

ВЛИЯНИЕ ЭЛИСИТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЯМИ *CALLISIA FRAGRANS* L.

Е. Б. Кардаш, Г. Г. Филиптова

Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь, *filiptsova@bsu.by*

Установлено, что элиситоры AtPep, Pep13 и салициловая кислота оказывает различное воздействие на накопление фенольных соединений и антиоксидантную активность каллизии душистой. Обработка растений пептидным элиситором AtPep в концентрации 10^{-6} М приводит к увеличению синтеза фенольных соединений в листьях *Callisia fragrans* L. Экзогенный элиситор Pep13 и салициловая кислота не оказывают ярко выраженного стимулирующего воздействия на исследованные показатели.

Ключевые слова: *Callisia fragrans* L.; элиситоры; фенольные соединения; антиоксидантная активность.

INFLUENCE OF DIFFERENT NATURE ELISITORS ON THE PHENOLIC COMPOUNDS ACCUMULATION BY PLANTS OF *CALLISIA FRAGRANS* L.

E. B. Kardash, H. G. Filiptsova

Belarus State University, Minsk, Belarus, *filiptsova@bsu.by*

The elicitors AtPep, Pep13 and salicylic acid have different effects on the accumulation of phenolic compounds and the antioxidant activity of Callisia fragrans. The treatment of plants with the peptide elicitor AtPep at a concentration of 10^{-6} M leads to an increase in the synthesis of phenolic compounds in the leaves of Callisia fragrans L. The exogenous elicitor Pep13 and salicylic acid do not have a pronounced stimulating effect on the studied parameters.

Keywords: *Callisia fragrans* L.; elicitors; phenolic compounds; antioxidant activity.

Каллизия душистая (*Callisia fragrans* L.) или золотой ус является источником различных классов органических соединений, обладающих высокой биологической активностью, среди которых можно выделить фенолоксиды, флавоноиды, кумарины и антрахиноны. Богатство биохимического состава каллизии позволяет использовать данное растение в качестве сырья для получения фармакологических препаратов. Растительное сырье из каллизии обладает рядом фармакологических свойств: противовоспалительным, антибактериальным, ранозаживляющим, иммуностимулирующим, противоопухолевым, регенерирующим, противокашлевым и др. [1]. Несмотря на то, что в официальной медицине применение каллизии не получило широкого распространения, она очень активно используется в народной медицине. Отвар золотого уса используется при инфекциях, мочекаменной болезни, желудочно-кишечных заболеваниях, а также нарушениях в работе иммунной системы. Он оказывает общеукрепляющее, иммуностимулирующее и тонизирующее действие [2].

Как известно, вторичные метаболиты являются важным звеном в формировании механизмов устойчивости растений к действию стрессовых факторов. В частности, уровень отдельных групп вторичных метаболитов существенно повышается при действии неблагоприятных факторов среды, а также атаке фитопатогенов и насекомых-вредителей, что способствует формированию фитоиммунитета. Индукция синтеза и увеличение накопления вторичных

метаболизм растений может быть индуцировано в интактном растении или в условиях *in vitro* посредством обработки растительного материала веществами, обладающими элиситорными свойствами [3]. Например, в работе [4] показано значительное увеличение накопления олеаноловой кислоты в клеточных суспензионных культурах *Calendula officinalis* L. при обработке жасмоновой кислотой, хитозаном, дрожжевым экстрактом, пектином, гомогенатом гриба *Trichoderma viride*. Отмечается также стимулирующее действие метилжасмоната и салициловой кислоты на синтез вторичных метаболитов фенольной природы в суспензионной культуре эхинацеи пурпурной [5]. Элиситорными свойствами обладает также ряд соединений бактериальной природы. В работе [6] показано стимулирующее влияние элисаторов *Fusarium culmorum* на образование фенольных соединений в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis*. Очевидно, что применение элисаторов различной природы может быть использовано в биотехнологии с целью стимуляции вторичного метаболизма растений.

Целью данной работы было исследование действия трех видов элисаторов – салициловой кислоты, эндогенного пептидного элисатора AtPep и грибного пептида Pep13 на накопление вторичных метаболитов фенольной природы интактными растениями *Callisia fragrans* L. Данные элисаторы, различаются по происхождению и по механизмам сигналинга. Салициловая кислота – эндогенный элиситор, играющий решающую роль в росте и развитии растений, а также в процессах индукции системной приобретенной устойчивости [7]. AtPep – эндогенный пептидный элиситор *Arabidopsis thaliana*, проявляющий различные виды биологической активности, в том числе, влияющий на синтез вторичных метаболитов в растениях в ответ на стрессовые воздействия [8]. Pep 13 – небольшой физиологически активный пептид гликопротеина GP42 клеточной стенки *Phytophthora sojae* [9].

Обработку растений каллизии производили посредством опрыскивания надземной части водными растворами элисаторов в концентрациях: салициловая кислота – 10^{-4} М, AtPep и Pep13 – 10^{-6} М. Сбор растительного материала осуществляли через две недели после обработки. Получали спиртовые экстракты из листьев и побегов каллизии путем кипячения растительного сырья в 70 % этиловом спирте в течение 2 часов. Определяли суммарное содержание растворимых фенольных соединений, уровень флавоноидов, гидроксикоричных кислот, а также антиоксидантную активность полученных экстрактов.

На первом этапе работы было проведено исследование количественного содержания суммы растворимых фенольных соединений в различных экстрактах каллизии. Установлено, что обработка растений элисаторами по-разному влияет на уровень фенольных соединений в растениях каллизии. Наиболее существенный рост суммарного количества фенольных соединений наблюдается при обработке каллизии пептидным элиситором AtPep. Согласно полученным результатам, после обработки данным элиситором содержание фенольных соединений в листьях увеличилось на 88 % по сравнению с контролем, тогда как в побегах значительного изменения уровня фенольных соединений не происходило. Обработка растений каллизии бактериальным пептидом Pep13 также не приводила к достоверно значимому изменению исследованного параметра как в листьях, так и в побегах. Обработка каллизии салициловой кислотой не оказала стимулирующего эффекта на накопление фенольных соединений в листьях, а в побегах данный показатель снизился на 32 % по сравнению с необработанными растениями. Исходя из

представленных данных, можно сделать заключение, что суммарное содержание фенольных соединений значительно изменилось только в экстракте листьев, обработанных элиситором пептидной природы AtPep, что подтверждает литературные данные о том, что поздним ответом Pep-опосредованной сигнализации является индукция синтеза вторичных метаболитов [10]. Бактериальный пептид Pep13 и салициловая кислота не оказали достоверно значимого стимулирующего воздействия на синтез растворимых соединений фенольной природы. Более того, под действием экзогенной салициловой кислоты выявлено снижение уровня этих веществ в побегах. Так как салициловая кислота участвует в процессах индукции системной приобретенной устойчивости [7], можно предположить, что под действием салициловой кислоты происходит активация процессов лигнификации клеточных стенок, что и вызывает отмеченное нами снижение уровня растворимых фенольных соединений.

Анализ уровня флавоноидов в полученных экстрактах показал, что наибольшее количество флавоноидов содержится в побегах, при этом положительное воздействие на синтез флавоноидов не было выявлено ни в одном из вариантов обработки элиситорами. Изменения по отношению к контролю во всех вариантах были статистически незначимыми.

Изучение количественного содержания гидроксикоричных кислот в экстрактах каллизии показало, что их уровень в листьях и стеблях каллизии составляет примерно 0,1 – 0,15 мг/г сухого веса. Обработка растений всеми исследованными элиситорами не оказала существенного влияния на уровень этих соединений в побегах. При этом в листьях наблюдался стимулирующий эффект всех используемых элиситоров. Наибольшее возрастание содержания гидроксикоричных кислот (на 40 % по отношению к контрольному образцу) наблюдалось при обработке листьев пептидом AtPep. Обработка каллизии пептидом Pep13 и салициловой кислотой оказала менее значимый эффект – содержание этих соединений увеличилось на 15 % по сравнению с контролем.

Известно, что фенольные соединения, в частности, флавоноиды и гидроксикоричные кислоты обладают антиоксидантным действием, что во многом и определяет их биологическую активность, поэтому на следующем этапе нами была исследована антиоксидантная активность экстрактов каллизии душистой. Несмотря на выявленное нами ранее более низкое содержание фенольных соединений в побегах, спиртовые экстракты из побегов характеризовались более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с листьями. Однако под действием элиситоров этот показатель в побегах существенно не изменялся по сравнению с необработанными растениями. Исключение составлял вариант с обработкой салициловой кислотой, в котором наблюдалось снижение антиоксидантной активности экстрактов из побегов на 23 % по сравнению с контролем. Полученные данные по антиоксидантной активности этих экстрактов подтверждают сделанное ранее предположение об активации под действием данного элиситора синтеза полимерных фенольных соединений, например, лигнина из более простых компонентов.

Антиоксидантная активность экстрактов, полученных из листьев каллизии, обработанных пептидами Pep13 и салициловой кислотой не претерпевала существенных изменений по сравнению с контролем. Тогда как обработка растений каллизии пептидом AtPep приводила к значительному увеличению исследуемого параметра – на 48 % по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с ранее представленными данными по суммарному

количеству фенольных соединений, флавоноидов и гидроксикоричных кислот в соответствующих органах. Как и следовало ожидать по результатам предыдущих экспериментов, наибольшее значение показателя антиоксидантной активности выявлено для экстракта из листьев, полученного после обработки AtPep.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что важными компонентом каллизии душистой являются фенольные соединения, именно они в значительной степени определяют антиоксидантную активность спиртовых экстрактов из этого растения и, вероятно, их фармакологическое действие. Проведенные нами исследования показали, что экзогенная обработка надземной части каллизии пептидным элиситором AtPep в концентрации 10^{-6} М позволяет значительно усилить синтез фенольных соединений в листьях *Callisia fragrans* L, следовательно, данный элиситор может быть использован в биотехнологической практике как индуктор синтеза биологически важных вторичных метаболитов, тогда как грибной элиситор Pep13 и салициловая кислота не оказывают ярко выраженного стимулирующего воздействия на эти показатели.

Библиографические ссылки

1. Николаев Л. Лечение Золотым усом. М.: Феникс, 2015. 128 с.
2. Лекарственные растения. Энциклопедия природы России. Справочное издание / гл. ред. Н.Г. Замятина. М.: Издательство «АБФ», 2007. 496 с.
3. Narayani M., Srivastava S. Elicitation: a stimulation of stress in in vitro plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production // *Phytochem Rev.* 2017. Vol. 16, № 6. P. 1227–1252.
4. Wiktorowska E., Długosz M., Janiszowska W. Significant enhancement of oleanolic acid accumulation by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L. // *Enzyme and Microbial Technology.* 2010. Vol. 46, № 1. P. 14–20.
5. Дитченко Т. И., Юрин В. М. Действие метилжасмоната и салициловой кислоты на синтез вторичных метаболитов фенольной природы в суспензионной культуре эхинацеи пурпурной // Труды Белорусского государственного университета. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2015. Т. 10, ч. 1. С. 59–61.
6. Остапчик В.С. Влияние элиситоров *Fusarium culmorum* на образование фенольных соединений в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis* // Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции. Белорусский государственный университет, Институт леса НАН Беларуси (28–31 мая 2018г., г. Минск). Минск, 2018. С. 91–92.
7. Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G., Molina A., Steiner H.Y., Hunt M.D. Systemic Acquired Resistance // *Plant Cell.* 1996. Vol. 8, № 10. P. 1809–1819.
8. Филиппова Г.Г. Роль эндогенных пептидных элиситоров в устойчивости растений к биотическим стрессам // Журнал БГУ. Биология. 2019. № 2. С.3-12.
9. Halim V.A. The oligopeptide elicitor Pep-13 induces salicylic acid-dependent and-independent defense reactions in potato // *Physiological and Molecular Plant Pathology.* 2004. Vol. 64. P. 311–318.
10. Plant elicitor peptides are conserved signals regulating direct and indirect antiherbivore defense. / Huffaker A. [et al.] // *PNAS USA.* 2013. Vol. 110. P. 5707–5712.