

ФОНД ЗЕЛЕНЫХ И ЖЕЛТЫХ ПИГМЕНТОВ У ЯРОВОГО ОВСА, КУЛЬТИВИРУЕМОГО ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КРИОКОРМА В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

В. Е. СОФРОНОВА, кандидат химических наук, старший научный сотрудник,
В. А. ЧЕПАЛОВ, кандидат биологических наук, научный сотрудник,
К. А. ПЕТРОВ, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник,
Институт биологических проблем криолитозоны Якутского научного центра СО РАН
(677000, г. Якутск, пр. Ленина, 41),
О. В. ДЫМОВА, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
Т. К. ГОЛОВКО, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник,
Институт биологии Коми научного центра УрО РАН
(167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28)

Ключевые слова: овес посевной, сроки посева, осенневегетирующие растения, низкие температуры, криокорм, хлорофиллы, каротиноиды, ксантофиллы.

В условиях Центральной Якутии ($62^{\circ}15'$ с. ш., $129^{\circ}37'$ в. д.) впервые изучен пигментный состав листьев растений ярового овса (*Avena sativa L.*, районированный сорт Покровский) позднего срока сева (25 июля), используемого при заготовке зеленого криокорма. Установлено, что у осенневегетирующих растений позднего посева содержание хлорофиллов (15–16 мг/г сухой массы) и каротиноидов (2,9 мг/г сухой массы) до конца первой декады сентября на 11–13 % превышали показатели контрольных растений с оптимальным сроком сева (17 июня). Снижение температуры со второй половины сентября до начала октября (от $+7\ldots+8$ °C до околонулевых) приводило к постепенному уменьшению фонда хлорофиллов на 40 %. При этом отношение Хл *a*/Хл *b* оставалось практически постоянным. Достоверное увеличение этого отношения, вследствие большей деградации Хл *b*, чем Хл *a*, отмечали лишь при околонулевых температурах. Каротиноиды проявили большую устойчивость к низким температурам. При уходе зеленых растений в фазе молочной спелости под снег в октябре, содержание суммы каротиноидов составило 2,2 мг/г сухой массы. Выявлено, что у растений позднего посева долевое содержание индивидуальных каротиноидов в общем пуле желтых пигментов мало зависело от фенофазы и сезонного снижения температуры. На долю β -каротина приходится 26–30 %, ксантофиллы лютеин + зеаксантин составляют 39–40 %, виолаксантин – 17–21, неоксанチン – 9–10, антераксантин – 4–5 % суммы каротиноидов. При зимнем хранении зеленой массы замерзших растений в рулонах потери каротиноидов не превышали 20 %, а их соотношение практически не изменилось.

GREEN AND YELLOW PIGMENTS OF SPRING OATS CULTIVATED FOR HARVESTING CRYOFODDER IN THE CONDITIONS OF CENTRAL YAKUTIA

V. E. SOFRONOVА, candidate of chemical sciences, senior researcher,
V. A. CHEPALOV, candidate of biological sciences, researcher,
K. A. PETROV, doctor of biological sciences, leading researcher,
Institute for Biological Problems of Cryolithozone of the Yakut Scientific Centre of the SB RAS
(41 Lenina Av., 677000, Yakutsk),
O. V. DYMOVA, candidate of biological sciences, senior researcher,
T. K. GOLOVKO, doctor of biological sciences, professor, chief researcher,
Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the UB RAS
(28 Kommunisticheskaya, 167982, Syktyvkar)

Keywords: oats, sowing dates, autumn vegetative plants, low temperatures, cryofodder, chlorophylls, carotenoids, xanthophylls.

The influence of a late sowing date on the pigment content of an autumn vegetative plant in Central Yakutia ($62^{\circ}15'$ N, $129^{\circ}37'$ E) has been studied for the first time. The experiments were carried out using spring oat, *Avena sativa L.*, cultivar (cv) Pokrovsky, commonly used in the preparation of cryofodder, the seeds of which were planted according to the optimal (17 June) and late (25 July) sowing dates. It was established that till the end of the first decade of September the content of chlorophylls (15–16 mg/g dry weight) and carotenoids (2,9 mg/g dry weight) in the leaves of late sowing plants were higher by 11–13 % compared to control plants at the same phases of growth and development. Autumn decrease in temperature from the second half of September until the beginning of October (from $+7\ldots+8$ °C to near-zero) led to a gradual reduction of chlorophylls (*a* + *b*) content by 40 %. The ratio Chl *a*/Chl *b* remained almost constant, a significant increase of which was noted only at near-zero temperatures due to a greater degradation of Chl *b* than Chl *a*. At the same time, carotenoids showed greater resistance to low temperatures. When green plants in the milk ripeness phase went under snow in October, the total carotenoid content was 2,2 mg/g dry weight. The proportion of individual carotenoids in the total pool of yellow pigments of late sowing plants did not depend on the phenological phases of growth and development, as well as on seasonal temperature decrease. The share of β -carotene accounted for 26–30 % of the carotenoids sum, xanthophylls lutein and zeaxanthin make up 39–40 %, violaxanthin – 17–21 %, neoxanthin – 9–10 %, antheraxanthin – 4–5 %. Losses of carotenoids did not exceed 20 % and their ratio remained almost unchanged during winter storage of green mass of frozen plants in rolls.

Положительная рецензия представлена Р. В. Ивановым, доктором сельскохозяйственных наук, главным научным сотрудником ЯНИИСХ им. М. Ф. Сафронова Якутского научного центра Сибирского отделения РАН.

Введение

Овес посевной с яровым типом развития является второй после ячменя ведущей зернофуражной культурой, возделываемой в условиях многолетней мерзлоты [1]. Климат Якутии без возвратных потеплений в осенний период благоприятен для производства зеленого криокорма, так как отрицательные температуры консервируют зеленую массу растений овса позднелетних сроков сева, не успевших пройти весь цикл роста и развития [2–4]. Установлено, что при различных технологиях заготовки кормов из естественных и посевных растений потери питательных веществ (белков, углеводов, жиров) составляют при полевой сушке до 45 %, силосовании – 35, сенажировании – 20, а при консервировании естественным холода (криокорм) – только 5 % [5].

Однако стандартная оценка производимого криокорма по содержанию кормовых единиц, клетчатки, углеводов, протеинов и жиров не дает полного представления о его ценности. Важное значение имеют пигменты (хлорофиллы и каротиноиды), способные оказывать положительное биологическое действие как иммуномодуляторы, регуляторы метаболизма, антиоксиданты [6]. Наиболее известен β -каротин, обладающий А-привитаминной активностью. Каротиноиды лютеин и зеаксантин эффективны как антиоксиданты, в сетчатке глаз формируют желтое макулярное пятно [7], значение которого в защите и функционировании зрительной сенсорной системы животных и человека трудно переоценить.

Цель и методика исследований

В данной работе впервые проведены сравнительные исследования пигментного состава в листьях летне- и осенневегетирующих растений *Avena sativa L.* в условиях Центральной Якутии. Целью работы было изучение динамики накопления хлорофиллов (Хл) и каротиноидов (Кар) как основных фотосинтетических пигментов и оценка их содержания при уходе зеленых растений овса под снежный покров (криокорм).

Овес посевной (*Avena sativa L.*), сорт «Покровский» местной селекции выращивали на опытном участке без полива, расположенному на средней пойме р. Лена (окрестности Якутска, 62°15' с. ш., 129°37' в. д.). Почвы участка – пойменные лугово-черноземные, сформированные на легком суглинике. Опыты проводили в 2017 г., погодные условия в период проведения эксперимента были типичными для Центральной Якутии (табл.).

Посев семян осуществляли в два срока – в середине июня и третьей декаде июля. Первый срок сева (17 июня) является оптимальным для региона, растения успевают пройти полный цикл развития. Во второй (25 июля) – растения достигали молочной спелости к началу установления отрицательных

температур. Урожайность сырой массы используемого на криокорм овса составляла 220–240 ц/га, а содержание кормовых единиц – 0,63–0,69 % на абсолютно-сухое вещество [2].

Пигменты экстрагировали из свежего растительного материала 100 % ацетоном при 8–10 °C на слабом свету. Гомогенат центрифugировали 20 мин при 8000 g при температуре 4 °C. Содержание хлорофиллов (а + b) и каротиноидов в супернатанте определяли спектрофотометрически с использованием спектрофотометра Agilent 8453 E (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Германия) путем регистрации оптической плотности при длинах волн 662, 644 и 470 нм.

Для анализа состава каротиноидов фиксированные в жидким азоте пробы листьев высушивали на лиофилизаторе (VirTis, США). Лиофилизаты хранили при –80 °C и использовали для анализа пигментов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), как описано в работе [8].

Определение пигментов проводили в 3–5 биологических и двух аналитических повторностях. Содержание пигментов рассчитывали на сухую массу и выражали в мг/г. Сухую массу растительного материала определяли высушиванием проб до постоянного веса в сушильном шкафу при 100 °C.

Полученные данные обрабатывали методом дисперсионного анализа (ANOVA) описательной статистики с уровнем значимости 0,05. В таблице и на рисунках представлены средние арифметические величины и их стандартные отклонения.

Результаты исследований

У растений с оптимальным сроком посева содержание зеленых пигментов достигало 14 мг/г к фазе вымревания метелки и сохранялось на этом уровне вплоть до восковой спелости. В период созревания семян отмечали значительное (в 1,5 раза) снижение количества Хл (рис. 1, а), что обусловлено старением листьев.

Содержание желтых пигментов было более чем в 5 раз меньше, чем зеленых. Судя по изменению величины соотношения Хл/Кар, к фазе восковой спелости отмечалась тенденция повышения относительного содержания Кар (рис. 2, а). Это свидетельствует о большей стабильности желтых пигментов. Соотношение Хл/Кар является индикатором «зрелости» злаковых растений, его низкие значения являются показателями старения, стресса или повреждения фотосинтетического аппарата [9]. По накоплению фотосинтетических пигментов растения ярового овса, культивируемого в условиях Центральной Якутии, уступали растениям, выращиваемым в гумидном климате среднетаежной зоны европейского Востока России [9] и Мурманской области [10].

Растения второго срока сева до конца первой декады сентября содержали на 11–13 % больше зе-

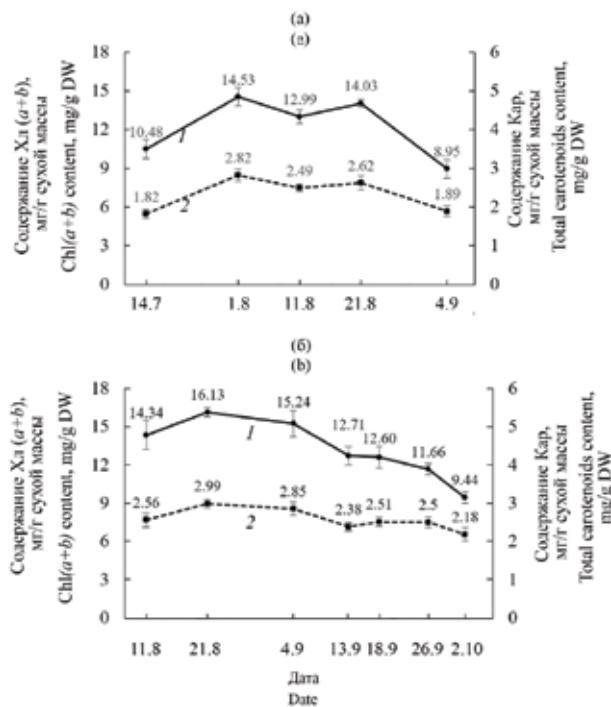
Рис. 1. Динамика содержания суммы Хл и Кар в листьях *Avena sativa* первого (а) и второго (б) сроков посева.

Fig. 1. Dynamics of Chl and carotenoids sum content in the leaves of *Avena sativa* of optimal (a) and late (b) sowing dates.
1 - Chl (a + b); 2 - total carotenoids.

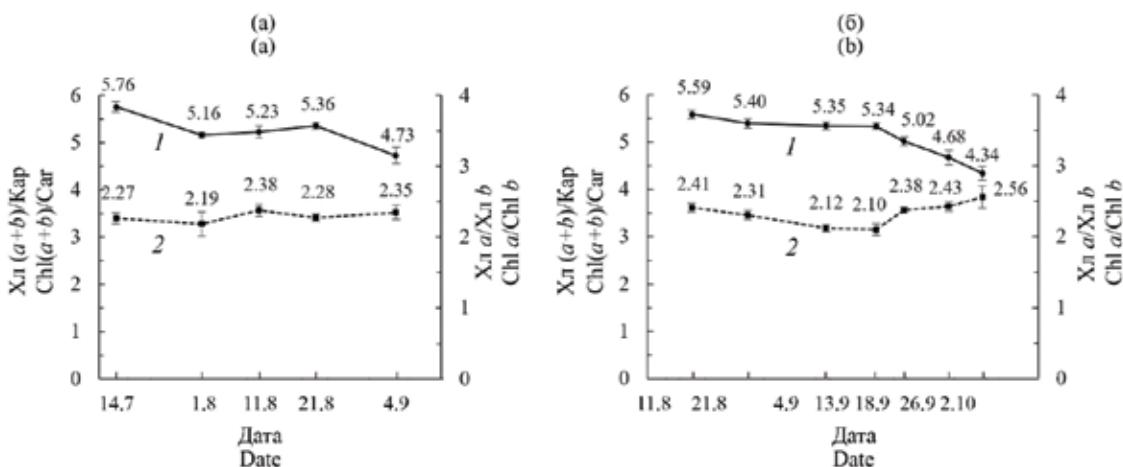
Рис. 2. Соотношения фотосинтетических пигментов в листьях *Avena sativa* первого (а) и второго (б) сроков посева.

Fig. 2. Relationships of photosynthetic pigments in the leaves of *Avena sativa* of optimal (a) and late (b) sowing dates.
1 - Chl (a + b)/Car; 2 - Chl a/Chl b

леных и желтых пигментов, чем высеванные в июне (рис. 1, б). Мы связываем это с лучшей влагообеспеченностью, преобладанием облачных дней и умеренными температурами (табл.), способствующими росту вегетативной массы растений. Уменьшение содержания Хл на 40 % наблюдали при значительном снижении среднесуточной температуры во второй половине сентября – начале октября. Если в растениях раннего срока сева снижение содержания Хл было связано со старением листьев, то у растений позднего срока сева оно обусловлено сезонным падением температуры. При этом достоверное увеличение значения соотношения Хла/Хлб, обусловленное большей степенью деградации Хлб, чем Хла,

отмечали только при оклонулевых температурах (табл., рис. 2, б). При низких положительных температурах (+1–3 °C) в листьях ярового овса усиливаются процессы, ведущие к избыточному образованию активных форм кислорода, повышению уровня перекисного окисления липидов и фотодеструкции Хл. Наступление низких положительных и оклонулевых температур вызывает падение ассимиляции CO₂, и, как следствие, редукцию и разрушение фотосинтетического аппарата яровых злаков.

Каротиноиды проявили большую устойчивость к понижению температуры среды. Снижение соотношения Хл/Кар, наблюдаемое во второй половине сентября, указывает на повышение относительного

Таблица 1

Сроки прохождения фенологических фаз развития *Avena sativa* и метеорологические показатели в период проведения исследований (Центральная Якутия, 2017 г.)

Table 1

Terms of the phenological phases of Avena sativa development and meteorological data during the research period (Central Yakutia, 2017)

Дата Date	Фазы развития <i>Stages of development</i>	Среднесуточная температура воздуха, °C* <i>The average air temperature, °C*</i>	Сумма осадков, мм** <i>Rainfall, mm**</i>	Фотопериод, ч <i>Photoperiod, h</i>
I срок посева (17 июня), летний период <i>Optimal sowing date (June 17), summer period</i>				
17.07	Начало выхода в трубку <i>Onset of booting stage</i>	20,8 ± 3,4	1,0	18,4
01.08	Выметывание <i>Panicle formation</i>	19,4 ± 5,6	8,8	17,2
11.08	Молочная спелость <i>Milky ripeness</i>	17,6 ± 1,6	12,6	16,2
21.08	Восковая спелость <i>Waxy ripeness</i>	15,4 ± 3,7	12,4	15,3
04.09	Созревание <i>ripening</i>	11,6 ± 5,2	12,3	14,0
II срок посева (25 июля), осенний период <i>Late sowing date (July 25), autumn period</i>				
11.08	Кущение <i>Tillering</i>	17,6 ± 1,6	12,6	16,2
21.08	Начало выхода в трубку <i>Onset of booting stage</i>	15,4 ± 3,7	12,4	15,3
04.09	Трубкование <i>Booting</i>	11,6 ± 5,2	12,3	14,0
13.09	Трубкование <i>booting</i>	8,0 ± 3,8	35,5	13,1
18.09	Выметывание <i>Panicle formation</i>	6,9 ± 3,0	12,2	12,4
26.09	Молочная спелость <i>Milky ripeness</i>	5,0 ± 3,1	10,7	11,6
02.10	Молочная спелость <i>Milky ripeness</i>	0,2 ± 1,0	11,0	11,2

* Средние значения за 48 ч до взятия проб; ** сумма за 10 суток до взятия проб, представлены данные Якутского республиканского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды

*48 h mean before sampling; ** the amount within 10 days before sampling, data of Yakut Republic Center for Hydrometeorology and Environmental Monitoring

содержания желтых пигментов в листьях овса позднего срока сева на 20 % (рис. 2, б). При уходе зеленых растений в фазе молочной спелости под снег в октябре содержание суммы каротиноидов составило 2,2 мг/г, а хлорофиллов выше – 9 мг/г (рис. 1, б).

Для характеристики биологической ценности зеленой массы большой интерес представляет соотношение различных форм каротиноидов. Выявлено, что у растений позднего посева долевое содержание индивидуальных каротиноидов в общем пуле желтых пигментов практически не зависит от фенологической фазы роста и развития растений, а также сезонного снижения температуры. На долю β-каротина приходится 26–30 %, ксантофиллы лютеин + зеаксантин составляют 39–40 %, виолаксантин – 17–21, неоксантин – 9–10, антераксантин – 4–5 % суммы каротиноидов (рис. 3).

При зимнем хранении зеленой массы замерзших растений в рулонах потери каротиноидов не превышали 20 %, а их соотношение практически не изменилось.

Выводы. Рекомендации

Нами впервые получены сравнительные данные, характеризующие состояние пигментного комплекса и динамику его изменения в листьях ярового овса различных сроков сева в условиях Центральной Якутии. Показано, что уровень накопления желтых фотосинтетических пигментов у растений позднего срока сева сопоставим с показателями контрольных растений с оптимальным сроком сева, что определяет биологическую ценность биомассы для производства криокорма. Использование овса при производстве зеленого корма с целью восполнения дефицита каротиноидов при стойловом содержании животных в условиях криолитозоны обоснованно и целесообразно.

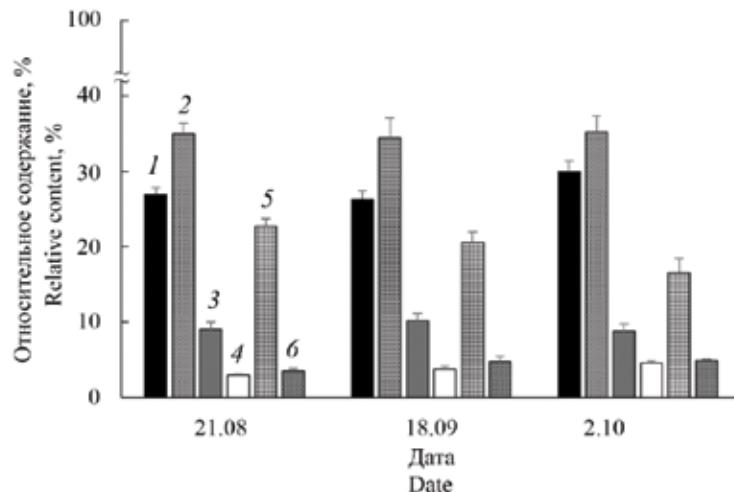


Рис. 3. Относительное содержание индивидуальных каротиноидов (процент от суммы каротиноидов)

в листьях *A. sativa* позднего посева. 1 – β -Кар, 2 – Лют, 3 – Нео, 4 – Ант, 5 – Вио, 6 – Зеа

Fig. 3. The proportions of individual carotenoids (percent of total carotenoids) in the leaves of *Avena sativa* of late sowing date.
1 – β -Car, 2 – Lut, 3 – Neo, 4 – Ant, 5 – Vio, 6 – Zea

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (рег. № АААА-А17-117020110054-6) и ИБ Коми НЦ УрО РАН (рег. № АААА-А17-117033010038-7).

Сокращения: Ант – антераксантин; АФК – активные формы кислорода; Вио – виолаксантин; ВЭЖХ –высокоэффективная жидкостная хроматография; Зеа – зеаксантин; Кар – каротиноиды; β -Кар – β -каротин; Ксант – ксантофиллы; Лют – лютеин; Нео – неоксантин; ФСА – фотосинтетический аппарат; Хл – хлорофилл.

Abbreviations

Ant – antheraxanthin; ROS – reactive oxygen species; Vio – violaxanthin; HPLC – high performance liquid chromatography; Zea – zeaxanthin; Car – carotenoids; β -Car – β -carotene; Xanth – xanthophylls; Lut – lutein; Neo – neoxanthin; PSA – photosynthetic apparatus; Chl – chlorophylls; dry weight – DW.

Литература

- Петрова Л. В. Оценка сортообразцов овса посевного (*Avena sativa L.*) методом многомерного ранжирования в Центральной Якутии // Земледелие. 2017. № 5. С. 42–45.
- Румянцев В. А., Максимова Х. И. Предпосылки производства криокорма в условиях Центральной Якутии // Тенденции развития науки и образования. 2018а. № 44. С. 71–73.
- Петров К. А. [и др.] Эколого-физиологические и биохимические основы формирования зеленого криокорма в Якутии (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 6. С. 1129–1138.
- Способ получения растительного сырья с повышенным содержанием каротиноидов: пат. РФ № 2649338 / А. А. Перк, В. А. Чепалов, В. В. Нохсоров, Л. Л. Явловская, В. Е. Софонова, К. А. Петров. Заявл. 2015100757/13 (001057); опубл. 02.04.2018. – 9 с.
- Румянцев В. А., Максимова Х. И. Использование криокорма в зимнем кормлении оленей // Тенденции развития науки и образования. 2018б. № 44. С. 69–71.
- Dymova O., Lashmanova E., Golovko T. Plant pigments and human health // Photosynthetic pigments: chemical structure, biological function and ecology. 2014. Pp. 426–438.
- Liu R., Wang T., Zhang B. et al. Lutein and zeaxanthin supplementation and association with visual function in age-related macular degeneration // Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015. V. 56. Pp. 252–258.
- Софронова В. Е. [и др.] Роль пигментной системы вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma* в адаптации к климату Центральной Якутии // Физиология растений. 2014. Т. 61. С. 266–274.
- Баталова Г. А., Лисицын Е. М., Тулякова М. В. Изучение состояния фотосинтетического аппарата овса в селекции на устойчивость к эдафическому стрессу // Зернобобовые и крупяные культуры. 2017. №3 (23). С. 43–49.
- Костюк В. И. Хлорофильный индекс и сбор протеина в северных агроценозах овса // Агрохимия, 2015. № 10. С. 57–62.

References

- Petrova L. V. Estimation of oat variety samples (*Avena sativa L.*) by the method of multidimensional ranking in Central Yakutia // Zemledelije. 2017. No. 5. Pp. 42–45.

Биология и биотехнологии

2. Rumyantsev V. A., Maksimova Kh. I. Prerequisites for the production of cryofodder under the conditions of Central Yakutia // Trends in the development of science and education. 2018a. No. 44. Pp. 71–73.
3. Petrov K. A. [et al.] Eco-physiological and biochemical bases of the green cryo-feed forming in Yakutia (review) // Agricultural Biology. 2017. Vol. 52. No. 6. Pp. 1129–1138.
4. Method for producing vegetative raw materials with increased contents of carotenoids: Pat. of the Russian Federation No. 2649338 / A. A. Perk, V. A. Chepalov, V. V. Nokhsorov, L. L. Yavlovskaya, V. E. Sofronova, K. A. Petrov. Claims 2015100757/13 (001057); publ. 02.04.2018. – 9 p.
5. Rumyantsev V. A., Maksimova Kh. I. Use of cryofodder in winter feeding of deers // Trends in the development of science and education. 2018b. No. 44. Pp. 69–71.
6. Dymova O., Lashmanova E., Golovko T. Plant pigments and human health // Photosynthetic pigments: chemical structure, biological function and ecology. 2014. Pp. 426–438.
7. Liu R., Wang T., Zhang B. et al. Lutein and zeaxanthin supplementation and association with visual function in age-related macular degeneration // Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015. Vol. 56. Pp. 252–258.
8. Sofronova V. E. [et al.] The role of pigment system of an evergreen dwarf shrub *Ephedra monosperma* in adaptation to the climate of Central Yakutia // Plant Physiology. 2014. Vol 61. Pp. 266–274.
9. Batalova G. A., Lisitsyn E. M., Tulyakova M. V. Estimation of oat photosynthetic apparatus state in breeding for resistance to edaphic stress // Legumes and groats crops. 2017. No. 3 (23). Pp. 43–49.
10. Kostyuk V. I. The chlorophyll index and protein collecting in the northern agrocenosis of oats // Agricultural Chemistry. 2015. No. 10. Pp. 57–62.