

УДК 581.1

## ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РАСТЕНИЙ *BIDENS TRIPARTITA* (L.) И *BIDENS PILOSA* (L.) ИЗ РАЗНЫХ МЕСТ ОБИТАНИЯ

© 2023 г. Э. Бименьиндавы<sup>а</sup>\*, Л. З. Хуснетдинова<sup>а</sup>, О. А. Тимофеева<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Казанский федеральный университет, Казань, Россия

\*e-mail: efredence@gmail.com

Поступила в редакцию 25.09.2023 г.

После доработки 06.10.2023 г.

Принята к публикации 06.10.2023 г.

*Bidens tripartita* L. и *Bidens pilosa* L. являются потенциальными источниками биологически активных веществ, обладающих противомикробной, антидиабетической, противораковой, противовоспалительной, антиоксидантной и другими активностями. Данные виды череды широко используются в разных странах в фитомедицине. Установлено, что изучаемые виды богаты разнообразными фенольными соединениями, причем растения, произрастающие в условиях умеренно-континентального (Татарстан) и тропического (Бурунди) климата, слабо различаются по содержанию фенольных соединений, что свидетельствует о генетически обусловленной узкой амплитуде изменчивости метаболизма этих видов. Качественный анализ фенольных соединений показал, что изученные виды растений синтезируют определенные группы соединений для адаптации в конкретных условиях обитания. Киримиرو в Республике Бурунди и Спасский район в Республике Татарстан можно рассматривать как перспективные районы для выращивания и сбора изучаемых видов растений. Температура, высота над уровнем моря, количество осадков и состав почвы являются ключевыми факторами, влияющими на содержание фенольных соединений растений *B. pilosa* и *B. tripartita*.

**Ключевые слова:** *Bidens pilosa* (L.), *Bidens tripartita* (L.), состав почв, температура, фенольные соединения

**DOI:** 10.31857/S001533032360081X, **EDN:** BGLVUR

### ВВЕДЕНИЕ

*Bidens* — один из родов семейства астровых (Asteraceae), включающий в себя около 280 видов, в том числе, *B. tripartita* и *B. pilosa*. Виды *Bidens* широко используются в народной и традиционной медицине для лечения различных заболеваний в разных странах мира.

Согласно литературным данным, растения рода *Bidens* содержат множество соединений, включая флавоноиды, фенилпропаноиды, тритерпеноиды, алкалоиды и органические кислоты, из которых флавоноиды являются основными эффективными компонентами [1].

Современные фармакологические исследования показывают, что именно эти соединения в растениях *Bidens* обладают противовоспалительными, антиоксидантными, обезболивающими, антибактериальными, противоопухолевыми, гиполипидемическими, антидиабетическими, геппротекторными функциями [2].

В свою очередь, в растениях основной функцией вторичных метаболитов является защита от

неблагоприятного воздействия различных факторов абиотической и биотической природы в течение всей жизни, обеспечивая, таким образом, приспособленность и выживание растений [3, 4]. Чтобы справиться со стрессом, растения вынуждены индуцировать или уменьшать синтез вторичных метаболитов в организме [5]. Различные исследования свидетельствуют о значительном влиянии отдельных факторов окружающей среды на накопление веществ вторичного метаболизма растений. Например, показано, что засуха вызывает окислительный стресс, при этом увеличиваются фенольные соединения и витамины в *Amaranthus tricolor* L. [6]. Повышенные температуры и высокая интенсивность света увеличивают синтез и накопление различных вторичных метаболитов, включая кверцетин, дубильные вещества, аскорбиновую кислоту, тритерпеноиды, многие из которых обладают антиоксидантными свойствами [7].

В связи с этим состав и количество биологически активных веществ, характеризующих эффективность лекарственных растений, различают в зависимости от вида и органа растения, срока сбора и условий места обитания (климатические

**Сокращения:** ВРФ — водорастворимые фенольные соединения, РБ — Республика Бурунди, РТ — Республика Татарстан.

**Таблица 1.** Гео-экологические характеристики районов региона Кирими́ро, Мугамба и Бурагане (среднегодовые за 2019 г.)

| Район     | Высота над уровнем моря, (м) | Количество осадков, (мм) | Средняя температура, (°C) | pH  | Содержание минеральных элементов в почвах исследуемых регионов |                                    |                              |                                |                               |
|-----------|------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----|----------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|           |                              |                          |                           |     | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (%)                               | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (мд) | K <sup>+</sup> (мЭкв/ 100 г) | Ca <sup>2+</sup> (мЭкв/ 100 г) | Mg <sup>2+</sup> (мЭкв/100 г) |
| Кирими́ро | 1603                         | 1321                     | 19                        | 4.9 | 0.13                                                           | 5.94                               | 0.36                         | 4.7                            | 0.63                          |
| Мугамба   | 2097                         | 1598                     | 15.7                      | 4.0 | 0.11                                                           | 7.56                               | 0.24                         | 0.45                           | 0.19                          |
| Бурагане  | 1550                         | 1233                     | 21.5                      | 5.7 | 0.19                                                           | 8.45                               | 0.57                         | 3.44                           | 0.58                          |

**Таблица 2.** Ландшафтные и климатические (осенне-весенний период 2019 г.) характеристики районов Татарстана. <https://nuipogoda.ru/>

| Район         | Количество осадков (мм) | Средняя температура (°C) | Климатическая зона      | pH  | Содержание минеральных элементов в почвах исследуемых регионов |                                    |                              |                                |                               |
|---------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----|----------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|               |                         |                          |                         |     | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (%)                               | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (мд) | K <sup>+</sup> (мЭкв/ 100 г) | Ca <sup>2+</sup> (мЭкв/ 100 г) | Mg <sup>2+</sup> (мЭкв/100 г) |
| Спасский      | 189                     | 12.5                     | Лесостепь               | 7.4 | 0.23                                                           | 0.29                               | 1.84                         | 15.03                          | 12.00                         |
| Высокогорский | 261                     | 14                       | Хвойно-широколиственная | 6.1 | 0.18                                                           | 0.31                               | 1.27                         | 15.63                          | 1.56                          |

условия, географическое положение, тип и состав почвы и т.д.) [8, 9].

Целью нашей работы было выявление совокупности факторов окружающей среды и перспективных регионов для выращивания и сбора лекарственных растений *B. pilosa* и *B. tripartita* с наиболее высоким содержанием биологически активных веществ. Для достижения данной цели было проведено сравнительное изучение содержания фенольных соединений двух видов растений (*B. pilosa* и *B. tripartita*), произрастающих в разных регионах Республики Бурунди и Республики Татарстан и проведена оценка степени влияния эколого-географических факторов на содержание биологически активных веществ в исследуемых растениях.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объект исследования.** Объектом исследования служила надземная часть двух видов череды: череда трехраздельная (*B. tripartita*) и череда волосистая (*B. pilosa*) из разных районов Республики Бурунди (РБ) (табл. 1): Кирими́ро (место сбора растений — суходольный луг с высокой освещенностью, высота над уровнем моря 1603 м); Мугамба (место сбора растений — суходольный луг с высокой освещенностью, высота над уровнем моря 2097 м); Бурагане (место сбора растений — суходольный луг с высокой освещенностью, высота над уровнем моря 1550 м) и Республики Татарстан (РТ) (табл. 2): Спасский (место сбора растений — остепненный луг с высокой освещенностью) и Высокогорский район (место сбо-

ра растений — придорожная западина с высокой освещенностью). Растения собирали в июле 2019 г. на стадии цветения. Состав почв с места сбора растений РБ определяли в агрохимической лаборатории анализа почвы и пищевых продуктов Института агрономических наук Бурунди (ISABU). Высоту над уровнем моря на месте сбора определяли с помощью приложения *offlinemaps*. Температурные данные и количество осадков были предоставлены Географическим институтом Бурунди (IGEBU). Состав почв с места сбора растений РТ определяли в агрохимической лаборатории Россельхознадзора РТ.

Растительный материал сушили в тени до воздушно-сухого состояния, образцы хранили в бумажных пакетах без воздействия прямых солнечных лучей. Листья растений измельчали до порошкообразного состояния. Далее полученное измельченное сырье использовали для приготовления экстрактов.

**Определение суммарного содержания водорастворимых фенольных соединений.** Суммарное содержание водорастворимых фенольных соединений (ВФС) определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Фолина—Дениса в присутствии NaHCO<sub>3</sub>. Около 50 мг измельченного растительного сырья, помещали в пробирку Эппендорф, прибавляли 1.5 мл дистиллированной воды и инкубировали на водяной бане в течение 45 мин при температуре 70°C, после чего центрифугировали при 15000 об/мин в течение 5 мин. Водный экстракт хранили при +4°C без доступа света для дальнейшего использования.

Для определения ВФС, отбирали 75 мкл водного экстракта в пробирки объемом 1.5 мл, добавляли 75 мкл реактива Фолина-Дениса, перемешивали, через 3 мин добавляли 120 мкл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$  (10%), перемешивали, добавляли 1.2 мл воды и через 45 мин центрифугировали при 16000 об/мин в течение 2 мин. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 725 нм. В качестве контроля использовали 75 мкл воды вместо экстракта. Суммарное содержание растворимых фенольных соединений в изучаемом сырье рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{EKR V}{m \times 1000},$$

где:  $C$  — концентрация фенольных соединений, мг/г сухой массы;  $E$  — оптическая плотность при 725 нм;  $K$  — коэффициент пересчета на эталонное вещество — (–)-эпикатехин (480);  $R$  — разведение;  $V$  — объем экстракта, мл;  $m$  — масса навески растительного материала, г [10].

**Определение содержания флавоноидов.** Экстракт для определения флавоноидов в лекарственном сырье готовили по методике, описанной в работе [11]. Около 1 г измельченного растительного сырья, помещали в коническую колбу на 150 мл, прибавляли 30 мл 90% этилового спирта, содержащего 1% концентрированной соляной кислоты ( $\text{HCl}$ ), нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждали до комнатной температуры и фильтровали полученный экстракт через бумажный фильтр. Экстракцию повторяли дважды. Фильтровали через тот же фильтр в ту же колбу, далее промывали фильтр 90% этиловым спиртом и доводили объем фильтра до метки (раствор А).

Для определения помещали 2 мл раствора А в колбу, добавляли 1 мл 1% раствора алюминия хлорида ( $\text{AlCl}_3$ ) в 95% этиловом спирте и доводили объем раствора 95% этиловым спиртом до метки. Далее через 20 мин определяли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 430 нм. В качестве контроля использовали раствор, состоящий из 2 мл раствора А, доведенный 95% этиловым спиртом до заданного объема.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин и абсолютно сухое сырье в процентах ( $X$ ) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100}{764.6m \times 2 \times (100W)},$$

где  $D$  — оптическая плотность исследуемого раствора; 764.6 — удельный показатель поглощения комплекса кверцетина с алюминия хлоридом при 430 нм;  $m$  — масса сырья в граммах, г;  $W$  — потеря массы при высушивании сырья, %.

**Определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин.** Содержание дубильных веществ определяли путем титрования раствором перманганата калия. Для экстракции дубильных веществ 2 г сухого измельченного сырья помещали в колбу на 500 мл, заливали 250 мл кипящей воды и нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через вату, доводили водой до нужного объема. Затем отбирали 25.0 мл водного экстракта в колбу, добавляли 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0.02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания. В качестве контрольного варианта к 525 мл воды добавляли 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании раствором перманганата калия (0.02 моль/л) до золотисто-желтого окрашивания.

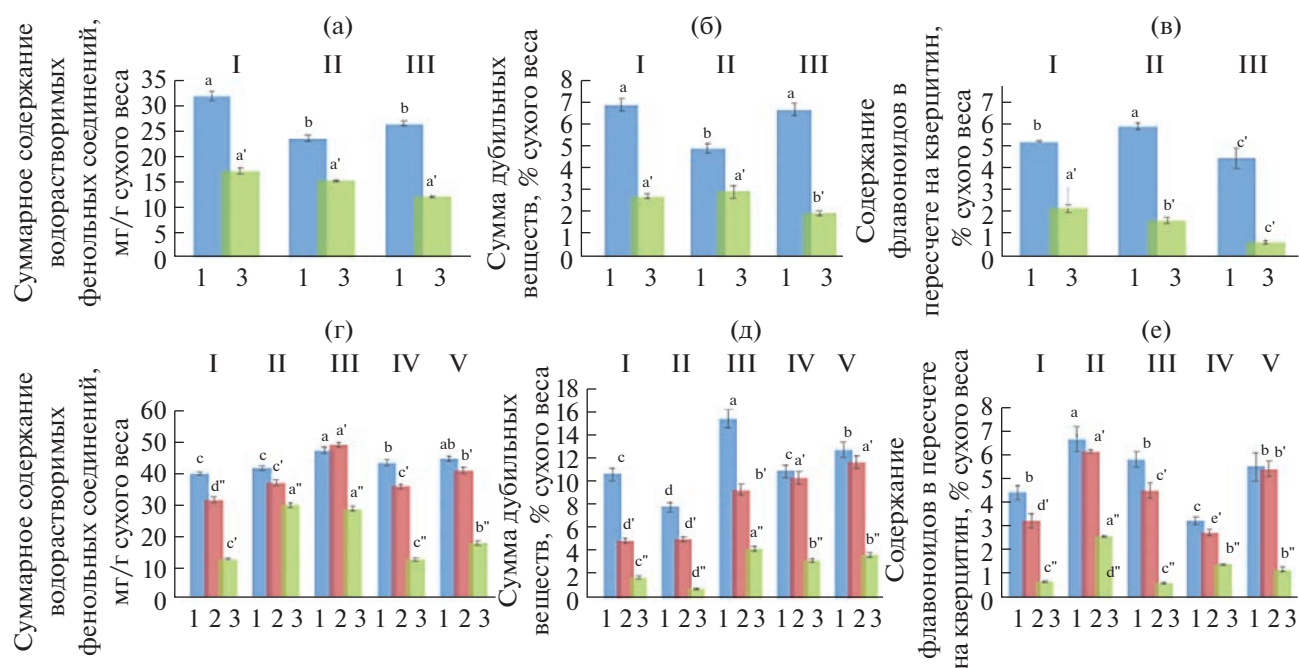
Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах ( $X$ ) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0.004157 \times 250 \times 100}{a \times 25 \times (100W)},$$

где  $V$  — объем 0.02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;  $V_1$  — объем 0.02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл; 0.004157 — количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0.02 М раствору калия перманганата (в пересчете на танин), г;  $a$  — навеска сырья или лекарственного растительного препарата, г;  $W$  — влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %; 250 — общий объем водного извлечения, мл; 25 — объем водного извлечения, взятого для титрования, мл.

Для приготовления раствора индигосульфокислоты, растворяли 1.0 г индигокармина в 25 мл концентрированной серной кислоты затем прибавляли дополнительно 25 мл серной кислоты и разбавляли водой до 1000 мл [12].

**Определение содержания фенольных соединений методом ВЭЖХ.** Для проведения хроматографического анализа первоначально проводили спиртовую экстракцию фенольных соединений в 70% этаноле на водяной бане в течение 90 мин [13]. Далее была проведена идентификация фенольных соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографической системе высокого давления (“BIO-RAD”, США). Использовали оригинальную колонку SN-421001911, 5  $\mu\text{m}$ , 4  $\times$  250 мм (США). Детекцию пиков осуществляли посредством двухволнового УФ ВЭЖХ детектора BioLogic QuadTec UV-Vis (“BIO-RAD”, США) при длине волны 260 нм.



**Рис. 1.** Содержание фенольных соединений в *B. pilosa* (а, б, в): I – Киримири; II – Мугамба; III – Бурагане и *B. tripartita* (г, д, е): I – Высокогорский район; II – Спасский район; III – регион Киримири; IV – регион Мугамба; V – регион Бурагане. 1 – листья; 2 – цветки; 3 – стебель. Одинаковыми буквами обозначено отсутствие статистически значимых отличий между образцами, собранными в разных районах при  $P < 0.05$ .

В качестве подвижной фазы использовали 98% воду, 1% уксусную кислоту, 1% ацетонитрил (раствор А) и 99% ацетонитрил, 1% уксусную кислоту (Б). Элюирование: линейный градиент подвижной фазы А в фазе В составлял 30–80% от 0 до 9 мин с последующим изократическим элюированием 80% фазы А в фазе В от 9 до 15 мин; скорость потока составляла 1 мл/мин. ВЭЖХ проводили при комнатной температуре ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Для идентификации пиков выявляемых, на хроматограмме, использовали рабочие стандартные растворы кверцетина (CAS 117–39–5,  $\geq 95\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия), протокатеховой кислоты (CAS 99–50–3,  $\geq 98\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия), хлорогеновой кислоты (CAS 327–97–9,  $\geq 95\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия), лютеолина (L9283–10MG,  $\geq 98\%$ , Израиль), кемпферола (CAS 520–18–3,  $\geq 90\%$ , “Sigma Aldrich”, Франция), кумаровой кислоты (CAS 501–98–4,  $\geq 98\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия), бензойной кислоты (CAS 6585–0,  $\geq 99.5\%$ , “merck millipore”, Россия), феруловой кислоты (CAS 537–98–4,  $\geq 98\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия), кофейной кислоты (CAS 331–39–5,  $\geq 98\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия), синаповой кислоты (CAS 530–59–6,  $\geq 98\%$ , “Sigma Aldrich”, Германия).

**Статистический анализ.** Все эксперименты проводились минимум в 5-кратной повторности. Статистическая обработка данных проводилась в программе OriginPro 2021 используя дву-

сторонний критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферони для множественного сравнения при  $P < 0.05$ . Данные перед началом анализа связей между факторами окружающей среды и содержанием фенольных соединений подвергали тестированию на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. Взаимосвязь между параметрами оценивали посредством корреляционного анализа Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Содержание фенольных соединений в исследуемых лекарственных растениях.** В ходе нашей работы был проведен сравнительный анализ содержания ВФС, дубильных веществ и флавоноидов в исследуемых лекарственных растениях, собранных из разных мест обитаний. Было обнаружено, что содержание изученных фенольных соединений в исследуемых видах лекарственных растений, произрастающих в различных регионах РТ и РБ варьирует в широких пределах в зависимости от места произрастания и различается в разных органах растений (рис. 1). Установлено, что листья имеют более высокое содержание фенольных соединений, по сравнению с цветками и стеблями. Как видно из рис. 1, в растениях *B. pilosa* содержание ВФС варьировало от 23.66 до 32.01 мг/г в листьях и от 12.19 до 17.33 мг/г сухого веса в стеблях. Растения, которые были собраны в регионе

Кирими́ро, имели наиболее высокое содержание ВФС, по сравнению с регионами Мугамба и Бурагане. Растения из Бурагане и Мугамба не отличались по содержанию данных соединений.

Содержание дубильных веществ составило от 5.04 до 7.04% сухого веса в листьях, а в стеблях — от 2.04 до 3.05% сухого веса. Как видно из рис. 1б, большее количество дубильных веществ накапливается в листьях, по сравнению со стеблями. При этом растения из Кирими́ро и Бурагане характеризовались более высоким содержанием дубильных веществ, чем растения из Мугамба.

Содержание флавоноидов в листьях *B. pilosa* было в пределах от 4.95 до 5.91% сухого веса (в пересчете на кверцетин). Самое большое количество кверцетина выявлено в растениях из Мугамба (рис. 1в). Таким образом, растения *B. pilosa* с самым высоким уровнем фенольных соединений обнаружены в регионах Кирими́ро, по сравнению с Бурагане и Мугамбе.

У растений *B. tripartita* содержание ВФС варьировало от 40.65 до 48.24 мг/г в листьях, 32.02 до 49.82 мг/г в цветках и 12.96 до 30.48 мг/г сухого веса в стеблях (рис. 1г). В целом, листья и цветки растения *B. tripartita* содержали примерно одинаковое количество ВФС. Растения, собранные в Высокогорском и Спасском районах РТ, статистически не отличались по этому показателю, как и растения из регионов Кирими́ро и Бурагане в РБ.

Самое высокое количество дубильных веществ обнаружено в листьях, самое низкое — в стеблях. В листьях растения *B. tripartita* количество дубильных веществ было в пределах от 8.04 до 15.68% сухого веса. Было выявлено что, в РТ растения из Высокогорского района, а в РБ — растения из региона Кирими́ро, содержали больше дубильных веществ, по сравнению с другими районами (рис. 1д).

Самое высокое значение флавоноидов наблюдалось в растениях, собранных из Спасского района РТ; Кирими́ро и Бурагане РБ. Больше всего их было в листьях и количество варьировалось от 3.29 до 6.77% сухого веса (в пересчете на кверцетин) (рис. 1е).

Следует отметить, что растения *B. tripartita* характеризуются более высокими количествами фенольных соединений, чем растения *B. pilosa*. При этом растения *B. tripartita*, произрастающие в условиях умеренно-континентального (Татарстан) и тропического (Бурунди) климата, имеют практически одинаковое содержание фенольных соединений.

**Качественный состав фенольных соединений в исследуемых лекарственных растениях.** При изучении профиля индивидуальных фенольных соединений методом ВЭЖХ в исследуемых растениях было установлено, что растения одного и того же вида не всегда синтезируют одни и те же веще-

ства и в одинаковом количестве. Каждый вид растений имеет набор индивидуальных фенольных соединений, которые играют свои специфические роли в растении при адаптации и защите от абиотических и биотических стрессоров.

Как видно из рис. 2а–2в, растения *B. pilosa* богаты разными индивидуальными фенольными соединениями с преобладанием кемпферола в регионе Кирими́ро, кверцетина в регионе Мугамба и Бурагане. Стоит отметить, что растения *B. pilosa* в регионе Кирими́ро имеют самый разнообразный фенольный состав.

У *B. tripartita* качественный анализ показал наибольшее разнообразие фенольных соединений в растениях из лесостепной зоны Спасского района РТ, а также в растениях из региона Бурагане и Кирими́ро РБ (рис. 3а–3г). Было обнаружено преобладание синаповой кислоты в растениях из Спасского района и регионов Кирими́ро и Бурагане.

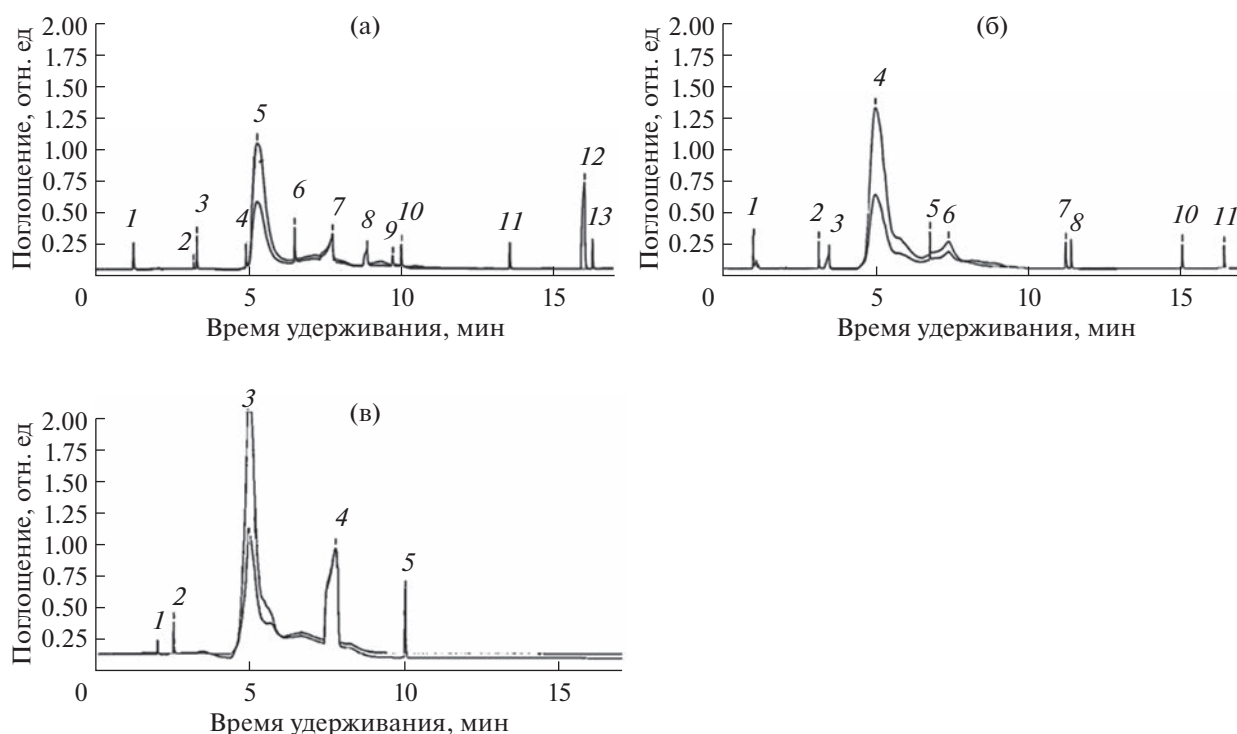
**Влияние эколого-географических условий на содержание биологически активных веществ в исследуемых ресурсно-полезных растениях.** Для выявления решающих эколого-географических факторов, влияющих на уровень изучаемых фенольных соединений в лекарственных растениях, был проведен корреляционный анализ по Пирсону.

У растений *B. pilosa* была обнаружена высокая корреляция между содержанием фенольных соединений и гео-климатическими факторами, а также минеральными элементами почвы. Согласно данным табл. 3, содержание азота в почвах и средняя годовая температура отрицательно коррелировали с содержанием кверцетина в данных растениях, в то время как высота над уровнем моря и количество осадков положительно. Содержание ВФС и дубильных веществ в растениях *B. pilosa* положительно коррелировало с содержанием кальция и магния в почве (табл. 3).

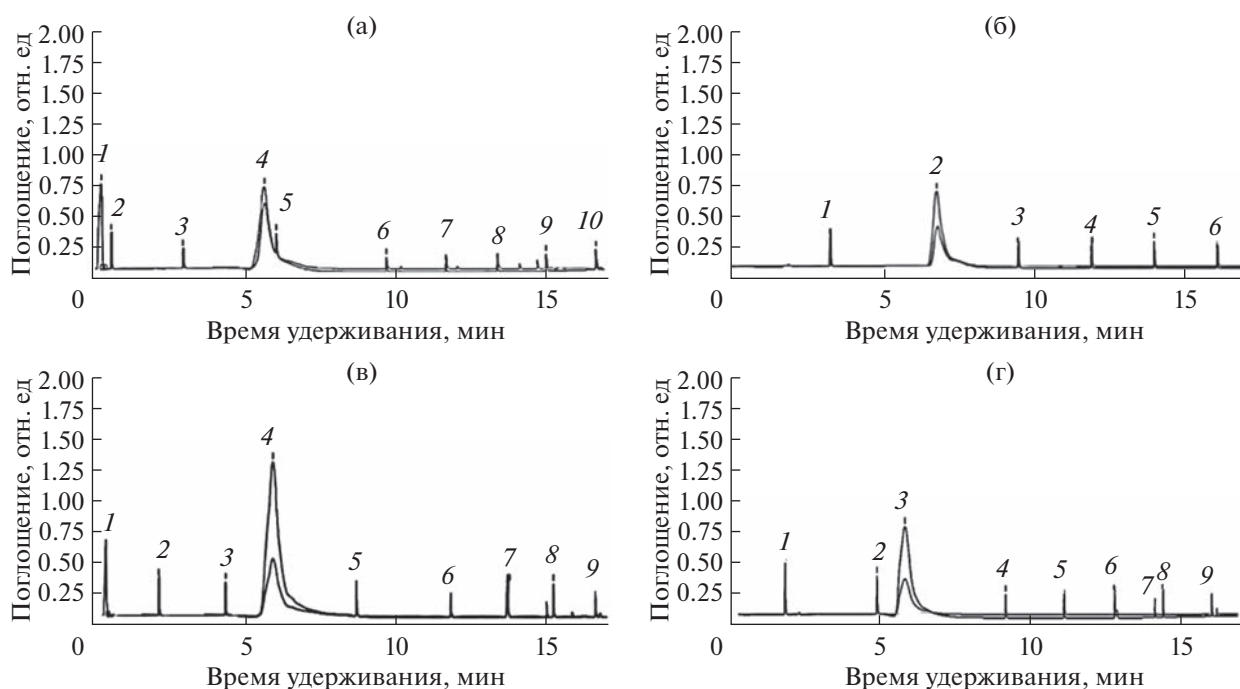
У растений *B. tripartita* содержание кверцетина положительно коррелировало со средней температурой, содержанием в почве кальция и магния, высотой над уровнем моря и наблюдалась обратная корреляция с количеством осадков. Содержание дубильных веществ положительно коррелировало с содержанием кальция и магния в почве, а содержание ВРФ положительно коррелировало с содержанием магния в почве и отрицательно с содержанием фосфора (табл. 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Факторы окружающей среды, такие, как высота над уровнем моря, свет, температура, количество осадков, влажность и состав почвы влияют на синтез и накопление фенольных соединений в изучаемых растениях. Исследования разных авторов [14] доказывают, что количество фенольных



**Рис. 2.** ВЭЖХ хроматограммы водно-спиртового экстракта растений *B. pilosa* из разных мест произрастания: а – регион Киримири: 2 – галловая кислота, 4 – кверцетин, 5 – кемпферол, 7 – протокатехин, 10 – хлорогеновая кислота, 12 – цинарозид; б – регион Мугамба: 2 – галловая кислота, 4 – кверцетин, 5 – катехин, 8 – кофейная кислота; в – регион Бурагане: 3 – кверцетин, 4 – протокатехин, 5 – хлорогеновая кислота, 6 – лютеолин.



**Рис. 3.** ВЭЖХ хроматограммы водно-спиртового экстракта растений *B. tripartita* из разных мест произрастания: а – Спасский район: 4 – синаповая кислота, 6 – хлорогеновая кислота, 7 – кофейная кислота, 10 – лютеолин; б – Высокогорский район: 2 – катехин, 4 – кофейная кислота, 6 – цинарозид; в – регион Бурагане: 2 – коричная кислота, 4 – синаповая кислота, 5 – цис-5 кофеилхиновая, 6 – кофейная кислота; г – регион Киримири: 2 – кверцетин, 3 – синаповая кислота, 5 – кофейная кислота, 7 – кумаровая кислота.

**Таблица 3.** Значения коэффициента корреляции Пирсона между факторами окружающей среды и содержанием фенольных соединений в растениях *B. pilosa*

| БАВ                | Эколого – геологические факторы места произрастаний |        |        |                  |                  |                |                              |                              |
|--------------------|-----------------------------------------------------|--------|--------|------------------|------------------|----------------|------------------------------|------------------------------|
|                    | температура                                         | осадки | высота | Mg <sup>2+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | K <sup>+</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> |
| ВФС                | 0.69*                                               | –0.70  | –0.43  | 0.92*            | 0.99*            | –0.08          | 0.07                         | –0.67*                       |
| Кверцетин          | –0.95*                                              | 0.97*  | 0.99*  | –0.41            | –0.66            | 0.82           | –0.97*                       | –0.12                        |
| Дубильные вещества | 0.94*                                               | –0.58  | –0.78* | 0.99*            | 0.98*            | 0.55           | 0.61                         | –0.26                        |

Примечание: \* – обозначены статистически значимая корреляция от ( $P < 0.05$ ).

**Таблица 4.** Значения коэффициента корреляции Пирсона между факторами окружающей среды и содержанием фенольных соединений в растениях *B. tripartita*

| БАВ                | Эколого – геологические факторы места произрастаний |        |        |                  |                  |                |                              |                              |
|--------------------|-----------------------------------------------------|--------|--------|------------------|------------------|----------------|------------------------------|------------------------------|
|                    | температура                                         | осадки | высота | Mg <sup>2+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | K <sup>+</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> |
| ВФС                | 0.55                                                | –0.56  | –0.68  | 0.8*             | 0.73*            | –0.03          | 0.03                         | –0.78*                       |
| Кверцетин          | 0.85*                                               | –0.94* | 0.99*  | 1*               | 0.98*            | 0.56           | 0.61                         | –0.27                        |
| Дубильные вещества | 0.48                                                | –0.63  | –0.76* | 0.87*            | 0.95*            | 0.08           | 0.14                         | –0.70                        |

Примечание: \* – обозначены статистически значимая корреляция от ( $P < 0.05$ ).

соединений может значительно увеличиваться под воздействием различных стрессовых факторов окружающей среды. Они являются мощными антиоксидантами, поэтому эффективно обеспечивают устойчивость растений к ряду биотических и абиотических стрессоров [15]. Их повышение сказывается на стрессоустойчивости растений. Предыдущие исследования показали, что температурный стресс увеличивает синтез фенольных соединений в растениях, но в разной степени, в зависимости от вида растений. В целом холодоустойчивые растения, по-видимому, накапливают более высокие количества фенольных соединений при низкой температуре, а жароустойчивые – при более высокой. Также известно, что высота над уровнем моря играет важную роль в образовании вторичных метаболитов, которые, в конечном итоге, нейтрализуют свободные радикалы. Увеличение высоты над уровнем моря создает определенный стресс для растения, в том числе, за счет повышения УФ-излучения и понижения температуры, которые ускоряют образование свободных радикалов [16].

Состав почвы – другой фактор, который может влиять на содержание фенольных соединений. По данным литературы, при высоких концентрациях калия (K<sup>+</sup>), магния (Mg<sup>2+</sup>) и фосфора (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) повышается активность фермента фенилаланинаммонийлиазы, ответственной за синтез полифенолов [17]. В других исследованиях сообщалось о влиянии длительного и постоянного азотного голодания на усиление синтеза углерод-содержащих соединений, в т.ч. и накопление фе-

нолов [18–20]. Наши результаты, подтверждают влияние вышеперечисленных факторов на накопление фенольных соединений.

Действительно, регион Киримири, который отличался высоким содержанием ВРФ и дубильных веществ в растениях *B. pilosa*, а также всех исследуемых групп фенольных соединений в растениях *B. tripartita*, характеризуется довольно кислыми почвами, низким содержанием азота и высоким содержанием кальция (Ca<sup>2+</sup>) и магния (Mg<sup>2+</sup>). А регион Мугамба, в котором обнаружили высокие значения флавоноидов в пересчете на кверцетин в растениях *B. pilosa*, находится на самой большой высоте над уровнем моря с низкими среднесуточными температурами, что подтверждает защитную функцию кверцетина в условиях стресса в качестве мощного антиоксиданта [21, 22].

В РТ в растениях *B. tripartita* Спасского района обнаружено наибольшее содержание фенольных соединений по сравнению с Высокогорским районом. Спасский район отличался от Высокогорского района более низкими температурами и слабощелочной почвой с высоким содержанием азота и калия. Хотя некоторые научные исследования показывают, что содержание полифенолов увеличивается в ответ на дефицит азота в растениях [24]. В работе [25] было показано, что содержание флавоноидов и водорастворимых фенольных соединений увеличивалось в листьях *Brassica oleracea* var. *sabellica* при внесении N : P : K. Также высокое содержание ФС в т.ч. флавоноидов, было обнаружено у растений *Eleutherine palmifolia*, обработанных N:K [26, 27]. Наблюдаемые проти-



воречия влияния минеральных веществ на содержание фенольных соединений в растениях, могут быть связаны с наличием других факторов (поскольку в природной среде на растения оказывают влияние одновременно несколько факторов), количеством и доступностью минеральных веществ и особенностями растений.

Стоит отметить, что растения *B. pilosa* и *B. tripartita*, произрастающие в условиях умеренно-континентального (Татарстан) и тропического (Бурунди) климата, слабо различаются по содержанию фенольных соединений, что свидетельствует о генетически обусловленной узкой амплитуде изменчивости метаболизма этих видов.

В ходе изучения профиля индивидуальных фенольных соединений методом ВЭЖХ наблюдали наличие кемпферола и цинарозида только в растениях *B. pilosa* из Кирими́ро, кофейной кислоты и катехина — только в растениях из Мугамбы, а лютеолина — только в растениях из Бурегане. Кверцетин присутствовал во всех образцах. Можно полагать, что существует совокупность уникальных факторов окружающей среды, которые способствуют накоплению тех или иных фенольных соединений.

Как и в случае с *B. pilosa*, растения *B. tripartita* используют разные фенольные соединения (как например, хлорогеновая кислота и лютеолин в растениях из Спасского района, катехин и цинарозид в растениях из Высокогорского района; коричная кислота и 5 цис-кофеолхиновая кислота в растениях из Бурегане и кумаровая кислота в растениях из Кирими́ро) для адаптации в разных местах обитания, что объясняет их широкое распространение. Кроме того, во всех образцах *B. tripartita* (кроме Высокогорского района) было обнаружено преобладание синаповой кислоты. Синаповая кислота является одной из наиболее распространенных гидроксикоричных кислот в растениях, проявляющей мощный антиоксидантный эффект. Антиоксидантная активность синаповой кислоты сравнима с кофейной кислотой [28].

Таким образом, установлено, что растения *B. pilosa* и *B. tripartita* из РБ и РТ, произрастающие в совершенно разных условиях, имеют близкое содержание биологически активных веществ. Вероятно, сходные механизмы адаптации изученных видов обеспечивают их выживание в совершенно разных условиях РТ и РБ.

Анализ условий произрастания растений в разных регионах РБ выявил, что наиболее благоприятно для накопления фенольных соединений у двух видов *Bidens* сочетание факторов внешней среды региона Кирими́ро. Регионы Кирими́ро и Бурегане находятся на одной высоте, количество осадков там примерно одинаковое, но при этом в регионе Кирими́ро немного ниже среднесуточные температуры, а почвы довольно кислые, с

низким содержанием азота. По крайней мере, на содержание фенольных соединений мог оказать существенно низкий уровень азота в почвах этого региона (табл. 1).

Таким образом, почвенные условия (высокое содержание магния, низкое содержание азота и довольно кислые почвы) и относительно высокие средние температуры (19°C), характерные для региона Кирими́ро, способствуют накоплению биологически активных веществ в растениях *B. pilosa* и *B. tripartita*. Для растений в РТ, по-видимому, кроме вышеперечисленных, важным фактором является зональность (лесостепная зона, Спасский район).

Работа выполнена за счет средств программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая работа не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chang S.L., Chiang Y.M., Chang C.L., Yeh H.H., Shyur L.F., Kuo Y.H., Wu T.K., Yang W.C. Flavonoids, centaurein and centaureidin, from *Bidens pilosa*, stimulate IFN-gamma expression // J Ethnopharmacol. 2007. V. 112. P. 232. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.001>
2. Wu L., Nie L., Guo S., Wang Q., Wu Z., Lin Y., Wang Y., Li B., Gao T., Yao H. Identification of medicinal *Bidens* plants for quality control based on organelle genomes // Front. Pharmacol. 2022. V. 13. P. 1. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.84213>
3. Mohi U. Environmental factors on secondary metabolism of medicinal plants // Acta Scientific Pharmaceutical Sciences. 2019. V. 3. P. 34. <https://doi.org/10.31080/ASPS.2019.03.0338>
4. Ncube B., Finnie J.F., Van Staden J. Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants // S. Afr J. Bot. 2012. V. 82. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.05.009>
5. Mohiuddin A.K. Impact of various environmental factors on secondary metabolism of medicinal plants // J. Pharm. ClinRes. 2019. V. 7. P. 1. <https://doi.org/10.19080/JPCR.2019.07.555704>
6. Sarker U., Oba S. Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of *Amaranthus* leafy vegetable // BMC Plant Biol. 2018. V. 18. P. 1. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1484-1>
7. Jan R., Asaf S., Numan M., Lubna Kim K.-M. Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions // Agronomy. 2021. V. 11. P. 1. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050968>



8. Yuan Y., Tang X., Jia Z., Li C., Ma J., Zhang J. The Effects of ecological factors on the main medicinal components of *Dendrobium officinale* under different cultivation modes // Forests. 2020. V. 11. P. 1.
9. Issa A.M., Ambrose O.A., Mohammed M., Haruna K., Jacobus N.E. Effects of geographical location on the yield and bioactivity of *Anoigeissus leiocarpus* // J. Pharm. Biores. 2008. V. 5. P. 68. <https://doi.org/10.4314/jpb.v5i2.52995>
10. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их определения. Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. 185 С.
11. Андреева В.Ю., Калинин Г.И. "Разработка методики количественного определения флавоноидов в Манжетке обыкновенной *Alchemilla vulgaris* L.s.f." // Химия растительного сырья. 2000. №1. С. 85.
12. Сулейманов Ф.Ш. Определение дубильных веществ в траве Золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) // J. Sci. Articles "Health and Education Millennium". 2017. V. 19. P. 302.
13. Хуснетдинова Л.З., Акулов А.Н., Дубровная С.А. Изучение спектра биологически активных флавоноидов травы *Hypericum perforatum* L. флоры Республики Татарстан методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Химия растительного сырья. 2017. №4. С. 175.
14. Šamec D., Karalija E., Šola I., Vujčić B.V., Salopek-Sondi B. The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure // Plants. 2021. V. 10. P. 118. <https://doi.org/10.3390/plants10010118>. PMID: 33430128; PMCID: PMC7827553
15. Nicolas N., Bruno G., Michael N.C., María M.M., Renée H.F. The influence of environmental variations on the phenolic compound profiles and antioxidant activity of two medicinal Patagonian valerians (*Valeriana carnosa* Sm. and *V. clarionifolia* Phil.) // AIMS Agriculture and Food. 2021. V. 6. P. 106. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2021007>
16. Ghasemi K., Ghasemi Y., Ehteshamnia A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Ebrahimzadeh M.A., Pourmorad F. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (*Juglans regia* L.) green husks // J. Medic. Plants Res. 2011. V. 5. P. 1128.
17. Ibrahim A.I., Jabbour A.A., Abdulmajeed A.M., Elhady M.E., Almaroai Y.A., Hashim A.M. Adaptive responses of four medicinal plants to high altitude oxidative stresses through the regulation of antioxidants and secondary metabolites // Agronomy. 2022. V. 12. P. 1. <https://doi.org/10.3390/agronomy12123032>
18. Singh P., Arif Y., Bajguz A., Hayat S. The role of quercetin in plants // Plant Physiol. Biochem. 2021. V. 66. P. 10. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>
19. Oney-Montalvo J., Uc-Varguez A., Ramírez-Rivera E., Ramírez-Sucre M., Rodríguez-Buenfil I. Influence of soil composition on the profile and content of polyphenols in habanero peppers (*Capsicum chinense* Jacq) // Agronomy. 2020. V. 10. P. 1. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091234>
20. Bénard C., Bourgaud F., Gautier H. Impact of temporary nitrogen deprivation on tomato leaf phenolics // Int. J. Mol. Sci. 2011. V. 12. P. 7971. <https://doi.org/10.3390/ijms12117971>
21. Olsen K.M., Slimestad R., Lea U.S., Brede C., Løvdaal T., Ruoff P., Verheul M., Lillo C. Temperature and nitrogen effects on regulators and products of the flavonoid pathway: experimental and kinetic model studies // Plant Cell Environ. 2009. V. 32. P. 286. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01920>
22. Scheible W.R., Morcuende R., Czechowski T., Fritz C., Osuna D., Palacios-Rojas N., Schindelasch D., Thimm O., Udvardi M.K., Stitt M. Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen // Plant Physiol. 2004. V. 136. P. 2483. <https://doi.org/10.1104/pp.104.047019>
23. Singh P. The role of quercetin in plants // Plant Physiol. Biochem. 2021. V. 166. P. 10. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>
24. Jaakola L., Hohtola A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants // Plant Cell Environ. 2010. V. 33. P. 1239. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02154>
25. Narvekar A.S., Tharayil N. Nitrogen fertilization influences the quantity, composition, and tissue association of foliar phenolics in strawberries // Front. Plant Sci. 2021. V. 12. P. 1. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.613839>
26. Marlin M., Simarmat M., Salamah U., Nurcholis W. Effect of nitrogen and potassium application on growth, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Eleutherine palmifolia* // AIMS Agricul. Food. 2022. V. 7. P. 580. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2022036>
27. Anteh J.D., Timofeeva O.A., Mostyakova A.A. Assessment of mineral nutrient impact on metabolites accumulation in kale (*Brassica oleracea* var. sabellica) // Sib. J. Life Sci. Agricul. 2021. V. 13. P. 208. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2021-13-3-208-224>
28. Nagahama N., Gastaldi B., Clifford M.N., Manifesto M.M., Fortunato R.H. The influence of environmental variations on the phenolic compound profiles and antioxidant activity of two medicinal Patagonian valerians (*Valeriana carnosa* Sm. and *V. clarionifolia* Phil.) // AIMS Agricul. Food. 2021. V. 6. P. 106. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2021007>