

**Адаптивный ответ регенерантов *Fragaria ananassa* Duch.
под действием механокомпозита на основе аморфного диоксида
кремния и флавоноидов зелёного чая в условиях *in vitro***

© 2019. Е. В. Амброс¹, к. б. н., н. с., О. В. Коцупий¹, к. б. н., н. с.,
Е. А. Карпова¹, к. б. н., с. н. с., Е. Г. Трофимова², к. х. н., н. с.,
Ю. Г. Зайцева¹, к. б. н., н. с., Т. И. Новикова¹, д. б. н., зав. лабораторией,

¹Центральный сибирский ботанический сад
Сибирского отделения Российской академии наук,
630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Золотолинская, д. 101,
²Институт химии твёрдого тела и механохимии Сибирского отделения
Российской академии наук,
630128, Россия, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, д. 18,
e-mail: ambros_ev@mail.ru

Впервые на примере растений-регенерантов *Fragaria ananassa* изучены рострегулирующая и адаптогенная активности механокомпозита на основе аморфного диоксида кремния шелухи риса и флавоноидов зелёного чая. Преимуществом исследуемого механокомпозита является экологичность технологии его получения, основанной на использовании растительных отходов. Все испытанные концентрации механокомпозита (2,5; 5,0 и 10,0 мг/л) способствовали развитию корневой системы и надземной части регенерантов. Величины концентраций фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов), их соотношений (хлорофилл *a/b*, хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды) и содержания большинства фенольных соединений, в том числе галловой, кофейной, *p*-кумаровой, феруловой кислот, свидетельствуют о том, что концентрации механокомпозита 2,5 и 5,0 мг/л являются оптимальными для процесса адаптации к условиям *ex vitro* у регенерантов с высоким физиологическим статусом.

Ключевые слова: механокомпозит, диоксид кремния, клональное микроразмножение, земляника крупноплодная, адаптация, фенольные соединения, эллаговая кислота.

***In vitro* adaptive responses of *Fragaria ananassa* Duch.
plantlets induced by the mechanocomposite based
on amorphous silica and flavonoids of green tea**

© 2019. E. V. Ambros¹ ORCID: 0000-0002-2119-6503, O. V. Kotsupiy¹ ORCID: 0000-0002-5326-4371,
E. A. Karpova¹ ORCID: 0000-0002-4023-3090, E. G. Trofimova² ORCID: 0000-0002-6769-3724,
Y. G. Zaytseva¹ ORCID: 0000-0001-9413-4664, T. I. Novikova¹ ORCID: 0000-0002-6690-1878

¹Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, Russia, 630090,
²Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry Siberian Branch
of the Russian Academy of Science,
18, Kutateladze St., Novosibirsk, Russia, 630128,
e-mail: ambros_ev@mail.ru

For the first time, morphological and physiological characteristics of *Fragaria ananassa* microclones of two cultivars (Alpha and Solnechnaya polyanka) under the influence of mechanocomposite based on rice husks amorphous silica and flavonoids of green tea (2.5; 5.0 and 10.0 mg/L in the medium) during the rooting stage in *in vitro* conditions were studied. The advantage of mechanochemical technology of raw materials is the obtaining of biologically active compounds without using any chemical solvents with the least impact on the environment. The growth-stimulating effect of all tested mechanocomposite concentrations on the development of the plantlets root system was revealed. Root length, root number per microshoot, and the wet and dry weight of the roots were significantly increased (by 1.5, 1.4, 1.6 and 2.5 times, respectively). Moreover, the treatment resulted in increase of leaf number per microshoot, leaf area, and wet and dry weight of aerial parts appropriately by 1.3, 1.3, 1.2 and 1.9 times. Concentrations of photosynthetic pigments

(chlorophylls *a* and *b*, and carotenoids), and their ratios (chlorophyll *a/b*, chlorophyll (*a+b*)/carotenoids) indicated a high physiological state of the plantlets at mechanocomposite concentrations of 2.5 and 5 mg/L. At a concentration of 10 mg/L, chlorophylls *a* and *b* in the leaves of the plantlets of both cultivars and the ratio chlorophyll (*a+b*)/carotenoids in the leaves of the plantlets of cultivar Alpha decreased to the control level and below, which indicated stress level of this mechanocomposite concentration. The concentrations of 2.5 and 5.0 mg/L are optimal for adaptation of plantlets with high physiological state to *ex vitro* environment. In the composition of phenolic compounds, ellagic, gallic, p-coumaric, ferulic, and cinnamic acids, and their derivatives, were found. The mechanocomposite contributed to an increase in the content of most phenolic compounds in both cultivars. The contents of some constituents had not significantly changed or decreased (including ellagic acid in both cultivars). The results may be used for the development of production systems for a healthy planting material using biotechnological approaches and recommended for commercial strawberry micropropagation.

Keywords: mechanocomposite, silica, micropropagation, adaptation, cultivated strawberry, phenolic compounds, ellagic acid.

Земляника крупноплодная (*Fragaria ananassa* Duch.) – одна из наиболее востребованных ягодных культур во многих странах мира. Использование клонального микро-размножения позволяет получить не только оздоровленный, генетически однородный посадочный материал, но и значительно ускорить процесс коммерческого размножения сортов *F. ananassa*. Однако размножение *in vitro* сопровождается различными типами стрессорных воздействий (высокая относительная влажность, недостаток кислорода, повышенное осмотическое давление), приводящих к формированию специфического фенотипа растений со слабо развитыми эпидермальными покровами, фотосинтезирующими тканями, устьичным аппаратом и корневой системой. В результате этого при переносе растений *in vitro* в условия *ex vitro* возможны значительные потери неадаптированных растений, снижающие эффективность технологии в целом. В связи с этим актуальным становится поиск новых веществ, позволяющих повысить эффективность систем регенерации и адаптации растений в условиях *in vitro/ex vitro*. В настоящее время большое внимание уделяется экологически чистым материалам «зелёной химии», преимуществами которых также является простота обработки и низкая себестоимость [1]. Известно, что соединения кремния обладают ростостимулирующей активностью и обеспечивают защитные функции растений на механическом, физиологическом и биохимических уровнях [2]. Значительный интерес вызывают кремнийсодержащие препараты, полученные из возобновляемого растительного сырья механохимическими методами. Преимуществом механохимической технологии является извлечение ценных соединений с наименьшей нагрузкой на окружающую среду, без дополнительных затрат тепловой энергии и органических растворителей [3]. Препараты такого типа имеют повышенную

растворимость, сохраняют натуральный состав и, поэтому, наиболее эффективно усваиваются растениями.

Основными показателями физиологического состояния растений являются содержание фотосинтезирующих пигментов в листьях и их соотношения [4]. Каротиноиды и фенольные соединения (ФС) различной структуры служат индикаторами состояний стресса и адаптации [5]. Состав ФС листьев *F. ananassa* изучен фрагментарно. В листьях обнаружены эллаговая и галловая кислоты, их производные, ванилиновая, п-оксибензойная, кофейная, хлорогеновая кислоты, а также флавонолы: кверцетин, кемпферол, мирицетин и их гликозиды, в том числе рутин [6, 7]. При этом до 50% суммы ФС могут составлять производные эллаговой кислоты. Содержание флавоноидов также достигает значительных величин (до 30% суммы фенольных соединений) [8, 9].

Целью данного исследования является изучение ростовых и биохимических параметров развития регенерантов *F. ananassa* под действием механокомпозиата на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая на этапе укоренения *in vitro*.

Объекты и методы

Характеристика механокомпозиата. Механокомпозиат (МК) на основе рисовой шелухи и зелёного чая получен в Институте химии твёрдого тела и механохимии СО РАН (г. Новосибирск). Шелуха риса *Oryza sativa* L. сорта Лиман (Краснодарский край, Россия) является богатым источником биогенного диоксида кремния (до 20%), имеющего аморфную структуру, что определяет его конкурентоспособность при синтезе производных по сравнению с кристаллическими модификациями, требующими затрат дополнительной энергии на разрушение кристаллической решетки. Листья зелёного чая *Camelia sinensis* L. (Крас-

нодарский край, Россия) содержат хелатирующие функциональные группы, существенно повышающие растворимость кремния с 6,5 до 34,1 мг/л. Механохимическую обработку сырья проводили в роликовой мельнице РМ-20 при частоте вращения 1000 об./мин, время пребывания материала в зоне механического воздействия составляло 40–60 с [10]. Химический состав МК: экстрактивные вещества – 16,3±1,1%; гемицеллюлоза – 22,3±0,8%; лигнин – 20,2±1,5%; целлюлоза – 38,9±2,0%; катехины – 1,4±0,2%; водорастворимый мономерный кремний – 34,0±0,7 мг/л. Массовое соотношение рисовой шелухи и зелёного чая в МК 10:1.

Растительный материал и условия культивирования. Микропобеги двух сортов *F. ananassa* Альфа и Солнечная полянка, адаптированных для выращивания в сибирском регионе, длиной около 1,0 см с двумя-тремя листьями из стерильной культуры помещали на питательные среды по прописи Гамборга и Эвелега – В₅ [11], дополненные 20,0 г/л сахарозы, 6,0 г/л агара бактериологического и МК в концентрациях 0,0; 2,5; 5,0 и 10,0 мг/л. Применение среды В₅ и указанных концентраций МК обусловлено их успешным использованием при микроразмножении *F. ananassa* [12]. Культуры содержали под люминесцентными лампами холодного белого света с интенсивностью освещения 3000 лк при 16-часовом фотопериоде и температуре 23±2 °С. Продолжительность культивирования составила 8 недель. В конце эксперимента оценивали ростовые параметры длину микропобегов и корней (см), количество листьев и корней на микропобег (шт.), сырую и сухую массы

корней и микропобегов (г), площадь листовой пластинки (см²), содержание фотосинтетических пигментов (мг/г сырой массы) и фенольных соединений (мг в 100 г абсолютно сухой массы) у регенерантов. Площадь листовых пластинок рассчитывали с помощью системы анализа изображений SIAMS MesoPlant.

Биохимический анализ. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях регенерантов определяли в ацетоновом экстракте спектрофотометрическим методом и рассчитывали по уравнениям Хольма–Ветштейна для 100% ацетона [13]. Сумму ФС экстрагировали 70% этанолом на водяной бане. Состав ФС изучали до и после гидролиза 2н HCl на жидкостном хроматографе «Agilent 1200» с диодноматричным детектором и системой для сбора и обработки хроматографических данных ChemStation [14]. Расчёт содержания ФС производили в эквивалентах эллаговой кислоты.

Статистический анализ. Все эксперименты выполнены в трёх повторностях по 20 регенерантов в каждом варианте. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок (M±m). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многокритерийный тест Дункана (однофакторный дисперсионный анализ). Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение

Все испытанные концентрации МК способствовали развитию корневой системы

Таблица 1 / Table 1
Влияние механокомпозиата на ростовые параметры корневой системы *F. ananassa* в условиях *in vitro*
Effect of mechanocomposite on *in vitro* growth characteristics of *F. ananassa* root system

Сорт Cultivar	Концентрация механокомпозиата, мг/л Mechanocomposite concentration, mg/L	Длина корней, см Root length, cm	Количество корней на микропобег, шт. Roots (number per microshoot)	Масса корней, г Root weight, g	
				сырая / wet	сухая / dry
Солнечная полянка Solnechnaya polyanka	0,0	3,02±0,15 ^c	5,64±0,15 ^c	0,031±0,003 ^c	0,0021±0,0002 ^c
	2,5	3,23±0,18 ^c	7,68±0,27 ^a	0,044±0,004 ^b	0,0040±0,0002 ^b
	5,0	4,00±0,21 ^b	6,97±0,38 ^b	0,042±0,006 ^b	0,0051±0,0003 ^a
	10,0	4,65±0,21 ^a	6,87±0,25 ^b	0,053±0,003 ^a	0,0052±0,0003 ^a
Альфа Alpha	0,0	3,29±0,09 ^b	5,66±0,22 ^b	0,044±0,002 ^b	0,0040±0,0002 ^c
	2,5	3,63±0,19 ^{ab}	6,85±0,34 ^a	0,053±0,005 ^a	0,0061±0,0005 ^a
	5,0	3,98±0,23 ^a	6,64±0,33 ^a	0,054±0,003 ^a	0,0064±0,0005 ^a
	10,0	4,24±0,18 ^a	6,75±0,21 ^a	0,040±0,003 ^b	0,0050±0,0003 ^b

Примечание к таблицам 1–3: Средние значения в столбцах, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана при p < 0,05.
Note to tables 1–3: Means followed by the same letter are not significantly different according to Duncan’s test (p < 0.05).

Таблица 2 / Table 2

Влияние механокомпозита на ростовые параметры надземной части *F. ananassa* в условиях *in vitro*
Effect of mechanocomposite on *in vitro* growth characteristics of *F. ananassa* microshoots

Сорт Cultivar	Концентрация механокомпозита, мг/л Mechanocomposite concentration, mg/L	Высота розетки, см Rosette height, cm	Количество листьев на микрообер, шт. /Leaves, (number per microshoot)	Площадь листовой пластинки, см ² Leaf blade area, cm ²	Масса микропобега, г Shoot weight, g	
					сырая wet	сухая dry
Солнечная полянка Solnechnaya polyanka	0,0	2,55±0,08 ^a	6,97±0,18 ^c	5,34±0,39 ^b	0,101±0,008 ^c	0,009±0,001 ^b
	2,5	2,24±0,10 ^b	8,03±0,24 ^b	5,54±0,4 ^b	0,123±0,011 ^b	0,013±0,003 ^a
	5,0	2,26±0,11 ^b	8,56±0,44 ^{ab}	6,31±0,45 ^a	0,134±0,011 ^{ab}	0,014±0,001 ^a
	10,0	2,38±0,07 ^{ab}	8,63±0,20 ^a	4,40±0,48 ^c	0,146±0,010 ^a	0,015±0,001 ^a
Альфа Alpha	0,0	2,18±0,06 ^a	6,95±0,21 ^c	4,02±0,34 ^b	0,072±0,005 ^c	0,010±0,001 ^c
	2,5	1,81±0,06 ^c	7,81±0,21 ^b	5,20±0,32 ^a	0,112±0,010 ^a	0,015±0,001 ^a
	5,0	1,98±0,07 ^b	8,24±0,25 ^b	5,54±0,24 ^a	0,122±0,007 ^a	0,014±0,001 ^a
	10,0	1,81±0,05 ^c	9,20±0,30 ^a	5,16±0,37 ^a	0,088±0,007 ^b	0,012±0,001 ^b

Таблица 3 / Table 3

Влияние механокомпозита на содержание фотосинтетических пигментов в листьях
растений-регенерантов *F. ananassa* в условиях *in vitro* / Effect of mechanocomposite on *in vitro*
photosynthetic pigments content in leaves of *F. ananassa* plantlets

Сорт Cultivar	Концентрация механокомпозита, мг/л Mechanocomposite concentration, mg/L	Хлорофилл, мг/г сырой массы Chlorophyll, mg/g				Каротиноиды, мг/г сырой массы Carotenoids, mg/g	<i>a+b</i> / каротиноиды <i>a+b</i> / carotenoids
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>	<i>a/b</i>		
Солнечная полянка Solnechnaya polyanka	0,0	0,53±0,02 ^{bc}	0,71±0,04 ^c	1,24±0,06 ^c	0,75±0,02 ^a	0,25±0,03 ^{ab}	5,05±0,37 ^a
	2,5	0,58±0,03 ^{ab}	0,87±0,04 ^b	1,45±0,07 ^b	0,66±0,01 ^b	0,23±0,02 ^b	6,21±0,10 ^a
	5,0	0,65±0,05 ^a	0,99±0,06 ^a	1,64±0,11 ^a	0,66±0,01 ^b	0,29±0,02 ^a	5,77±0,02 ^a
	10,0	0,49±0,05 ^c	0,75±0,08 ^c	1,24±0,12 ^c	0,65±0,004 ^b	0,22±0,02 ^b	5,90±1,19 ^a
Альфа Alpha	0,0	0,60±0,01 ^a	0,83±0,03 ^b	1,43±0,04 ^a	0,73±0,02 ^a	0,29±0,02 ^{ab}	4,97±0,17 ^{bc}
	2,5	0,64±0,07 ^a	0,88±0,11 ^{ab}	1,52±0,18 ^a	0,73±0,01 ^a	0,29±0,02 ^{ab}	5,15±0,38 ^{ab}
	5,0	0,68±0,05 ^a	0,99±0,08 ^a	1,67±0,14 ^a	0,69±0,01 ^b	0,30±0,03 ^a	5,61±0,44 ^a
	10,0	0,49±0,05 ^b	0,65±0,05 ^c	1,14±0,10 ^b	0,75±0,02 ^a	0,25±0,01 ^c	4,41±0,17 ^c

регенерантов. Длина корней увеличивалась в 1,5 раза, число корней – в 1,4 раза, сырая и сухая массы корней – в 1,6 и 2,5 раза относительно контроля, в зависимости от генотипа ($p < 0,05$) (табл. 1). Отмечено увеличение количества листьев и площади листовых пластинок в 1,3 раза (за исключением варианта с 10,0 мг/л у сорта Солнечная полянка), сырой и сухой массы микророзеток – в 1,2–1,9 раза в сравнении с контролем ($p < 0,05$) (табл. 2).

Применение МК в концентрации 2,5 и 5,0 мг/л приводило к увеличению содержания хлорофиллов *a* и *b* у регенерантов относительно контроля ($p < 0,05$) (табл. 3). Повышение концентрации МК до 10,0 мг/л оказывало ингибирующее действие на синтез фотосинтетических пигментов. Величина соотношения хлорофиллов *a/b* уменьшалась за счёт более интенсивного снижения синтеза хлорофилла *a*, по сравнению с хлорофиллом *b*.

Тенденция к увеличению доли хлорофилла *b* у регенерантов *F. ananassa* на средах с добавлением МК может быть связана с его адаптогенной активностью, направленной на повышение эффективности светособирающих комплексов. Величина соотношения хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды увеличивалась относительно контроля в присутствии практически всех концентраций МК, что свидетельствует об оптимальном физиологическом состоянии регенерантов и способствует повышению адаптивности растений при переносе в нестерильные условия *ex vitro*.

Исключение составляет концентрация МК 10,0 мг/л в культуре сорта Альфа. Ухудшение физиологического состояния регенерантов на этой среде сопровождалось достоверным понижением величины соотношения хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды на фоне уменьшения содержания суммы хлорофиллов (табл. 3).

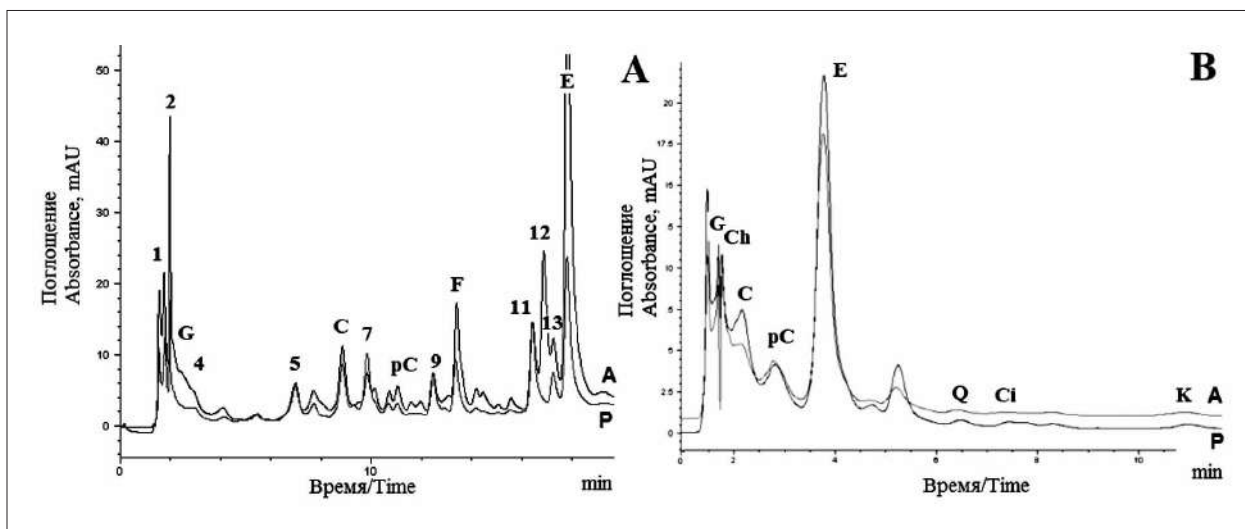


Рис. Фрагменты хроматограмм экстрактов (А) и гидролизатов (В) надземной части регенерантов сортов Альфа (А) и Солнечная полянка (Р). Условные обозначения: G – галловая кислота, Ch – хлорогеновая кислота, C – кофейная кислота, pC – p-кумаровая кислота, F – феруловая кислота, E – эллаговая кислота, Q – кверцетин, Ci – коричная кислота, K – кемпферол
Fig. Segments of the chromatograms of the extracts (A) and hydrolyzates (B) of aboveground parts of plantlets of the cultivars Alpha (A) и Solnechnaya polyanka (P). G – gallic acid, Ch – chlorogenic acid, C – caffeic acid, pC – p-coumaric acid, F – ferulic acid, E – ellagic acid, Q – quercetin, Ci – cinnamic acid, K – kaempferol

Таблица 4 / Table 4

Влияние механокомпозита на содержание фенольных соединений (мг/100 г) в надземной части растений-регенерантов *F. ananassa* в условиях *in vitro* / Effect of mechanocomposite on *in vitro* phenolic compounds contents (mg/100 g) in aerial parts of *F. ananassa* plantlets

Пики Peaks	t _r	Сорт / Cultivar							
		Солнечная полянка / Solnechnaya polyanka				Альфа / Alpha			
		Концентрация механокомпозита, мг/л / Mechanocomposite concentration, mg/L							
		0,0	2,5	5,0	10,0	0,0	2,5	5,0	10,0
1hb	1,8	102,6±5,5	123,3±10,4	95,2±7,6	149,5±8,8	84,5±5,5	205,5±16,0	302,1±14,2	166,3±11,9
2hb	2,0	87,8±4,2	43,6±2,7	56,0±4,1	121,8±6,7	46,6±1,9	111,2±3,6	331,6±19,4	182,7±9,3
G	2,4	74,5±3,7	19,2±1,0	101,0±7,5	84,4±2,7	51,4±2,2	117,4±4,5	151,7±13,4	59,4±2,4
4hc	2,9	54,4±2,4	177,7±7,7	61,5±1,6	174,7±12,1	56,2±0,6	83,1±2,3	122,4±9,4	116,2±6,4
5hb	6,8	60,7±5,6	84,0±5,7	23,6±1,3	62,1±4,2	52,9±3,7	78,1±2,1	108,3±6,2	71,6±4,3
C	8,6	73,1±2,7	100,5±6,4	107,5±4,9	132,8±31,6	66,5±2,2	165,9±6,8	40,0±2,0	229,3±8,1
7hb	9,7	78,7±2,4	35,6±1,1	20,1±1,3	104,1±6,7	52,5±1,7	78,7±2,9	53,4±2,1	55,9±1,4
pC	10,8	50,7±1,3	76,3±5,8	65,4±0,9	88,1±3,7	27,1±1,1	118,7±12,7	37,8±1,9	57,1±2,4
9hb	12,3	123,7±7,0	80,3±2,4	107,5±6,9	90,5±4,6	77,5±2,3	74,1±1,8	45,1±2,1	45,5±1,9
F	13,3	55,6±2,0	120,8±5,7	323,4±20,9	275,3±19,3	71,3±2,2	386,8±16,1	223,3±14,8	173,8±6,4
11el	16,3	250,7±3,1	239,8±20,2	257,0±16,7	190,6±9,0	184,0±12,3	149,0±11,0	153,8±9,4	165,2±11,5
12el	16,8	n.o. / n.d.	n.o. / n.d.	n.o. / n.d.	n.o. / n.d.	261,5±22,8	202,7±0,7	185,9±14,4	129,7±9,3
13el	17,2	44,9±1,3	86,6±4,7	104,0±6,8	87,2±5,2	117,2±10,3	121,9±13,8	84,1±5,7	218,6±17,7
E	17,7	317,4±16,2	257,2±20,8	310,3±16,9	331,4±25,6	461,4±36,3	585,1±27,3	436,1±23,2	501,5±23,5
Итого Total		1375,0± 57,4	1444,9± 100,6	1632,6± 97,4	1892,3± 140,2	1610,7± 105,1	2478,3± 121,5	2275,6± 138,2	2172,9± 116,5

Примечание: t_r – время удерживания, мин. Обозначения пиков идентифицированных компонентов и цифровой индекс пиков неидентифицированных компонентов соответствуют рисунку. Буквенные индексы пиков: hb – оксисалicylic кислоты, hc – оксисалицильные кислоты, el – производные эллаговой кислоты. Н.о. означает отсутствие детекции пика.

Note: t_r – retention time, min. Peak designation of identified compounds and digital indexes of unidentified compounds correspond to figure. Alphabetic indexes of the peaks: hb – hydroxybenzoic acid, hc – hydroxycinnamic acid, el – ellagic acid derivative. N.d.: not detectable.

В составе ФС надземной части регенерантов *F. ananassa* обнаружены галловая, кофейная, феруловая, пара-кумаровая, эллаговая кислоты и их производные (рис.). Максимальным содержанием отличались эллаговая кислота и её производные (компоненты 12–13). Производные кверцетина, кемпферола и коричной кислоты выявлены в следовых количествах (рис., В). Такое соотношение групп фенольных соединений, вероятно, отражает специфику фенольного метаболизма изученных сортов в данных условиях, так как оно совпадает с таковым у растений, выращенных в открытом грунте. Это согласуется с данными о незначительном содержании гликозидов кверцетина в листьях некоторых видов *Fragaria* [15].

Сорт Альфа отличался от сорта Солнечная полянка по составу производных эллаговой кислоты (3 и 2 соответственно) и более высоким (в 1,2–1,7 раза) содержанием ФС. Содержание большинства компонентов при повышении концентрации МК увеличивалось (табл. 4) за исключением некоторых компонентов, содержание которых достоверно не изменялось или понижалось (компоненты 9 и 11 у обоих сортов, эллаговая кислота у сорта Солнечная полянка, компонент 12 у сорта Альфа).

Сорт Альфа отличался более значительным возрастанием концентраций большинства компонентов под действием МК. Сумма компонентов уже при концентрации 2,5 мг/л увеличилась в 1,5 раза. Содержание галловой, кофейной кислот и компонента 1 при добавлении МК увеличилось более чем в 3 раза, содержание п-кумаровой и феруловой кислот увеличилось более чем в 4,4 и 5,4 раза, а содержание компонента 2 – более чем в 7 раз. Увеличение в содержании компонентов сорта Солнечная полянка составляло 1,4–5,9 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, добавление МК к среде способствовало возрастанию содержания большей части ФС изученных сортов. Более существенное возрастание суммы ФС и индивидуальных компонентов выявлено у сорта Альфа. Наиболее отзывчивыми компонентами на добавление МК являются минорные компоненты, а содержание эллаговой кислоты и ее производных либо изменяется незначительно, либо возрастает не столь значительно (в 1,1–2,0 раза). Этот факт согласуется с нашими предыдущими исследованиями [4]. Возрастание содержания фенолкарбоновых кислот и производных эллаговой кислоты в растениях

F. ananassa при адаптации также ранее было показано [9, 15].

Известно, что ФС принимают участие в процессах адаптации растений в роли низкомолекулярных антиоксидантов, уменьшающих последствия окислительного стресса [16]. Можно предположить, что МК индуцирует механизмы, способствующие повышению адаптивного статуса у регенерантов.

Заключение

Исследование морфологических и биохимических параметров роста растений-регенерантов *F. ananassa* на среде с добавлением МК на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая показало, что все испытанные концентрации МК (2,5; 5,0 и 10,0 мг/л) способствовали развитию корневой системы и надземной части регенерантов. Величины концентраций фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов), их соотношений (хлорофилл *a/b*, хлорофилл (*a+b*)/каротиноиды) и содержания большинства ФС, в том числе галловой, кофейной, п-кумаровой, феруловой кислот, свидетельствовали о том, что концентрации МК 2,5 и 5 мг/л являются оптимальными для получения регенерантов с высоким физиологическим статусом.

Полученные результаты морфо-физиологических и биохимических изменений регенерантов могут быть использованы для улучшения адаптивного потенциала растений под действием МК и позволяют рассматривать препарат, как перспективное соединение для практического применения с целью защиты растений от стресса при переносе растений из условий *in vitro* в условия *ex vitro*.

Исследование биохимических параметров регенерантов выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках Проекта № 19-44-540004 «Структурно-функциональный адаптогенез растений под действием механокомпозита на основе биогенного диоксида кремния и флавоноидов растительного происхождения в условиях in vitro и ex vitro: морфо-гистологические и биохимические подходы (на примере Fragaria ananassa Duch.)». Работа по выращиванию растений F. ananassa в условиях in vitro выполнена в рамках государственного задания ЦСБС СО РАН № АААА-А17-117012610051-5 по проекту «Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными

методами». При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН, «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте», USU 440534.

References

1. Karmanov A.P., Kocheva L.S., Ovodov Yu.S., Brovko O.S. The research of lignins of the agricultural plant waste // Theoretical and Applied Ecology. 2014. No. 2. P. 35–40 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2014-2-035-040
2. Guerriero G., Hausman J.F., Legay S. Silicon and the plant extracellular matrix // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. Article 463. [Internet resource] <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.00463/full> (Accessed: 12.04.2016).
3. Lomovsky O.I., Lomovskiy I.O., Orlov D.V. Mechanochemical solid acid/base reactions for obtaining biologically active preparations and extracting plant materials // Green Chem. Lett. Rev. 2017. V. 10. No. 4. P. 171–185.
4. Karpova E.A., Fershalova T.D. Dynamics of leaf pigments content of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* introduced in West Siberia (Novosibirsk) // Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology. 2016. V. 33. No. 1. P. 140–158 (in Russian). doi: 10.17223/19988591/33/9
5. Karpova E.A., Fershalova T.D., Petruk A.A. Flavonoids in Adaptation of *Begonia grandis* Dryander subsp. *grandis* Introduced in West Siberia (Novosibirsk) // J. Stress. Physiol. Biochem. 2016. V. 12. No. 3. P. 44–56 (in Russian).
6. El-Mesallamy A.M.D., Hussein S.A.M., Gerby M.El., Abd El Azim M.H.M. Phenolic composition and biological activities of methanolic extract of strawberry leaves (*Fragaria ananassa*) // Natural products. 2013. V. 9. No. 6. P. 251–257.
7. Kårlund A., Hanhineva K., Lehtonen M., McDougall G.J., Stewart D., Karjalainen R.O. Nontargeted metabolite profiling highlights the potential of strawberry leaves as a resource for specific bioactive compounds // J. Sci. Food Agric. 2016. V. 97. No. 7. P. 2182–2190. doi: 10.1002/jsfa.8027
8. Simirgiotis M., Schmeda-Hirschmann G. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD–ESI-MS and free radical quenching techniques // J. Food Compos. Anal. 2010. V. 23. No. 6. P. 545–553. doi: 10.1016/j.jfca.2009.08.020
9. Kårlund A., Salminen J.-P., Koskinen P., Ahern J.R., Karonen M., Tiilikkala K., Karjalainen R.O. Polyphenols in strawberry (*Fragaria × ananassa*) leaves induced by plant activators // J. Agric. Food Chem. 2014. V. 62. No. 20. P. 4592–4600. doi: 10.1021/jf405589f.
10. Trofimova E.G., Podgorbunskikh E.M., Skripkina T.S., Bychkov A.L., Lomovsky O.I. Scaling of the mechanochemical process of production of silicon chelates // Bulg. Chem. Commun. 2018. V. 50. Special Issue K. P. 45–48.
11. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. 1968. V. 46. P. 417–421.
12. Ambros E., Batrakova V., Krasnikov A., Zaytseva Y., Trofimova E., Novikova T. Effect of a biogenic silica and green-tea-flavonoids-based mechanocomposite on *Fragaria × ananassa* Duch. leaf anatomy in in vitro conditions // BIO Web Conf. 2018. V. 11. Article 00001. [Internet resource] (Accessed: 21.08.2018). doi: 10.1051/bioconf/20181100001
13. Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P. Metody biokhimičeskogo issledovaniya rasteniy. Leningrad: Agropromizdat, 1987. 420 p. (in Russian).
14. Ambros E.V., Kotsupy O.V., Novikova T.I., Vysochina G.I. Clonal micropropagation of *Astragalus sericeocanus* Gontsch. and content of phenolic compounds in vitro // Turczaninowia. 2018. V. 21. No. 4. P. 87–99 (in Russian).
15. Hukkanen A.T., Kokko H.I., Buchala A.J., McDougall G.J., Stewart D., Karenlampi S.O., Karjalainen R.O. Benzothiadiazole induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in strawberries // J. Agric. Food Chem. 2007. V. 55. No. 5. P. 1862–1870. doi: 10.1021/jf063452p
16. Kulbat K. The role of phenolic compounds in plant resistance // Biotechnol. Food Sci. 2016. V. 80. No. 2. P. 97–108.