

ВЕСЦІ

**НАЦЫЯНАЛЬнай
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ**

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2012 № 3

ИЗВЕСТИЯ

**НАЦИОНАЛЬНОЙ
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ**

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2012 № 3

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

PROCEEDINGS

**OF THE NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF BELARUS**

BIOLOGICAL SERIES 2012 N 3

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 1956

Issued four times a year

УДК 634.737:581.19:522.4(476)

Ж. А. РУПАСОВА¹, И. К. ВОЛОДЬКО¹, А. А. ВОЛОТОВИЧ²,
Т. И. ВАСИЛЕВСКАЯ¹, Н. Б. КРИНИЦКАЯ², О. А. КУДРЯШОВА²

**ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОГО НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
В АССИМИЛИРУЮЩИХ ОРГАНАХ ВЕЧНОЗЕЛЕННЫХ И ЛИСТОПАДНЫХ ВИДОВ
RHODODENDRON ПРИ ИНТРОДУКЦИИ В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail:

²Полесский государственный университет, Пинск

(Поступила в редакцию 09.12.2012)

Введение. Особое место в ряду интродуцентов, являющихся потенциальными источниками лекарственного сырья в Республике Беларусь, занимают малоизученные декоративные кустарники рода *Rhododendron* L., сырье которых с давних пор востребовано в народной медицине для лечения разных патологий [1, 4].

Коллекция *Rhododendron* L. в ЦБС НАН Беларуси представлена 79 видами, подвидами, формами и сортами, значительная часть которых характеризуется высоким ростовым и биопродукционным потенциалом. Предварительные исследования биохимического состава ассимилирующих частей некоторых видов рододендрона, осуществленные на базе коллекции ЦБС НАН Беларуси [7], подтвердили повышенную способность данных интродуцентов к накоплению в ассимилирующих органах широкого спектра полезных веществ – органических кислот, углеводов, биофлавоноидов, терпеноидов, дубильных и минеральных веществ и вместе с тем обнаружили существенные различия в их биохимическом составе у вечнозеленых и листопадных видов.

В этой связи первостепенную значимость и актуальность обретают исследования, направленные на выявление таксонов рододендрона с наиболее высоким содержанием в сырьевых частях действующих веществ разной химической природы, играющих важную роль в метаболизме человека. Для решения данной задачи в 2010–2011 гг. было проведено сравнительное исследование сезонной динамики накопления биофлавоноидов и дубильных веществ в ассимилирующих органах наиболее перспективных по биопродукционным характеристикам представителей этого рода, различающихся по географическому происхождению и ареалу распространения, охватывающему 2 континента – Северную Америку и Евразию.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования были привлечены следующие представители рода *Rhododendron* L.: 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 листьев рододендрона в высушенных при температуре 65 °С усредненных пробах анализируемого материала определяли содержание суммы антоциановых пигментов – по методу T. Swain, W. E. Hillis [11], с построением градуировочной кривой по кристаллическому цианидину, полученному из плодов аронии черноплодной и очищенному по методике Ю. Г. Скориковой и Э. А. Шафтан [9], собственно антоцианов – по методу

Л. О. Шнайдемана и В. С. Афанасьевой [10]; суммы флавонолов – фотоэлектроколориметрическим методом [4]; суммы катехинов – фотометрическим методом с использованием ванилинового реактива [2]; дубильных веществ – титрометрическим методом Левентала [5]. Все аналитические определения выполнены в 3-кратной биологической повторности. Данные статистически обработаны с использованием программы Excel.

Результаты и их обсуждение. Исследование биохимического состава перезимовавших листьев рододендрона, отобранных для анализа в конце второй декады апреля на стадии бутонизации, в силу биологических особенностей развития растений, осуществлялось только у полувечнозеленого и 4 вечнозеленых видов. Было установлено, что перезимовавшие листья исследуемых видов рододендрона характеризовались чрезвычайно высоким содержанием биофлавоноидов, варьировавшимся в таксономическом ряду от 13821,3 мг% сухой массы у *Rh. dauricum* L. до 18157,0 мг% у *Rh. smirnowii* Trautv., что согласовывалось с результатами наших более ранних исследований [7]. Доминирующее положение в их биофлавоноидном комплексе принадлежало катехинам, содержание которых составляло 5904,9–9888,7 мг% и на долю которых приходилось от 43 % у *Rh. dauricum* L. до 60 % у *Rh. brachycarpum* D. Don. от общего количества данных соединений. Несколько меньшим долевым участием в пуле биофлавоноидов – от 24–25 % у данных видов до 40–44 % у *Rh. smirnowii* Trautv. и *Rh. fortunei* Lindl. характеризовались антоциановые пигменты, представленные главным образом лейкоформами, общее содержание которых составляло 3356,9–8008,0 мг%, в том числе собственно антоцианов 25,7–101,1 мг% и лейкоантоцианов 3255,8–7982,3 мг%. Наименьшей же относительной долей участия в нем – от 9 % у *Rh. smirnowii* Trautv. до 33 % у *Rh. dauricum* L. были отмечены флавонолы, содержание которых изменялось в таксономическом ряду от 1655,7 мг% до 4559,5 мг%. При этом все вечнозеленые виды рододендрона, особенно *Rh. smirnowii* Trautv., превосходили *Rh. dauricum* L. по общему накоплению Р-витаминов в перезимовавших листьях на 6–31 % (табл. 1). Это было обусловлено более высоким, чем у эталонного вида, содержанием в них обеих доминирующих фракций данных веществ – лейкоантоцианов (на 27–145 %) и катехинов (на 20–68 %), на фоне существенного отставания в накоплении менее значимых в количественном плане их компонентов – собственно антоцианов (на 46–75 %) и флавонолов (на 42–64 %). Заметим, что соотношение количеств флавонолов и катехинов в листьях вечнозеленых видов рододендрона, составлявшее 0,2–0,3, было в несколько раз уже, чем у полувечнозеленого вида *Rh. dauricum* L.

Таблица 1. Степень различий с эталонным видом *Rh. dauricum* L. содержания фенольных соединений в сухой массе перезимовавших листьев интродуцированных вечнозеленых видов *Rhododendron* L. в фазу бутонизации, %, апрель

Таксон	Собственно антоцианы	Лейкоантоцианы	Сумма антоциановых пигментов	Катехины	Флавонолы	Сумма биофлавонолов	Дубильные вещества
<i>Rh. catawbiense</i> Michx.	–46,2	+ 59,2	+ 56,0	+ 30,5	–41,9	+ 12,8	+ 141,4
<i>Rh. smirnowii</i> Trautv.	–74,6	+ 145,2	+ 138,6	+ 43,8	–63,7	+ 31,4	+ 63,1
<i>Rh. brachycarpum</i> D. Don.	–74,6	+ 27,2	+ 24,1	+ 67,5	–48,6	+ 18,6	+ 74,5
<i>Rh. fortunei</i> Lindl.	–46,2	+ 78,4	+ 74,7	+ 19,5	–63,7	+ 5,5	+ 69,1

Чрезвычайно высокое содержание биофлавоноидов в перезимовавших листьях исследуемых таксонов *Rhododendron* L. предполагало существенное накопление в них и дубильных веществ, являющихся производными данных соединений, что и подтвердили результаты наших исследований. Оказалось, что содержание танинов в их сухой массе варьировалось в таксономическом ряду от 5,5 % у полувечнозеленого вида *Rh. dauricum* L. до 13,4 % у *Rh. catawbiense* Michx. При этом у всех вечнозеленых видов оно превышало таковое у эталонного вида на 63–141 % (см. табл. 1).

Исследование биохимического состава молодых листьев рододендрона осуществлялось по завершении их формирования в 3-й декаде мая – 1-й декаде июня. По нашим оценкам, суммарное

содержание биофлавоноидов в их сухой массе у всех исследуемых видов рододендрона оказалось чрезвычайно высоким, что, впрочем, свойственно всем представителям сем. *Ericaceae* [6, 8], и варьировалось в таксономическом ряду в интервале значений от 15606 мг% у *Rh. dauricum* L. до 40210 мг% у *Rh. brachycarpum* D. Don. **Доминирующее положение в их Р-витаминном комплексе** принадлежало катехинам, доля которых в нем при содержании 5824–27248 мг% изменялась от 33–37 % у полувечнозеленого *Rh. dauricum* L. и всех листопадных видов до 46–68 % у вечнозеленых видов. При этом содержание в листьях антоциановых пигментов, представленных у всех таксонов рододендрона, за исключением *Rh. luteum* (L.) Sweet, лейкоформами, и составлявшее 5655–10777 мг%, в большинстве случаев превышало таковое флавонолов (3275–7729 мг%) в 1,1–3,3 раза, при наиболее выразительных различиях у *Rh. smirnowii* Trautv., и лишь у *Rh. dauricum* L., *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring. и Минской формы *Rh. luteum* (L.) Sweet оно уступало ему в 1,2–1,5 раза. Заметим при этом, что наиболее высоким содержанием антоциановых пигментов были отмечены молодые листья *Rh. smirnowii* Trautv., катехинов – *Rh. brachycarpum* D. Don., тогда как флавонолов – все формы *Rh. luteum* (L.) Sweet, для которых было показано присутствие в составе антоцианового комплекса, хотя и незначительное (93,3–693,3 мг%), собственно антоцианов.

Обращает на себя внимание, что общее содержание биофлавоноидов во вновь образованных листьях вечнозеленых видов рододендрона оказалось существенно выше, чем в перезимовавших, что, скорее всего, обусловлено их значительным расходом на поддержание жизненных функций растений в холодное время года. Вместе с тем степень данных различий у тестируемых объектов была неодинаковой и изменялась в диапазоне от 1,1 раза у полувечнозеленого вида *Rh. dauricum* L. до 2,5 раз у *Rh. brachycarpum* D. Don. при заметной изменчивости в таксономическом ряду возрастных различий содержания в листьях отдельных фракций биофлавоноидов. Так, наиболее выразительно данные различия в содержании антоциановых пигментов и катехинов проявились у *Rh. brachycarpum* D., тогда как флавонолов – у *Rh. fortunei* Lindl. Это наводит на мысль о видоспецифичности преимущественного расхода тех или иных фракций полифенолов на поддержание метаболизма растений в зимний период года.

Вместе с тем общее содержание Р-витаминов в молодых листьях текущего прироста вечнозеленых видов рододендрона, как и в перезимовавших, оказалось выше, чем у *Rh. dauricum* L., но при большей выразительности данных различий, вполне сопоставимой с таковой у листопадных видов. Как следует из табл. 2, относительные размеры данного превышения варьировались в таксономическом ряду от 23 % у *Rh. japonicum* (A. Gray) Suring до 158 % у *Rh. brachycarpum* D. Don. **Заметим, что если у всех листопадных видов данный интегральный эффект был обусловлен более активным, чем у эталонного вида, биосинтезом в листьях всех фракций биофлавоноидов, то у вечнозеленых видов – только восстановленных соединений – лейкоантоцианов и катехинов, что, впрочем, наблюдалось и в перезимовавших листьях.** При этом относительные размеры превышения эталонных значений параметров их накопления в молодых листьях вечнозеленых видов оказались существенно выше, нежели у листопадных (соответственно 46–177 % и 71–368 % против 52–128 % и 9–66 %). Что же касается флавонолов, то их содержание во вновь образованных листьях вечнозеленых видов рододендрона на 19–44 % уступало таковому у *Rh. dauricum* L. при наибольших различиях у *Rh. smirnowii* Trautv.

Молодые листья вечнозеленых видов рододендрона оказались еще в большей степени, чем перезимовавшие листья, насыщены дубильными веществами, содержание которых в их сухой массе достигало 8,4–16,6 %. У листопадных видов оно охватывало область более низких значений – от 6,6 до 12,3 %, и наименьшим оно было у полувечнозеленого вида *Rh. dauricum* L. При этом, как следует из табл. 2, относительные размеры превышения эталонного уровня танинов изменялись в таксономическом ряду от 49 до 196 % у вечнозеленых видов и от 17 до 119 % у листопадных, причем наибольшим их накоплением в первом случае характеризовались листья *Rh. brachycarpum* D. Don., во втором – Ветчиновской формы *Rh. luteum* (L.) Sweet.

Т а б л и ц а 2. Степень различий с эталонным видом *Rh. dauricum* L. содержания фенольных соединений в сухой массе молодых листьев интродуцированных видов *Rhododendron* L. в фазу вегетации, %, май–июнь

Таксон	Собственно антоцианы	Лейкоантоцианы	Сумма антоциановых пигментов	Катехины	Флавонолы	Сумма биофлавонолов	Дубильные вещества
<i>Rh. catawbiense</i> Michx.	–	+ 90,6	+ 90,6	+ 71,0	– 27,2	+ 38,8	+ 90,6
<i>Rh. smirnowii</i> Trautv.	–	+ 177,3	+ 177,3	+ 109,4	– 44,4	+ 68,2	+ 49,0
<i>Rh. brachycarpum</i> D. Don.	–	+ 121,4	+ 121,4	+ 367,9	– 26,1	+ 157,7	+ 196,4
<i>Rh. fortunei</i> Lindl.	–	+ 45,5	+ 45,5	+ 151,3	– 19,4	+ 60,5	+ 123,0
<i>Rh. japonicum</i> (A. Gray) Suring	–	+ 51,6	+ 51,6	+ 8,9	+ 17,0	+ 22,6	+ 17,1
<i>Rh. luteum</i> (L.) Sweet, Минск	+ 5,7	+ 59,3	+ 65,0	+ 22,6	+ 31,1	+ 36,4	+ 31,2
<i>Rh. luteum</i> (L.) Sweet, Ветчин.	+ 17,9	+ 128,3	+ 146,2	+ 66,4	+ 29,6	+ 72,4	+ 119,2
<i>Rh. luteum</i> (L.) Sweet, Марковск.	+ 4,0	+ 100,5	+ 102,9	+ 44,9	+ 19,3	+ 49,7	+ 43,0

П р и м е ч а н и е. Прочерк означает отсутствие статистически значимых по t-критерию Стьюдента различий с эталонным видом при $p < 0,05$. То же для табл. 3.

Спустя примерно 4 мес растения рододендрона вступали в период плодоношения. На данном этапе их сезонного развития основной интерес представляло исследование биохимического состава листьев текущего прироста только вечнозеленых видов, в сухой массе которых суммарное содержание биофлавоноидов варьировалось в таксономическом ряду в диапазоне значений от 16496 мг% у *Rh. dauricum* L. до 27865 мг% у *Rh. brachycarpum* D. Don. Заметим, что и ранней весной этим видам принадлежали крайние позиции в ряду исследуемых таксонов по данному признаку. Вместе с тем за летний период произошло некоторое снижение в их листовой ткани общего количества биофлавоноидов, обусловленное, скорее всего, расходом определенной части Р-активных соединений на биосинтез запасных веществ, но наиболее значительным данное снижение (более чем на 40 %) оказалось у *Rh. brachycarpum* D. Don.

Как и на предыдущих этапах их сезонного развития, доминирующее положение в Р-витаминном комплексе ассимилирующих органов принадлежало катехинам, доля которых в нем при содержании 8220–15834 мг% изменялась от 43 до 61 %. При этом общее содержание в их сухой массе антоциановых пигментов, представленных лейкоформами, при следовых количествах собственно антоцианов изменялось в таксономическом ряду от 4034 мг% у *Rh. dauricum* L. до 11421 мг% у *Rh. smirnowii* Trautv. и в большинстве случаев превышало таковое флавонолов (2048–4241 мг%) в 1,9–3,8 раза, при наибольших различиях у *Rh. brachycarpum* D. Don. и *Rh. fortunei* Lindl., тогда как у *Rh. dauricum* L., как и весной, оно уступало ему в 1,1 раза. Заметим, что в период подготовки к зиме наиболее высоким содержанием в листьях антоциановых пигментов и флавонолов характеризовался *Rh. smirnowii* Trautv., тогда как катехинов – *Rh. brachycarpum* D. Don.

Так же, как и на более ранних этапах сезонного развития вечнозеленых видов рододендрона, общее содержание биофлавоноидов в их листовой ткани оказалось выше, чем у полувечнозеленого вида *Rh. dauricum* L., принятого за эталон сравнения, на 20–69 %, при наибольших различиях у *Rh. smirnowii* Trautv. и особенно у *Rh. brachycarpum* D. Don. (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Степень различий с эталонным видом *Rh. dauricum* L. содержания фенольных соединений в сухой массе листьев текущего прироста интродуцированных вечнозеленых видов *Rhododendron* L. в фазу плодоношения, %, октябрь

Таксон	Собственно антоцианы	Лейкоантоцианы	Сумма антоциановых пигментов	Катехины	Флавонолы	Сумма биофлавонолов	Дубильные вещества
<i>Rh. catawbiense</i> Michx.	+ 100,0	+ 50,0	+ 52,3	+ 28,1	– 24,3	+ 20,5	+ 159,0
<i>Rh. smirnowii</i> Trautv.	–	+ 183,1	+ 183,1	+ 41,7	– 8,1	+ 63,5	+ 115,4
<i>Rh. brachycarpum</i> D. Don	+ 100,0	+ 133,6	+ 136,1	+ 92,6	– 40,9	+ 68,9	+ 184,6
<i>Rh. fortunei</i> Lindl.	+ 100,0	+ 79,6	+ 80,5	+ 79,7	– 51,7	+ 46,1	+ 200,0

Заметим, что данный интегральный эффект, как и на всем протяжении периода наблюдений, был обусловлен более активным, чем у эталонного вида, биосинтезом в листьях только восстановленных фракций биофлавоноидов – лейкоантоцианов и катехинов. При этом относительные размеры превышения их эталонного уровня варьировались в пределах таксономического ряда в диапазонах 50–183 % и 28–93 % соответственно, при наибольших различиях в первом случае у *Rh. smirnowii* Trautv., во втором – у *Rh. brachycarpum* D. Don. и наименьших в обоих случаях у *Rh. catawbiense* Michx. Что касается флавонолов, то их содержание в листьях в этот период уступало таковому у *Rh. dauricum* L. на 8–52 %, при наибольших различиях у *Rh. fortunei* Lindl. и наименьших у *Rh. smirnowii* Trautv.

Заметим, что в течение лета произошло заметное обеднение листовой ткани вечнозеленых видов рододендрона дубильными веществами, содержание которых в ее сухой массе снизилось до 3,9–11,7 % против 5,6–16,6 % в весенний период. При этом наблюдалось существенное усиление относительных различий с эталонным видом в их накоплении до 115–200 %, при сохранении положительной направленности данных различий.

Заключение. В результате исследования сезонной динамики накопления фенольных соединений в ассимилирующих органах вечнозеленых и листопадных видов *Rhododendron* L. установлены отчетливые внутрисезонные и генотипические различия в содержании данных соединений. Показано, что у вечнозеленых видов рододендрона новообразованные листья характеризовались более высоким содержанием дубильных веществ, а также всех фракций биофлавоноидов, за исключением собственно антоцианов, по сравнению с перезимовавшими листьями. При этом новообразованные листья листопадных видов рододендрона оказались заметно беднее таковых его вечнозеленых видов танинами, катехинами и биофлавоноидами в целом, но богаче их собственно антоцианами и флавонолами, при сходном содержании в них лейкоантоцианов. На протяжении вегетационного периода наблюдалось существенное обеднение ассимилирующих органов вечнозеленых видов рододендрона танинами, а также катехинами и флавонолами, на фоне заметного обогащения их собственно антоцианами и лейкоантоцианами

Установлено, что в **перезимовавших листьях** вечнозеленых видов рододендрона наиболее высоким содержанием собственно антоцианов и флавонолов характеризовался *Rh. dauricum* L., катехинов – *Rh. brachycarpum* D. Don., лейкоантоцианов – *Rh. smirnowii* Trautv., дубильных веществ – *Rh. catawbiense* Michx.

В весенний период в **молодых листьях прироста текущего года** наиболее высоким содержанием антоциановых пигментов характеризовался *Rh. smirnowii* Trautv., катехинов и дубильных веществ – *Rh. brachycarpum* D. Don., флавонолов – Минская и Ветчиновская формы *Rh. luteum* (L.) Sweet.

В осенний период в **листьях прироста текущего года** наиболее высоким содержанием флавонолов был отмечен *Rh. dauricum* L., антоциановых пигментов – *Rh. smirnowii* Trautv., катехинов и танинов – *Rh. brachycarpum* D. Don. и *Rh. fortunei* Lindl.

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. Александрова М. С. Рододендрон. М., 1989.
2. Запрометов М. Н. Биохимия катехинов. М., 1964.
3. Кондратович Р. Я. Рододендроны в Латвийской ССР. Рига, 1981.
4. Методы биохимического исследования растений /А. И. Ермаков [и др.]. М., 1987.
5. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Государственная фармакопея СССР. М., 1987. Вып. 1. С. 286–287.
6. Развитие и метаболизм клюквы крупноплодной в Белорусском Полесье / Рупасова Ж. А. [и др.]. Мн., 1989.
7. Рупасова Ж. А., Кутас Е. Н., Злотников А. К и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2000. № 3. С. 11–16.
8. Рупасова Ж. А., Сидорович Е. А., Игнатенко В. А. и др. Формирование биохимического состава брусники обыкновенной в Беларуси. Мн., 1998.

9. Скорикова Ю. Г., Шафтан Э. А. Методика определения антоцианов в плодах и ягодах: Тр. 3 Всесоюз. семинара по биологически активным (лечебным) веществам плодов и ягод. Свердловск, 1968. С. 451–461.

10. Шнайман Л. О., Афанасьева В. С. Методика определения антоциановых веществ // 9-й Менделеевский съезд по общ. и прикл. химии: реф. докл. и сообщ. М., 1965. № 8. С. 79–80.

11. Swain T., Hillis W. The phenolic constituents of *Prunus Domenstica*. 1. The quantitative analysis of phenolic constituents // J. Sci. Food Agric. 1959. Vol. 10, № 1. P. 63–68.

*J. A. RUPASOVA, I. K. VOLODKO, A. A. VOLOTOVICH, T. I. VASILEUSKAYA,
N. B. KRINITSKAYA, O. A. KUDRYASHOVA*

**THE FEATURES OF SEASONAL ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS
IN THE ASSIMILATING ORGANS OF EVERGREEN AND DECIDUOUS *RHODODENDRON* SPECIES
AT INTRODUCTION IN BELARUS**

Summary

Genotypic differences in the content of bioflavonoids, and tannins in the assimilating organs of evergreen and deciduous species *Rhododendron* L. on the seasonal cycle of development in Belarus were established and taxa with the highest potential to their accumulation were identified. It is shown that during the growing season there is a significant depletion of tannins, and catechins and flavonols in assimilating organs of evergreen species of rhododendron, in marked enrichment of their own anthocyanins and leucocyanins.