

Особенности сезонного накопления фенольных соединений в генеративных органах вечнозеленых и листопадных видов *Rhododendron* L. при интродукции в условиях Беларуси

Ж.А. Рупасова*, И.К. Володько*, А.А. Волотович**,
Т.И. Василевская*, Н.Б. Криницкая*, О.А. Кудряшова**

*Государственное научное учреждение

«Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

**Учреждение образования «Полесский государственный университет»

Установлены генотипические различия в содержании биофлавоноидов и дубильных веществ в генеративных органах вечнозеленых и листопадных видов *Rhododendron* L. в сезонном цикле развития в условиях Беларуси и выявлены таксоны с наиболее высокой способностью к их накоплению. Показано, что цветки вечнозеленых видов отмечены более высоким, чем у листопадных видов, содержанием всех фракций полифенолов при большем, чем у них, долевым участии в их составе окисленных соединений – собственно антоцианов и флавонолов и меньшем восстановленных – лейкоантоцианов и катехинов. В период же плодоношения наиболее высоким содержанием в генеративных органах биофлавоноидов, превышавшим таковое в период цветения в 1,5–4,5 раза и достигавшим почти 40% их сухой массы, характеризовался листопадный вид *Rh. luteum* (L.) Sweet. При этом в их составе не обнаружено присутствия собственно антоцианов, на фоне заметного усиления, по сравнению с периодом цветения, долевого участия катехинов и ослабления такового флавонолов, а у листопадных видов также лейкоантоцианов, что сопровождалось практически полным нивелированием различий между вечнозелеными и листопадными видами в соотношении данных соединений.

Ключевые слова: рододендроны, листопадные и вечнозеленые виды, цветки, плоды, антоциановые пигменты, катехины, флавонолы, биофлавоноиды, дубильные вещества.

Features of seasonal accumulation of phenolic compounds in generative bodies of evergreen and deciduous species of *Rhododendron* L. at the introduction under the conditions of Belarus

Zh.A. Rupasova*, I.K. Volodko*, A.A. Volotovich**,
T.I. Vasilevskaya*, N.B. Krinitskaya*, O.A. Kudryashova**

*Central Botanical Garden of National Academy of Sciences of Belarus

**Educational establishment «Poless State University»

Genotypic distinctions in the content of bio-flavonoids and tannins in the generative bodies of evergreen and deciduous *Rhododendron* L. species are established in the seasonal cycle of development under the conditions of Belarus. Taxons with the highest ability to accumulation of substances mentioned above also are revealed. It is shown that flowers of evergreen species are with the higher content of all fractions of polyphenols, than deciduous species. Individually it is the share in their structure of oxidized compounds as well as of actually anthocyanin and flavonol in higher content and of leuco-anthocyanin and catechines in smaller ones. While during the fructification period the deciduous *Rh. luteum* (L.) Sweet was characterized by a higher content of bio-flavonoids in generative bodies, exceeding that in flowering period 1.5–4.5 times and reaches almost 40% of their dry weight. At the same time in their structure the presence of actual anthocyanin is not revealed, against the appreciable strengthening, in comparison with the period of flowering, of individual share of catechines and against the appreciable easing of flavonols, and also of leuco-anthocyanin at deciduous species that was accompanied by almost full leveling of distinctions between evergreen and deciduous species in the ratio of the mentioned above compounds.

Key words: *Rhododendron* L., evergreen and deciduous species, flowers, fruits, anthocyanin pigments, catechine, flavonol, bio-flavonoids, tannins.

Потенциальными источниками лекарственного сырья в Республике Беларусь являются малоизученные декоративные кустарники рода *Rhododendron* L., надземные части которых издавна используются в народной медицине, благодаря значительному содержанию в них

ряда физиологически активных веществ. Коллекция рододендронов в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси, насчитывающая 79 видов, подвидов, форм и сортов, значительная часть которых характеризуется высоким ростовым и биопродукционным потенциалом,

является наиболее представительной в республике. Вместе с тем особый научный и практический смысл обретает исследование их способности к биосинтезу в надземных частях соединений фенольной природы, в первую очередь, биофлавоноидов, обладающих Р-витаминной физиологической активностью. Это позволит выявить таксоны, наиболее перспективные в качестве природных сырьевых источников данных соединений. Предварительные исследования биохимического состава ассимилирующих частей некоторых видов рододендрона, осуществленные на базе коллекции ЦБС НАН Беларуси [1], показали повышенную способность к накоплению в них биофлавоноидов и вместе с тем обнаружили существенные различия в их содержании у вечнозеленых и листопадных видов. В этой связи логично предположить, что подобные различия могут наблюдаться и в их генеративных органах, что и побудило нас к проведению в 2010–2011 гг. сравнительного исследования сезонной динамики накопления биофлавоноидов и дубильных веществ в генеративных частях наиболее перспективных по биопродукционным характеристикам представителей рода *Rhododendron* L.

Целью данной работы является сравнительное исследование сезонной динамики накопления биофлавоноидов и дубильных веществ в генеративных частях наиболее перспективных по биопродукционным характеристикам представителей рода *Rhododendron* L.

Материал и методы. В качестве объектов исследования были привлечены 9 представителей данного рода – 1 полувечнозеленый вид – *Rh. dauricum* L., принятый в качестве эталона сравнения, 2 листопадных вида – *Rh. luteum* (L.) Sweet и *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring, второй из которых был представлен тремя формами – Минской (из коллекции ЦБС НАН Беларуси), Ветчиновской и Марковской (отобранными близ соответствующих их названиям населенных пунктов в Гомельской обл.), и 4 вечнозеленых вида – *Rh. catawbiense* Michx., *Rh. brachycarpum* D. Don, *Rh. smirnowii* Trautv., *Rh. fortunei* Lindl.

При исследовании биохимического состава генеративных органов рододендрона в высушенных при температуре 65°C усредненных пробах анализируемого материала определяли содержание суммы антоциановых пигментов – по методу T. Swain, W.E. Hillis [2], с построением градуировочной кривой по кристаллическому цианидину, полученному из плодов аронии черноплодной и очищенному по методике

Ю.Г. Скориковой и Э.А. Шафтан [3], собственно антоцианов – по методу Л.О. Шнайдемана и В.С. Афанасьевой [4]; суммы флавонолов – фотоэлектроколориметрическим методом [5]; суммы катехинов – фотометрическим методом с использованием ванилинового реактива [6]; дубильных веществ – титрометрическим методом Левенталея [7]. Все аналитические определения выполнены в 3-кратной биологической повторности. Данные статистически обработаны с использованием программы Excel.

Результаты и их обсуждение. В условиях Беларуси цветение рододендронов обычно приходится на третью декаду мая – начало июня. Исследование биофлавоноидного комплекса их генеративных органов в данный период выявило наличие в его составе весьма выразительных различий между вечнозелеными и листопадными видами. При этом общее содержание биофлавоноидов в цветках вечнозеленых видов было примерно таким же, как и в перезимовавших листьях, но существенно уступало таковому в молодых ассимилирующих органах, причем в наибольшей степени у листопадных видов. Цветки вечнозеленых видов оказались намного богаче таковых листопадных видов всеми фракциями биофлавоноидов. Так, если в первом случае общее содержание последних составляло 10978,8–17468,9 мг%, то во втором оно не превышало 6640,8–8372,4 мг%, в том числе собственно антоцианов соответственно 1375,4–4323,3 мг% и 0–445 мг%; лейкоантоцианов 4046,7–5904,6 мг% и 2649,0–5217,5 мг%; катехинов 1161,3–2202,5 мг% и 1122,2–1502,9 мг%; флавонолов 3438,8–7446,3 мг% и 685,9–2942,9 мг%.

Вместе с тем весьма выразительно проявились различия между вечнозелеными и листопадными видами рододендрона и в соотношении компонентов биофлавоноидного комплекса генеративных органов. Так, при доминирующем положении в последнем антоциановых пигментов, доля которых в таксономическом ряду изменялась от 43 до 69%, вечнозеленые виды, в том числе и полувечнозеленый *Rh. dauricum* L., характеризовались более высоким, чем у листопадных видов, долевым участием в нем собственно антоцианов, составлявшим 8–25% общего количества биофлавоноидов, тогда как у листопадных видов оно было существенно ниже и не превышало 6%. При этом относительная доля лейкоантоцианов в биофлавоноидном комплексе цветков вечнозеленых видов рододендрона, напротив, была ниже, чем у листопадных, и составляла 31–42% против 37–69%. Подобная

этой картина наблюдалась и при сопоставлении у сравниваемых групп рододендрона относительных долей участия катехинов в биофлавоноидном комплексе цветков, составлявших 9–13% у вечнозеленых видов и 16–21% у листопадных, однако доля участия в нем флавонолов оказалась, напротив, выше в первом случае и составляла 27–46% против 10–41% во втором.

Таким образом, цветки вечнозеленых видов рододендрона были отмечены более высоким, чем у листопадных видов, содержанием всех фракций биофлавоноидов при большем, чем у них, доле участия в их составе окисленных соединений – собственно антоцианов и флавонолов и меньшем восстановленных – лейкоантоцианов и катехинов. Напомним, что в Р-витаминном комплексе молодых листьев прироста текущего года, сформировавшихся одновременно с цветками, доле участие последних у вечнозеленых видов, напротив, было выше, чем у листопадных. Разумеется, выявленные различия в составе биофлавоноидного комплекса цветков рододендрона отчетливо проявились в соотношениях в них количества флавонолов и катехинов, оказавшихся у вечнозеленых видов заметно шире, чем у листопадных (соответственно 2,3–4,1 против 0,5–2,6), тогда как в ассимилирующих частях, как было показано выше, напротив, уже.

Сопоставление параметров накопления отдельных фракций биофлавоноидов в цветках эталонного вида и тестируемых таксонов рододендрона выявило наличие весьма выразительных генотипических различий по данному признаку (табл. 1).

В частности, абсолютное большинство сравниваемых объектов уступали *Rh. dauricum* L. в содержании в них собственно антоцианов на 13–100% и флавонолов на 26–86%, при наиболее выразительных различиях у листопадных видов, особенно у всех трех природных форм *Rh. luteum* (L.) Sweet. При этом наиболее высоким в таксономическом ряду содержанием первых был отмечен *Rh. smirnowii* Trautv., тогда как вторых – *Rh. fortunei* Lindl, превосходивший эталонный вид в их накоплении почти на 60%. Противоположная этой картина подобных различий была показана для восстановленных фракций биофлавоноидов – лейкоантоцианов и катехинов, содержание которых в цветках всех тестируемых объектов, за исключением *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring, существенно (на 13–46% и 5–90%) превосходило эталонный уровень, при наибольших расхождениях с ним в обоих случаях у *Rh. fortunei* Lindl. и особенно у *Rh. smirnowii* Trautv. Более активное, чем у *Rh. dauricum* L., накопление большинства фракций Р-активных соединений в цветках этих двух вечнозеленых видов рододендрона обусловило, в свою очередь, наиболее высокое в таксономическом ряду суммарное количество в них биофлавоноидов, превосходившее таковое эталонного вида соответственно на 25 и 34%. Среди вечнозеленых видов рододендрона лишь *Rh. catawbiense* Michx. отставал от него по данному признаку на 16%, тогда как у *Rh. brachycarpum* D. Don. сколько-либо значимых различий в этом плане выявлено не было. Что касается листопадных видов, то все они уступали *Rh. dauricum* L. в общем содержании биофлавоноидов на 36–49%.

Таблица 1

Степень различий с эталонным видом *Rh. dauricum* L. содержания фенольных соединений в сухой массе генеративных органов интродуцированных видов *Rhododendron* L. в фазу цветения, май–июнь, %

Таксон	Собств. антоцианы	Лейкоантоцианы	Сумма антоц. пигм.	Катехины	Флавонолы	Сумма биофл.	Дубил. вещ.
<i>Rh. catawbiense</i>	-47,1	+15,0	-12,2	+5,2	-27,1	-16,0	+20,9
<i>Rh. smirnowii</i>	+37,4	+45,9	+42,2	+89,7	+6,8	+33,6	-2,3
<i>Rh. brachycarpum</i>	-12,8	+36,2	+14,7	+30,8	-26,0	–	+58,7
<i>Rh. fortunei</i>	-56,3	+42,3	–	+55,5	+57,9	+25,4	+25,3
<i>Rh. japonicum</i>	-85,9	-34,5	-57,0	-3,4	-37,6	-45,2	-44,2
<i>Rh. luteum</i> , Минск	-100,0	+13,1	-36,4	+18,7	-85,5	-49,2	-26,8
<i>Rh. luteum</i> , Ветчин.	-100,0	+28,9	-27,5	+28,7	-64,8	-35,9	-11,7
<i>Rh. luteum</i> , Марков.	-100,0	+16,9	-34,2	+29,4	-82,5	-46,0	-26,8

Примечание: прочерк означает отсутствие статистически значимых по t-критерию Стьюдента различий с эталонным видом при $p < 0,05$.

Степень различий с эталонным видом *Rh. dauricum* содержания фенольных соединений в сухой массе генеративных органов интродуцированных видов *Rhododendron L.* в фазу плодоношения август–сентябрь, %

Таксон	Собств. антоцианы	Лейкоантоцианы	Катехины	Флавонолы	Сумма биофл.	Дубил. вещ.
<i>Rh. catawbiense</i>	–	-12,8	+4,8	+84,0	+2,8	–
<i>Rh. smirnowii</i>	–	+23,1	+44,0	+98,4	+39,0	+16,5
<i>Rh. brachycarpum</i>	–	+16,9	+36,8	+69,6	+30,8	–
<i>Rh. fortunei</i>	–	-21,8	–	+74,4	-4,9	+16,5
<i>Rh. japonicum</i>	–	+9,0	–	+100,8	+9,9	–
<i>Rh. Luteum</i> , Минск	–	+66,7	+81,2	+151,2	+79,9	+62,0
<i>Rh. luteum</i> , Ветчин.	–	+83,6	+110,8	125,7	+100,7	+134,2
<i>Rh. Luteum</i> . Марков.	–	+56,9	+108,4	+129,6	+88,7	+125,3

Примечание: прочерк означает отсутствие статистически значимых по t-критерию Стьюдента различий с эталонным видом при $p < 0,05$.

Цветки рододендрона характеризовались примерно в 1,5 раза меньшим, по сравнению с ассимилирующими частями, содержанием в сухой массе дубильных веществ, варьировавшимся в таксономическом ряду в диапазоне значений от 3,2% у *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring до 9,1% у *Rh. brachycarpum* D. Don. Вместе с тем, как и в ассимилирующих частях, оно оказалось заметно выше у вечнозеленых видов, нежели у листопадных, что согласовывалось с более активным накоплением в них восстановленных фракций биофлавоноидов, являющихся предшественниками танинов, причем в первом случае параметры их накопления превышали таковые *Rh. dauricum* L. на 21–59%, и лишь в единичном случае – у *Rh. smirnowii* Trautv. они были идентичны друг другу (табл. 1). При этом содержание танинов в цветках листопадных видов на 12–44% уступало таковому эталонного вида, при наибольших различиях с ним у *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring и наименьших у Ветчиновской формы *Rh. luteum* (L.) Sweet.

Исследование биофлавоноидного комплекса генеративных органов *Rhododendron L.* в фазу плодоношения, как и в период цветения, выявило наличие весьма выразительных различий между вечнозелеными и листопадными видами в общем содержании в них биофлавоноидов, существенно превосходившем таковое в соцветиях – в среднем в 1,5 раза в первом случае и в 4,5 раза во втором, причем плоды листопадных видов оказались примерно в 1,5 раза богаче Р-витаминами, по сравнению с вечнозелеными

видами, тогда как в цветках, напомним, наблюдалась противоположная этой картина. Так, если диапазон варьирования в таксономическом ряду вечнозеленых видов общего содержания данных соединений в сухой массе плодов охватывал область значений 18318,1–26793,5 мг%, то у листопадных видов он составлял 21182,1–38668,1 мг%, в том числе лейкоантоцианов соответственно 6167,8–9706,7 и 8594,4–14479,1 мг%; катехинов 9929,1–14560,0 мг% и 10030,2–21314,2 мг%; флавонолов 1273,6–2526,8 мг% и 2557,4–3199,3 мг%. Столь значительное содержание данных соединений в плодах рододендрона в районе интродукции, в 4–6 раз превышающее таковое в плодах других представителей сем. *Ericaceae* – голубики высокорослой, брусники обыкновенной и клюквы крупноплодной [8], свидетельствует о высокой перспективности *Rhododendron L.* в качестве природного источника Р-витаминов. Учитывая высокую урожайность плодов у ряда видов, в том числе *Rh. luteum* (L.) Sweet., представляется целесообразным рекомендовать их для пополнения отечественной базы лекарственного растительного сырья.

Заметим, что в генеративных органах рододендрона на стадии плодоношения наблюдалось усиление, по сравнению с периодом цветения, долевого участия катехинов в составе биофлавоноидного комплекса до 47–58% при ослаблении такового флавонолов до 7–12%, а у листопадных видов и лейкоантоцианов до 34–41%, тогда как у вечнозеленых относитель-

ная доля последних осталась такой же, как и в период цветения. Вместе с тем ни у одного исследуемого таксона не было обнаружено присутствия в Р-витаминном комплексе плодов собственно антоцианов. В результате столь заметной трансформации биофлавоноидного комплекса генеративных органов рододендронов в период плодоношения, по сравнению с фазой цветения, произошло практически полное нивелирование различий между вечнозелеными и листопадными видами в соотношении его отдельных компонентов, что, на наш взгляд, обусловлено необходимостью сохранения генетически детерминированных параметров биохимического состава семенного материала, свойственных их родовому комплексу.

При этом почти все тестируемые таксоны рододендрона в разной степени (на 3–101%) превосходили эталонный вид по общему содержанию в плодах биофлавоноидов, при наиболее выразительных различиях у *Rh. luteum* (L.) Sweet., особенно у его Ветчиновской формы (табл. 2).

Столь выразительный характер данных различий был обусловлен существенно более активным, чем у *Rh. dauricum* L., накоплением в плодах этого листопадного вида основных фракций Р-витаминов, в том числе доминирующих – лейкоантоцианов (на 57–67%) и катехинов (на 81–111%), а также окисленных флавонолов (на 126–151%). Вместе с тем для плодов другого листопадного вида – *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring. существенных различий с эталонным объектом в содержании обеих восстановленных фракций биофлавоноидов выявлено не было, тогда как в содержании флавонолов они составили 100%. У вечнозеленых видов рододендрона относительные размеры подобных различий с *Rh. dauricum* L. в общем накоплении в плодах биофлавоноидов не превышали 39%, причем наименее выразительными, из-за отставания от него на 13% в содержании лейкоантоцианов, они были у *Rh. catawbiense* Michx., и лишь в единичном случае – у *Rh. fortunei* Lindl плоды оказались несколько беднее таковых эталонного вида Р-витаминами, что было обусловлено, как и у предыдущего вида, отставанием от него на 22% в содержании лейкоантоцианов.

Содержание танинов, являющихся фенольными полимерами, в плодах рододендронов превышало таковое в соцветиях в среднем

в 1,2 раза у вечнозеленых и в 3,4 раза у листопадных видов и варьировало в таксономическом ряду от 7,9 до 18,5% сухой массы (табл. 2). При этом большинство тестируемых таксонов превосходило эталонный вид в их накоплении на 16–134%, при наибольших различиях, как и в содержании восстановленных фракций биофлавоноидов (лейкоантоцианов и катехинов), являющихся их предшественниками, у Ветчиновской формы *Rh. luteum* (L.) Sweet.

Заключение. В результате исследования сезонной динамики накопления фенольных соединений в генеративных органах 9 таксонов вечнозеленых и листопадных видов *Rhododendron* L. установлены отчетливые внутрисезонные и генотипические различия в содержании данных соединений. В период цветения доминирующее положение в биофлавоноидном комплексе генеративных органов принадлежало лейкоформам антоциановых пигментов и в меньшей степени флавонолам. Показано, что цветки вечнозеленых видов рододендрона отмечены более высоким, чем у листопадных видов, содержанием всех фракций полифенолов при большем, чем у них, долевым участии в их составе окисленных соединений – собственно антоцианов и флавонолов и меньшем восстановленных – лейкоантоцианов и катехинов. В период же плодоношения наиболее высоким содержанием биофлавоноидов в генеративных органах, превышавшим таковое в период цветения в 1,5–4,5 раза и достигавшим почти 40% их сухой массы, характеризовался листопадный вид *Rh. luteum* (L.) Sweet. При этом в составе полифенолов не обнаружено присутствия собственно антоцианов, на фоне заметного усиления, по сравнению с периодом цветения, долевого участия катехинов и ослабления такового флавонолов, а у листопадных видов также лейкоантоцианов, что сопровождалось практически полным нивелированием различий между вечнозелеными и листопадными видами в соотношении основных фракций полифенолов.

Показано, что растения *Rh. luteum* (L.) Sweet. в период плодоношения могут представлять интерес в качестве природного источника фенольных соединений, главным образом, лейкоантоцианов, катехинов и дубильных веществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований

по гранту № Б11об-012(2011–2013 гг., № ГР20115367 от 19.12.2011 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Рупасова, Ж.А. Влияние способов размножения на химический состав листьев рододендрона (*Rhododendron L.*) / Ж.А. Рупасова, Е.Н. Кутас, А.К. Злотников [и др.] // Весті НАН Б, сер. биол. наук. – 2000. – № 3. – С. 11–16.
2. Swain, T. The phenolic constituents of *Prunus Domestica*. 1. The quantitative analysis of phenolic constituents / T. Swain, W. Hillis // J. Sci. Food Agric, 1959. – Vol. 10, № 1. – P. 63–68.
3. Скорикова, Ю.Г. Методика определения антоцианов в плодах и ягодах / Ю.Г. Скорикова, Э.А. Шафтан // Тр. 3 Всесоюз. семинара по биологически активным (лечебным) веществам плодов и ягод. – Свердловск, 1968. – С. 451–461.
4. Шнайман, Л.О. Методика определения антоциановых веществ / Л.О. Шнайман, В.С. Афанасьева // 9-й Менделеевский съезд по общ. и прикл. химии: реф. докл. и сообщ. – М., 1965. – № 8. – С. 79–80.
5. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков [и др.]. – М.: ВО Агропромиздат, 1987. – 430 с.
6. Запрометов, М.Н. Биохимия катехинов / М.Н. Запрометов. – М., 1964. – 325 с.
7. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Государственная фармакопея СССР. Вып. 1: Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – С. 286–287.
8. Формирование биохимического состава плодов видов семейства *Ericaceae* при интродукции в условиях Беларуси / Ж.А. Рупасова [и др.]. – Минск: Беларуская навука, 2011. – 307 с.

Поступила в редакцию 26.03.2012. Принята в печать 14.06.2012
Адрес для корреспонденции: e-mail: j.rupasova@cbg.org.by – Рупасова Ж.В.