы универсального типа. К концу 2-го года жизни стержневой корень проникает на глубину до 1 м, при этом в приповерхностном гумусовом горизонте развиваются горизонтально направленные придаточные и боковые корни. С возрастом корневая система углубляется до 3 м.

В условиях интродукции в Сибири клевер паннонский проявил не только устойчивость и долголетие, но и хорошие кормовые качества. Получаемые из него различные виды кормов по питательности сравнимы с таковыми из традиционно возделываемого клевера лугового. Так, содержание сырого протеина в его зеленой массе в фазу бутонизации достигает 18.5%, снижаясь к фазе созревания семян до 14.8%, в сене оно составляет от 16.0 до 11.2%, в сенаже – от 16.3 до 13.0% соответственно [11].

Клевер паннонский, как и многие бобовые растения, улучшает почву за счет корневых клубеньков, содержащих симбиотические азотфиксирующие бактерии, которые обогащают почву гумусом и азотом, а разветвленные корни растения облегчают ее дренаж и задерживают влагу. Помимо кормовой ценности клевер – прекрасное медоносное растение, в местах его естественного произрастания в странах Юго-Восточной Европы и Средиземноморья используется в народной медицине, например, в Турции для лечения кожных заболеваний [12]. Для извлечений из растений *T. pannonicum* показана высокая антибактериальная [13, 14], антиоксидантная [15], противоопухолевая и антипролиферативная активность [12, 15]. Высокая биологическая активность вида, скорее всего, обусловлена фенольными соединениями, которые широко и разнообразно распространены в растениях этого рода [16]. При этом химический состав клевера паннонского мало изучен, сведения о нем в литературе представлены фрагментарно. Так, у *T. pannonicum* обнаружены тритерпеновые сапонины в семенах и флавоноиды в надземной части [12]. Из листьев выделены и идентифицированы флавоны – гиспидулин-7-глюкозид, лютеолин-7-β-D-глюкозид, лютеолин-7-β-D-глюкуронид [17, 18], апигенин [15], лютеолин-7-галактозид [19]; флавонолы – кверцетин-3-галактозид (гиперозид), кверцетин-3-глюкозид (изокверцитрин), кверцетин-3-O-рутинозид (рутин), кверцетин, мирицетин [15, 19], изофлавоны – генистин [20], галловая и кофейная кислоты [15]. При этом сведений о биохимическом составе сорта *T. pannonicum* Премьер и его антиоксидантной активности в литературных источниках нами не обнаружено.

Цель работы заключалась в определении содержания биологически активных соединений и суммарной активности антиоксидантов фенольного типа в листьях и соцветиях *Trifolium pannonicum* сорта Премьер, произрастающего в разных агроклиматических подрайонах Новосибирской области, для биохимической характеристики растительного сырья.

Материалы, условия и методика исследований

Отбор материала проводился в фазе цветения в 2018 г. на двух опытных участках с посевами *T. pannonicum* сорта Премьер, расположенных в разных агроклиматических подрайонах Новосибирской области: умеренно теплом увлажненном подрайоне (ГТК=1.2–1.4) (Черепановский район) и умеренно теплом недостаточно увлажненном (ГТК=1.0–1.2) (Новосибирский район) [21]. По характеру растительности оба района исследований принадлежат к лесостепной зоне, дернисто-луговой подзоне.

Первый участок находится в Правобережной части Приобской лесостепи в предгорьях Салаирского кряжа (географические координаты: N 54°19'49.2" E 83°20'43.9"). Близость горной системы сказывается на более низких среднесуточных температурах воздуха (на 0.9–1.2 °C ниже по сравнению со вторым участком) и резких перепадах температур в течение суток, что проявляется на запаздывании фаз вегетации у клевера паннонского по сравнению с Новосибирским районом. Сбор материала проведен в 15-летнем луговом агроценозе, созданном при посеве *T. pannonicum* на многоскатном склоне северо-восточной экспозиции с углом наклона 3° в центральной и верхней его части на месте малопродуктивного разнотравно-пырейного сенокоса. Среднее доленое участие клевера к этому времени в общей массе травостоя составляло 90%. Почва данного участка лугово-черноземная оподзоленная с низким содержанием гумуса (1.72–1.95%) и основных макроэлементов – легкоподвижного фосфора (0.33–0.61 мг/100 г) и обменного калия (16.9–19.9 мг/100 г). В то же время отмечен высокий и повышенный уровень содержания обменных кальция и магния – 350.0 и 29.0 мг/100 г почвы соответственно. Реакция почвенного раствора близка к нейтральной [22].

Второй участок располагается на выровненной пашне в Левобережной части Приобской лесостепи (Новосибирский район) (географические координаты: N 54°54'34.0" E 083°00'35.0"). Возраст травостоя *T. pannonicum* – 4-летний. Почва – серая лесная глинистая, бедная гумусом (1.70%), подвижным фосфором и обменным калием – 0.65 и 18.4 мг/100 г, соответственно. Реакция почвенного раствора нейтральная [23].

По гидротермическим условиям вегетационный сезон 2018 г. в обоих агроклиматических подрайонах отличался немного превышающим норму увлажнением при средней теплообеспеченности. Более всего от среднесуточных значений отличался май – осадков выпало в 2.2–2.7 раза больше нормы при существенном (3 °C) недостатке тепла. Июнь также характеризовался повышенным увлажнением в сочетании с хорошей теплообеспеченностью – на 2.2–2.5 °C выше нормы. Погодные условия в начале сезона самым благоприятным образом отразились на развитии многолетних растений. В июле и августе, напротив, увлажнение было недостаточным в сочетании с близкой к норме температурой воздуха.

Для определения содержания БАВ и суммарной активности антиоксидантов (САО) брали по 60 генеративных побегов в фазу цветения из каждого участка. Сырье разделяли на листья и цветки, высушивали на воздухе в затененном месте, измельчали и отбирали репрезентативную пробу для анализа.

Количественное определение флавонолов проводили спектрофотометрическим методом, в котором использована реакция комплексообразования флавонолов с хлоридом алюминия [24]. Концентрацию флавонолов рассчитывали по рутину фирмы «Сhemapol».

Количественное содержание катехинов определяли спектрофотометрическим методом, основанном на способности катехинов давать малиновое окрашивание с раствором ванилина в концентрированной хлористоводородной кислоте. В две мерные пробирки переносили по 0.8 мл этанольного извлечения, в одну из них прибавляли 4 мл 1% раствора ванилина в концентрированной хлористоводородной кислоте. Объем обеих пробирок доводили до 5 мл концентрированной хлористоводородной кислотой. В качестве раствора сравнения использовали этанольное извлечение во второй пробирке без добавления ванилина. Оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 502 нм. Количественное содержание катехинов в пробе определяли по калибровочной кривой, построенной по (±)-катехину фирмы «Sigma» (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) [25].

Количественное определение танинов (гидролизуемых дубильных веществ) проводили по методике [26]. Навеску сырья 2 г помещали в колбу и добавляли 250 мл дистиллированной воды. Экстрагировали при умеренном кипячении в течение 30 мин, охлаждали, переносили в мерную колбу на 250 мл и доводили

дистиллированной водой до метки. После экстракции 10 мл извлечения переносили в мерную колбу на 100 мл, добавляли 10 мл 2% водного раствора аммония молибденовокислого, доводили до метки водой и оставляли на 15 мин. Интенсивность образовавшейся окраски измеряли на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 420 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве стандартного образца использовали танин «Sigma» (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA).

Содержание пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) определяли в ацетоново-этанольном извлечении спектрофотометрическим методом. Навеску сырья 0.1 г растирали в ступке до однородной массы, добавляя последовательно 0.1 г кальция карбоната для нейтрализации органических кислот, так как каротиноиды не устойчивы в кислой среде, 1 мл диметилформамида для устойчивости пигментов и 2 г натрия сульфата безводного. Экстракцию каротиноидов проводили ацетоном (40 мл – 1 раз и далее по 10 мл – 2 раза), после чего продолжали экстрагировать 96% этанолом (по 5 мл – 3 раза) для извлечения ликопина. Затем исчерпывающе экстрагировали ацетоном до исчезновения окраски. Измеряли объем объединенного извлечения [29]. Далее извлечения разбавляли ацетоном так, чтобы при измерении на спектрофотометре величина оптической плотности разбавленных растворов находилась в пределах от 0.1 до 0.8 единиц оптической плотности (е.о.п.). Концентрацию пигментов рассчитывали для хлорофиллов *a* и *b* при длинах волн 662 и 644 нм, для каротиноидов – при 440.5 нм на спектрофотометре СФ-56. Расчет концентрации пигментов (мг/дм³) проводили по формулам

$$C_a = 9.784 \times D_{662} - 0.99 \times D_{644};$$

$$C_b = 21.426 \times D_{644} - 4.65 \times D_{664};$$

$$C_{\text{кар.}} = 4.695 \times D_{440.5} - 0.268 \times (5.134 \times D_{662} - 20.436 \times D_{644}),$$

где C_a – концентрация хлорофилла *a* (мг/дм³), C_b – концентрация хлорофилла *b* (мг/дм³), $C_{\text{кар.}}$ – концентрация каротиноидов, мг/дм³; D – оптическая плотность извлечения.

Содержание пигментов (мг/г) определяли по формуле

$$X = C \times V_1 \times V_3 / M \times V_2 \times 1000,$$

где C – концентрация пигмента, мг/дм³; V_1 – объем исходной ацетонового извлечения, мл; V_2 – объем исходного извлечения, взятой для разбавления, мл; V_3 – объем разбавленного извлечения, мл; M – масса абсолютно сухого сырья, г [28].

Пектиновые вещества (пектины и протопектины) определяли бескарбазольным спектрофотометрическим методом, основанном на получении специфического желто-оранжевого окрашивания уроновых кислот с тимолом в сернокислой среде. Измельченную навеску растительного образца массой 2–3 г трехкратно экстрагировали горячим 80% этанолом в соотношении 1 : 10 на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 20–30 мин. для извлечения свободных углеводов, мешающих определению пектиновых веществ. Отфильтрованную пробу высушивали при $T=50$ °С до исчезновения запаха спирта. Сначала извлекали водой пектины, затем гидролизовали протопектины. После реакции с тимолом плотность окрашенных растворов измеряли на спектрофотометре фирмы Agilent 8453 (США) при длине волны 480 нм в кювете с рабочей длиной 1 см. Количественное содержание пектиновых веществ определяли по калибровочной кривой, построенной по галактуроновой кислоте [29].

Для определения суммарной активности антиоксидантов фенольного типа использовали оперативный амперометрический метод [30]. Измерения проводили на приборе «Цвет Яуза-01-АА» разработки НПО «Химавтоматика». Предварительно строили градуировочную кривую зависимости сигнала образца сравнения (галловой кислоты) от его концентрации. САА определяли в водно-спиртовых извлечениях, для получения которых 1.0 г сырья заливали 50 мл этанола (70%) и встряхивали в течение 1 ч на перемешивающем устройстве.

Все биохимические показатели рассчитаны на массу абсолютно сухого сырья. Определение содержания БАВ проводилось в трехкратной повторности, САА – в пятикратной. Статистическая обработка данных выполнена методами описательной статистики с использованием программ Statistica 8.0 и Microsoft Excel 2010.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования получены новые данные по содержанию биологически активных соединений в листьях и соцветиях клевера паннонского сорта Премьер, произрастающего в разных агроклиматических подрайонах Новосибирской области: умеренно теплом увлажненном подрайоне (Черепановский район) и умеренно теплом недостаточно увлажненном подрайоне (Новосибирский район) (табл. 1).

Достаточно высокое содержание флавонолов (4.17–4.73%) и катехинов (0.16–0.47%) выявлено в листьях и соцветиях клевера паннонского из обоих участков, при этом в соцветиях их количество выше, чем в листьях, вне зависимости от места произрастания. Сравнительный анализ показал, что в растениях из умеренно теплого увлажненного района (Черепановский район) содержание флавонолов незначительно выше, чем из района умеренно теплого с недостаточным увлажнением (Новосибирский район), за исключением катехинов, количество которых выше в листьях особой из Новосибирского района.

В литературе имеются сведения, что содержание флавоноидов *T. pannonicum*, собранного на территории Сербии (Балканский полуостров), составляет 159.7 мг/г в пересчете на рутин [31]. Полученные нами результаты свидетельствует о том, что хотя в сибирских образцах содержание флавоноидов ниже по сравнению с сербскими, тем не менее в листьях и соцветиях *T. pannonicum* сорта Премьер накапливается значительное количество флавоноидов, что представляет несомненный интерес к выращиваемому сырью, как источнику этих соединений.

Гидролизуемые танины относятся к полимерным фенольным соединениям и представляют собой сложные эфиры сахаров с галловой и (или) эллаговой кислотами, которые обладают широким спектром биологической активности, самыми важными из которых являются противовирусная, противоопухолевая и иммуномодулирующая активность. Кроме того, гидролизуемые танины выполняют в растении защитную функцию от насекомых [32]. По нашим данным, в большем количестве танины накапливаются в растениях *T. pannonicum*, произрастающих в более засушливом Новосибирском районе. В листьях их содержание выше по сравнению с соцветиями.

Пектин или пектиновые вещества присутствуют в клеточных стенках растений и также играют важную роль в защите тканей от растительных патогенов и ранений [33]. Пектиновые вещества, находящиеся в форме нерастворимых в воде соединений, известны под названием протопектинов. При созревании плодов и овощей протопектины в большей или меньшей степени переходят в пектин. Содержание пектиновых веществ в изучаемых растениях достаточно высокое, при этом основную долю в сумме веществ занимают протопектины (рис. 1). В растениях из более холодного и влажного подрайона (Черепановский район) протопектинов синтезируется на 11–15% больше, чем из Новосибирского района (табл. 1).

Основными фотосинтетическими пигментами листа являются хлорофиллы (Хл) и каротиноиды (Кар), улавливающие необходимую солнечную энергию и защищающие растения от вредных побочных продуктов процесса инсоляции. Количество пигментов и их соотношение существенно влияют на метаболизм растений и могут различаться в зависимости от вида или сорта растения, условий и места произрастания, онтогенетического состояния [34, 35]. Из наших данных следует, что содержание хлорофиллов (*a + b*) в листьях клевера паннонского снижалось от 7.80 мг/г в Новосибирском районе до 5.27 мг/г – в Черепановском районе, в то время как содержание каротиноидов, напротив, увеличивалось от 0.75 мг/г до 0.84 мг/г соответственно (табл. 2). Такая же тенденция отмечена в соцветиях растений, но содержание хлорофиллов и каротиноидов в них практически на порядок ниже, чем в листьях.

Таблица 1. Содержание фенольных соединений в листьях и соцветиях *Trifolium pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области (%)

Фенольные соединения	Орган растения	Содержание фенольных соединений, %	
		Новосибирский р-он (п. Краснообск)	Черепановский р-он (окр. ст. Посевная)
Флавонолы	листья	4.17±0.12	4.50±0.11
	соцветия	4.44±0.15	4.73±0.09
Катехины	листья	0.21±0.02	0.16±0.01
	соцветия	0.30±0.01	0.47±0.02
Танины	листья	17.43±0.35	15.50±0.12
	соцветия	11.44±0.18	11.28±0.11

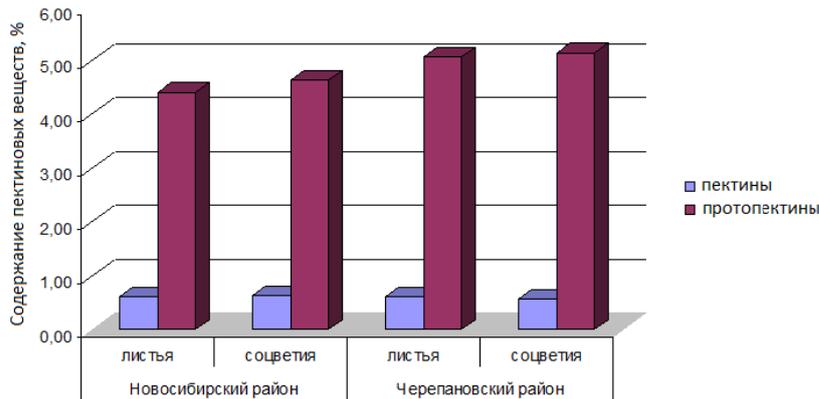


Рис. 1. Содержание пектиновых веществ в листьях и соцветиях *Trifolium pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области

Таблица 2. Количество фотосинтетических пигментов в листьях и соцветиях *Trifolium pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области (мг/г)

Место произрастания	Орган растения	Хл <i>a</i>	Хл <i>b</i>	Каротиноиды
Новосибирский р-н	листья	3.74±0.02	4.06±0.03	0.75±0.01
	соцветия	0.46±0.01	0.39±0.01	0.11±0.002
Черепановский р-н	листья	1.80±0.02	3.48±0.03	0.84±0.01
	соцветия	0.13±0.01	0.18±0.01	0.10±0.002

Фотосинтетические пигменты, будучи единым комплексом, находятся в определенных соотношениях, которые зависят от вида или сорта растений, условий произрастания, онтогенетического состояния и др. Величина соотношения хлорофиллов *a* и *b* в листьях растений из Новосибирского района составляет 0.9, Черепановского – 0.5, в соцветиях – 1.2 и 0.7 соответственно (табл. 3). Доля хлорофилла *b* в листьях и соцветиях снижается у растений в направлении с юга на север, т.е. из Черепановского в Новосибирский район. Также растения из Новосибирского района имеют максимальное значение отношения Хл/Кар в отличие от растений из Черепановского района.

Результаты по определению суммарной активности антиоксидантов фенольного типа показали, что растения *T. pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области проявляют высокую антиоксидантную активность (рис. 2), как показывает сравнительный анализ с другими растениями по литературным данным [36, 37]. Максимальное суммарное содержание антиоксидантов отмечено в соцветиях клевера паннонского из Черепановского района (2.20 мг/г), минимальное – из Новосибирского района (1.48 мг/г). В листьях растений содержание антиоксидантов отмечено практически на одном уровне. В работе Petrović M.P. с соавторами [31] показано, что растения клевера паннонского, произрастающие в Сербии, также проявляли высокую антиоксидантную активность. Скорее всего, антиоксидантная активность соцветий и листьев клевера паннонского связана с повышенным содержанием фенольных соединений (флавонолов, катехинов, танинов) в этих образцах, что находит подтверждение в литературе на примере других растений [37].

Таблица 3. Отношения фотосинтетических пигментов в листьях и соцветиях *Trifolium pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области

Место произрастания	Орган растения	Хлорофиллы <i>a/b</i>	Хлорофиллы/каротиноиды
Новосибирский р-н	листья	0.9	10
	соцветия	1.2	8
Черепановский р-н	листья	0.5	6
	соцветия	0.7	3

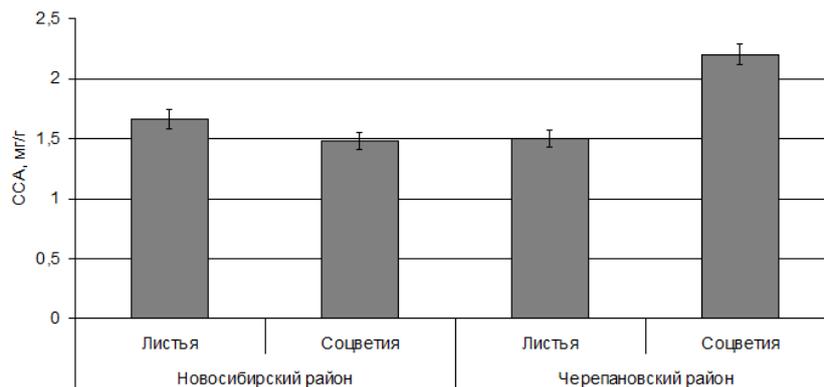


Рис. 2. Суммарное содержание антиоксидантов в листьях и соцветиях *Trifolium pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области

Заключение

В листьях и соцветиях *T. pannonicum* сорта Премьер из разных агроклиматических подрайонов Новосибирской области содержится комплекс биологически активных веществ, состоящий из фенольных соединений (флавонолов, танинов, катехинов), пигментов (хлорофиллов, каротиноидов), пектиновых веществ. Показано, что содержание флавонолов, катехинов, каротиноидов и пектиновых веществ в 1.1–1.6 раза выше у растений из более холодного и увлажненного района, танинов, напротив, – из более теплого и менее увлажненного района. Всем образцам свойственны высокие показатели антиоксидантной активности водно-этанольных экстрактов из листьев и соцветий, что, возможно, связано с повышенным содержанием фенольных соединений. В целом, растительное сырье *T. pannonicum* сорта Премьер характеризуется достаточно высоким содержанием биологически активных веществ.

Список литературы

1. Флора европейской части СССР / под ред. А.А. Федорова. Л., 1987. Т. 6. С. 199.
2. Бобров Е.Г. Виды клеверов СССР // Флора и систематика высших растений. М., Л., 1947. Вып. 6. С. 164–131.
3. Ларин И.В., Агабабян Ш.М., Работнов Т.А. Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР. М., Л., 1951. Т. 2. 688 с.
4. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. Л., 1971. 663 с.
5. Пленник Р.Я. Экологический ареал и морфобиологические адаптации вида в интродукции растений природной флоры // Бюллетень ГБС. 1990. Вып. 158. С. 14–17.
6. Жмудь Е.В. Биоморфологические особенности и ритмы развития двух популяций *Trifolium pannonicum* Jacq., выращиваемого в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (г. Новосибирск) // Растительные ресурсы. 1995. Т. 31, вып. 3. С. 65–73.
7. Боголюбова Е.В. Сравнительное изучение смешанных травостоев клевера лугового и клевера паннонского со злаками // Научное обеспечение кормопроизводства России: материалы международной научно-практ. конф., посвященной 100-летию ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса. М., 2012. С. 369–376.
8. Боголюбова Е.В. Луговые агроценозы на основе клевера паннонского (*Trifolium pannonicum* Jacq.) в Приобской лесостепи // Проблемы изучения растительного покрова Сибири: материалы V международной научной конференции. Томск, 2015. С. 102–104.
9. Патент №5907 (РФ). Клевер паннонский Премьер / З.В. Агаркова, И.Я. Архипов, Е.В. Боголюбова, Е.В. Жмудь, Г.К. Зверева, Р.Я. Пленник. 2010.
10. Боголюбова Е.В., Агаркова З.В. Сорт клевера паннонского Премьер // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2014. №2. С. 26–32.
11. Ломова Т.Г., Боголюбова Е.В., Агаркова З.В. Качественные корма из клевера паннонского Премьер // Эффективное животноводство. 2016. №3(124). С. 24–26.
12. Turker A.U., Koyluoglu H. Biological activities of some endemic plants in Turkey. Romanian Biotechnol. // Letters. 2012. Vol. 17. Pp. 6949–6961.
13. Turker H., Yildirim A.B., Karakas F.P. Antibacterial activities of extracts from some Turkish endemic plants on common fish pathogens // Turk. J. Biol. 2009. Vol. 33. Pp. 73–78.
14. Godevac D., Zdunic G., Savikin K., Vajs V., Menkovic N. Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro // Fitoterapia. 2008. Vol. 79. Pp. 185–187.

15. Karakas F.P., Yildirim A.B., Bayram R., Yavuz M.Z., Gepdiremen A., Turker A.U. Antiproliferative Activity of Some Medicinal Plants on Human Breast and Hepatocellular Carcinoma Cell Lines and their Phenolic Contents // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 14(10). Pp. 1787–1795. DOI: 10.4314/tjpr.v14i10.8.
16. Дренин А.А., Ботиров Э.Х. Флавоноиды и изофлавоноиды растений рода *Trifolium* L. Структурное разнообразие и биологическая активность // *Химия растительного сырья*. 2017. №3. С. 39–53. DOI: 10.14258/jcprm.2017031646.
17. Schultz G., Böhner I. Flavones of *Trifolium pannonicum* // *Phytochem*. 1971. Vol. 10. P. 3315.
18. Schultz G. Hispidulin-7-glucoside, a minor flavonoid of *Trifolium pannonicum* L. // *Planta Medica*. 1973. Vol. 23(1). Pp. 1–3. DOI: 10.1055/s-0028-1099407.
19. Sari A., Belge F.Y. Flavonoids and antioxidant activity of *Trifolium pannonicum* subsp. *Elongatum* // *Acta Pharmaceutica Scientia*. 2009. Vol. 51(1). Pp. 77–82.
20. Miletic S., Milosavljevic Sl., Vidakovic M. The isolation and identification of flavonoids from the leaves of *Trifolium pannonicum* L. // *J. Serb. Chem. Soc.* 1991. Vol. 56. N6. Pp. 307–310.
21. Агроклиматические ресурсы Новосибирской области. Л.: Гидрометеиздат, 1971. 156 с.
22. Якутина О.П., Боголюбова Е.В., Нечаева Т.В., Смирнова Н.В., Танасиенко А.А., Чумбаев А.С. Возделывание клевера паннонского (*Trifolium pannonicum* Jacq.) на юге Западной Сибири // *АгроЭкоИнфо*. 2018. №3. С. 1–8.
23. Якутина О.П., Боголюбова Е.В., Нечаева Т.В., Смирнова Н.В., Танасиенко А.А., Чумбаев А.С. Оценка плодородия почв при выращивании клевера паннонского (*Trifolium pannonicum* Jacq.) на юге Западной Сибири // *Почвенные ресурсы Сибири: вызовы XXI века. Ч. II. Томск*, 2017. С. 230–234.
24. Беликов В.В. Методы анализа флавоноидных соединений // *Фармация*. 1970. №1. С. 66–72.
25. Кукушкина Т.А., Зыков А.А., Обухова Л.А. Манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris*) как источник лекарственных средств // *Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы VII Международного съезда*. СПб., 2003. С. 64–69.
26. Федосеева Л.М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia Crassifolia* (L.) Fitsh, произрастающего на Алтае // *Химия растительного сырья*. 2005. №5. С. 45–50.
27. Кривенцов В.И. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав. Ялта, 1982. 21 с.
28. Методы биохимического исследования растений. Л., 1987. 430 с.
29. Кривенцов В.И. Бескарбазольный метод количественного спектрофотометрического определения пектиновых веществ // *Труды Никитского ботанического сада*. 1989. Вып. 109. С. 128–137.
30. Яшин А.Я., Яшин Я.И., Черноусова Н.И., Пахомов В.П. Новый прибор для определения природных антиоксидантов. М., 2005. 100 с.
31. Petrović M.P., Stanković M.S., Anđelković B.S., Babić S.Ž., Zornić V.G., Vasiljević S.Lj., Dajić-Stevanović Z.P. Quality Parameters and Antioxidant Activity of Three Clover Species in Relation to the Livestock Diet // *Bot. Horti Agrobo*. 2016. Vol. 44(1). Pp. 201–208. DOI: 10.15835/nbha44110144.
32. Barbehenn R.V., Jaros A., Lee G., Mozola C., Weir Q., Salminen J.-P. Hydrolyzable tannins as “quantitative defenses”: Limited impact against *Lymantria dispar* caterpillars on hybrid poplar // *Journal of Insect Physiology*. 2009. Vol. 55. N4. Pp. 297–304. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2008.12.001.
33. Voragen A.G.J., Coenen G.-J., Verhoef R.P., Schols H.A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls // *Struct. Chem*. 2009. Vol. 20. Pp. 263–275. DOI: 10.1007/s11224-009-9442-z.
34. Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К. Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале // *Физиология растений*. 2013. Т. 60. №6. С. 856–864. DOI: 10.7868/S0015330313050072.
35. Грюнер Л.А., Кулешова О.В. Количество и соотношение фотосинтетических пигментов в листьях ежевики // *Современное садоводство*. 2018. №3(27). С. 74–80. DOI: 10.24411/2312-6701-2018-10311.
36. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н., Чупахина Н.Ю., Федурев П.В. Антиоксидантные свойства культурных растений Калининградской области. Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта, 2016. 145 с.
37. Скрыпник Л.Н., Курашова А.А. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств растений некоторых видов рода *Sambucus* L. // *Химия растительного сырья*. 2019. №1. С. 127–137. DOI: 10.14258/jcprm.2019014037.

Поступила в редакцию 25 июня 2019 г.

После переработки 13 января 2020 г.

Принята к публикации 31 января 2020 г.

Для цитирования: Храмова Е.П., Боголюбова Е.В., Кукушкина Т.А., Шалдаева Т.М., Зверева Г.К. Фитохимическая характеристика и антиоксидантные свойства *Trifolium pannonicum* Jacq. сорта Премьер в лесостепи Западной Сибири // *Химия растительного сырья*. 2020. №2. С. 149–158. DOI: 10.14258/jcprm.2020026023.

Khranova Ye.P.^{1*}, Bogolyubova Ye.V.², Kukushkina T.A.¹, Shaldayeva T.M.¹, Zvereva G.K.^{2,3} PHYTOCHEMICAL STUDY OF *TRIFOLIUM PANNONICUM* JACQ. IN THE FOREST-STEPPE OF WESTERN SIBERIA

¹ Central Siberian Botanical Garden SB RAS, ul. Zolotodolinskaya, 101, Novosibirsk, 630090 (Russia),

e-mail: khranova@ngs.ru

² Siberian Federal Scientific Center for Agrobiotechnology RAS, Krasnoobsk, 630501 (Russia)

³ Novosibirsk State Pedagogical University, ul. Vilyuiskaya, 28, Novosibirsk, 630126 (Russia)

The article presents data on the content of biologically active compounds and the total activity of phenolic antioxidants in the leaves and inflorescences of the valuable forage plant *Trifolium pannonicum* Premier cultivar grown in different agroclimatic subareas of the Novosibirsk region – moderately warm, moist and moderately warm, not sufficiently moist. It is shown that, depending on the plant growth, biologically active substances are synthesized in differently: the content of flavonols, catechins, carotenoids and pectin substances is 1.1–1.6 times higher in plants from a more humid area. Tannins maximally (up to 17.43%) accumulate in the leaves of *T. pannonicum*, grown in an area with insufficient moisture. All samples of *T. pannonicum* variety Premier are characterized by high antioxidant activity of ethanol extracts from leaves and inflorescences (1.50–2.20 mg/g). The maximum of the total activity of antioxidants was found in the inflorescences of *T. pannonicum* from an area with insufficient moisture. Plant material *T. pannonicum* variety Premier is characterized by a fairly high content of biologically active substances.

Keywords: *Trifolium pannonicum*, flavonols, tannins, catechins, carotenoids, pectin substances, chlorophyll, antioxidant activity, Western Siberia.

References

1. *Flora yevropeyskoy chasti SSSR* [Flora of the European part of the USSR], ed. A.A. Fedorov. Leningrad, 1987, vol. 6, p. 199. (in Russ.).
2. Bobrov Ye.G. *Flora i sistematika vysshikh rasteniy*. [Flora and taxonomy of higher plants]. Moscow, Leningrad, 1947, no. 6, pp. 164–131. (in Russ.).
3. Larin I.V., Agababyan Sh.M., Rabotnov T.A. *Kormovyye rasteniya senokosov i pastbishch SSSR*. [Feed plants of hayfields and pastures of the USSR]. Moscow, Leningrad, 1951, vol. 2, 688 p. (in Russ.).
4. Zhukovskiy P.M. *Kul'turnyye rasteniya i ikh sorodichi*. [Cultivated plants and their relatives]. Leningrad, 1971, 663 p. (in Russ.).
5. Plennik R.Ya. *Byulleten' GBS*, 1990, no. 158, pp. 14–17. (in Russ.).
6. Zhmud' Ye.V. *Rastitel'nyye resursy*, 1995, vol. 31, no. 3, pp. 65–73. (in Russ.).
7. Bogolyubova Ye.V. *Nauchnoye obespecheniye kormoproizvodstva Rossii: materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchonnoy 100-letiyu VNII kormov im. V.R. Vil'yamsa*. [Scientific support of feed production in Russia: materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the All-Russian Research Institute of Feed V.R. Williams]. Moscow, 2012, pp. 369–376. (in Russ.).
8. Bogolyubova Ye.V. *Problemy izucheniya rastitel'nogo pokrova Sibiri: materialy V mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii*. [Problems of Studying Siberian Vegetation: Proceedings of the V International Scientific Conference]. Tomsk, 2015, pp. 102–104. (in Russ.).
9. Patent 5907 (RU). 2010. (in Russ.).
10. Bogolyubova Ye.V., Agarkova Z.V. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki*, 2014, no. 2, pp. 26–32. (in Russ.).
11. Lomova T.G., Bogolyubova Ye.V., Agarkova Z.V. *Effektivnoye zivotnovodstvo*, 2016, no. 3(124), pp. 24–26. (in Russ.).
12. Turker A.U., Koyluoglu H. *Letters*, 2012, vol. 17, pp. 6949–6961.
13. Turker H., Yildirim A.B., Karakas F.P. *Turk. J. Biol.*, 2009, vol. 33, pp. 73–78.
14. Godevac D., Zdunic G., Savikin K., Vajs V., Menkovic N. *Fitoterapia*, 2008, vol. 79, pp. 185–187.
15. Karakas F.P., Yildirim A.B., Bayram R., Yavuz M.Z., Gepdiremen A., Turker A.U. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2015, vol. 14(10), pp. 1787–1795. DOI: 10.4314/tjpr.v14i10.8.
16. Drenin A.A., Botirov E.Kh. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2017, no. 3, pp. 39–53. DOI: 10.14258/jcprm.2017031646. (in Russ.).
17. Schultz G., Böhrer I. *Phytochem.*, 1971, vol. 10, p. 3315.
18. Schultz G. *Planta Medica*, 1973, vol. 23(1), pp. 1–3. DOI: 10.1055/s-0028-1099407.
19. Sari A., Belge F.Y. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 2009, vol. 51(1), pp. 77–82.
20. Miletic S., Milosavljevic Sl., Vidakovic M. *J. Serb. Chem. Soc.*, 1991, vol. 56, no. 6, pp. 307–310.
21. *Agroklimaticheskiye resursy Novosibirskoy oblasti*. [Agroclimatic resources of the Novosibirsk region]. Leningrad, 1971, 156 p. (in Russ.).
22. Yakutina O.P., Bogolyubova Ye.V., Nechayeva T.V., Smirnova N.V., Tanasiyenko A.A., Chumbayev A.S. *AgroEkoInfo*, 2018, no. 3, pp. 1–8. (in Russ.).
23. Yakutina O.P., Bogolyubova Ye.V., Nechayeva T.V., Smirnova N.V., Tanasiyenko A.A., Chumbayev A.S. *Pochvennyye resursy Sibiri: vyzovy XXI veka. Ch. II*. [Soil resources of Siberia: challenges of the XXI century. Part II]. Tomsk, 2017, pp. 230–234. (in Russ.).
24. Belikov V.V. *Farmatsiya*, 1970, no. 1, pp. 66–72. (in Russ.).

* Corresponding author.

25. Kukushkina T.A., Zykov A.A., Obukhova L.A. *Aktual'nyye problemy sozdaniya novykh lekarstvennykh preparatov prirodnoy proiskhozhdeniya: materialy VII Mezhdunarodnogo s"yezda*. [Actual problems of creating new drugs of natural origin: materials of the VII International Congress]. St. Petersburg, 2003, pp. 64–69. (in Russ.).
26. Fedoseyeva L.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2005, no. 5, pp. 45–50. (in Russ.).
27. Kriventsov V.I. *Metodicheskiye rekomendatsii po analizu plodov na biokhimicheskiy sostav*. [Guidelines for the analysis of fruits on the biochemical composition]. Yalta, 1982, 21 p. (in Russ.).
28. *Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy*. Leningrad, 1987, 430 p. (in Russ.).
29. Kriventsov V.I. *Trudy Nikitskogo botanicheskogo sada*, 1989, no. 109, pp. 128–137. (in Russ.).
30. Yashin A.Ya., Yashin Ya.I., Chernousova N.I., Pakhomov V.P. *Novyy pribor dlya opredeleniya prirodnykh antioksidantov*. [New device for determining natural antioxidants]. Moscow, 2005, 100 p. (in Russ.).
31. Petrović M.P., Stanković M.S., Anđelković B.S., Babić S.Ž., Zornić V.G., Vasiljević S.Lj., Dajić-Stevanović Z.P. *Bot. Horti Agrobo.*, 2016, vol. 44(1), pp. 201–208. DOI: 10.15835/nbha44110144.
32. Barbehenn R.V., Jaros A., Lee G., Mozola C., Weir Q., Salminen J.-P. *Journal of Insect Physiology*. 2009, vol. 55, no. 4, pp. 297–304. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2008.12.001.
33. Voragen A.G.J., Coenen G.-J., Verhoef R.P., Schols H.A. *Struct. Chem.*, 2009, vol. 20, pp. 263–275. DOI: 10.1007/s11224-009-9442-z.
34. Ivanov L.A., Ivanova L.A., Ronzhina D.A., Yudina P.K. *Fiziologiya rasteniy*, 2013, vol. 60, no. 6, pp. 856–864. DOI: 10.7868/S0015330313050072. (in Russ.).
35. Gryuner L.A., Kuleshova O.V. *Contemporary horticulture*, 2018, no. 3(27), pp. 74–80. DOI: 10.24411/2312-6701-2018-10311. (in Russ.).
36. Chupakhina G.N., Maslennikov P.V., Skrypnik L.N., Chupakhina N.Yu., Fedurayev P.V. *Antioxidantnyye svoystva kul'turnykh rasteniy Kaliningradskoy oblasti*. [Antioxidant properties of cultivated plants of the Kaliningrad region]. Kaliningrad, 2016, 145 p. (in Russ.).
37. Skrypnik L.N., Kurashova A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 127–137. DOI: 10.14258/jcprm.2019014037. (in Russ.).

Received June 25, 2019

Revised January 13, 2020

Accepted January 31, 2020

For citing: Khramova Ye.P., Bogolyubova Ye.V., Kukushkina T.A., Shaldayeva T.M., Zvereva G.K. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 149–158. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020026023.