

УДК 581.1:634.63:58.036.5:547.56

РОЛЬ НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ И ОЛЕУРОПЕИНА В ФОРМИРОВАНИИ МОРОЗОСТОЙКОСТИ *Olea europaea* L.

© 2023 г. А. Е. Палий^a, *, Т. Б. Губанова^a

^aФедеральное государственное бюджетное учреждение науки
“Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр Российской академии наук”, Ялта, Россия

*e-mail: gubanova-65@list.ru

Поступила в редакцию 28.09.2023 г.

После доработки 05.10.2023 г.

Принята к публикации 12.10.2023 г.

Определяли степень участия олеуропеина, рутина и цинарозида в процессах формирования зимостойкости и морозоустойчивости у 4 сортов маслины европейской *Olea europaea* L. и подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* (Wall. and G. Don) Cif. в природных и лабораторных условиях. Для оценки уровня стресса в листьях определяли содержание пролина, максимум которого был отмечен у слабостойкого подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata*. Для выявления особенности накопления фенольных веществ в природных условиях сопоставляли изменение их содержания в листьях и среднедекадных значений эквивалентно-эффективных температур. В лабораторных условиях изучали содержание фенольных соединений при различных режимах охлаждения: 0°C, 6 ч → –8°C, 8 ч (вариант 1); 0°C, 6 ч → –2°C, 6 ч → –8°C, 8 ч (вариант 2); –8°C, 8 ч (вариант 3); –8°C, 12 ч (вариант 4). Установлено, что 6 ч выдерживание побегов при 0°C положительно влияло на зимостойкость *O. europaea*, тогда как 6 ч экспозиция при –2°C приводила к развитию стресса. В первом варианте опыта у устойчивого сорта Никитская содержание олеуропеина возрастало. У сортов со средней степенью устойчивости (Раццо и Асколано) наблюдалась активация биосинтеза флавоноидов и олеуропеина. У слабостойкого сорта Кореджиоло фенольные вещества активно расходовались, а следовые количества олеуропеина и отсутствие изменений в содержании рутина и цинарозида у подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata*, вероятно, были связаны с его менее тесными родственными связями с *O. europaea*. Выявлено, что у генотипов с низкой морозоустойчивостью активация синтеза фенольных соединений происходила лишь при действии стрессового фактора (–2°C), что не позволило им своевременно адаптироваться, тогда как у относительно устойчивых сортов эти процессы начинались на более ранних этапах холодовой адаптации. Для сортов Кореджиоло, Раццо и Асколано длительное воздействие отрицательных температур явилось критическим фактором, тогда как для *O. europaea* subsp. *cuspidata* – летальным (вариант 4). Различия в синтезе фенольных соединений, выявленные в этих условиях, были связаны не только со степенью морозоустойчивости, но и с сортоспецифичностью генотипов *O. europaea*. Полученные данные позволили предположить, что олеуропеин, рутин и цинарозид являются элементами механизмов защиты растений маслин от негативного влияния отрицательных температур. Видимо, изученные соединения играют роль криопротекторов и антиоксидантов, участвуют в формировании зимостойкости. Большое значение имели условия активации биосинтеза фенольных соединений. У высокоустойчивого сорта Никитская их накопление происходило под влиянием температур близких к 0°C, а у неустойчивых сорта Кореджиоло и подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* – непосредственно во время действия начальных повреждающих температур.

Ключевые слова: *Olea europaea*, морозоустойчивость, пролин, олеуропеин, рутин, цинарозид

DOI: 10.31857/S0015330323600857, **EDN:** BFTZSQ

ВВЕДЕНИЕ

Проблема исследования реакции растений на действие отрицательных температур различной интенсивности, а также процесса низкотемпературного закалывания особо актуальна в связи с

наблюдаемыми климатическими изменениями [1]. В южных регионах, таких как Южный берег Крыма (ЮБК), проблема зимостойкости древесных растений имеет свою специфику, поскольку здесь широко распространены лиственные вечнозеленые растения, среди которых много видов, не имеющих физиологического покоя. Для их роста и развития большую опасность представляют оттепели, участвовавшие в зимний период и влия-

Сокращения: ПФО – полифенолоксидаза, ЭЭТ – эквивалентно-эффективные температуры, ЮБК – Южный берег Крыма.

ющие на зимостойкость. Способность растительного организма переносить условия зимы и ранней весны без значительных повреждений зависит не только от генотипа, но и физиолого-биохимических процессов в клетках, тканях и органах в период закаливания [2, 3]. Успешность метаболических изменений зависит как от физиологического состояния самого растения, так и от интенсивности и длительности стрессового воздействия, и в этом большая роль принадлежит низкомолекулярным биологически активным веществам. Известно, что интенсификация процессов ПОЛ относится к неспецифическим проявлениям стресса, в том числе и низкотемпературного [4, 5]. Поэтому исследования роли биологически активных веществ в формировании и реализации морозостойкости и зимостойкости растений приобретает не только практическое, но и теоретическое значение.

В связи с высокой хозяйственной ценностью маслины (*Olea europaea* L.) широко культивируются в странах с субтропическим климатом, где в последнее время используются не только их плоды, но и листья, как источник биологически активных веществ с широким спектром фармакологического действия. Одна из проблем расширения культурного ареала маслин заключается в недостаточной изученности ее морозостойкости. Анализ научной литературы показал, что в большом количестве работ представлены результаты исследований фенольных соединений маслины в связи с их терапевтической ценностью, а сведения, касающиеся роли этих веществ в самом растении и их участии в процессах адаптации, немногочисленны [6–8].

Олеуропеин – вещество фенольной природы, которое встречается только у представителей сем. Oleaceae и является основным биологически активным соединением листьев, плодов, корней и побегов *O. europaea* [9]. В высоких концентрациях он содержится в созревающих плодах маслины, придавая им горький вкус. Олеуропеин представляет собой гликозилированный секоиридоид – производное эленоловой кислоты, связанной сложноэфирной связью с гидрокситирозолом и гликозидной связью с глюкозой [10]. Биосинтез олеуропеина в растении происходит по сложному пути синтеза как фенолов, так и терпеновых соединений. Идентифицировано более 200 генов, кодирующих синтез олеуропеина, однако процесс его образования из гидрокситирозола и секоэлагина до сих пор неясен [11–13]. Установлено, что при холодовом стрессе у растений маслины повышалась активность двух ферментов: фенилаланин-аммиаклиазы и полифенолоксидазы (ПФО) [14]. Было высказано предположение, что повышение активности ПФО способствует антиоксидантной защите тканей растений. Недавние исследования связали повышенную активность ПФО со стресс-

реакцией, вызванной абиотическим стрессом, например, переохлаждением [15, 16]. Ген ПФО участвует в выработке высокоактивного антиоксиданта гидрокситирозола, его экспрессия повышается при развитии стрессового состояния [17]. Показано, что биосинтез олеуропеина активизируется у холодоустойчивых растений *O. europaea* и снижает их чувствительность к низким положительным температурам [18]. Данный факт позволяет предположить, что олеуропеин играет определенную роль в устойчивости.

Известно, что в листьях маслины, помимо олеуропеина, также содержатся флавоноиды: гликозиды кверцетина, лютеолина, апигенина и др. Имеются данные об увеличении содержания рутина (кверцетин-3-О-рутинозида) и цинарозидов (лютеолин-7-О-глюкозида) в растительных тканях в ответ на действие стресс-факторов различной природы [19, 20]. Так, в исследованиях немецких ученых показано, что умеренный холод увеличивает накопление гликозидов лютеолина, в том числе и цинарозидов, в перце чили и болгарском перце [21]. Водный стресс стимулировал синтез лютеолина, кверцетина и рутина у хризантемы сорта Taraneh, а также лютеолина и апигенина – у сорта Azita [22]. Однако данные о роли флавоноидов в формировании устойчивости растений к отрицательным температурам в научной литературе отражены не в полной мере.

Ранее нами были проведены многолетние исследования по изучению роли суммарного содержания фенольных соединений в формировании устойчивости генотипов *O. europaea* к отрицательным температурам. Было установлено, что накопление суммы фенольных соединений зависело от конкретных погодных условий и влагообеспеченности [23]. Холодные периоды 2017–2018 гг. и 2018–2019 гг. отличались более высокими температурными показателями и количеством осадков, что явилось причиной пролонгирования ростовых процессов, позднего наступления вынужденного покоя. В частности, завершение верхушечного роста у побегов *O. europaea* осенью 2018 г. было отмечено во второй декаде ноября. В этих погодных условиях наблюдалось более интенсивное накопление фенольных веществ у всех изучаемых представителей *O. europaea*, по сравнению с относительно холодной зимой 2016–2017 гг. [23]. Выявленная связь погодных условий с изменением содержания суммы фенольных веществ позволила сделать вывод об их участии в адаптивных процессах, однако однозначной зависимости между их содержанием и степенью морозостойчивости установить не удалось. В связи с этим следующий этап наших исследований был посвящен изучению роли индивидуальных фенольных соединений в реализации защитных механизмов у генотипов *O. europaea*, как в полевых условиях,

так и в контролируемых (при различных режимах температурного воздействия).

Цель работы — определить степень участия некоторых фенольных соединений в процессах формирования зимостойкости и морозоустойчивости у 4 сортов *Olea europaea* и подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* в природных и лабораторных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследований были выбраны растения маслины европейской (*Olea europaea* L.) местного сорта Никитская (выделен Никитским ботаническим садом), интродуцированные сорта Раццо, Кореджиоло, Асколяно, а также подвид *O. europaea* subsp. *cuspidata* (Wall. and G. Don) Cif. Степень их морозоустойчивости, значения критических и начальных повреждающих температур была установлена ранее [24]: высокоустойчивый сорт Никитская (начальные повреждающие температуры $-8...-10^{\circ}\text{C}$, критические $-16...-18^{\circ}\text{C}$); среднеустойчивые сорта Раццо и Асколяно (начальные повреждающие температуры $-6...-8^{\circ}\text{C}$, критические $-12...-14^{\circ}\text{C}$); слабоустойчивый сорт Кореджиоло (начальные повреждающие температуры $-6...-8^{\circ}\text{C}$, критические $-12...-14^{\circ}\text{C}$). Самая низкая морозоустойчивость выявлена у подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* (начальные повреждающие температуры $-4...-6^{\circ}\text{C}$, критические $-10...-12^{\circ}\text{C}$) [23].

Опыты по искусственному промораживанию однолетних побегов проводили в климатической камере Votsch VT 4004 (Vötsch Industrietechnik GmbH, Германия) в течение холодного периода на ЮБК. Градиент изменения температуры в камере составил 2°C в ч [25]. В соответствии с климатическими особенностями региона ЮБК, где выраженный устойчивый переход среднесуточных температур воздуха через 0°C отсутствует, среднегодовое (за период 1991–2020 гг.) дата устойчивого перехода температуры воздуха через 10°C в сторону понижения приходится на 9 ноября, а вероятность морозов обычно наблюдается во второй половине января–февраля, были выбраны схемы проведения экспериментов. Опыты по изучению режимов охлаждения на адаптацию к низким температурам генотипов *O. europaea* проводили с учетом сложившихся погодных условий (рис. 1) — вторая декада ноября, режимы охлаждения: -0°C , 6 ч $\rightarrow -8^{\circ}\text{C}$, 8 ч (вариант 1); вторая декада декабря, режимы охлаждения: -0°C , 6 ч $\rightarrow -2^{\circ}\text{C}$, 6 ч $\rightarrow -8^{\circ}\text{C}$, 8 ч (вариант 2). Для оценки влияния продолжительности действия отрицательных температур на генотипы *O. europaea* был выбран период максимальных вероятностей наступления морозов $\geq -7^{\circ}\text{C}$, опасных для субтропических культур — вторая декада января и первая декада февраля. В опытах использовали два режима низ-

котемпературного воздействия: -8°C в течение 8 ч (вариант 3) и -8°C в течение 12 ч (вариант 4).

Для оценки влияния погодных условий на синтез фенольных соединений и пролина в листьях генотипов *O. europaea* принимали во внимание средние за 10 суток до даты отбора проб значения эквивалентно-эффективных температур (ЭЭТ), что позволило учесть не только влияние температурного фактора, но и сопутствующих — влажности воздуха и скорости ветра. Необходимость анализа ЭЭТ связана с особенностями зимнего сезона на ЮБК, где штормовые ветры со скоростью 25 м/с и более, характерны для этого периода, и случаются каждые 8–9 лет из 10 [26]. Расчет ЭЭТ осуществляли по формуле А. Миссенарда [27, с. 83].

$$\text{ЭЭТ} = \frac{37 - (37 - T_a)}{\left(0.68 - 0.0014RH + \frac{1}{1.76 + 1.4v^{0.75}}\right)} - 0.29T_a \left(1 - \frac{RH}{100}\right),$$

где T_a — температура сухого термометра, $^{\circ}\text{C}$; RH — относительная влажность воздуха, v — скорость ветра, м/с.

О стрессовом состоянии растений судили по изменению содержания пролина в течение холодного периода 2018–2019 гг. в природных условиях. Концентрацию пролина определяли по модифицированной методике Чинарда с использованием нингидринового реактива [28], измерения проводили на спектрофотометре Evolution 220 UV/VIS (Thermo Scientific, США).

Содержание фенольных соединений определяли во всех вариантах опытов. Контролем служили побеги, отобранные на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Концентрации олеuropeина, рутина и цинарозида определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [29] на хроматографе Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США) с диодноматричным детектором DAD-3000. Для проведения анализа была использована аналитическая хроматографическая колонка ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 мм $\times$ 250 мм $\times$ 5 мкм). Применяли градиентный режим элюирования, компонент В подвижной фазы — ацетонитрил, компонент С — 0.1% раствор муравьиной кислоты в деионизированной воде: 0–5 мин — 5% В, 5–35 мин — подъем от 5 до 30% В, 35–40 мин — подъем от 30 до 90% В, 40–41 мин — подъем до 100% В, 41–46 мин — 100% В, 46–51 мин — снижение от 100% В до 5% В, 51–55 мин — 5% В. Скорость потока составляла 0.7 мл/мин, температура термостата колонки 400°C , объем пробы 7 мкл. Идентификацию пиков производили на основании совпадения времени удерживания аналита и стандартного образца, а также совпадения УФ-спектров. Расчет количественного содержания индивидуальных

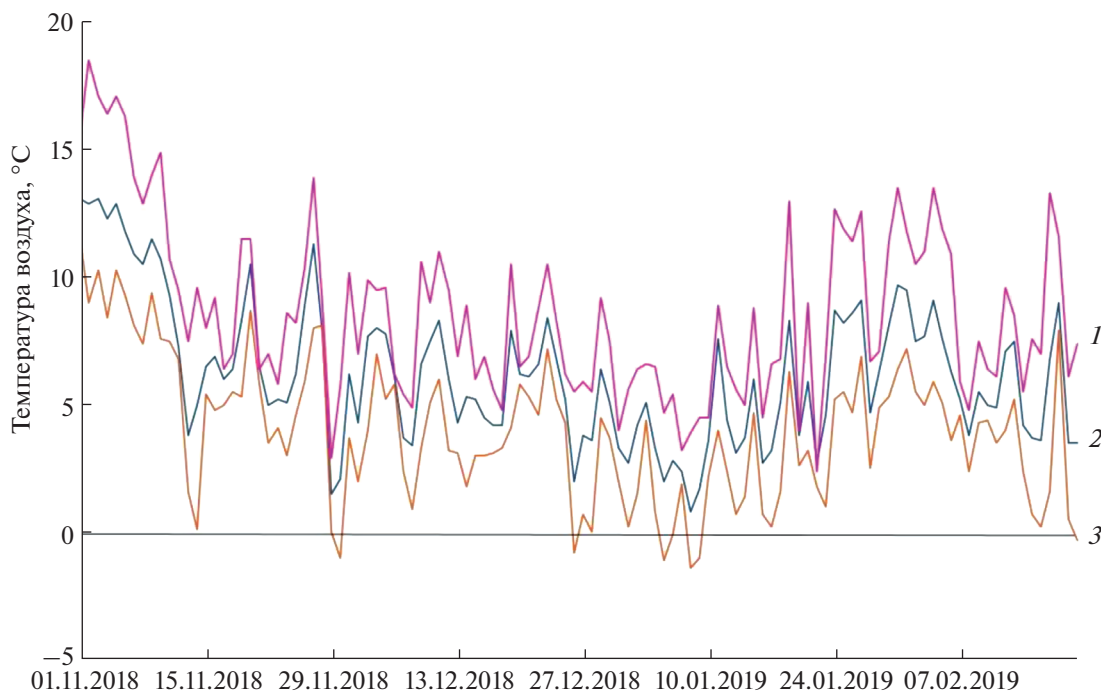


Рис. 1. Ход суточных температур воздуха в ноябре-феврале 2018-2019 гг. на Южном берегу Крыма, согласно данным агрометеостанции “Никитский ботанический сад”. 1 – максимальная температура воздуха, 2 – среднесуточная температура воздуха, 3 – минимальная температура воздуха.

компонентов производили по калибровочным графикам зависимости площади пика от концентрации вещества, построенным по растворам индивидуальных веществ. В качестве стандартов использовали цинарозид, олеуропеин и рутин (Sigma-Aldrich, США). Для обеспечения однородности результатов содержание компонентов рассчитывали в пересчете на сухой вес.

Визуальную оценку интенсивности морозных повреждений (в виде некрозов и изменения окраски листовой поверхности) осуществляли по мере их появления — на 5–7 сутки, а определение фенольных веществ проводили спустя 24 ч после действия стрессового фактора. Эксперименты проводили в 3-кратной биологической и в 3-кратной аналитической повторностях. Для статистической обработки и факторного анализа (ANOVA) использовали программы MS Excel 2007 и Statistica 6.0. В таблице и на графиках представлены средние значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведены исследования по определению содержания фенольных веществ в листьях *O. europaea* в природных условиях и в лабораторном эксперименте при различных температурных режимах.

Большие сложности в изучении адаптивных процессов у многолетних древесных интродуцентов связаны с тем, что произрастая за пределами

природного ареала, они испытывают хронический стресс. Этот факт обуславливает необходимость учитывать влияние погоды в периоды отбора проб. Установлено, что во второй декаде ноября за 10 дней до отбора проб среднее значение ЭЭТ составило минус 0.89°C. Реальная температура воздуха не опускалась ниже 0°C, а среднедекадная была 7.6°C. Такие условия соответствовали прохождению первой фазы низкотемпературного закаливания. С целью определения глубины стрессового состояния проводили анализ содержания пролина у изучаемых генотипов в течение холодного периода 2018-2019 гг. (табл. 1). По данному показателю генотипы распределились следующим образом: максимум был отмечен у *O. europaea* subsp. *cuspidata*, а минимум — у сортов Кореджиоло и Раццо. Высокий уровень пролина в листьях *O. europaea* subsp. *cuspidata* сохранялся в течение всего холодного периода, что свидетельствует о хроническом стрессовом состоянии. Отдельное внимание уделялось сравнению содержания фенольных веществ в листьях маслины в природных условиях. Если олеуропеин в листьях *O. europaea* subsp. *cuspidata* был обнаружен в следовых количествах, то у сортов Асколяно и Раццо выявлен максимум его содержания (рис. 2). Высокое содержание рутина и цинарозида было отмечено у *O. europaea* subsp. *cuspidata* на фоне следовых количеств олеуропеина. Отличительной особенностью сортов маслины европейской ока-

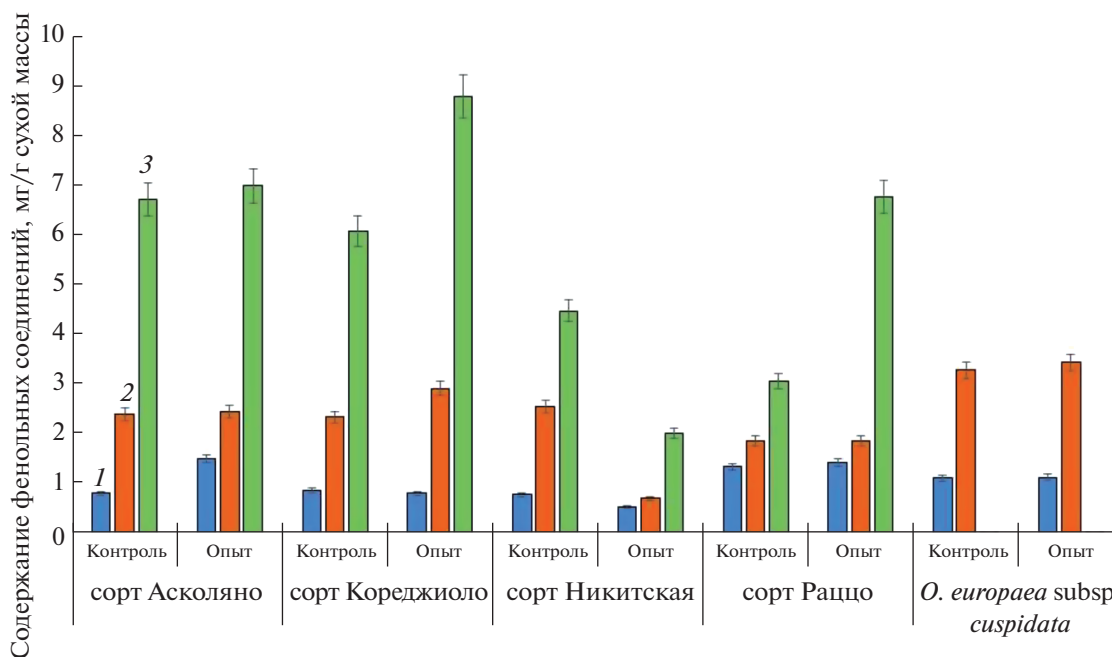


Рис. 2. Изменение содержания фенольных соединений в листьях генотипов *O. europaea* при действии низких температур (вариант 1). 1 – рутин, 2 – цинарозид, 3 – олеуропеин. Контроль – побеги, отобранные на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Опыт – побеги, которые охлаждали в климатической камере до 0°C (скоростью охлаждения 2°C/ч) и выдерживали в течение 6 ч. Далее температуру в камере снижали с той же скоростью до –8°C, побеги выдерживали в течение 8 ч. После чего температуру повышали до 10°C, побеги извлекали и через 24 ч определяли содержание рутина, цинарозида и олеуропеина в листьях.

зался низкий уровень накопления рутина, исключение составил сорт Никитская.

В этот же период был проведен модельный эксперимент (вариант 1), имитирующий условия холодовой адаптации *O. europaea*. Обнаружено, что морозные повреждения листьев у сорта Никитская отсутствовали, при этом содержание олеуропеина возрастало в 2 раза (рис. 2), в то время как содержание рутина и цинарозида оставалось неизменным. У сорта Асколяно и Раццо было повреждено не более 5% поверхности листьев, при этом содержание фенольных веществ изменялось разнонаправленно. У сорта Асколяно уровень ру-

тина вырос на 46%, а содержание цинарозида и олеуропеина оставалось прежним (рис. 2). Напротив, у сорта Раццо неизменным было содержание рутина, тогда как содержание цинарозида и олеуропеина увеличилось на 20 и 31%, соответственно. Более серьезные повреждения от воздействия отрицательных температур были отмечены у листьев маслины сорта Кореджиоло (до 15%) и сопровождались снижением содержания всех фенольных веществ, особенно цинарозида (на 72%). У неустойчивого к действию отрицательных температур подвигда *O. europaea subsp. cuspidata* на фоне 30% поврежденных листьев со-

Таблица 1. Динамика содержания пролина (мкг/г сухой массы) в листьях генотипов *O. europaea* в течение холодного периода на Южном берегу Крыма

Срок отбора проб	Сорт Асколяно	Сорт Кореджиоло	Сорт Никитская	Сорт Раццо	<i>O. europaea subsp. cuspidata</i>
II декада ноября	47.8 ± 1.9 ^б	34.2 ± 1.5 ^б	51.3 ± 2.4 ^б	32.1 ± 1.6 ^б	64.2 ± 3.2 ^а
II декада декабря	52.3 ± 2.6 ^{а,б}	43.1 ± 2.1 ^а	72.7 ± 3.6 ^а	55.0 ± 2.6 ^а	65.0 ± 3.1 ^а
II декада января	47.8 ± 2.3 ^б	38.5 ± 1.5 ^б	53.3 ± 2.3 ^б	51.6 ± 2.1 ^а	64.7 ± 3.3 ^а
I декада февраля	55.6 ± 2.5 ^а	42.8 ± 2.1 ^а	29.9 ± 1.5 ^б	41.1 ± 2.0 ^б	59.9 ± 2.9 ^а

Примечание. Определение содержания пролина в листьях осуществляли в день опытов по имитации действия отрицательных температур в контролируемых условиях. Пробы отбирали в коллекционных насаждениях *O. europaea* Никитского ботанического сада. Приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Достоверные различия на уровне $P < 0.05$ для каждого генотипа отмечены разными буквами.

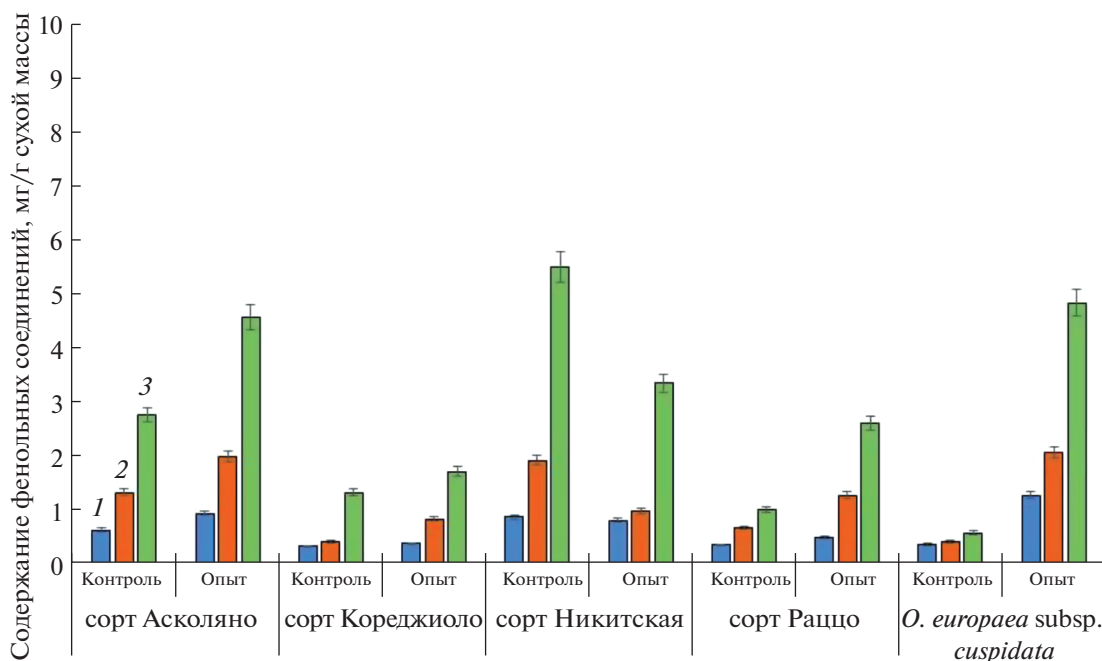


Рис. 3. Изменение содержания фенольных соединений в листьях генотипов *O. europaea* в условиях воздействия низких температур (вариант 2). 1 — рутин, 2 — цинарозид, 3 — олеуропеин. Контроль — побеги, отобранные на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Опыт — побеги, которые охлаждали в климатической камере до 0°C (скорость охлаждения 2°C/ч) и выдерживали в течение 6 ч. Далее температуру в камере снижали с той же скоростью до –2°C, побеги выдерживали в течение 6 ч. После чего продолжили снижать температуру с той же скоростью до –8°C, экспозиция 8 ч. Затем температуру повышали до 10°C, побеги извлекали и через 24 ч определяли содержание рутина, цинарозида и олеуропеина в листьях.

держание фенольных веществ не менялось. Таким образом, наличие условий для прохождения первой фазы закаливания морозостойким сортом Никитская и среднестойким сортом Раццо стимулировало синтез олеуропеина, тогда как у слабоустойчивого сорта Кореджиоло активации биосинтеза не происходило. В данном случае, вероятно, олеуропеин расходовался, в следствие развития стрессового состояния.

Во второй декаде декабря погодные условия существенно изменились. Среднедекадная температура воздуха составила 4.7°C, а количество дней со скоростью ветра 8–10 м/с достигло 7, в результате чего ЭТТ опустилась до минус 7.2°C, что соответствовало значениям начальной повреждающей температуры для среднестойких сортов маслины и критической для слабоустойчивого подвида *O. europaea subsp. cuspidata*. Сложившиеся условия способствовали увеличению содержания пролина у среднестойких сортов и морозоустойчивого Никитская. Практически не изменился уровень этой аминокислоты у слабоустойчивого сорта Кореджиоло и *O. europaea subsp. cuspidata*. С нашей точки зрения, такая картина свидетельствует об активации защитных механизмов у устойчивых сортов, поскольку пролин является элементом антиоксидантной системы растений, а низкотемпературный стресс связан с интенсифика-

цией процессов ПОЛ [30]. Анализ содержания фенольных соединений показал, что оно значительно снизилось у всех сортов *O. europaea*, что позволяет предположить активное участие этих веществ в реализации защитных механизмов от негативного влияния отрицательных температур (рис. 3). В то же время падение среднедекадной температуры воздуха до 4.8°C, а ЭТТ до минус 7.8°C вызвало у *O. europaea subsp. cuspidata* резкое повышение уровня олеуропеина, на фоне сохранения высокого содержания пролина и значительного снижения количества флавоноидов, что, вероятно, связано с развитием глубокого стрессового состояния и слабо выраженной способностью к закаливанию.

В опытах с влиянием отрицательных температур, близких к 0°C (вариант 2) наблюдалась интенсификация морозных повреждений и, соответственно, снижение устойчивости у всех исследуемых генотипов маслины. У сорта Никитская отмечены повреждения 10% листовой поверхности. При этом содержание фенольных веществ снижалось следующим образом: рутин на 7%, олеуропеина на 39%, цинарозида — в 2 раза (рис. 3). Повреждения у сортов Кореджиоло и Раццо достигали 30%, а содержание всех исследуемых фенольных соединений увеличилось, в большей степени цинарозида. У сорта Асколяно поврежде-

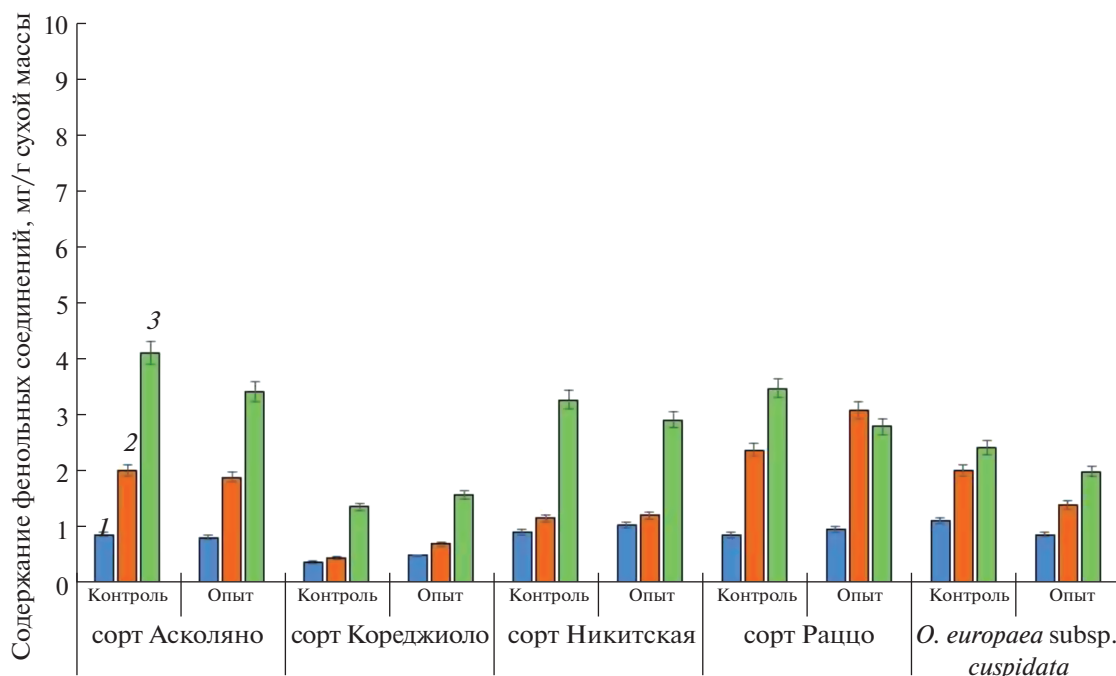


Рис. 4. Изменение содержания фенольных соединений в листьях генотипов *O. europaea* в условиях воздействия низкой отрицательной температуры (-8°C , 8 ч) (вариант 3). 1 – рутин, 2 – цинарозид, 3 – олеуропеин. Контроль – побеги, отобранные на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Опыт – побеги, которые охлаждали в климатической камере до -8°C (скорость охлаждения $2^{\circ}\text{C}/\text{ч}$) и выдерживали в течение 8 ч. Далее температуру повышали с той же скоростью до 10°C . Побеги извлекали и через 24 ч определяли содержание рутина, цинарозида и олеуропеина в листьях.

лось 20% поверхности листьев, при этом содержание всех фенольных соединений возросло на 31–40%. Листья подвида *O. europaea subsp. cuspidata* полностью погибли, однако при их анализе выявлено значительное увеличение уровня фенольных веществ (на 72–88%), что может быть связано с разрушением клеточных структур, поскольку фенольные соединения локализуются в клеточных стенках, межклетниках и вакуолях [31, 32].

На ЮБК самая высокая вероятность наступления отрицательных температур, опасных для субтропических культур, приходится на вторую половину января-февраля, но в последние десятилетия отмечено большое количество теплых зим, когда в январе-феврале с высокой частотой наблюдаются глубокие оттепели. Такие климатические изменения представляют опасность для жизнедеятельности *O. europaea*, так как известно, что фазы “начало верхушечного роста” и “развертывания первых листьев” чрезвычайно лабильны и зависят от температурного фактора [33].

В период исследований во второй декаде января ЭЭТ вновь достигли положительных значений, что, в свою очередь, сказалось на содержании изучаемых биологически активных веществ в листьях генотипов *O. europaea*. У среднестойких Раццо и Асколяно, а также морозостойкого сорта

Никитская наблюдалось снижение уровня пролина (табл. 1) и увеличение содержания фенольных соединений. У сорта Кореджиоло и *O. europaea subsp. cuspidata*, имеющих низкую морозоустойчивость, количество пролина практически не изменилось, что свидетельствует о невысокой интенсивности восстановительных процессов. Содержание фенольных соединений увеличивалось у *O. europaea subsp. cuspidata*, а у сорта Кореджиоло оставалось на прежнем уровне (рис. 4), что может быть связано как с генотипическими особенностями *O. europaea*, так и с участием фенольных соединений в регуляции ростовых процессов [16, 18, 34].

В связи с этим, для установления роли индивидуальных фенольных соединений в формировании морозоустойчивости *O. europaea* была проведена серия экспериментов по изучению действию температуры -8°C различной продолжительности. При действии -8°C в течение 8 ч (вариант 3) морозоустойчивость исследуемых генотипов *O. europaea* понижалась в ряду: Никитская, Раццо, Асколяно, Кореджиоло, *O. europaea subsp. cuspidata*. У листьев сорта Никитская не выявлено повреждений. Спустя 24 ч для этого сорта установлено, что содержание рутина и олеуропеина возрастало относительно контроля на 14 и 11% соответственно (рис. 4), а цинарозида – оставалось неизмен-

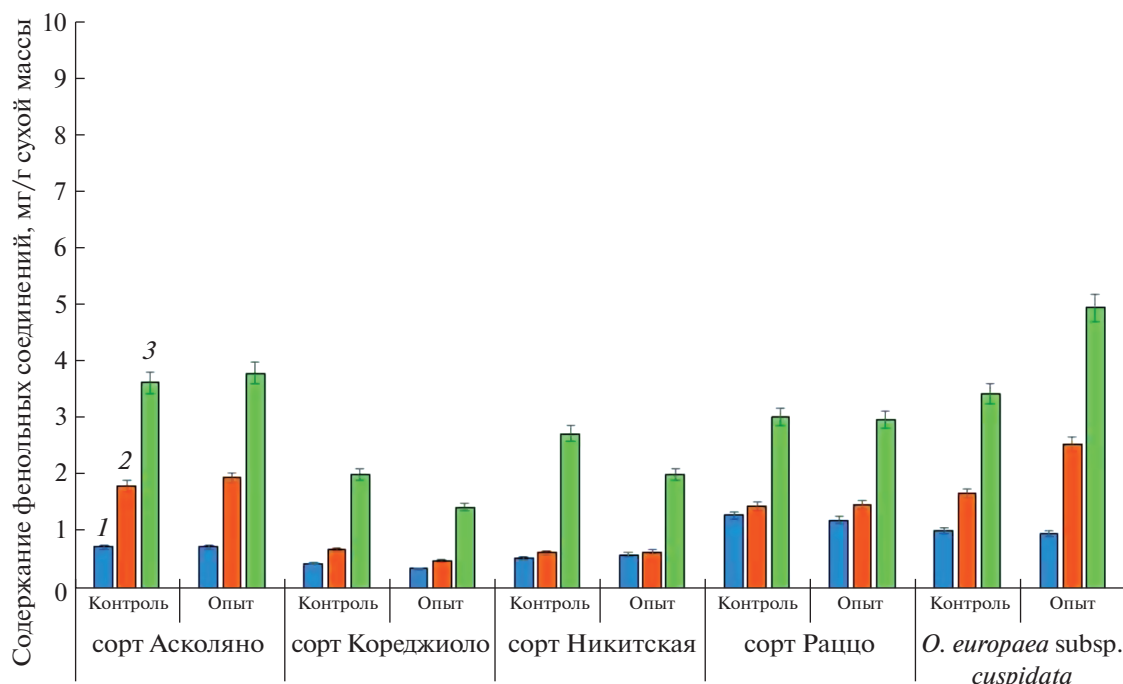


Рис. 5. Изменение содержания фенольных соединений в листьях генотипов *O. europaea* при длительном действии низкой отрицательной температуры (-8°C , 12 ч) (вариант 4). 1 – рутин, 2 – цинарозид, 3 – олеуропеин. Контроль – побеги, отобранные на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Опыт – побеги, которые охлаждали в климатической камере до -8°C (скорость охлаждения $2^{\circ}\text{C}/\text{ч}$) и выдерживали в течение 12 ч. Далее температуру повышали с той же скоростью до 10°C . Побеги извлекали и через 24 ч определяли содержание рутина, цинарозида и олеуропеина в листьях.

ным. В этих условиях у сорта Раццо, при 15% повреждения поверхности листьев, увеличивалось содержание рутина и цинарозида на 10 и 23%, а олеуропеина – снижалось на 20%. Морозные повреждения у сортов Асколяно и Кореджиоло проявлялись в виде некротических пятен, занимавших в среднем 20–23% поверхности листа. Несмотря на то, что сорта Асколяно и Кореджиоло были близки по степени морозных повреждений листьев, в отношении содержания фенольных соединений выявлены существенные различия. У сорта Асколяно содержание рутина и цинарозида снижалось на 5–6%, олеуропеина на 17%, а у сорта Кореджиоло, наоборот, происходило увеличение содержания фенольных соединений (рутина на 22%, цинарозида на 36%, олеуропеина на 13%). При сравнении контрольных значений уровня фенольных веществ выявлено, что у сорта Кореджиоло содержание олеуропеина было минимальным. У подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* при действии температуры -8°C в течение 8 ч повредилось 40% поверхности листьев. При этом наблюдалось снижение содержания рутина на 22%, цинарозида – на 33%, олеуропеина – на 17% (рис. 4).

Прохождение холодного фронта в конце января – начале февраля привело к снижению ЭЭТ до значений, близких к 0°C . В этих условиях было выявлено, что у интродуцированных сортов *O. eu-*

ropea содержание пролина изменялось в пределах 10–17%, у сорта местной селекции Никитская уровень пролина оставался прежним (табл. 1). Такая картина, видимо, обусловлена пролонгированным действием стрессовых условий окружающей среды. У относительно устойчивых к отрицательным температурам генотипов *O. europaea* содержание фенольных соединений снизилось, что вероятно, связано с их участием в процессах адаптации к изменившимся погодным условиям, поскольку в предшествующий период исследований оттепель нивелировала закалку (рис. 5). У слаботойких подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* и сорта Кореджиоло содержание цинарозида и олеуропеина, напротив, увеличивалось.

Понятие критические и начальные повреждающие температуры в некоторой степени условны, т.к. при более длительном времени экспозиции действие начальной повреждающей температуры может носить критический или даже летальный характер. В связи с этим был проведен опыт по изучению влияния температуры -8°C в течение 12 ч (вариант 4) на однолетние побеги генотипов *O. europaea*, показавший, что увеличение времени действия низкой температуры снижает степень морозостойкости у всех изучаемых генотипов (рис. 5).

В более жестких условиях наблюдались повреждения у 20% листьев сорта Никитская. Содержа-

ние рутина не изменялось относительно контроля, цинарозида незначительно возрастало (на 10%), олеуропеина снижалось на 26% (рис. 4). В данном случае в отношении флавоноидов рутина и цинарозида у сорта Никитская сохранилась тенденция, аналогичная для режима -8°C в течение 8 ч, а содержание олеуропеина снижалось более чем в 2 раза.

У сорта Асколяно морозные повреждения были выявлены у 35% листьев, при этом содержание фенольных веществ изменялось незначительно (3–7%). Листья сорта Кореджиоло повреждались на 40%, а содержание рутина в них снижалась на 22%, цинарозида на 27%, олеуропеина на 28%. У сорта Раццо повредилось 30% листовой поверхности, а содержание рутина оказалось на 22% ниже контроля, а цинарозида и олеуропеина оставалось неизменным. Повреждение 70% поверхности листа у подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* сопровождалось ростом содержания цинарозида и олеуропеина на 34 и 31%, соответственно.

Таким образом, при длительном стрессовом воздействии у среднестойких и морозоустойчивого сортов содержание флавоноидов практически не изменялось, а содержание олеуропеина снижалось только у сорта Никитская. Возрастание уровня цинарозида и олеуропеина у неустойчивого подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* возможно связано с высокой интенсивностью морозных повреждений, а не формированием защитных механизмов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что пролонгированное действие температуры 0°C стимулировало начальные этапы низкотемпературной адаптации и, соответственно, положительно влияли на зимостойкость представителей *O. europaea*, особенно выражено у генотипов с невысокой устойчивостью. В то же время, действие отрицательных не повреждающих температур, близких к 0°C , негативно сказывалось на их морозостойкости, а именно, способствовали развитию более глубокого стрессового состояния.

Исследования ряда авторов показали, что при действии 0°C у устойчивых сортов *O. europaea* содержание олеуропеина возрастало [18]. Аналогичные результаты были получены и в наших исследованиях. Также нами выявлена связь изменения содержания фенольных соединений со степенью повреждения листьев маслины, а именно: у сортов Асколяно и Раццо с незначительными повреждениями листьев наблюдалась активация биосинтеза флавоноидов и олеуропеина. У сорта Кореджиоло с более сильными морозными повреждениями фенольные вещества активно расходовались, а следовые количества олеуропеина и отсутствие изменений в содержании рутина и цинарозида у

подвида *O. europaea* subsp. *cuspidata* связаны с его менее тесными родственными связями с *O. europaea* и высокой чувствительностью морозу.

Наблюдавшееся увеличение содержания фенольных веществ при действии отрицательных не повреждающих температур (вариант 2) у всех генотипов за исключением сорта Никитская связано тем, что у устойчивого сорта активация биосинтеза фенольных веществ произошла раньше и это позволило ему, при нарастающем действии отрицательных температур, активно расходовать эти вещества для нивелирования негативных последствий стресса. А у средне- и слабостойких генотипов интенсификация биосинтеза происходила непосредственно во время действия отрицательных температур, вследствие чего вновь образовавшиеся вещества не успевали выполнять свою защитную функцию. На этом основании нами сделано предположение о том, что у генотипов с низкой степенью морозоустойчивости синтез фенольных соединений активируется лишь в момент действия стрессового фактора, что не позволяет им своевременно к нему адаптироваться. В то время как у относительно устойчивых сортов эти процессы начинались на более ранних этапах низкотемпературной адаптации.

При сравнении результатов, полученных в опытах с действием температуры -8°C в течение 8 и 12 ч установлено, что такое длительное воздействие низкой отрицательной температуры является начальным повреждающим фактором для морозоустойчивого сорта Никитская, критическим — для сортов Кореджиоло, Раццо и Асколяно, а для *O. europaea* subsp. *cuspidata* — летальным. Выявлены различия в синтезе фенольных соединений, которые связаны не только со степенью морозостойкости, но и с сортоспецифичностью генотипов *O. europaea*. У сорта Никитская в варианте 3 накапливался рутин и олеуропеин, а в варианте 4 их содержание снижалось. В то время как у среднестойких сортов в критических условиях (вариант 4) содержание данных веществ мало изменялось, что можно объяснить температурной чувствительностью комплекса ферментов, обеспечивающего участие фенольных соединений в защитных механизмах. Косвенным подтверждением сделанного предположения служит имеющаяся в научной литературе информация о высокой чувствительности полифенолоксидазы маслины европейской к низким положительным и отрицательным температурам [14, 18].

Полученные данные позволяют предположить, что у *O. europaea* при разных температурных режимах все изученные фенольные соединения принимают участие в формировании устойчивости к отрицательным температурам. Однако доминирующая роль принадлежит секоиридоиду олеуропеину, специфичному для семейства Oleaceae.

Синтез олеуропеина происходит по иридоидному пути, и является сложным, многоступенчатым процессом, все этапы которого полностью не раскрыты [13]. Известно, что олеуропеин является гидрофильным соединением [9] и, соответственно, может выполнять функцию криопротектора, понижая температуру льдообразования. Он проявляет сильные антиоксидантные свойства, тем самым защищая клеточные структуры от повреждений АФК, т.к. интенсификация процессов ПОЛ при низкотемпературном стрессе характерна для многих видов растений [35]. Кратковременные и длительные воздействия отрицательных температур влияют на профиль экспрессии генов растений, в том числе и *O. europaea*. В настоящее время выявлено, что низкотемпературный стресс в растениях маслины приводит к изменению экспрессии генов, отвечающих за синтез гидрокситирозола (предшественника олеуропеина) и олеуропеина, при этом у устойчивых сортов экспрессия увеличивается, а у неустойчивых ингибируется [17, 18].

Накапливаясь во время низкотемпературного воздействия в растительных клетках и тканях полифенолы, помимо антиоксидантного действия, могут выполнять также запасующую функцию. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что флавоноиды в свободном состоянии встречаются редко, в основном они представлены в форме гликозидов, способных выступать в качестве резервных веществ в метаболизме растений [34, 36]. Поэтому гликозиды флавоноидов можно рассматривать как пул агликонов, которые будут отщепляться от гликозидов в случае необходимости [37], тогда как сахарный остаток может служить своеобразной формой запасания сахаров.

Важное значение для формирования зимостойкости субтропических растений, к которым относится *O. europaea*, имеют даты устойчивого перехода температур через именно 5°C, и особенно, 10°C в сторону понижения, поскольку с ними связаны сроки окончания вегетации и завершения ростовых процессов. Однако на ЮБК, в результате потепления климата, в последние десятилетия отмечена тенденция сокращения продолжительности периода с температурами ниже 5°C в холодное время года, что приводит к сокращению осеннего сезона и увеличению продолжительности вегетации [38]. Такие климатические изменения представляют опасность для жизнедеятельности *O. europaea*. В научной литературе крайне мало информации о наличии у *O. europaea* эндогенного покоя, а также его продолжительности и глубине. Есть единичные исследования, в которых авторам удалось установить, что у этого вида индукция покоя контролируется не фотопериодом, а низкими температурами [39]. При этом, этот покой легко обратим после недолгого

повышения температур, независимо от начальной даты холодного воздействия. Известно, что фенольные соединения принимают участие в регуляции роста, и в зависимости от концентрации, могут выполнять ингибирующую или активирующую функцию [34]. Сопоставление этих данных и результатов наших исследований позволило предположить, что фенольные соединения принимают многогранное участие в реализации процессов зимостойкости у *O. europaea*.

Таким образом, установлено, что рутин, цинарозид и олеуропеин являются элементами механизмов защиты маслины от негативного влияния отрицательных температур. В формировании морозоустойчивости данные вещества выполняют роль криопротекторов и антиоксидантов, а при формировании зимостойкости важным является, на каком этапе происходит активация биосинтеза — до начала или непосредственно во время действия отрицательных температур. Ярким примером служит слабоустойчивый подвид *O. europaea* subsp. *cuspidata*, у которого олеуропеин как в природных, так и в лабораторных условиях накапливался только при понижении температуры до отрицательных значений. Анализ динамики содержания пролина в листьях *O. europaea* в течение холодного периода на ЮБК позволяет использовать этот показатель, как уровень стрессового состояния растений маслины в природных условиях.

Исследования выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования “Физиолого-биохимические методы исследования растительных объектов” Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Никитский ботанический сад — Национальный научный центр” (Ялта, Россия).

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ефимов В.В., Володин Е.М., Анисимов А.Е. Моделирование изменений климата в Черноморском регионе в XXI столетии // Морской гидрофизический журн. 2015. № 2. С. 3. <https://doi.org/10.22449/0233-7584-2015-2-3-14>
2. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. Москва: Наука, 1979. 352 с.
3. Петров К.А. Криорезистентность растений: эколого-физиологические и биохимические аспекты. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2016. 275 с.
4. Sin'kevich M.S., Naraikina N.V., Trunova T.I. Processes hindering activation of lipid peroxidation in cold-tolerant plants under hypothermia // Russ. J. Plant Physiol. 2011. V. 58. P. 1020. <https://doi.org/10.1134/S1021443711050232>

5. Sharma P., Jha A., Dubey R., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // J. Bot. 2012. Article ID 217037. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
6. Ortega-Garcia F., Peragon J. Phenol metabolism in the leaves of the olive tree (*Olea europaea* L.) cv. Picual, Verdial, Arbequina, and Frantoio during Ripening // J. Agric. Food Chem. 2010. V. 58. P. 12440. <https://doi.org/10.1021/jf102827m>
7. Talhaoui N., Taamalli A., Gomez-Caravaca A.M., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. Phenolic compounds in olive leaves: analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits // Food Res. Int. 2015. V. 77. P. 92. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.011>
8. Petrucci R., Bartolini G., Ganino T., Zelasco S., Lombardo L., Perri E., Durante M., Bernardi R. Cold stress, freezing adaptation, varietal susceptibility of *Olea europaea* L. // Plants. 2022. V. 11. P. 1367. <https://doi.org/10.3390/plants11101367>
9. Otero D., Lorini A., Oliveira F., Antunes B., Oliveira R., Zambiasi R. Leaves of *Olea europaea* L. as a source of oleuropein: characteristics and biological aspects // Res. Soc. Dev. 2021. V. 10:e185101321130. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21130>
10. Alagna F., Geu-Flores F., Kries H., Panara F., Baldoni L., O'Connor S.E., Osbourn A. Identification and characterization of the iridoid synthase involved in oleuropein biosynthesis in olive (*Olea europaea*) fruits // J. Biol. Chem. 2016. V. 291. P. 5542. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.701276>
11. Panizzi L., Scarpati M.L., Oriente E.G. Structure of the bitter glucoside oleuropein. Note II. // Gazz. Chim. Ital. 1960. V. 90. P. 1449.
12. Bonechi C., Donati A., Tamasi G., Pardini A., Rostom H., Leone G., Lamponi S., Consumi M., Magnani A., Rossi C. Chemical characterization of liposomes containing nutraceutical compounds: tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein // Biophys. Chem. 2019. V. 246. P. 25. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2019.01.002>
13. Rao G., Zhang J., Liu X. De novo assembly of a new *Olea europaea* genome accession using nanopore sequencing // Hortic. Res. 2021. V. 8: 64. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00498-y>
14. Ortega-García F., Peragón J. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual) // J. Sci. Food Agric. 2009. V. 89. P. 1565. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3625>
15. Raimbault A.K., Marie-Alphonsine P.A., Horry J.P., Francois-Haugrin M., Romuald K., Soler A. Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury // J. Agric. Food Chem. 2011. V. 59. P. 342. <https://doi.org/10.1021/jf102511z>
16. Hashempour A., Ghasemnezhad M., Ghazvini R.F., Sohani M.M. Olive (*Olea europaea* L.) freezing tolerance related to antioxidant enzymes activity during cold acclimation and non acclimation // Acta Physiol. Plant. 2014. V. 36. P. 3231. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1689-3>
17. Mougou N., Baalbaki B., Doupis G., Kavroulakis N., Poullos S., Vlachonasios K., Koubouris G. The effect of low temperature on physiological, biochemical and flowering functions of olive tree in relation to genotype // Sustainability. 2020. V. 12. P. 10065. <https://doi.org/10.3390/su122310065>
18. Jiang C., Hu W., Lu H., Chen L., Niu E., Zhu S., Shen G. Alterations of phenotype, physiology, and functional substances reveal the chilling-tolerant mechanism in two common *Olea europaea* cultivars // Front. Plant Sci. 2023. V. 14: 1046719. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1046719>
19. Afanas'ev I., Dorozhko A.I., Brodskii A., Kostyuk V., Potapovitch A. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of Rutin and Qercetin in lipid peroxidation // Biochem. Pharmacol. 1989. V. 38. P. 1763. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(89\)90410-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90410-3)
20. Mechri B., Tekaya M., Hammami M., Chehab H. Effects of drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown olive trees (*Olea europaea*) // Biochem. Syst. Ecol. 2020. V. 92: 104112. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104112>
21. Genzel F., Dichke M.D., Junker-Frohn L.V., Neuwohner A., Thiele B., Putz A., Usadel B., Wormit A., Wiese-Klinkenberg A. Impact of moderate cold and salt stress on the accumulation of antioxidant flavonoids in the leaves of two capsicum cultivars // J. Agric. Food Chem. 2021. V. 69. P. 6431. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c00908>
22. Hodaei M., Rahimmalek M., Arzani A., Talebi M. The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. // Ind. Crops Prod. 2018. V. 120. P. 295. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.073>
23. Палий А.Е., Палий И.Н., Федотова И.А., Мелкозерова Е.А., Цюпка С.Ю., Гребенникова О.А. Динамика фенольных соединений в листьях маслины европейской в холодный период на Южном берегу Крыма // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2019. № 133. С. 51. <https://doi.org/10.36305/0513-1634-2019-133-51-56>
24. Губанова Т.Б., Браилко В.А., Мязина Л.Ф. Зимостойкость некоторых видов семейства Oleaceae в коллекции Никитского ботанического сада // Нортус botanicus. 2018. Т. 13. С. 250. <https://doi.org/10.15393/j4.art.2018.5784>
25. Лищук А.И. Физиологические и биофизические методы в селекции плодовых культур: методические рекомендации. Москва: ВАСХНИЛ, 1991. 58 с.
26. Корсакова С.П. Обзор стихийных гидрометеорологических явлений в районе Никитского ботанического сада // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2014. Т. 139. С. 79.
27. Врублевська О.О., Катеруша Г.П. Прикладна кліматологія. Конспект лекцій. Дніпропетровськ: Економіка, 2005. 131 с.
28. Андрущенко В.К., Саянова В.В., Жученко А.А. Модификация метода определения пролина для выявления засухоустойчивых форм *Lycopersicon*

- Tourn // Известия АН Молдавской ССР. Серия биол. и хим. наук. 1981. № 4. С. 55.
29. Plazonic A., Bucar F., Males Z., Mornar A., Nigovi B., Kujundzic N. Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpos* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry // *Molecules*. 2009. V. 14. № 7. P. 2466.
<https://doi.org/10.3390/molecules14072466>
 30. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends Plant Sci*. 2002. V. 7. P. 405.
[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
 31. Haratym W., Weryszko-Chmielewska E., Konarska A. Microstructural and histochemical analysis of aboveground organs of *Centaurea cyanus* used in herbal medicine // *Protoplasma*. 2020. V. 257. P. 285.
<https://doi.org/10.1007/s00709-019-01437-4>
 32. Зайцева С.М., Калашикова Е.А., Киракосян Р.Н., Берковская И.А., Белевцова А.С., Щербакова А.А. Гистохимическое определение локализации флавоноидов в эпидермальных тканях лекарственных растений *Dioscorea caucasica* Lipsky, *Taxus canadensis* Marsh, *Ginkgo biloba*, *Helianthus annuus* L. // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2022. Т. 2. С. 66.
<https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202202009>
 33. Korsakova S., Korsakov P. Features development of olive trees during the growing season in the Southern coast of the Crimea // *BIO Web Conf*. 2021. V. 38: 00060.
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20213800060>
 34. Запроматов М.Н. О функциональной роли фенольных соединений в растениях // Физиология растений. 1992. Т. 39. С. 1197.
 35. Fahimirad S., Karimzadeh G., Ghanati F. Cold-induced changes of antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars // *J. Plant Physiol. Breed*. 2013. V. 3. P. 1.
 36. Olenichenko N.A., Ossipov V.I., Zagorskina N.V. Effect of cold hardening on the phenolic complex of winter wheat leaves // *Russ. J. Plant Physiol*. 2006. V. 53. P. 495.
<https://doi.org/10.1134/S1021443706040108>
 37. Janas K.M., Cvikrova M., Palagiewicz A., Szafranska K., Posmyk M.M. Constitutive elevated accumulation of phenylpropanoids in soybean roots at low temperature // *Plant Sci*. 2002. V. 163. P. 369.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00136-X](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00136-X)
 38. Корсакова С.П., Корсаков П.Б. Динамика временных границ климатических сезонов на Южном берегу Крыма в условиях изменения климата // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2018. № 127. С. 100.
<https://doi.org/10.25684/NBG.boolt.127.2018.15>
 39. Lopez-Bernal A., Garcia-Tejera O., Testi L., Orgaz F., Villalobos F. Studying and modelling winter dormancy in olive trees // *Agric. For. Meteorol*. 2020. V. 280: 107776.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.107776>