

ВЕСЦІ

Scientific Periodicals NASB (online-access)
<http://si.bas-net.by/7107/Pages/mainNAS.asp>

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2013 № 2

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2013 № 2

ЗАСНАВАЛЬНИК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.
Выходзіць чатыры разы ў год

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2013 № 2

Серия биологических наук
на русском, белорусском и английском языках
Комп'ютарная вёрстка А. У. Новік

Здадзена ў набор 11.03.2013. Падпісана ў друк 08.04.2013. Выхад у свет 25.04.2013. Фармац 60 × 84 1/8. Папера афсетная.
Друк лічбавы. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 88 экз. Заказ 78.
Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 38 400 руб., ведамасная падпіска – 95 316 руб.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». ЛІ № 02330/0494405 ад 27.03.2009.
Вул. Ф. Скарыны, 40. 220141, Мінск. Пасведчанне аб рэгістрацыі № 395 ад 18.05.2009.

Надрукавана ў РУП «Выдавецкі дом «Беларуская навука».

1

© Выдавецкі дом «Беларуская навука».
Весці НАН Беларусі. Серыя біялагічных навук, 2013

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES 2013 N 2

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. П. ВОЛЫНЕЦ², Л. В. ГОНЧАРОВА

**ТРАНСФОРМАЦИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА АССИМИЛИРУЮЩИХ
ОРГАНОВ ВЕЧНОЗЕЛЕННЫХ ВИДОВ *RHODODENDRON* В ЗИМНИЙ ПЕРИОД ГОДА
В БЕЛАРУСИ**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail: J.Rupasova@cbg.org.by,

²Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 26.07.2012)

Введение. В связи с интродукцией в Беларусь малоизученных декоративных кустарников рода *Rhododendron* L. сем. Ericaceae, являющихся потенциальными источниками лекарственного сырья [1, 2], особое научное и практическое значение обретает исследование биохимического состава их надземных частей. Предварительные исследования в данном направлении, осуществленные на базе коллекции ЦБС НАН Беларуси [3], подтвердили повышенную способность этих растений к накоплению в ассимилирующих органах широкого спектра соединений разной химической природы – органических кислот, углеводов, терпеноидов, биофлавоноидов с их выраженной антиоксидантной активностью, а также минеральных веществ. Значительная часть коллекции рододендронов, насчитывающей более 80 таксонов разного уровня, представлена вечнозелеными видами. Поддержание их жизненных функций в холодное время года при воздействии низких температур, ингибирующих фотосинтетические процессы, предполагает включение приспособительных механизмов, связанных с взаимопревращениями и частичным расходом в зимующих листьях накопленных за вегетационный период органических соединений, являющихся источниками трофических и энергетических ресурсов. Вместе с тем в научной литературе отсутствует информация об особенностях трансформации биохимического состава ассимилирующих органов вечнозеленых рододендронов в зимний период года, что и побудило авторов к проведению подобных исследований.

Объекты и методы исследования. Исследования были выполнены в 2011–2012 гг., на фоне близких к многолетней климатической норме погодных условий во все сезоны, на примере следующих представителей рода *Rhododendron* L.: полувечнозеленого вида *Rh. dauricum* L. и 4 вечнозеленых видов – *Rh. catawbiense* Michx., *Rh. brachycarpum* D. Don, *Rh. smirnowii* Trautv., *Rh. fortunei* Lindl. Исследование биохимического состава ассимилирующих органов перечисленных таксонов рододендронов осуществляли с использованием распространенных методов получения аналитической информации, для чего в усредненных пробах свежего растительного материала определяли содержание сухих веществ – по ГОСТ 8756.2 – 82 [4], аскорбиновой кислоты (витамина С) – стандартным индофенольным методом [5], титруемых кислот (общей кислотности) – объемным методом [5]. В высушенных при температуре 65 °С усредненных пробах листьев определяли содержание растворимых сахаров – ускоренным полумикрометодом [6], пектиновых веществ (водорастворимого пектина и протопектина) – карбазольным методом [5], суммы антоциановых пигментов – по методу Т. Swain, W. E. Hillis [7] с построением градуировочной кривой по кристаллическому цианидину, полученному из плодов аронии черноплодной и очищенному по методике Ю.Г. Скориковой и Э.А. Шафтан [8], антоцианов – по методу Л.О. Шнайдемана и В.С. Афанасьевой [9], суммы флавонолов – по методу Л. Сарапуу и Х. Мийдла [10], суммы катехинов – фотометрическим методом с использованием ванилиново-

го реактива [11], фенолкарбоновых кислот (в пересчете на хлорогеновую) – методом нисходящей хроматографии на бумаге [12]. Все аналитические определения выполнены в 3-кратной биологической повторности. Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики [13] и программы Excel.

Результаты и их обсуждение. Наиболее объективное представление о степени трансформации биохимического состава листьев вечнозеленых видов рододендрона в зимний период года можно составить на основе сравнения содержания в них органических соединений разной химической природы до и после перезимовки растений. В результате определения их количественных параметров в позднеосенний и ранневесенний периоды года были выявлены весьма широкие диапазоны варьирования в таксономическом ряду содержания большинства определявшихся соединений (табл. 1), что свидетельствовало о существенных генотипических различиях в биохимическом составе ассимилирующих органов исследуемых таксонов рододендрона. Отличительной особенностью последних являлся чрезвычайно высокий уровень накопления в листьях биофлавоноидов, при доминирующем положении в их составе восстановленных соединений – лейкоантоцианов и катехинов, а также весьма значительное содержание в них фенолкарбоновых кислот, растворимых сахаров и пектиновых веществ.

Как следует из табл. 2, в течение зимнего периода 2011/2012 гг. под действием отрицательных температур у большинства исследуемых таксонов рододендронов произошло снижение степени оводненности листовой ткани, на что указывает увеличение содержания в ней сухих веществ на 13–16 %, что, на наш взгляд, обусловлено частичным вымораживанием свободной влаги во время сильных морозов. Это сопровождалось обеднением ее свободными органическими кислотами – весьма существенным, причем сходным по относительным размерам (в пределах 42–48 %) у всех вечнозеленых видов и менее значительным (не более чем на 9 %) у полувечнозеленого *Rh. dauricum*, обусловленным расходом значительной их части на синтез ряда органических соединений, способствующих поддержанию жизненных функций растений в отсутствие фотосинтеза в холодное время года.

Наряду со снижением в течение зимы содержания в листовой ткани свободных органических кислот наблюдалось весьма значительное обеднение ее углеводами, главным образом пектиновыми веществами, общее содержание которых снизилось в ней на 24–48 %, в том числе гидропектина на 33–55 % и протопектина на 22–48 %, причем наиболее выразительно данное снижение проявилось у *Rh. catawbiense*. Тем не менее даже при столь заметном расходе данных соединений в холодный период года их запасы оказались вполне достаточны для поддержания в условиях температурного стресса клеточной структуры листьев за счет удерживания в них воды, на что указывает весьма высокое остаточное содержание данных соединений в их сухой массе даже после перезимовки растений, составившее 6,2–7,2 % (см. табл. 1).

Что касается растворимых сахаров, то картина изменений их количества в течение зимы была не столь однозначной, как у пектиновых веществ. Так, обеднение ими листовой ткани оказалось менее выразительным, чем у последних (в пределах 5–21 %), и наблюдалось лишь у трех таксонов рододендрона, в отличие от которых у *Rh. catawbiense* и особенно у полувечнозеленого *Rh. dauricum*, напротив, происходило обогащение ее этими высокоэнергетическими углеводами соответственно на 28 и 75 %, коррелировавшее с увеличением в ней общего содержания биофлавоноидов на 54 и 29 %.

Объяснение этому явлению следует искать в активизации в зимующих органах растений биосинтеза вторичных метаболитов (преимущественно антоциановых пигментов, флавонов и флавонолов), выполняющих в условиях холодного стресса защитную роль и накапливающихся в конъюгированной форме в виде гликозидов и эфиров с сахарами [14, 15]. Возвращаясь к табл. 2, нетрудно убедиться в том, что именно у *Rh. dauricum* и *Rh. catawbiense* в зимний период произошло наиболее существенное в таксономическом ряду обогащение листовой ткани антоциановыми пигментами, представленными исключительно лейкоформами и флавонолами (соответственно на 71–107 и 80–93 %), обусловившее необходимость в дополнительном привлечении растворимых сахаров для перевода их агликонов в гликозидную форму. Активизация накопле-

Т а б л и ц а 1. Количественные характеристики биохимического состава ассимилирующих органов вечнозеленых видов *Rhododendron L.* до и после перезимовки (в сухом веществе)

Показатель	<i>Rh. dauricum</i>	<i>Rh. catawbiense</i>	<i>Rh. smitrowii</i>	<i>Rh. brachycarpum</i>	<i>Rh. fortunei</i>
<i>Осень 2011 г.</i>					
Сухие вещества, %	39,7±0,7	46,3±0,4	44,3±0,4	43,2±0,2	40,7±0,1
Свободные органические кислоты, %	3,80±0,05	3,40±0,04	3,26±0,04	3,60±0,03	3,32±0,05
Аскорбиновая кислота, мг%	269,0±1,5	257,9±0,9	153,6±1,9	308,3±2,0	287,2±3,7
Фенолкарбоновые кислоты, мг%	2408,3±30,0	1316,7±36,3	575,0±14,4	458,3±22,0	1166,7±22,0
Сумма растворимых сахаров, %	8,0±0,5	14,5±0,5	19,8±0,3	14,8±0,7	16,7±0,3
Гидропектин, %	0,9±0,02	1,1±0,02	1,1±0,02	1,1±0,02	1,1±0,02
Протопектин, %	9,3±0,1	10,8±0,2	7,9±0,1	8,6±0,1	8,3±0,2
Сумма пектиновых веществ, %	10,2±0,1	11,9±0,2	9,0±0,1	9,7±0,1	9,4±0,2
Сумма антоциановых пигментов, мг%	4034,3±40,1	6142,5±105,1	11420,5±157,6	9524,7±132,2	7280,0±157,6
Катехины, мг%	8220,3±184,5	10525,7±160,5	11648,0±189,4	15834,0±91,0	14772,3±30,3
Флавонолы, мг%	4241,1±66,2	3209,5±66,2	3897,3±74,6	2506,5±15,3	2048,0±53,5
Сумма биофлавоноидов, мг%	16495,8±92,7	19877,7±212,8	26965,8±72,7	27865,1±215,0	24100,3±139,1
<i>Весна 2012 г.</i>					
Сухие вещества, %	45,0±0,3	46,2±0,5	51,3±0,1	50,0±0,1	46,7±0,6
Свободные органические кислоты, %	3,45±0,03	1,91±0,03	1,74±0,02	2,10±0,02	1,74±0,02
Аскорбиновая кислота, мг%	285,9±4,4	294,9±1,9	236,2±1,7	364,8±3,2	289,3±2,9
Фенолкарбоновые кислоты, мг%	3483,3±22,0	1375,0±14,4	1191,7±22,0	808,3±16,7	1358,3±50,7
Сумма растворимых сахаров, %	14,0±0,1	18,5±0,5	17,3±0,3	14,0±0,5	13,2±0,1
Гидропектин, %	0,6±0,01	0,6±0,01	0,5±0,01	0,6±0,01	0,6±0,01
Протопектин, %	6,6±0,03	5,6±0,08	5,7±0,05	6,2±0,05	6,5±0,03
Сумма пектиновых веществ, %	7,2±0,02	6,2±0,08	6,2±0,06	6,8±0,06	7,1±0,04
Сумма антоциановых пигментов, мг%	6885,7±80,3	12709,7±60,7	11011,0±52,5	8614,7±109,4	8281,0±105,1
Катехины, мг%	6734,0±52,5	11678,3±160,5	11223,3±109,4	12467,0±91,0	8690,5±26,3
Флавонолы, мг%	7641,7±76,4	6189,8±132,4	3897,3±132,4	5731,3±132,4	4202,9±76,4
Сумма биофлавоноидов, мг%	21261,3±160,1	30577,8±206,1	26131,6±239,1	26812,9±175,2	21174,4±169,5

Т а б л и ц а 2. Степень трансформации биохимического состава листьев вечнозеленых видов *Rhododendron L.* в процессе зимовки, % (2012/2011)

Таксон	Сухие вещества	Свободные органические кислоты	Аскорбиновая кислота	Фенолкарбоновые кислоты	Растворимые сахара	Гидропектин
<i>Rh. dauricum</i>	+13,4	-9,2	+6,3	+44,6	+75,0	-33,3
<i>Rh. catawbiense</i>	—	-43,8	+14,3	—	+27,6	-45,5
<i>Rh. smirnowii</i>	+15,8	-46,6	+53,8	+107,2	-12,6	-54,5
<i>Rh. brachycarpum</i>	+15,7	-41,7	+18,3	+76,4	-5,4	-45,4
<i>Rh. fortunei</i>	+14,7	-47,6	—	+16,4	-21,0	-45,5
Таксон	Протопектин	Сумма пектинов	Антоциановые пигменты	Катехины	Флавонолы	Сумма биофлавоноидов
<i>Rh. dauricum</i>	-29,0	-29,4	+70,7	-18,1	+80,2	+28,9
<i>Rh. catawbiense</i>	-48,1	-47,9	+106,9	+11,0	+92,9	+53,8
<i>Rh. smirnowii</i>	-27,8	-31,1	—	—	—	—
<i>Rh. brachycarpum</i>	-27,9	-29,9	-9,6	-21,3	+128,7	—
<i>Rh. fortunei</i>	-21,7	-24,5	+13,8	-41,2	+105,2	-12,1

П р и м е ч а н и е. Прочерк означает отсутствие статистически значимых по t-критерию Стьюдента межсезонных различий при $p < 0,05$.

ния в зимующих листьях вечнозеленых рододендронов антоциановых пигментов обусловлена особой физиологической ролью данных соединений. Общеизвестно, что при экстремальных условиях в растении срабатывает ряд защитных механизмов, одним из которых является активизация дыхательного процесса, в котором последние принимают непосредственное участие в качестве переносчиков электронов от дыхательного материала (жиров, сахаров и др.) на кислород воздуха [16]. На наш взгляд, в условиях низких температур в целях получения дополнительной энергии для поддержания метаболизма у исследуемых растений возникла необходимость в ускорении переработки дыхательных субстратов, связанной с активизацией терминальных оксидаз, что обеспечивалось усилением биосинтеза антоциановых пигментов. Это положение согласуется с показанным выше существенным снижением в перезимовавших листьях содержания органических кислот, пектиновых веществ, а у большинства таксонов также растворимых сахаров.

Результатом существенного пополнения фондов антоциановых пигментов и флавонолов в листовой ткани *Rh. dauricum* и *Rh. catawbiense* и явилось показанное выше увеличение в ней общего количества биофлавоноидов. Вместе с тем в зимующих листьях остальных вечнозеленых видов не было выявлено сколь-либо заметной активизации накопления антоциановых пигментов. Более того, у *Rh. brachycarpum* наблюдалось даже незначительное (в пределах 10 %) снижение их содержания. При этом для данного вида, как, впрочем, и для *Rh. fortunei*, было показано наиболее существенное в таксономическом ряду обогащение листьев флавонолами (соответственно на 129 и 105 %), что, по-видимому, являлось у них альтернативным способом противостояния холодному стрессу.

Своеобразное исключение из этого ряда – *Rh. smirnowii*, у которого в течение зимы не было выявлено сколь-либо выраженных изменений в биофлавоноидном комплексе листьев и для которого, очевидно, были характерны иные защитные механизмы существования при неблагоприятных факторах среды. Скорее всего, в этом качестве выступали другие метаболиты вторичной природы, в частности аскорбиновая и фенолкарбоновые кислоты, отмеченные существенной активизацией биосинтеза в зимний период в листовой ткани большинства вечнозеленых видов, и именно для *Rh. smirnowii* было показано наиболее значительное усиление их накопления (соответственно на 54 и 107 % против 6–18 и 16–76 % у остальных таксонов, см. табл. 2). Это согласуется с распространенным мнением о том, что наряду с биофлавоноидами защитную функцию при воздействии стрессовых факторов могут выполнять также связанные фенолокислоты, присутствующие в растениях в виде гликозидов и эфиров с сахарами и органическими кислотами (хинной и шикимовой).

Вместе с тем наряду с преимущественной активизацией накопления в зимующих листьях вечнозеленых рододендронов антоциановых пигментов и флавонолов у ряда таксонов имело место снижение содержания в них катехинов на 18–41 % (см. табл. 2). Очевидно, отрицательные температуры воздуха в зимний период года способствовали окислительным превращениям наиболее восстановленных полифенолов – катехинов с образованием близких им по химической природе лейкоантоцианов и более окисленных соединений – флавонолов. При этом наиболее выразительный характер данных превращений установлен в зимующих листьях *Rh. brachycarpum* и особенно *Rh. fortunei*. Подобное явление нами было отмечено ранее в аналогичных исследованиях с клюквой крупноплодной [17], что наводит на мысль об общности приспособительных реакций у разных представителей сем. Ericaceae при воздействии холодового стресса.

Вместе с тем, несмотря на весьма незначительный объем выборки вечнозеленых рододендронов, ограниченный лишь 5 видами, нельзя не обратить внимание на выраженную видоспецифичность характера и степени проявления доминирующих тенденций в трансформации биохимического состава их ассимилирующих органов в процессе перезимовки, указывающую на существование у них альтернативных приспособительных механизмов к воздействию отрицательных температур.

Заключение. В результате сравнительного исследования степени трансформации биохимического состава ассимилирующих органов 5 видов *Rhododendron* L. – полувечнозеленого *Rh. dauricum* L. и 4 вечнозеленых – *Rh. catawbiense* Michx., *Rh. brachycarpum* D. Don, *Rh. smirnowii* Trautv. и *Rh. fortunei* Lindl. при отсутствии фотосинтеза в зимний период 2011–2012 гг. было установлено снижение в них запасов влаги, свободных органических кислот, пектиновых веществ, а у ряда таксонов также растворимых сахаров и катехинов, сопровождаемое активизацией накопления аскорбиновой и связанных фенолкарбоновых кислот, гликозидированных антоцианов и флавонолов. Выявлена выраженная видоспецифичность состава вторичных метаболитов, выполняющих защитную функцию при холодовом стрессе, обеспечиваемую у *Rh. dauricum* и *Rh. catawbiense* преимущественно антоциановыми пигментами и флавонолами, у *Rh. brachycarpum* и *Rh. fortunei* в основном флавонолами, тогда как у *Rh. smirnowii* главным образом фенолкарбоновыми и отчасти аскорбиновой кислотами. Установлено, что окислительные превращения катехинов с образованием лейкоантоцианов и флавонолов в зимующих листьях растений имеют общий для представителей сем. Ericaceae характер.

Литература

1. Александрова М. С. Рододендрон. М., 1989.
2. Кондратович Р. Я. Рододендроны в Латвийской ССР. Рига, 1981.
3. Рупасова Ж. А., Кутас Е. Н., Злотников А. К. и др. Влияние способов размножения на химический состав листьев рододендрона (*Rhododendron* L.) // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2000. № 3. С. 11–16.
4. ГОСТ 8756.2-82. Методы определения сухих веществ. М., 1982.
5. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. М., 1987.
6. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М., 1985. С. 110–112.
7. Swain T., Hillis W. // J.Sci. Food Agric. 1959. Vol. 10, № 1. P. 63–68.
8. Скорикина Ю. Г., Шафтан Э. А. // Тр. 3 Всесоюз. семинара по биологически активным (лечебным) веществам плодов и ягод. Свердловск, 1968. С. 451–461.
9. Шнайман Л. О., Афанасьева В. С. // 9-й Менделеевский съезд по общ. и прикл. химии: реф. докл. и сообщ. М., 1965. № 8. С. 79–80.
10. Саратуу Л. П., Мийдла Х. // Уч. зап. Тарт. Гос. ун-та. 1971. Вып. 256. С. 111–113.
11. Запрометов М. Н. Биохимия катехинов. М., 1964.
12. Мжаванадзе В. В., Таргамдзе И. Л., Драник Л. И. // Сообщ. АН Груз. ССР. 1971. Т. 63. Вып. 1. С. 205–210.
13. Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов // Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М., 1973.
14. Вольнец А. П. // Метаболизм и механизм действия фитогормонов. Иркутск, 1979. С. 104–107.
15. Соловченко А. Е., Мерзляк М. Н., Чивкунова О. Б. // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. М., 2010. С. 205–217.
16. Карабанов И. А. Флавоноиды в мире растений. Мн., 1981.
17. Рупасова Ж. А., Игнатенко В. А., Русаленко В. Г., Рудаковская Р. Н. Развитие и метаболизм клюквы крупноплодной в Белорусском Полесье. Мн., 1989.

J. A. RUPASOVA, I. K. VOLODKO, A. P. VOLYNETS, L. V. GONCHAROVA

**TRANSFORMATION OF THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF ASSIMILATING ORGANS EVERGREEN
RHODODENDRON IN THE WINTER PERIOD IN BELARUS**

Summary

The results of a comparative study of the degree of transformation of the biochemical composition of assimilatory organs of five evergreen *Rhododendron* L. in the absence of photosynthesis in winter, showing a decline in their stocks of water-free organic acids, pectins, soluble sugars and catechins, followed by activation of the accumulation of ascorbic and phenol carbonic acids, and anthocyanin pigments and flavonols are presented. Pronounced species-specific composition of secondary metabolites that perform a protective function during cold stress afforded in *Rh. dauricum* and *Rh. catawbiense* mainly anthocyanin pigments and flavonols, in *Rh. brachycarpum* and *Rh. fortunei* Lindl mainly flavonols, whereas in *Rh. smirnowii* mainly phenolcarbonate and partly ascorbate are revealed. It is established that the oxidative conversion of catechins to form leucoanthocyanins and flavonols in leaves of overwintering plants have overall to representatives of the family Ericaceae character.