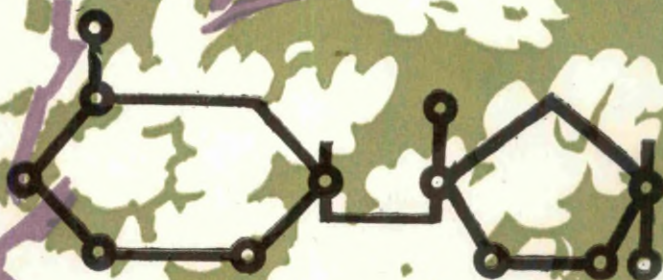


Per. A-1169

-25



ТРУДЫ  
ПО ФИЗИОЛОГИИ И  
БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ



TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED  
УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ  
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

ALUSTATUD 1893. a.

VIHK 256 ВЫПУСК

ОСНОВАНЫ В 1893 г.

TAIMEFÜSIOLOOGIA- JA  
TAIMEBIOKEEMIA-ALASEID TÖID  
ТРУДЫ ПО ФИЗИОЛОГИИ И  
БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ

III

FENOOLSED ÜHENDID ÕUNAPUUS  
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЯБЛОНИ



ТАРТУ 1970

Per. A-1169  
-256

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED  
УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ  
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА  
TRANSACTIONS OF THE TARTU STATE UNIVERSITY

ALUSTATUD 1893. a.

VIHK 256 ВЫПУСК

ОСНОВАНЫ В 1893 г.

---

**TAIMEFÜSIOLOOGIA- JA  
TAIMEBIOKEEMIA-ALASEID TÖID  
ТРУДЫ ПО ФИЗИОЛОГИИ И  
БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ**

**III**

**FENOOLSED ÜHENDID ÕUNAPUUS  
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЯБЛОНИ**

Тарту 1970

Редакционная коллегия:

Х. Мийдла, Л. Сарапуу (ответственный редактор).

D,

**Tartu Riikliku Olikooli  
Raamatukogu**

58173

1

## ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЯБЛОНИ

Л. Сарапуу, Х. Мийдла

Разнообразные фенольные соединения широко распространены в древесных растениях, в том числе и в яблоне.

Моноциклические фенольные соединения содержатся в яблоне главным образом в связанном виде. Свободный флороглюцин и *n*-оксibenзоат встречаются только в опавших листьях (1). В древесине яблони содержатся как в свободном, так и в связанном виде ванилин и сиреневый альдегид, а в коре, кроме них, содержится еще и *n*-оксibenзальдегид и соответствующие кислоты (2).

Фенилпропаноиды представлены в тканях яблони в основном в виде коричных кислот — из них в яблоне обнаружены в свободном виде *n*-кумарат, кофейнат, ферулат (3, 4) и флоретинат. Из коричных кислот в тканях яблони по количеству преобладает флоретинат (5, 6). Кофейнат образуется преимущественно при распаде хлорогената, который всегда встречается в тканях яблони (3, 7). В тканях яблони и молодых яблоках содержится также *n*-кумарат (3, 8).

В листьях яблони обнаружены *n*-кумарилглюкоза и циннамоилглюкоза (3) и *n*-кумарилхинная кислота (9). В дисках листьев *Malus* C<sup>14</sup>-коричная кислота превращается в несколько радиоактивных эфиров, включая циннамоилглюкозу, *n*-кумарилглюкозу, *n*-кумарилхинат и хлорогенат (3).

Из фенольных соединений в тканях яблони широко распространены различные полициклические флавоноидные соединения, которые встречаются при нормальном обмене веществ в виде глюкозидов.

По количественному содержанию основным фенольным соединением яблони является флоридзин, который был впервые выделен Конинком из корней яблони уже в 1835 году. Флоридзин содержится в корнях, побегах, листьях и семенах яблони (1, 3, 10—15). В коре и древесине побегов и корней старых деревьев флоридзина содержится больше, чем у молодых деревьев яблони (16). В старых листьях яблони обнаружен также флоретин (8).

Флоридзин содержится в тканях большинства видов *Malus*, за исключением двух видов, а именно: в *M. trilobata*, происхождения из Северной Америки, вместо флоретин-2'-глюкозида содержится флоретин-4'-глюкозид, а в яблонях из Восточной Азии, принадлежащих к ряду *M. Sieboldiana*, флоридзин почти всецело замещается 3-ОН-флоридзином (сиболдин) (8).

Флоридзин в природе мало распространен и является в основном специфическим соединением для яблони.

Интенсивный синтез флоридзина происходит в молодых листьях яблони, причем на свету интенсивнее, чем в темноте (13). Существенное влияние на накопление флоридзина в яблоне оказывают условия минерального питания. Особенно возрастает количество флоридзина при недостатке азота (13). Недостаток азота обуславливает уменьшение биосинтеза аминокислот, в результате чего углеводы превращаются в флоридзин (17).

Метаболизм флоридзина в яблоне пока весьма мало изучен. Известно, что кольцо В и С<sub>3</sub>-фрагмент флоридзина синтезируются из фенилаланина, а кольцо А — из ацетатных единиц (3, 13). С помощью метода меченых атомов установлено (18), что флоридзин синтезируется непосредственно из тетраоксисалконглюкозида. Под действием β-глюкозидазы флоридзин деглюкозидируется в флоретин. Соответствующий фермент из яблони имеет весьма высокую специфичность по отношению к флоридзину (19). Расщепление флоридзина на флоретиновую кислоту отмечалось нами в 1964 году (5). Гроховска (20) подчеркивает значение ферментативного распада флоридзина в процессах роста и лигнификации.

Флоридзин приурочен к тканям с активной жизнедеятельностью (10, 13). Этот факт указывает на существенное физиологическое значение данного вещества в яблоне. По данным ряда авторов (1, 14) флоридзин и флоретин оказывают на рост колеоптилей в биотестах ингибирующее действие.

Сургучева и др. (21) сравнивали действие флоридзина на рост колеоптилей пшеницы и на рост стратифицированных семян яблони. Оказалось, что флоридзин ингибирует рост колеоптилей пшеницы. Однако, на рост гипокотилей яблони, в которой флоридзин является нативным соединением, флоридзин в концентрации  $10^{-4}$  М оказывает сильное стимулирующее действие. Действие флоридзина на рост в длину зародышевого корня проростков яблони при всех концентрациях было ингибирующим. Авторы приследили еще действие флоридзина на образование боковых корней. Последний процесс связан с делением клеток перицикла зародышевого корня и возникновением меристематических очагов. Опыты показали, что флоридзин в концентрациях  $10^{-7}$  М сильно стимулировал образование вторичных корешков. Таким образом, флоридзин при испытании на специфических биопробах не всегда ведет себя как ингибитор роста.

Нагао и Охваки (22), сравнивая действие 2,4-динитрофенола и флоридзина, предполагают, что флоридзин действует подобно 2,4-динитрофенолу, разобщая окислительное фосфорилирование от дыхания. По данным Стенлида (23, 24) оказывается, что флоридзин и близкие к нему флавоноиды ингибируют окислительное фосфорилирование. Изотопным методом показано значительное ингибирование под действием флоридзина процесса включения фосфора в фосфорорганические соединения (25). Флоридзин подавляет также распад крахмала и других полисахаридов (13).

Некоторые исследователи (26, 27) считают, что флоридзин является запасным веществом, который в начале вегетации используется в ростовых процессах.

Флоридзин является активатором ИУК-оксидазы (23, 24) и значительно ослабляет стимулирующее действие ИУК (14). Активатором ИУК-оксидазы является также продукт распада флоридзина — флоретинат (20).

Флоридзин, выделяющийся из корней яблони в почву, и его продукты распада из-за сильного ингибирующего влияния являются губительными прежде всего для роста молодых корней видов *Malus*, вызывая в плодопитомниках и плодовых садах почвоутомление (1, 28, 29).

Для яблони характерно весьма высокое содержание флавоногликозидов. В листьях яблони обнаружены кверцетин- и кемпферолгликозиды, содержащие остатки следующих сахаров: галактоза, глюкоза, рамноза, арабиноза, рутиноза и ксилоза. Кверцетингликозиды содержатся во всех тканях яблони. В коре побегов основным является кверцетин-3-арабинозид (авикулярин), а в листьях — кверцетин-3-галактозид (гиперин) (7). В литературе есть также указания (30), что кемпферолгликозиды в тканях яблони отсутствуют.

Свободный кверцетин в коре побегов яблони отсутствует, хотя может встречаться в старых листьях (8). Флоретинарабиногликозид найден лишь в коре побегов яблони (7). В тканях яблони обнаружено присутствие нарингенина и его глюкозида (31, 32).

Из катехинов в яблоне найдены эпикатехин и катехин (4, 7, 33), а из лейкоантоцианов, образующих при восстановлении цианидин, — лейкоцианидин (34). Из антоцианов в яблоне содержится цианидин-3-галактозид (цианин).

Фенольные соединения содержатся во всех тканях яблони. Наиболее богатый набор различных фенольных соединений наблюдается в листьях, являющихся органами с наивысшей активностью жизнедеятельности. Их меньше в коре побегов. Еще меньше фенольных соединений в древесине побегов, и наиболее бедный состав фенольных соединений отмечается в корнях, однако некоторые из них (флоридзин) могут здесь накапливаться в больших количествах.

Основное фенольное соединение яблоки — флоридзин — не обнаружено в спелых яблоках, однако оно содержится в незначительных количествах в семенах яблок (7, 15).

Для яблок весьма характерен богатый набор содержания различных производных коричной кислоты. Из оксикоричных кислот в яблоках встречаются *n*-кумаровая, кофейная и феруловая кислоты. Сама коричная кислота в яблоках пока не найдена, однако предполагается, что она встречается в виде следов, так как является промежуточным продуктом возникновения оксикоричных кислот и флавоноидов из фенилаланина. Оксикоричные кислоты встречаются в виде более стабильной транс-формы (30).

Оксикоричные кислоты содержатся в яблоках также в виде связанных соединений. Так, *n*-кумаровая и кофейная кислоты выделены в виде депсидов с хинной кислотой. В яблочном соке обнаружено восемь депсидов, из которых четыре являются изомерами *n*-кумарилхинной, а остальные — изомерами хлорогеновой (нео-, изохлорогеновой и др.) кислоты. Предполагается, что в яблоках содержатся также ди- и тридепсиды (9, 35). Оксикоричные кислоты встречаются в яблоках также в виде гликозидов и эфиров (30). По содержанию основным фенольным соединением яблок является хлорогеновая кислота, которая в листьях и коре побегов яблоки содержится в небольшом количестве (7).

Желтый цвет кожицы яблок обуславливается в основном следующими кверцетингликозидами: кверцетин-3-галактозид (гиперин), кверцетин-3-арабинозид, кверцетин-3-глюкозид (изокверцитрин), кверцетин-3-рамнозид (кверцитрин) и кверцетин-3-ксилозид (36). Основным кверцетин-глюкозидом в яблоках является гиперин (7). Кемпферолгликозиды в яблоках отсутствуют (30).

Красный цвет кожицы яблок обуславливается содержанием цианидин-3-галактозида (цианин). Другие антоцианы в яблоках не найдены. Однако в яблоках содержится еще не менее четырех лейкоантоцианов, которые под действием кислоты переходят в цианин. Такой переход лейкоантоцианов не обнаруживается в условиях *in vivo* (37).

В кислых яблоках, кроме хлорогеновой кислоты и лейкоантоцианов, обнаружено большое количество катехина и эпикатехина. По содержанию преобладает эпикатехин (7).

Из вышеприведенного выясняется, что в яблоне содержится много различных фенольных соединений и некоторые из них (флоридзин и кверцетингликозиды — в вегетативных органах, хлорогеновая кислота — в яблоках) накапливаются в довольно больших количествах.

Целью исследований, результаты которых излагаются в настоящем сборнике, ставилось изучить:

1) метаболизм и физиологическое значение флоридзина в тканях яблоки;

2) действие минерального питания и водного режима на процесс лигнификации у побегов яблони;

3) состав флавоноидных гликозидов в тканях яблони.

Количественные определения проводили с теми фенольными соединениями, которые приведены в таблице. Для определения изучаемых соединений использовали: 1) хроматографическое разделение, в основном, спиртовых экстрактов и 2) спектрофотометрическое определение оптической плотности. Содержание веществ вычисляли с помощью молярных экстинкционных коэффициентов по следующей формуле:

$$C_{\text{мг/г}} = \frac{D \cdot M \cdot d}{\epsilon \cdot l}, \text{ где}$$

$C$  — содержание изучаемого фенольного соединения,  $D$  — оптическая плотность исследуемого раствора при определенной длине волны,  $\epsilon$  — молярный экстинкционный коэффициент чистого реактива,  $d$  — разведение пробы,  $l$  — толщина кюветы, см.

#### Оптические свойства изучаемых соединений

Соединение	M	$\lambda_{\text{макс.}}$	$\epsilon$	$\lg \epsilon$
$C_6 C_1$ -соединения				
* Ванилин	152	280	8 000	3.90
* Сиреневый альдегид	182	305	11 500	4.06
$C_6 C_3$ -соединения				
* Циннамат	148.15	273	18.821	4.27
* Флоретинат	166.15	277	1 211	3.08
* п-Кумарат	164.15	290	16 382	4.21
$C_3 C_6 C_6$ -соединения				
* Флоридзин	472.44	283	15 470	4.19
* Кверцитрин	448.37	260	22 390	4.35
* Гиперин	464.38	258	23 990	4.38
** Рутин	610.56	258	22 390	4.35
* Хлорогенат	354.32	325	18 490	4.27

\* Определены в лаборатории биохимии растений ТГУ

\*\* По Гейссману (39)

#### ЛИТЕРАТУРА

1. В ö r n e r, H. Beitr. Biol. Pflanz. 1961, 36, 97.
2. M i i d l a, H. Flora A, 1967, 158, 1, 119, 1167.
3. A y a d h a n i, P., Towers, G. H. Canad. J. Bioch. and Physiol., 1961, 39, 10, 1605.
4. T o m a s z e w s k i, M. Tagungsberichte 35, Physiologische Probleme im Obstbau, Berlin, 1962, 9.
5. С а р а н у, Л. Физиол. раст., 1964, 11, 4, 607.
6. G r o c h o w s k a, M. J. Bull Acad. Polon. Sér. sci, biol., 1967, 15, 8, 455.
7. W i l l i a m s, A. H. Phenolics in Plants in Health and Disease. Proceeding of Plant Phenolics Groups-Symposium, Bristol, 1959.

8. Henke, O. *Flora*, 1963, **153**, 2, 358.
9. Cartwright, R. A., Roberts, E. A., Flood, A. E., Williams, A. A. *Chem. a. Ind.*, 1955, 1062.
10. Harvey, E. M. *Plant Physiol.*, 1929, **4**, 357.
11. Luckwill, L. C. *Hortic. Sci.*, 1957, **32**, 1, 18.
12. Börner, H. *Naturwissenschaften*, 1958, **45**, 6, 138.
13. Hutchinson, A., Taper, C. D., Towers, G. H. N. *Canad. J. Biochem. and Physiol.*, 1959, **37**, 7, 901.
14. Hancock, C. R., Barlow, H. W. B., Lacey, H. J. *J. Exptl. Bot.*, 1961, **12**, 36, 401.
15. Barnes, E. H., Williams, E. B. *Canad. J. Microbiol.*, 1961, **39**, 10, 1605.
16. Мороз, А. П. Аллелопатическая роль опавших листьев и корневых остатков яблони и персика. Автореферат канд. дисс., Киев, 1968.
17. Virtanen, A. I., Oland, K. *Acta Chem. Scand.*, 1954, **8**, 864.
18. Grisebach, H., Patchke, L. *Z. Naturforsch.*, 1962, **17b**, 12, 857.
19. Lewak, S., Podstolski, A. *Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. sci biol.*, 1966, **14**, 2, 103.
20. Grochowska, M. *J. Plant Physiol.*, 1966, **41**, 3, 432.
21. Сургучева, М. П., Острейко, С. А., Тюринна, М. М. В сб.: Фенольные соединения и их биологические функции. Изд-во «Наука», М., 1968, 265.
22. Nagaо, M., Ohwaki J. *Sci. Repts Tohoku Univ.*, 1955, **21**, 96.
23. Stenlid, G. *Physiol. plantarum*, 1963, **16**, 1, 110.
24. Stenlid, G. *Physiol. plantarum*, 1968, **21**, 882.
25. Weigel, J. *Naturwissenschaften*, 1964, **51**, 14, 340.
26. Priestly, C. A. *Resp. E. Malling Res. Stat. for*, 1959, 1960, 70.
27. Сарануу, Л. П. *Физиол. раст.*, 1955, **12**, 1, 134.
28. Мийдла, Х. И. *Агрохимия*, 1965, 9, 109.
29. Берестетский, О. А., Мороз, П. А. *Агрохимия*, 1968, 6, 66.
30. Monties, B. *Annales de Physiologie végétale*, 1966, **8**, 1, 49.
31. Eigen, E., Beits, M., Gunsberg, E. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 1957, **68**, 501.
32. Henke, O., Schmidt, S. *Flora*, 1964, **156 A**, 1, 33.
33. Bradfield, A. E., Flood, A. E. *Ann Rept., East Malling Research Kent.*, 1949, 100.
34. Lewak, S., Pliszka, B., Eichelberger, E. *Acta Soc. bot. Polon.*, 1967, **36**, 2, 251.
35. Hulme, A. C. *Biochem. J.*, 1953, **53**, 337.
36. Siegelman, H. W. *J. Biol. Chem.*, 1955, 213, 647.
37. Faust, M. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1964, **85**, 85.
38. Ito, S., Joslyn, M. A. *J. Food Science*, 1965, **30**, 44.
39. Гейссман, Г. В кн.: Биохимические методы анализа. Изд-во ин. лит. М., 1960, 506.

## ОКИСЛЕНИЕ И ДИНАМИКА ФЛОРИДЗИНА В ПОБЕГЕ ЯБЛОНИ

Э. Хейнару и Л. Сарануу

Биосинтез фенольных соединений происходит во всех клетках тканей и не сосредоточен в каком-нибудь определенном органе яблони (1). Однако активность метаболизма фенольных соединений в отдельных частях растений различна. Так, наличие флоридзина свойственно для тканей с активной жизнедеятельностью (2). Его биосинтез совершается активно в молодых листьях (3). Следует отметить, что повышение уровня содержания флавоноидных соединений происходит в связи с прекращением роста (4).

При биосинтезе фенольных соединений из ароматических аминокислот ключевыми ферментами являются фенилаланин-аммиак-лиаза и тирозин-аммиак-лиаза. Хигучи (5) наблюдал резко выраженное возрастание активности этих ферментов во время лигнификации побегов бамбука и установил, что активность этих ферментов пропорциональна активности лигнификации побегов. Содержание производных коричных кислот находится также в зависимости от активности фенилаланин-аммиак-лиазы и тирозин-аммиак-лиазы.

Сезонная динамика флоридзина и флавонолов, а также происходящие в них изменения в связи с распусканием почек весной, приводятся на стр. 87 и 80. В настоящей статье излагаются данные активности окисления флоридзина при аэробном автолизе тканей, а также данные о динамике флоридзина и флавонолов в связи с вызреванием побега яблони.

### Методика

Пробы для анализов (побеги, листья, кора) брали в начале и в период активного роста, а также осенью после прекращения ростовых процессов. При определении динамики флоридзина в связи с вызреванием побегов последние разделяли на три части:

1) растущая неодревесневшая верхняя часть; 2) более одревесневшая средняя часть и 3) сильно одревесневшее основание.

При определении активности автолиза флоридзина (листья, кора) пробы у контрольных вариантов фиксировали горячим этанолом, а у опытных вариантов измельченный материал оставляли перед фиксированием на 60 мин. на воздухе при комнатной температуре. Данные в таблицах 1 и 2 показывают, что основные изменения флоридзина при автолизе происходят именно в течение 60 мин. В это время происходит частичное окисление флоридзина, которое зависит от ферментативной активности соответствующей ткани.

Хроматографирование спиртовых экстрактов и определение флоридзина, флавонолов (суммарное содержание кверцитрина, гиперина и рутина) и коричневых продуктов окисления флоридзина проводили по методике, описанной в настоящем сборнике на стр. 14.

### Результаты исследования

Динамика изменения флоридзина во время автолиза листьев и коры яблони приводится в таблице 1.

Таблица 1

Динамика окисления флоридзина (в мг/г сырого веса) при автолизе листьев и коры

Экспозиция в мин.	1. 06	28. 06		13. 09	
	Листья	Листья	Кора	Листья	Кора
0	24,60±0,83	27,40±0,02	45,60±0,02	33,18±0,05	49,10±0,43
30	12,43±0,43	16,90±0,02	41,80±0,20	21,61	46,10±0,59
60	6,21±0,05	8,63±0,02	41,09±0,09	5,49	40,40±0,21
120	—	5,15±0,01	31,50±0,31	3,40	33,00±0,21
180	—	4,77±0,01	33,70±0,06	4,07	29,30±0,43

Из приведенных в таблице данных выясняется, что флоридзин является весьма лабильным соединением и в тканях под действием оксидаз (при аэробных условиях) быстро окисляется в коричневые продукты. Основные изменения в количестве флоридзина происходят в течение первого часа автолиза. При этом в автолизате листьев флоридзин окисляется быстрее, чем в автолизате коры. С наступлением осени активность распада флоридзина повышается. При прибавлении к автолизату тиомочевины (1 г на 100 г ткани) окисление флоридзина подавляется.

В автолизатах (листьев, коры) при снижении в них содержания флоридзина одновременно появляются и коричневые продукты его окисления (табл. 2).

Динамика образования коричневых продуктов окисления флоридзина  
(в мг/г сырого веса)

Экспозиция в мин	1. 06	28. 06		13. 09	
	Листья	Листья	Кора	Листья	Кора
10	2,41 ± 0,06	2,47 ± 0,01	0,81 ± 0,03	1,07 ± 0,11	1,28 ± 0,13
30	9,14 ± 0,05	3,05 ± 0,03	2,04 ± 0,01	4,40 ± 0,16	1,79 ± 0,08
60	12,35 ± 0,05	5,61 ± 0,01	4,15 ± 0,01	3,64 ± 0,06	2,95 ± 0,19
120	—	4,16 ± 0,01	5,82 ± 0,01	2,58 ± 0,00	2,93 ± 0,03
180	—	4,16 ± 0,00	5,37 ± 0,08	2,48 ± 0,01	3,00 ± 0,42

Измельченные ткани при этом сильно буреют. Как показали опыты инкубации чистого флоридзина с неочищенным ферментным препаратом из тканей яблони коричневые продукты окисления образуются из флоридзина (стр. 16). Из данных таблиц 1 и 2 видим, что коричневые продукты окисления возникают быстрее всего за счет происходящего в молодых тканях листьев окисления флоридзина. В более старых листьях коричневые продукты окисления через некоторое время начинают разрушаться. В коре яблони коричневые продукты окисления образуются медленнее. Это явление объясняется более слабой активностью находящихся в ней оксидаз.

Флавонолы являются в тканях яблони более стабильными соединениями. Они при аэробном автолизе листьев и коры яблони не подвергаются дальнейшему окислению (табл. 3).

Таблица 3

Динамика флавонолов (в мг/г сырого веса) при аэробном автолизе  
листьев и коры яблони

Экспозиция в мин	1. 06	28. 06		13. 09	
	Листья	Листья	Кора	Листья	Кора
0	4,28 ± 0,06	3,12 ± 0,00	2,16 ± 0,01	6,07 ± 0,70	3,54 ± 0,13
30	5,56 ± 0,01	4,12 ± 0,04	2,36 ± 0,02	5,94 ± 0,08	3,74 ± 0,11
60	4,20 ± 0,01	3,24 ± 0,02	2,60 ± 0,22	4,90 ± 0,11	3,60 ± 0,16
120	—	4,02 ± 0,01	2,18 ± 0,01	3,38 ± 0,07	3,42 ± 0,08
180	—	3,54 ± 0,08	2,62 ± 0,07	3,84 ± 0,19	3,04 ± 0,13

При биосинтезе флавонолов последние его этапы являются окислительными реакциями. Наблюдаемое повышение уровня содержания флавонолов при аэробном автолизе листьев и коры объясняется, по-видимому, тем, что при аэробном автолизе непосредственные предшественники флавонолов окисляются до флавонолов. Активнее такой процесс происходит в пробах листьев, собранных весной.

Растущие и активно лигнифицирующиеся части побегов яблони различаются по содержанию в них флоридзина (табл. 4).

Таблица 4

Динамика флоридзина в связи с вызреванием побегов  
(мг/г сырого веса)

Часть побега	14. 06		11. 07		18. 07		26. 09	
	Листья	Кора	Листья	Кора	Листья	Кора	Листья	Кора
Верхняя	38,91	49,90	54,11	62,48	40,60	50,32	13,70	48,50
Средняя	24,12	36,22	37,44	57,41	31,87	49,80	11,32	43,91
Основание	—	—	31,27	50,02	27,97	47,04	8,69	43,40

Наиболее высокий уровень содержания флоридзина отмечается в верхней части побега. Этот вывод согласуется с литературными данными (3) о том, что синтез флоридзина происходит в молодых растущих частях яблони. При одревеснении побегов содержание флоридзина в них постепенно снижается. Такое изменение в содержании флоридзина, по-видимому, находится во взаимосвязи с использованием его при процессах лигнификации (6). Различия в содержании флоридзина в исследуемых частях побегов сохраняются и после прекращения роста побега, но в это время они выражены уже слабее.

Максимум содержания флоридзина в листьях в период вегетации отмечается после окончания формирования листового аппарата. Осенью содержание флоридзина в листьях снижается. В коре повторное повышение содержания флоридзина совершается после прекращения радиального роста.

Изменения в содержании флавонолов в связи с ростом и вызреванием побегов происходят противоположно изменениям в содержании флоридзина, а именно, со старением побегов содержание флавонолов в них, в основном, повышается (табл. 5).

Наименьшим содержанием флавонолов отличается верхняя часть побега весной. Их содержание повышается в направлении от верхушки к основанию побега, и по мере приближения осени.

При проведении некоторых опытов нам оказала помощь С. Веймер, которой авторы выражают глубокую благодарность.

Таблица 5

Динамика флавонолов в связи со старением побегов (мг/г сырого веса)

Часть побега	14. 06		11. 07		18. 07		26. 09	
	Листья	Кора	Листья	Кора	Листья	Кора	Листья	Кора
Верхняя	4,21	2,04	4,97	2,99	5,09	2,68	4,98	3,86
Средняя	4,45	2,32	4,93	2,42	5,85	2,71	5,32	3,61
Основание	—	—	5,66	3,31	5,63	3,18	5,78	3,34

## Выводы

1. При аэробном автолизе измельченных тканей яблони флоридзин подвергается быстрым изменениям — он окисляется в коричневые продукты, и ткани быстро буреют. Образование коричневых продуктов происходит одновременно со снижением содержания флоридзина в тканях.

2. Наивысшим уровнем содержания флоридзина отличается верхняя часть побега яблони. Параллельно с лигнификацией побегов совершается постепенное снижение содержания флоридзина вдоль побега — от основания к верхушке. Высокое содержание флоридзина предшествует процессам лигнификации.

3. В период вегетации максимум содержания флоридзина в побеге наблюдается летом. Осенью содержание флоридзина в листьях сильно снижается.

4. Уровень содержания флавонолов в побегах повышается от верхушки к основанию побега, начиная с весны до наступления осени.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Запрометов, М. Н. Усп. совр. биол., 1967, 63, 3, 380.
2. Harvey, E. M. Oregon Agr. Exp. Stan., Bull. 1925. 215, 23.
3. Hutchinson, A. C. D. Taper, G. H. N. Towers. Canad. J. Biochem. and Physiol., 1959. 37, 7, 901.
4. Stafford, H. A. Plant Physiol., 1965. 40, 1, 130.
5. Higuchi, T. Agric. and Biol. Chem., 1966. 30, 7, 667.
6. Мийдла, Х., Вардья, Т. Уч. зап. ТГУ, 1964, 151, 1, 124.

## OXYDATION UND DYNAMIK DES PHLORIDZINS IM APFELTRIEB

E. Heinaru und L. Sarapu

### Zusammenfassung

In apikalen, medialen und basalen Teilen des Apfeltriebes wurde die Oxydationsaktivität von Phloridzin und der Flavonole bei aerober Autolyse mittels Papierchromatographie und quantitativer Spektrofotometrie bestimmt. Zerkleinerte Blätter und die Rinde der Triebe nehmen bei Luftzutritt leicht eine braune Färbung an — die durch Autolyse bedingte Senkung des Phloridzingehaltes führt zur Bildung bräunlicher Oxydationsprodukte des Phloridzins. Bei Flavonolen wurden ähnliche Oxydationsvorgänge nicht beobachtet. Am phloridzinreichsten sind apikale Teile der Triebe. Das Sinken des Phloridzingehaltes in basaler Richtung fällt mit steigender Verholzung zusammen. Der Flavonolgehalt der Triebe steigt in basaler Richtung und findet im Herbst seinen Höhepunkt.

## ОКИСЛЕНИЕ ФЛОРИДЗИНА В ТКАНЯХ ЯБЛОНИ

Л. Сарапуу, Э. Хейнару, Т. Вардя

Содержание флоридзина в листьях и коре побегов яблони в зависимости от сортов, фазы роста побегов и времени года достигает 4—18% от сухого веса тканей. Несмотря на то, что по количеству флоридзин является у яблони основным веществом фенольного характера и обнаружен уже давно, его роль у яблони еще мало выяснена.

Издавна известно, что поврежденные ткани яблони буреют. Относительно механизма и значения этого процесса существуют различные точки зрения. Обычно считают, что механизм побурения тканей находится во взаимосвязи с действием дифенолоксидазы (1) и что возникающие при этом коричневые хиноидные соединения являются токсичными продуктами, повышающими устойчивость тканей к инфекциям (2). Механизм реакции окисления флоридзина до сих пор не был изучен, не изучены также образующиеся при этом продукты окисления. Целью настоящей работы ставилось выяснить биохимический механизм и промежуточные продукты окисления флоридзина при побурении тканей яблони.

### Методика

Для изучения окисления флоридзина использовали ферментную систему из листьев или почек яблони. Все операции проводили при низкой температуре. Предварительно замороженный жидким азотом материал (25 г) измельчали, экстрагировали холодной водой (200 мл + несколько капель 0,02 м ЭДТА), отжимали два раза через капроновую ткань и центрифугировали 5 мин при 1500 г. Для удаления мелких структурных элементов клетки и неактивных белков (весной их содержание незначительно, осенью их много) к надосадочной жидкости прибавляли ацетон до концентрации 30% и центрифугировали 10 мин при 1500 г. Из надосадочной жидкости более активные белки осаждали ацетоном (конечная концентрация 65%), центрифугировали (10 мин

при 1500 g), осадок растворяли в воде и затем повторяли осаждение 65%-ным ацетоном. Полученный неочищенный ферментный препарат, в котором при хроматографическом анализе не содержится ни флоридзина, ни продуктов реакции, суспензировали в воде, исходя из расчета 1 мл на 1 г сырого веса пробы (весной разведение необходимо увеличить). Работать с препаратом из зимних почек лучше, так как отсутствует деглюкозидирующее действие и образуется меньше побочных продуктов реакции.

В состав стандартной инкубационной смеси входили следующие компоненты: 5 мл растворов флоридзина (4 мг/мл) + 3 мл фосфатного или фосфат-цитратного буфера с рН 6,6 + 1 мл раствора ферментного препарата + 1 мл раствора изучаемого фактора (конкурирующий субстрат, ингибитор и т. д.) или воды. Инкубировали в темноте при 30°. В качестве субстрата использовали продажный образец флоридзина. Флоретин получали при кислотном гидролизе флоридзина.

Опыты проводили не менее, чем в трех повторностях. Пробы по 0,2 или 0,4 мл наносили через 1, 4, 7 и 20 часов на хроматографическую бумагу. В качестве растворителя использовали при хроматографировании смесь: н-бутанол-уксусная кислота-вода, 3 : 2 : 95 (растворитель А) и 100 : 19 : 35 (растворитель Б). Те же растворители использовали при препаративном выделении (раствор наносили на линию старта по всей длине бумаги). При определении удельного экстинкционного коэффициента продуктов окисления флоридзина (ПОФ) их перехроматографировали три раза, растворяли в метаноле и определяли оптическую плотность. Для получения препарата ПОФ их высушивали в вакууме над серной кислотой при комнатной температуре. В качестве щелочного растворителя использовали смесь изопропанол-аммиак-вода, 84 : 1 : 15 (растворитель В).

Действие фермента определяли по убыли флоридзина и по образованию ПОФ. Пятна флоридзина на хроматограммах отмечали в УФ, элюировали 48%-ным этанолом (50 мл) и элюат спектрофотометрировали при 283 нм (3). Ошибка количественного определения флоридзина при массовом анализе не превышает 2%. ПОФ отмечали на хроматограммах по изменению их окраски под действием аммиака и элюировали 25 мл аммиачной воды (1 мл 25%-ного аммиака в л). После перехода всех молекул ПОФ в хиноидную форму (30 мин.) элюаты спектрофотометрировали при  $\lambda$  455 нм. При суммарных определениях ПОФ одновременно определяли и их неокрашенных предшественников, которые в щелочной среде переходят в окрашенные ПОФ.

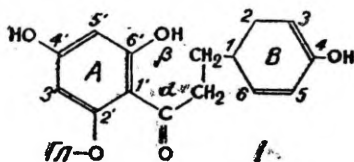
Для изучения условий взаимного перехода изомеров ПОФ, последние подвергали действию рН, нагреванию и т. д. С целью идентификации ПОФ их УФ-спектры определяли при разных условиях рН, наблюдали изменение окраски под действием аммиака при обыкновенном свете и в УФ-свете, исследовали про-

дукты ферментативного и кислотного гидролиза и т. д. Проявление хроматограмм проводили диазотированной сульфаниловой кислотой (ДАСК), раствором хлорного железа и др. реактивами. При выявлении олигомеров ПОФ использовали сефадекс LH-20. Параллельно с изучением ПОФ в опытах *in vitro* изучаемые вещества идентифицировали и в тканях яблони, и определяли их изменения в процессе побурения тканей яблони.

## Результаты исследования

### 1. Ферментативное окисление флоридзина

Исследования, проведенные с применением неочищенного ферментного препарата из яблони, показали, что из бесцветного флоридзина (2', 4', 6', 4-тетраоксидигидрохалкон-2'-глюкозид) (1) в аэробных условиях легко возникают два продукта окисления флоридзина (ПОФ). Окисление флоридзина является фер-



ментативной реакцией, так как после кипячения ферментного препарата реакции не происходит. Примерно через день флоридзин в опытах *in vitro* исчезает из инкубационной смеси, что указывает на необратимость реакции. Оптимальная концентрация флоридзина в инкубационной смеси — около 2 мг/мл. Кривая окисления флоридзина во времени является характерной для ферментативных реакций. В течение первого часа скорость реакции высокая, после этого она постепенно замедляется.

Из флоридзина образуются глюкозидные ПОФ, которые при кислотном гидролизе дают агликоны ПОФ. Соответствующие агликоны ПОФ получаются также ферментативно из флоретина. У ферментного препарата, полученного из покоящихся почек, почти не отмечается деглюкозидирующей активности. Но под действием препарата из листьев, особенно весной, параллельно с окислением флоридзина происходит и активное деглюкозидирование последнего. Под действием препарата из листьев флоридзин окисляется быстрее, чем под действием препарата из почек и коры.

Оптимум pH окисления флоридзина — 6,6. Величина pH реакции подходит для о-дифенолоксидазы, которая у высших растений находится в пределах 6—7 (4). Окисление флоридзина в инкубационной смеси сопровождается повышением суммарного содержания ПОФ (табл. 1).

## Зависимость ферментативного окисления флоридзина от pH (мкг/мл)

pH	Окисление флоридзина				Образование ПОФ			
	Экспозиция в часах							
	1	4	20	44	1	4	20	44
4,6	254	432	742	1157	173	345	524	620
5,6	291	404	988	1354	223	356	568	784
6,6	388	448	1190	1516	266	449	832	993
7,6	183	234	636	717	85	341	449	494

pH среды оказывает влияние также и на качественный состав продуктов превращения флоридзина. При оптимальной pH в индубационной смеси образуются сначала глюкозидные формы

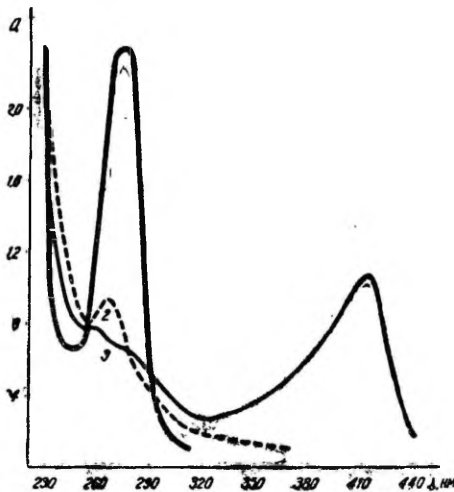


Рис. 1. Спектры поглощения возникающих из флоридзина флоретината (1), флороглюцина (2) и неизвестного ПОФ (3).

ПОФ ( $x_1$ -ПОФ,  $x_2$ -ПОФ), их предшественник (п-ПОФ), флоретинат и флороглюцин (рис. 1). В более кислой среде (pH 4,6—5,6) повышается содержание агликонов  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ. В последнем случае глюкозидные формы образуются в меньшем количестве. Прибавление в инкубационную смесь перекиси водорода вызывает возникновение новых продуктов окисления флоридзина.

Окисление флоридзина зависит также от условий аэрации инкубационных смесей. Для создания анаэробных условий из соот-

ветствующего реакционного сосуда вакуумным насосом выкачивали (несколько раз) воздух и замещали его воздухом, освобожденным от кислорода щелочным пирогаллолом. После этого соединяли фермент и субстрат. В других вариантах компоненты инкубационной смеси освобождали от газов вакуумным насосом, компоненты смешивали, реакционные сосуды наполняли доверху и закрывали пробками. Для связывания возможных следов кислорода и создания восстанавливающей силы использовали еще цистеин ( $8 \cdot 10^{-4}$  М) (табл. 2).

Таблица 2

Окисление флоридзина и возникновение п-ПОФ,  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ (мкг/мл) в зависимости от содержания кислорода среды (экспозиция 20 часов, при 30° С)

Условия опыта	Окисленный флоридзин	Возникновение		
		п-ПОФ	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ
Воздух, освобожд. от $O_2$ +цистеин	823	00	00	00
Воздух, освобожд. от $O_2$	907	00	00	00
При закрывании пробкой+цистеин	792	00	00	00
При закрывании пробкой	1029	141	49	55
Аэробные+цистеин	2525	826	1037	481
Аэробные	2647	525	834	517

Приведенные в таблице 2 данные показывают, что для образования ПОФ необходим кислород. При анаэробных условиях ПОФ не возникают. В этих условиях флоридзин используется частично для образования флоретината, флороглюцина и флоретина. Последние соединения при подавлении аэробного окисления флоридзина образуются быстрее. При наличии аэробных условий окисление флоридзина происходит активно. Цистеин в некоторой степени ингибирует окисление флоридзина. Продувание воздухом сильно ускоряет окисление флоридзина (табл. 3). Определение аппаратом Варбуга тоже показало, что реакция окисления флоридзина сопровождается поглощением кислорода. Как известно (5, 6), активность о-дифенолоксидазы индуцируется кислородом.

Таблица 3

Окисление флоридзина (мг/мл) в зависимости от аэрации

Условия опыта	Экспозиция в часах		
	1	4	7
Аэробные	0,31	0,37	0,62
Продувание воздухом	0,57	0,91	1,87

Прибавление в инкубационную среду НАД<sup>+</sup> не повышает скорости окисления флоридзина, а обесцвечивание в смеси метиленовой сини не зависит от прибавления флоридзина. Следовательно, в окислении флоридзина дегидрогеназы не принимают участия.

Приведенные данные дают основание полагать, что окисление флоридзина катализуется о-дифенол: О<sub>2</sub>-оксидоредуктазой (о-дифенолоксидаза, КФ 1.10.3.1). В литературных источниках (1) яблоня приводится как классический объект исследования о-дифенолоксидазы (о-ДФО). При использовании методики, сходной с нашей, из растительных объектов получают препарат, в котором обычно имеется о-ДФО (7).

о-ДФО оказывает действие на различные о-дифенолы. Фермент окисляет также и монофенолы. Выделенная из данного растения о-ДФО катализирует наиболее активно метаболизм фенольных соединений того же растения (8). Выяснено (9), что о-ДФО встречается в виде разных изоэнзимов; различающихся по свойствам и специфичности действия. Ингибиторами, подавляющими в основном активность о-ДФО, считаются тиомочевина, фенилтиомочевина, диэтилдитиокарбамат и др. (6).

Для о-ДФО характерна дифенолоксидазная (катехолазная) и монофенолоксидазная (крезолазная) активность. Предполагается, что обе активности свойственны одному ферменту, но за моно- и дифенолоксидазную активность отвечают самостоятельные активные центры о-ДФО. Дифенолоксидазная активность зависит от  $Cu^{2+}$ , а монофенолоксидазная — от  $Cu^{1+}$  (10). Макромолекула о-ДФО имеет сложную четвертичную структуру, состоящую из субъединиц. Рекombинация субъединиц обуславливает появление различных изоэнзимов о-ДФО, характеризующихся неодинаковой активностью по отношению к моно- и дифенолам (11). В процессе активации фермент ассоциируется (12), а диссоциация макромолекул на субъединицы приводит к инактивации фермента (13).

Если флоридзин подвергается окислению о-дифенолоксидазой, то ингибиторы этого фермента должны подавлять реакцию. Такое явление фактически имеет место (табл. 4).

Таблица 4

Воздействие тиомочевины на окисление флоридзина (мкг/мл)  
(начальная концентрация флоридзина  $5 \cdot 10^{-5}$  М)

Конц. тиомоч. в М	Флоридзин		п-ПОФ				x <sub>1</sub> -ПОФ				x <sub>2</sub> -ПОФ					
	Экспозиция в часах															
	1	5	24	48	1	5	24	48	1	5	24	48	1	5	24	48
Контр.	328	474	939	2359	55	90	379	791	14	31	151	746	14	28	99	337
10 <sup>-2</sup>	240	129	343	496	0	0	13	9	0	0	13	16	0	0	21	23
5 · 10 <sup>-3</sup>	358	267	423	942	19	31	13	116	9	15	41	128	10	18	32	108
5 · 10 <sup>-4</sup>	244	378	469	1229	31	43	84	374	23	24	57	180	17	18	37	122

Контрольная инкубационная смесь быстро приобретает желтую окраску и в конце опыта становится коричневой, тогда как интенсивность коричневой окраски в смесях с ингибитором развивается медленно. Данные показывают, что тиомочевина ингибирует окисление флоридзина, связывая  $Cu$ , содержащуюся в составе о-ДФО. Ингибирование усиливается при повышении концентрации тиомочевины. Ингибирование является одинаковым для всех ПОФ: не наблюдается действия тиомочевины на изменение соотношения ПОФ. Это показывает, что ингибируется начальное звено в реакции окисления флоридзина. При реакции возникает какой-то слабо-желтый комплекс, очевидно, ESI, который может частично превращаться обратно в флоридзин.

Если измельчить молодые листья яблони и оставить их на воздухе, то гомогенат быстро бурет и содержание флоридзина в нем резко снижается. Такой процесс происходит и при повреждении тканей яблони. При прибавлении к измельченным листьям тиомочевины (1 г на 100 г) их окраска не изменяется и коричневые продукты реакции при этом, не образуются (табл. 5).

Таблица 5

Действие тиомочевины (0,01%) на динамику содержания флоридзина и ПОФ (в мг на сырой вес) при автолизе листьев яблони

Экспоз. в часах	Флоридзин		ПОФ	
	Контроль	Тиомочевина	Контроль	Тиомочевина
0,0	35,77	35,77	0,341	0,341
0,5	25,80	33,31	2,197	0,343
1,0	11,90	32,14	3,150	0,321
2,5	2,17	30,20	3,195	0,357
4,0	0,69	26,86	3,544	0,364

Под действием тиомочевины флоридзин не окисляется в ПОФ, но деглюкозидирование и распадение его на флоретинат и флороглюцин продолжается. Данные таблицы показывают также, что в неповрежденных молодых листьях содержатся лишь следы ПОФ. Окисление флоридзина ингибируется также под действием диэтилдитиокарбамата.

## 2. ПОФ и их свойства

При хроматографировании продуктов реакции окисления флоридзина при кратковременной экспозиции можно всегда обнаружить предшественника ПОФ (п-ПОФ) и два ПОФ ( $x_1$ -ПОФ и  $x_2$ -ПОФ). Последние встречаются всегда попарно (табл. 6).

Таблица 6

## Свойства гликозидных форм п-ПОФ и ПОФ

Соединение	Окраска пятен на хроматограммах				R <sub>f</sub> в растворителях		λ <sub>макс.</sub>			Реакция с Mg+HCl
	при дневном свете	при дневном свете + NH <sub>3</sub>	в УФ-е	в УФ-е + NH <sub>3</sub>	А	Б	этанол	этанол + AlCl <sub>3</sub>	этанол + NH <sub>3</sub>	
п-ПОФ	Бесцвет	Разруш	Фиол	Разруш	0,86	0,26	280		—	Отриц.
х <sub>1</sub> -ПОФ	Желт.	Коричн.	Желт	Красно-коричн.	0,82	0,49	377, 265	370	455	Отриц.
х <sub>2</sub> -ПОФ	Желт.	Коричн	Желт.	Красно-коричн.	0,63	0,34	377, 285	377, 320	453	Отриц.

Если хроматографировать инкубационную смесь в растворителе А, вырезать зоны х<sub>1</sub>-ПОФ и х<sub>2</sub>-ПОФ, элюировать метанолом, сгустить элюаты в вакууме при температуре около 50°С и перехроматографировать в растворителе Б, то из каждой зоны снова образуются оба соединения. Если же соответствующие продукты перехроматографировать непосредственно (без повышения температуры) при комнатной температуре (двухмерная хроматография или нанесение на бумагу подкисленных, концентрированных элюатов зон в метаноле с рН 2), тогда взаимных переходов соединений не происходит. Эти наблюдения показывают, что возникающие из флоридзина ПОФ могут быть какими-то изомерами.

Мы нашли следующие различия в свойствах изомеров и в условиях изомеризации.

1. Изомеризация ускоряется при повышении температуры (табл. 7). Быстрее изомеризуется х<sub>1</sub>-ПОФ.

Таблица 7

Действие температуры на соотношение изомеров  
(соотношение в %, экспозиция в темноте)

Температура °С	Действие на х <sub>1</sub> -ПОФ		Действие на х <sub>2</sub> -ПОФ	
	х <sub>1</sub> -ПОФ	х <sub>2</sub> -ПОФ	х <sub>1</sub> -ПОФ	х <sub>2</sub> -ПОФ
Начальн. соотнош.	92,7	7,3	5,4	94,6
30 мин. 70°	77,1	22,9	12,3	87,7
30 мин. 90°	52,2	47,8	32,9	67,1
30 мин. 100°	46,4	53,6	32,1	67,9
90 мин. 100°	33,4	66,6	40,1	59,9

2. Взаимный переход изомеров ускоряется в водном растворе и замедляется в спиртовом растворе (табл. 8). При этом агликони и  $x_1$ -ПОФ изомеризуются быстрее, чем  $x_2$ -ПОФ.

Таблица 8

Скорость изомеризации в водном и спиртовом растворах (изменения в соотношении изомеров через 24 часа при 29°С)

Изомер	Водный раствор		Спиртовой раствор	
	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ
$x_1$ -ПОФ	73,4	26,6	81,7	18,3
$x_1$ -ПОФ (агликон)	60,9	32,2	74,2	25,8
$x_2$ -ПОФ	22,0	78,0	9,2	90,8
$x_2$ -ПОФ (агликон)	40,8	59,2	13,3	80,7

3.  $x_1$ -ПОФ-изомеру, по сравнению с  $x_2$ -ПОФ-изомером, свойственна повышенная растворимость в разных растворителях. Поэтому  $R_f$   $x_1$ -ПОФ-изомера, независимо от полярности растворителя, во всех использованных растворителях всегда выше, чем у  $x_2$ -ПОФ изомера (табл. 6).

4.  $x_1$ -ПОФ-изомер является более лабильным, так как: а) изомеризуется быстрее при повышении температуры (табл. 7); б) под действием повышенной температуры у него устанавливается равновесие, при котором количество  $x_1$ -ПОФ-изомера меньше количества  $x_2$ -ПОФ-изомера (табл. 7).  $x_1$ -ПОФ изомер окисляется при рН 7,5 быстрее, чем  $x_2$ -ПОФ-изомер (сравнительные наблюдения по изменению максимума УФ-спектра при рН 7,5).

Оптимум рН для взаимного перехода изомеров — около 4,2. При этом  $x_1$ -ПОФ является более лабильным и изомеризуется быстрее, чем  $x_2$ -ПОФ-изомер. Больше всего подавляется изомеризация при рН 2,2 (табл. 9).

Таблица 9

Зависимость интенсивности изомеризации ПОФ от рН (соотношение в %, экспозиция при 30°С)

рН	Экспозиция 5 часов				Экспозиция 20 часов			
	Изомериз. $x_1$ -ПОФ		Изомериз. $x_2$ -ПОФ		Изомериз. $x_1$ -ПОФ		Изомериз. $x_2$ -ПОФ	
	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ
2,2	75,7	24,3	9,5	90,5	78,9	21,1	15,0	85,0
3,2	76,8	33,2	8,2	91,9	58,6	41,4	30,2	69,8
4,2	52,2	47,8	22,8	77,2	47,7	52,3	42,8	57,2
5,2	57,6	42,4	17,6	82,4	47,9	52,1	39,0	61,0
6,2	69,3	30,7	10,3	89,7	73,8	26,2	15,0	85,0
7,2	73,1	27,0	10,8	89,2	75,3	24,7	12,0	88,0
8,0	66,2	33,8	13,2	87,8	72,2	27,9	12,7	17,3

pH оказывает влияние также на стабильность  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ. Изомеры более стабильны при pH 3,2. В щелочной среде  $x_1$ -ПОФ быстро разрушается (табл. 10).

Таблица 10

Стабильность изомеров в зависимости от pH  
(сумма  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ при экспозициях 5 и 20 часов, в мкг/мл)

Изомер \ pH	2,2	3,2	4,2	5,2	6,2	7,2	8,0
$x_1$ -ПОФ	669	668	609	612	592	600	165
$x_2$ -ПОФ	755	792	708	716	647	617	632

Изомеры ПОФ хорошо растворяются в воде и несколько хуже в метаноле. В этаноле  $x_2$ -ПОФ не растворяется, а  $x_1$ -ПОФ растворяется в нем незначительно. В этилацетате и эфире изомеры не растворяются.

Появление желтой окраски и возникновение максимума поглощения в УФ-свете позволяют предположить, что оба продукта окисления флоридзина имеют в цепи  $C_3$  двойную связь. Бесцветный флоридзин имеет максимум при 283 нм, а желтые продукты окисления (оба глюкозида и агликоны) — при 377 нм. Максимум поглощения в УФ является подвижным; при прибавлении щелочи максимум ПОФ смещается до 455 нм (табл. 6 и рис. 2 и 3).

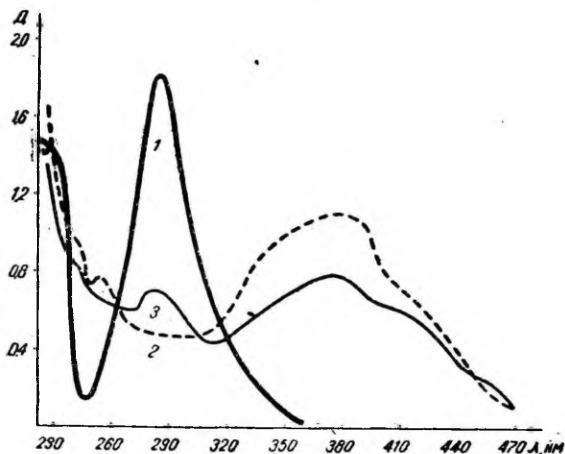


Рис. 2. Спектры поглощения флоридзина (1) и  $x_1$ - (2) и  $x_2$ -ПОФ (3).

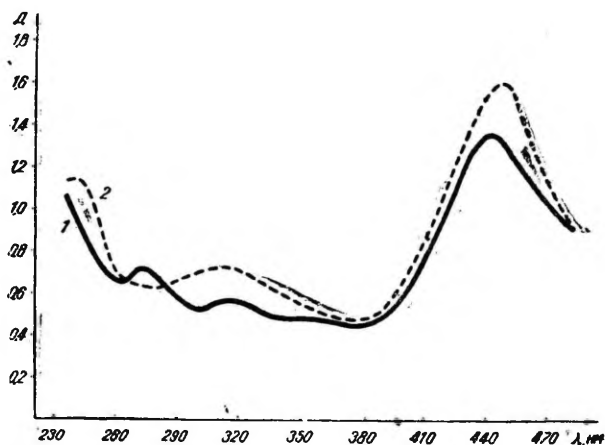


Рис. 3. Спектры поглощения хиноидных форм  $x_1$ - (1) и  $x_2$ -ПОФ (2).

При этом происходит быстрый переход желтой окраски в красновато-коричневую. УФ-спектры желтых изомеров различаются в области 260—280 нм. У  $x_1$ -ПОФ пик в этой зоне смещается к коротким волнам. Следует отметить, что экстинкция у изомеров ПОФ в этой зоне 260—280 нм является нестабильной. Это явление может быть связано с переходом ПОФ в их соответствующие анионы.

Все приведенные данные показывают, что исследуемые формы являются изомерными формами. Вероятнее всего, что изомеризация является внутримолекулярной, так как нам не удалось установить присоединения или удаления при изомеризации водорода или кислорода. По аналогии с последними данными работ Вонга (14), изучавшего изомеризм близких изомерам ПОФ соединений, можно предположить, что исследуемые изомеры ПОФ могут быть диастереоизомерными формами трео- ( $x_1$ -ПОФ) и эритроизомеров ( $x_2$ -ПОФ). Изомеризация происходит с эпимеризацией в  $C_3$ -цепи через кето-энольный таутомеризм. По полученным данным она является неферментативной.

### 3. Предшественники ПОФ

Желтые ПОФ возникают в реакционной смеси только при аэробных условиях. Если реакционные сосуды наполнить до верха и закрыть пробкой, то слабая желтая окраска инкубационной смеси появляется только в начале инкубации. Через день смесь обесцвечивается. При азиривании смесь сразу желтеет. Это яв-

ление указывает на то, что при дефиците кислорода накапливаются вещества, которые находятся в равновесии с ПОФ. Позднее выяснилось, что предшественники ПОФ образуются в качестве промежуточных продуктов также и при аэробных условиях.

При продувании инкубационной смеси воздухом п-ПОФ быстро переходит в  $x_1$ -ПОФ и поэтому его в таких условиях трудно обнаружить. Это обстоятельство указывает на то, что превращение п-ПОФ в  $x_1$ -ПОФ связано и с поглощением кислорода.

Возникающие в инкубационных смесях соединения можно обнаружить хроматографически — разделить их удастся только с помощью кислых растворителей. В щелочных растворителях они сразу переходят в ПОФ и на хроматограммах не обнаруживаются. На хроматограммах обнаруживаются два бесцветных предшественника. Основной из них приобретает на хроматограммах ярко красную окраску (еще до полного подсушивания и нейтрализации хроматограмм).

Под действием аммиака такая реакция происходит моментально. Другой предшественник содержится в небольших количествах только в старых смесях, и начинает медленно приобретать красную окраску лишь после полного подсушивания хроматограмм. Поэтому мы привели характеристику главным образом основного предшественника и обозначили его предварительно п-ПОФ.

С целью накопления п-ПОФ инкубированную при дефиците кислорода смесь хроматографировали в растворителе А, из влажных хроматограмм (уксусная кислота не должна испаряться из хроматограмм, так как соединение сохраняется только в кислой среде) вырезали зону этого вещества, элюировали горячим 80% -ным этанолом и перехроматографировали в растворителе Б. В ходе перехроматографирования п-ПОФ частично переходит в изомеры ПОФ. Анализ хроматограмм необходимо проводить перед их нейтрализацией.

УФ-спектр п-ПОФ в подкисленном уксусной кислотой этаноле имеет максимум — при 280 и минимум — при 263 нм (табл. 6). УФ-спектр и отсутствие окраски п-ПОФ при обыкновенном свете явно показывают, что его  $C_3$ -цепь имеет насыщенную структуру. Оптимум pH образования п-ПОФ в инкубационной смеси — 6,6.

Под действием аммиака п-ПОФ приобретает характерную для него красную окраску. При прибавлении слабого раствора уксусной кислоты красная окраска пятен переходит в желтую, которая свойственна изомерам ПОФ.

Если из хроматограмм вырезать красные зоны, элюировать, подвергнуть действию слабого раствора уксусной кислоты и перехроматографировать, тогда на хроматограммах обнаруживаются основной изомер п-ПОФ,  $x_1$ -ПОФ,  $x_2$ -ПОФ и еще два олигомера  $x_2$ -ПОФ (см. далее). Эти данные дают основание

предполагать, что п-ПОФ является действительно предшественником ПОФ. Красный п-ПОФ является как бы «активным хиноном», который под действием кислоты переходит в более стабильные  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ и другие близкие к ним соединения. Из изомеров обратно в п-ПОФ превращается только  $x_2$ -ПОФ, но при этом образуется изомер п-ПОФ.

#### 4. Действие ди- и монофенолов на окисление флоридзина

Все вышеприведенные данные указывают на то, что флоридзин окисляется с помощью о-ДФО. С целью окончательной идентификации фермента использовали коммерческую грибную о-ДФО. Зависимость действия чистого фермента (24,8 мкг/мл) от рН на фоне кофейната ( $5 \cdot 10^{-3}$  М) представлена в таблице 11.

Из данных таблицы видим, что грибная о-ДФО окисляет флоридзин. При кратковременной экспозиции окисление флоридзина зависит от рН инкубационной смеси лишь незначительно. При более длительных экспозициях оптимум рН окисления флоридзина совпадает с оптимумом рН (6,6) фермента из почек яблони. При кратковременных экспозициях среди продуктов окисления флоридзина обнаруживается в основном п-ПОФ.

Через час содержание  $x_1$ -ПОФ в смеси обнаруживается больше, чем  $x_2$ -ПОФ, а в конце опыта наблюдается обратное явление. Оно объясняется переходом более лабильного  $x_1$ -ПОФ в более стабильный  $x_2$ -ПОФ.

При данном виде окисления флоридзина принимает участие только о-ДФО, так как под ее действием образуются все ПОФ.

Широко распространенным нативным о-дифенолом в тканях яблони является хлорогенат, который легко подвергается окислительно-восстановительным реакциям. Он постоянно обнаруживается в тканях яблони. С целью выяснения возможной роли хлорогената при окислении флоридзина мы использовали неочищенный ферментный препарат из яблони (15 мг/мл) (табл. 12).

Из данных таблиц 11 и 12 видим, что под действием грибной о-ДФО и ферментного препарата из яблони возникают идентичные продукты окисления флоридзина, которые по своим свойствам (см. табл. 6) не отличаются друг от друга. Разница в действии «яблочного» фермента от грибной о-ДФО заключается в том, что под его действием возникают, кроме ПОФ, флоретинат и флороглоуцин, а в зависимости от времени года еще и флоретин и агликоны ПОФ. Полученные данные позволяют сделать вывод, что флоридзин окисляется в яблоне в ПОФ под действием о-дифенолоксидазы.

Очищенные препараты о-ДФО обладают индукционным периодом, который специфически устраняется о-дифенолами и не-

Окисление флоридзина грибной о-ДФО в зависимости от рН среды (мкг/мл)

рН	Флоридзин				п-ПОФ				х <sub>1</sub> -ПОФ				х <sub>2</sub> -ПОФ			
	Экспозиция в часах															
	1	2,5	5	27	1	2,5	5	27	1	2,5	5	27	1	2,5	5	27
4,6	393	404	427	557	116	164	179	178	15	37	39	15	8	25	28	18
5,6	366	580	858	507	217	290	588	960	17	35	74	58	7	18	44	109
6,6	274	627	1511	1759	178	404	838	830	19	52	43	97	6	19	98	226
7,2	314	488	1191	1626	186	352	899	328	34	53	24	143	8	16	70	340
7,6	370	507	862	885	179	480	360	93	24	43	21	59	8	17	59	130

Таблица 12

Действие хлорогената на активность окисления флоридзина (мкг/мл)

Хлорогенат в М	Флоридзин				п-ПОФ				х <sub>1</sub> -ПОФ				х <sub>2</sub> -ПОФ			
	Экспозиция в часах															
	1	2,5	5	20	1	2,5	5	20	1	2,5	5	20	1	2,5	5	20
Контр.	70	313	305	805	23	50	123	277	14	48	93	174	10	25	52	107
10 <sup>-3</sup>	159	305	542	1351	34	42	56	137	30	74	113	350	16	36	53	191
10 <sup>-4</sup>	65	336	393	947	17	43	56	237	30	89	133	235	32	52	81	141
10 <sup>-5</sup>	48	191	218	718	19	49	77	281	13	49	81	154	7	33	45	92

специфически — восстанавливающими агентами (15). Полученные нами данные явно показывают, что хлорогенат активирует непосредственно окисление флоридзина. Наилучшее активирование получается не в каталитических, а в субстратных концентрациях хлорогената. Кроме того, при кратковременной экспозиции под действием хлорогената повышается количество п-ПОФ.

Кроме непосредственного активирования окисления флоридзина, хлорогенат стимулирует также превращение продуктов реакции. Действие хлорогената усиливается при повышении его концентрации. Полученные данные дают также информацию о точке приложения действия хлорогената — активируется главным образом переход п-ПОФ в  $x_1$ -ПОФ, что в конце-концов отражается и в повышении содержания  $x_2$ -ПОФ.

По данным в таблицах 11 и 12 последовательность реакции образования ПОФ следующая: флоридзин  $\rightarrow$  п-ПОФ  $\rightarrow$   $x_1$ -ПОФ  $\rightarrow$   $x_2$ -ПОФ. Окисление флоридзина с о-ДФО имеет лаг-период, который устраняется о-дифенолами.

Окисление флоридзина под действием ферментного препарата из яблони активируется еще и кофейнатом (табл. 13).

Таблица 13

Действие кофейната на активность окисления флоридзина (мкг/мл)

Кофейнат в М	Флоридзин				Суммарное содержание ПОФ			
	Экспозиция в часах							
	2	5	18	42	2	5	18	42
Контр.	120	355	1046	1141	130	435	845	936
$10^{-3}$	392	611	1168	1757	259	470	1024	1181
$10^{-4}$	392	657	1184	1772	265	215	1011	1078
$10^{-5}$	329	693	1237	1172	265	459	1011	1040

Таблица 14

Действие различных о-дифенолов на активность окисления флоридзина грибной о-ДФО (мкг/мл)

о-Дифе- нолы ( $10^{-2}$ М)	Флоридзин				Суммарное содержание ПОФ			
	Экспозиция в часах							
	1	2,75	5	23	1	2,75	5	23
Контр.	160	454	1015	1656	181	436	970	1757
Кофейнат	279	504	1015	1530	231	490	909	1466
Кверцетин	206	515	1019	1531	221	487	994	1557
Рутин	137	401	843	1508	202	489	921	1625

Кофейнат активирует окисление флоридзина также под действием грибной о-ДФО (32,9 мкг/мл) (табл. 14). Такое же действие оказывает кверцетин, который содержит о-гидроксилы в кольце В. Однако кверцетинглюкозид рутин не активирует окисления флоридзина, что согласуется с литературными данными (16). В связи с этим возникает вопрос — какое действие оказывают на активность окисления флоридзина сами ПОФ?

По полученным данным (табл. 15) агликоны ПОФ, являясь продуктами реакции, не активируют окисления флоридзина.

Окисление флоридзина активируется также ненативными для яблони о-дифенолами (табл. 16).

Катехол в больших концентрациях не выступает в качестве конкурирующего субстрата, хотя и является субстратом о-ДФО (инкубационная смесь быстро темнеет) при ее дифенолоксидазном действии (6, 8). Этот факт приводит к заключению, что флоридзин окисляется под действием монофенолоксидазного центра о-ДФО, а не под действием катехолазного (о-дифенолоксидазного) центра фермента.

Для окисления флоридзина является оптимальной субстратная концентрация катехола ( $5 \cdot 10^{-3}$  М). Это говорит о том, что для функционирования монофенолоксидазного центра требуется еще функционирование дифенолоксидазного центра и что катехол участвует в реакции как субстрат, а не как катализатор. По мере уменьшения концентрации катехола его активирующее действие снижается.

Действие катехола явно проявляется при активировании перехода п-ПОФ в  $\chi_1$ -ПОФ. Высокая концентрация катехола активирует у ПОФ еще ряд вторичных процессов окисления (полимеризует и распад ПОФ). Поэтому суммарное содержание ПОФ наивысшее при концентрации катехола  $5 \cdot 10^{-4}$  М.

Из приведенных в таблицах (12—16) данных видим, что активирующее действие на окисление флоридзина оказывают только различные о-дифенолы. Монофенолы такой способности не проявляют. Данные для яблони нативного монофенола *n*-кумарата представлены в таблице 17.

В отрезок времени 24 часа *n*-кумарат при всех концентрациях подавляет окисление флоридзина. *n*-Кумарат, как монофенол, не ускоряет окисления флоридзина ни в субстратных, ни в каталитических концентрациях. Через 44 часа *n*-кумарат подавляет окисление флоридзина только при высокой концентрации. Эти данные объясняются тем, что *n*-кумарат является субстратом о-ДФО. Однако *n*-кумарат окисляется под монофенолоксидазным действием фермента, поэтому он конкурирует с флоридзином за монофенолоксидазный центр фермента. По мере расходования *n*-кумарата его подавляющее действие ослабляется. При использовании слабых концентраций *n*-кумарата он полностью расходуется и возникающий при этом кофейнат, как о-дифенол,

Действие агликонов ПОФ на активность окисления флоридзина о-ПОФ  
(24,8 мкг/мл) ( данные в мкг/мл)

Варианты	Флоридзин				п-ПОФ				х <sub>1</sub> -ПОФ				х <sub>2</sub> -ПОФ			
	Экспозиция в часах															
	1,33	2,5	5	27	1,33	2,5	5	27	1,33	2,5	5	27	1,33	2,5	5	27
Контр. Агликоны	164	313	920	1714	74	226	517	994	13	32	53	215	1	6	14	71
	133	224	965	1832	70	195	464	963	11	21	358	215	3	6	14	54

Действие катехола на окисление флоридзина (мкг/мл)  
(начальная конц. флоридзина  $5 \cdot 10^{-3}$  М)

Катехол в М	Флоридзин				п-ПОФ				х <sub>1</sub> -ПОФ				х <sub>2</sub> -ПОФ			
	Экспозиция в часах															
	1	5	24	48	1	5	24	48	1	5	24	48	1	5	24	48
Контр.	212	210	855	2125	16	119	325	763	24	48	154	468	5	23	112	331
$5 \cdot 10^{-3}$	224	313	1619	1992	14	21	36	42	57	54	260	361	8	15	190	250
$5 \cdot 10^{-4}$	169	310	1420	2065	16	42	176	101	31	113	600	838	9	50	382	522
$5 \cdot 10^{-5}$	39	241	1088	2011	10	138	339	605	30	69	416	552	8	41	240	331
$5 \cdot 10^{-6}$	118	229	584	1863	20	58	390	710	29	17	106	459	3	11	52	269

Таблица 17

Действие *p*-кумарата на окисление флоридзина (мкг/мг)

п-Кумарат в М	Флоридзин				п-ПОФ				x <sub>1</sub> -ПОФ				x <sub>2</sub> -ПОФ			
	Экспозиция в часах															
	1	5	24	44	1	5	24	44	1	5	24	44	1	5	24	44
Контр.	204	263	1023	2118	27	162	361	1031	9	50	330	518	8	22	129	341
10 <sup>-3</sup>	187	190	687	2045	27	97	271	1063	10	50	119	535	7	19	81	318
10 <sup>-4</sup>	127	217	664	2142	31	81	275	1049	13	55	111	476	8	21	73	269
10 <sup>-5</sup>	99	240	675	2213	25	97	272	1109	14	48	111	465	10	21	76	319
10 <sup>-6</sup>	31	244	648	2210	32	83	276	1078	11	53	106	537	9	20	71	318

может в конце опыта несколько активировать окисление флоридзина.

Конкурирующим субстратом при окислении флоридзина являются монофенолы, а не о-дифенолы. На основании этого можно сделать вывод, что флоридзин окисляется под действием монофенолоксидазного действия о-ДФО. В связи с тем, что катехол в субстратных концентрациях активирует окисление флоридзина, то моно- и дифенолоксидазные активности о-ДФО при действии взаимосвязаны.

### 5. Олигомеры $x_2$ -ПОФ

При прибавлении ферментного препарата в 1%-ный раствор флоридзина в 20%-ном метаноле концентрация ПОФ повышается настолько, что через 1—2 дня смесь мутнеет и становится коричневой. Позднее на поверхности жидкости образуется пленка, и в конце-концов на стенках посуды выпадают в виде нерастворимого в воде осадка какие-то коричневые вещества. Хроматографирование осадка растворителем Б показало, что осадок разделяется на хроматограммах на ряд веществ с убывающим значением величины  $R_f$ . Чем ниже вещество находится на хроматограммах, тем меньше его количество. Последовательность образования веществ такая же, т. е. чем ниже  $R_f$ , тем позднее возникает вещество. У самого высокого на хроматограммах соединения  $R_f$  — 0,26, у следующих за ним соединений — 0,23 и 0,13. Эти же коричневые вещества образуются при повреждении тканей яблони. Особенно много коричневых веществ образуется в почках и коре побегов при их стоянии после промораживания жидким азотом. Последний способ мы использовали для получения препаратов коричневых веществ. Они не реагируют с  $Mg + HCl$ .

Коричневые продукты окисления флоридзина дубят кожные покровы и являются негидролиземыми соединениями. В связи с этим возникает вопрос — не являются ли эти соединения олигомерами  $x_2$ -ПОФ, т. е. дубильными веществами. Этот вопрос интересен еще и в том отношении, что о склонности к полимеризации говорят в литературе до настоящего времени только применительно к катехинам и лейкоантоцианам (19).

С целью выяснения этого вопроса мы сравнивали молекулярный вес как ПОФ, так и его агликона и «олигомера» с весом уже известных соединений (кверцетин, изосалипурпозид) с помощью липофильного сефадекса LH-20 (табл. 18).

Полученные данные показывают, что «олигомеры» отличаются большей подвижностью, чем другие соединения и, следовательно, могут быть продуктом олигомеризации мономеров. При ферментативном действии олигомер с  $R_f$  0,26 дает  $x_1$ -ПОФ,  $x_2$ -ПОФ (следы) и другие олигомеры.

Сравнение подвижности ( $V=1 \text{ см}^3$ ) разных ПОФ при гелфильтрации с сефадексом LH-20

Показа- тели	Вещества	Квер- цетин	Изо- сали- пурп.	Мономеры			«Олигомеры»		
				Аглю- коны	$x_1$ -ПОФ	$x_2$ -ПОФ	Аглю- конов	$R_f$ 0,26	$R_f$ 0,23
Мол. вес		302	470	310	486	486	310 · 2	486 · 2	486 · 3
Подвижн.		0,59	1,43	1,20	1,86	1,99	2,08	2,93	3,31

Наблюдения над чистыми изомерами ПОФ показали, что олигомер с  $R_f$  0,26 возникает только из  $x_2$ -ПОФ и в слабощелочной среде. При стоянии водных растворов ПОФ иногда обнаруживаются вместе с коричневыми олигомерами также неизученные желто-зеленые олигомеры.

В некоторых случаях наблюдается переход изомеров в соответствующие бесцветные вещества, сильно флюоресцирующие в УФ светло-синим цветом, а также появление веществ с приятным запахом. В дальнейшем предстоит задача выяснить — не являются ли эти соединения продуктами распада типа кумаринов?

### 6. Превращение $x_1$ -ПОФ

Уже при кратковременной экспозиции (30 мин) можно обнаружить при хроматографировании инкубационной смеси, кроме п-ПОФ и изомеров ПОФ, желто-зеленое вещество ( $R_f$  в растворителе А — 0,83 и в растворителе Б — 0,26). Под действием паров аммиака окраска вещества становится более интенсивной, но само соединение не окисляется до хинона. Соединение является, по сравнению с изомерами ПОФ, более стабильным и трудно растворимым в воде. Последние факты говорят о том, что наблюдаемое соединение имеет замкнутое гетероциклическое кольцо в цепи  $C_3$ , а светло-желтая окраска и УФ-спектр (макс. 415 нм) указывают на существование двойной связи в цепи  $C_3$ . Спиртовые растворы этого соединения при дневном свете флюоресцируют желто-зеленым цветом. Еще сильнее флюоресцируют его растворы и пятна на хроматограммах в УФ-свете.

При наблюдении выявилось, что соединение возникает из  $x_1$ -ПОФ —  $x_2$ -ПОФ его не дает. При прибавлении к раствору  $x_1$ -ПОФ уксусной кислоты соединение возникает быстро. Если вещество оставить на неделю стоять при комнатной температуре и затем хроматографировать растворителем Б, то при хроматографировании оно разделяется на ряд неидентифицированных веществ с низким  $R_f$ . Эти соединения, по-видимому, являются олигомерами.

Следы нативного соединения можно обнаружить также при хроматографировании спиртовых экстрактов из молодых растущих листьев яблони. Большое количество нативного вещества образуется при водном автолизе гомогенатов почек, собранных в фазе их распускания. Этот способ мы использовали для получения препаратов соединения.

### 7. Распространение ПОФ в тканях яблони

ПОФ обнаружены нами в небольших количествах также в спиртовых экстрактах из тканей яблони (табл. 5). В листьях и почках яблони преобладает более стабильный  $\chi_2$ -ПОФ. В нативном виде в тканях яблони содержатся только глюкозидные формы ПОФ. Агликоны ПОФ в тканях яблони не обнаружены. Содержание ПОФ в старых листьях наибольшее, а в почках и коре они встречаются обычно в небольших количествах. В древесине следы ПОФ наблюдаются осенью — в период радиального роста, и весной — во время пасоки.

При контакте тканей яблони с воздухом флоридзин быстро окисляется в ПОФ. Возникающие вещества являются идентичными продуктами ферментативного окисления флоридзина в опытах *in vitro* ферментным препаратом из яблони и грибной о-ДФО. Этот процесс является также одной из причин побурения тканей яблони и молодых яблочек на воздухе. Если оставить измельченные ткани яблони на воздухе, тогда образование желтых ПОФ и коричневых соединений сопровождается снижением содержания флоридзина (табл. 5, см. также стр. 10 и 11).

Если разрезать побеги яблони вдоль и оставить их на воздухе, тогда побурение тканей наблюдается в основном в зоне почек, камбия и эмбрионального роста. Этот факт показывает, что флоридзин концентрируется в тканях с активной жизнедеятельностью.

В растениях флоридзин и о-ДФО пространственно отделены друг от друга и в их тканях наблюдается дефицит кислорода. Поэтому окисления флоридзина не происходит. Однако при повреждении тканей реакция наступает сразу.

Молодые здоровые и быстро растущие листья содержат небольшое количество ПОФ, но зато они отличаются высокой потенциальной способностью их быстро образовывать при повреждении тканей (табл. 5). При старении листьев содержание ПОФ в них повышается по мере того, как они повреждаются микробами. Осенью после похолодания в почках и коре содержание ПОФ повышается. При температуре ниже  $-35^{\circ}\text{C}$  наблюдается резкое повышение содержания ПОФ. ПОФ и их коричневые продукты олигомеризации образуются быстрее у менее морозостойких сортов. Если процесс олигомеризации под действием низких

температур сильно не разовьется, то образовавшиеся коричневые продукты весной метаболизируются и внутренняя окраска побегов восстанавливается.

В 1966 году побеги у некоторых сортов яблони сильно пострадали от зимних повреждений. Почки и кора у пострадавших побегов были внутри по цвету темно-коричневые. При хроматографировании спиртовых экстрактов почек и коры таких побегов выяснилось, что в них почти не содержится флоридзина и ПОФ. Вместо этих веществ на хроматограммах обнаруживали в большом количестве коричневые пятна (2—3), которые, по всей вероятности, возникают из  $\chi_2$ -ПОФ путем окисления и олигомеризации.

Хиноидные продукты, особенно их олигомеры, являются токсичными для тканей яблони. Поэтому они могут образоваться только до известной концентрации. Возникает вопрос — почему коричневые продукты образуются под действием низких температур? Установлено (6), что активность о-ДФО подавляется под влиянием низких температур меньше, чем активность других ферментов. В связи с этим фенолоксидазную систему можно рассматривать как «запасную» систему метаболизма, которая вступает в действие в то время, когда другие сложные системы под влиянием низких температур подавляются. Однако эта система не может «помогать» слишком продолжительное время.

Побурение тканей побегов можно вызвать и наблюдать также в условиях эксперимента. Для этого побеги яблони замораживали жидким азотом ( $-196^\circ$ ), измельчали и подвергали автолизу при комнатной температуре на воздухе. Определение снижения содержания флоридзина показало, что глубокое замораживание также несколько усиливает окисление флоридзина (табл. 19). Следовательно, о-ДФО не повреждается под действием глубокого замораживания. Но побеги после замораживания больше не растут, так как сложные структуральные ферменты, в первую очередь, связанные с окислительным фосфорилированием, повреждаются. о-ДФО, которая в основном локализована в цитоплазме (4), продолжает работу, вследствие чего внутренние ткани почек и коры буреют. Содержание флоридзина при этом резко снижается.

Таблица 19

Действие жидкого азота на окисление флоридзина  
(содержание мг/г на сухой вес, продолжительность автолиза 2 часа)

Орган	Контроль	Жидкий азот
Почки	22,21	19,75
Кора	22,88	22,13
Древесина	4,97	5,73

В чем заключается биологическая роль быстрого возникновения ПОФ? По-видимому, ПОФ играют важную роль в явлениях резистентности растений к патогенным микроорганизмам. При повреждении тканей яблони происходит быстрое накопление ПОФ и их олигомеризация. Хиноидная структура ПОФ образует с белками токсичные комплексы. При этом погибают клетки на поврежденной поверхности растения. Образующийся некроз является не только механическим, но и химическим барьером, препятствующим дальнейшему распространению инфекции.

Потемнение тканей, наблюдаемое при многих заболеваниях, есть выражение активной защитной реакции растения, позволяющей организму локализовать инфекцию, и тем самым избежать поражение (20).

Можно предположить, что флоридзин является в тканях яблони также «дежурным» веществом. При возникновении «опасности» флоридзин может быстро образовать защитные вещества.

Однако продукты окисления флоридзина могут оказаться вредными и для самого растения. Поэтому продукты окисления флоридзина во время роста и при нормальном обмене веществ содержатся в тканях яблони в незначительных количествах. Однако в процессе эволюции у яблони выработалось такое свойство, которое обуславливает синтез большого количества флоридзина, — в случае необходимости, ткани яблони обладают высокой потенциальной способностью быстро окислять флоридзин в защитные вещества.

Уже Мейер (21) показал, что устойчивые к *Phytophthora infestans* сорта картофеля содержат больше дубильных веществ, чем восприимчивые, и что устойчивость определяется скоростью окисления фенольных соединений.

Сильная способность яблони образовывать флоридзин может оказаться вредной для яблоневых садов. После прекращения жизни взрослого дерева в почве остается значительное количество флоридзина (22). К этому содержанию флоридзина в почву ежегодно прибавляется еще флоридзин опавших листьев и других частей яблони. Считается (20), что токсичными являются не столько сами фенольные соединения, сколько их продукты окисления. По-видимому, в почве окисление флоридзина под действием микроорганизмов происходит таким же образом, как и в тканях яблони. В результате этого образуются токсичные хиноидные олигомерные продукты окисления. Наиболее чувствительными к действию таких продуктов окисления являются молодые растущие корни. В связи с этим флоридзин может быть одним из «виновников» в создании почвоутомления в яблоневых садах.

## Выводы

1. При прослеживании действия неочищенного ферментного препарата из яблони и чистой грибной о-дифенолоксидазы установили, что флоридзин окисляется в продукты его окисления под действием фермента о-дифенолоксидазы. Параллельно с уменьшением содержания флоридзина в инкубационной смеси происходит повышение содержания продуктов его окисления. При реакции происходит поглощение кислорода.

2. Активаторами окисления флоридзина (оптимум рН 6,6) являются о-дифенолы (хлорогенат, кофейнат, кверцетин, пирокатехин) и полифенолы с о-положением гидроксильных групп (галлат, пирогаллол), и конкурирующими субстратами являются монофенолы (*n*-кумарат, тирозин, *n*-крезол). Восстанавливающие вещества (аскорбат, цистеин, глутатион) подавляют реакцию. Агликоны желтых продуктов окисления не влияют на активность реакции.

3. Конкурирование монофенолов при окислении флоридзина (монофенол) показывает, что они выступают в качестве конкурирующего субстрата и, следовательно, флоридзин гидроксيليруется под действием монофенолоксидазного центра о-дифенолоксидазы.

4. Гидрокселирование флоридзина подавляется ингибиторами о-дифенолоксидазы (диэтилдитиокарбамат, тиомочевина). Тиомочевина подавляет побурение измельченных тканей яблони на воздухе.

5. Установили следующую последовательность образования продуктов окисления флоридзина (ПОФ): флоридзин гидрокселируется в бесцветный п-ПОФ, который при нейтральных и аэробных условиях переходит в красное соединение. Последнее под действием кислоты образует желтый продукт окисления ( $x_1$ -ПОФ), который изомеризуется в желтый  $x_2$ -ПОФ.

6. Превращение п-ПОФ в  $x_1$ -ПОФ сопровождается поглощением кислорода. Реакция активизируется о-дифенолами.

7. Взаимная изомеризация  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ ускоряется при повышении температуры, в водном растворе и при рН 4,2. Изомеры более стабильны при рН 3,2.  $x_1$ -ПОФ, по сравнению с  $x_2$ -ПОФ, свойственна более высокая растворимость и лабильность. Под действием щелочи происходит изменение желтой окраски  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ в красно-оранжевую, что сопровождается смещением максимума УФ-спектра от 377 до 455 нм.

8. Реакции, происходящие при инкубации флоридзина в присутствии ферментного препарата в аэробных условиях, сходны с протекающими в тканях яблони процессами. На поврежденной поверхности тканей яблони образуются при окислении флоридзина коричневые олигомеры, представляющие большой интерес

для выяснения устойчивости яблони к микроорганизмам. При нормальном обмене веществ ПОФ содержатся в тканях яблони в незначительных количествах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Harel, E., Mayer, A. M., Shain, J. *Physiol. Plant.*, 1964, 17, 921.
2. Рубин, Б. А., Арциховская, Е. В. *Усп. совр. биол.*, 1964, 57, 2, 317.
3. Сарапуу, Л., *Физиол. раст.*, 1965, 12, 1, 134.
4. Михлин, Д. М. Биологическое окисление. Изд-во АН СССР, М., 1956.
5. Hudo, H., Uritani, J. *Plant and Cell Physiol.*, 1966, 7, 1, 137
6. Рубин, Б. А., Ладыгина, М. Е. Энзимология и биология дыхания растений. Изд-во «Высшая школа», М., 1966.
7. Heimann, W., Heinrich, V. *Arch. Pharmazie*, 1960, 293/65, 6, 598
8. Takeo, T. *Agric. and Biol. Chem.*, 1966, 30, 6, 529
9. Constantinides, S. M., Bedford, C. L. *J. Food Sci.*, 1967, 32, 4
10. Mason, H. S. *Nature*, 1956, 177, 4498, 79
11. Bouchillaux, S., McMahon P., Mason, H. S. *Biol. Chem.*, 1964, 238, 1609
12. Mitchell, H. K., Weber, W. M., Schaar, G. *Genetics*, 1967, 57, 2, 557
13. Robb, D. A., Mapson, L. W., Swain, T. *Nature (Engl.)*, 1964, 201, 4918, 503
14. Wong, E. *Phytochemistry*, 1967, 6, 1227
15. Дэвис, Д., Джованелли, Дж., Рис, Т. Биохимия растений, Изд-во «Мир», М., 1966.
16. Roberts, E. A. H., Wood, D. J. *Nature*, 1951, 167, 638
17. Конн, Е. Е. В кн. Биохимия фенольных соединений. Под ред. Дж. Харборна. Изд-во «Мир», 1968, 314.
18. Рубин, Б. А., Логинова Л. Н. *Усп. совр. биол.*, 1968, 653, 442.
19. Запрометов, М. Н. Биохимия катехинов. Изд-во «Наука», М., 1964.
20. Арциховская, Е. В., Рубин, Б. А. *Усп. совр. биол.*, 1954, 37, 2, 136.
21. Meyer, G. *Arb. Biol. Reich. Landw. und Forst.*, 1940, 23, 97
22. Мороз, П. А. Аллелопатическая роль опавших листьев и корневых остатков яблони и персика. Автореферат канд. работы, Киев, 1968.

# PHLORIDZINOXYDATION IN APFELBAUMGEWEBEN

L. Sarapuu, E. Heinaru und T. Vardja

## Zusammenfassung

Durch Untersuchung der Wirkung eines ungereinigten Fermentpräparates, das aus wässrigen Extrakten der Apfelbaumgewebe mittels 65% Azeton ausgefällt worden war, wurde eine fermentative Umwandlung Phloridzins in farblose Vorläufer — Phloridzinoxydations der Produkte ( $\nu$ -PhOP) festgestellt. Letzteres wird durch Neutralisation des Papierchromatogrammes in ein «rotgefärbtes Chinon» umgewandelt, das durch Einwirkung von Säuren in  $x_1$ -PhOP übergeht, aus welchem durch Isomerie  $x_2$ -PhOH gebildet wird. Dieselbe Wirkung auf Phloridzin hatte gereinigte o-Diphenole; als konkurrierendes Substrat treten Monophenole auf. Aglykone PhOP aktivieren die Reaktion nicht. Phloridzin wird durch die Monophenoloxydastätigkeit von o-Diphenoloxydase beim 3-Kohlenstoffatom oxydiert. Bei Luftzutritt und in leicht basischen Lösungen geht  $x_2$ -PhOP in braungefärbte, oligopolymerisierte Produkte über. Die  $x_1$ - und  $x_2$ -PhOP enthalten Doppelbindungen und bilden deshalb beide leicht Chinone. Es wird die Hypothese aufgestellt, daß bei dem  $x_2$ -PhOP eine Verschiebung der Elektronen der  $C_3$ -Kette stattfindet, welche die Polymerisation der Monomere begünstigt.

Die in Modellversuche *in vitro* festgestellten Produkte der Phloridzinoxydation wurden auch beim Bräunen der Apfelbaumgewebe gefunden. Bei Beschädigung von Apfelbaumgeweben entstehen aus Phloridzin bräunliche Oxydationsprodukte, welche die inneren Gewebe vor dem Eindringen der Mikroorganismen schützen.

## О МЕТАБОЛИЗМЕ КОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ЯБЛОНЕ

Л. Сарануу и Э. Витте

Коричные кислоты широко распространены в растениях и особенно в тех частях, которые подвергаются лигнификации. Они стоят в центре фенольного обмена растений, так как являются предшественниками при биосинтезе лигнина, флаваноидов, кумаринов и др. фенольных соединений.

Наиболее вероятная схема образования коричных кислот и фенилаланина и тирозина описывается в работах Ниша (1) и Запрометова (2). Ключевой фермент образования фенольных соединений — фенилаланин-аммиак-лиаза, катализирующий превращение фенилаланина в коричную кислоту, обнаружен во многих растениях (2, 3). По данным некоторых авторов (4—8) активность данного фермента зависит от световых условий, имеющих большое значение при процессах регулирования роста и лигнификации (9). Однако в яблоне откладывается фенольное запасное вещество — флоридзин, C<sub>9</sub>-часть которого образуется тоже из фенилаланина (10, 11). Для биосинтеза лигнина необходимо наличие в растении ароматических соединений в больших количествах. Поэтому мало вероятно, чтобы флоридзин, содержащийся в яблоне в большом количестве, оставался бы неиспользованным при биосинтезе лигнина. Из свободных коричных кислот в яблоне обнаружены *n*-кумарат, кофейнат и ферулат (11, 12 и др.). Вопрос о присутствии нативного флоретината (дигидрокоричная кислота) в яблоне был еще сравнительно недавно предметом обсуждения (13—15).

В отношении яблони возникает вопрос — образуются ли коричные кислоты в яблоне непосредственно из фенилаланина или они образуются косвенным путем через флоридзин? Выяснено (10; 11), что C<sup>14</sup>-фенилаланин используется в листьях яблони для биосинтеза C<sub>9</sub>-части дигидрохалконглюкозид — флоридзина. А из халкона в *Petunia hybrida* могут возникать коричные кислоты (16). И наконец встают вопросы: из какого соединения возникает у яблони флоретинат? Метаболизируется ли эта кислота тканями яблони?

## Методика

Для изучения образования из флоридзина флоретината мы использовали неочищенный ферментный препарат, методика выделения которого приведена в статье настоящего сборника на стр. 14. Этот же препарат применялся при составлении инкубационных смесей для выявления фенилаланин-аммиак-лиазной, циннаматгидроксилазной и о-гидроксилазной активностей. Для составления инкубационных смесей, кроме этого препарата, использовали гомогенаты, почки и ацетоновые препараты почек по методу Хигучи (9). Полученные из тканей яблони коричные кислоты подвергали анализу по методу, описанному в работе Даса и Рао (7). Для препаративного выделения из тканей яблони флоретината спиртовой экстракт тканей наносили на хроматографическую бумагу в виде длинной черты, разгоняли растворителем А (см. стр. 15), вырезали зоны флоретината, которые элюировали спиртом и перехроматографировали растворителем В. Для спектрофотометрического определения флоретината определяли его молярный экстинкционный коэффициент  $\epsilon$ . При определении величины  $\epsilon$  коричной кислоты и *n*-кумарата использовали соответствующие препараты (стр. 7).

## Результаты исследования

Присутствие флоретината в тканях яблони отмечалось нами в 1964 году. В работах последующих лет некоторые исследователи (13, 14) стали сомневаться в том, что в тканях яблони содержится нативный флоретинат.

Для идентификации флоретината нами был использован свидетель, полученный путем щелочного гидролиза из флоридзина.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что флоретинат содержится в тканях яблони. Наши данные согласуются с новейшими литературными данными (15). Флоретинат содержится в тканях яблони в небольших количествах, и поэтому в спиртовых экстрактах листьев и коры обнаружить его непосредственно не всегда удается. Однако флоретинат можно легко найти в тканях яблони по методу, приведенному в работе Даса и Рао (17). Его можно обнаружить также и в сгущенных водных экстрактах тканей яблони после выкристаллизации флоридзина низкой температурой.

Флоретинат становится видимым на хроматограммах в УФ-свете лишь в случае его высокой концентрации (фиолетовое пятно) (табл. 2). После проявления ДАСК пятно флоретината приобретает окраску в зависимости от его концентрации (при слабых концентрациях — фиолетовую, а при высоких концентрациях — оранжевую). В тканях яблони флоретинат является наи-

более распространенной коричной кислотой. Динамика содержания флоретината в листьях и коре побегов яблони летом приведена в таблице 1.

Таблица 1

Содержание флоретината в листьях и коре яблони (в мкг/г сырого веса)

Дата	29. 05	20. 06	03. 07	26. 07	19. 09	23. 10	28. 02
Листья	68,5 ± ± 3,0	67,0 ± ± 9,1	155,3 ± ± 10,5	648,7 ± ± 8,9	222,3 ± ± 13,5	196,4 ± ± 36,3	840,6 ± ± 26,8
Кора	487,3 ± ± 5,8	319,8 ± ± 2,7	52,3 ± ± 3,5	276,9 ± ± 9,2	359,3 ± ± 27,3	*932,0 ± ± 2,8	27,4 ± ± 1,2

\* Содержание в почках

Как видно из таблицы 1, содержание флоретината повышается после снижения активности лигнификации в тканях.

Кроме флоретината, в тканях яблони содержится еще *n*-кумарат, на наличие которого в них указывается многими авторами (11, 12, 18). Эта кислота обнаруживается в тканях яблони в основном в период активного роста.

При изучении вопроса — из какого соединения образуется флоретинат в яблоне — использовали неочищенный ферментный препарат из тканей яблони. Выяснилось, что из флоридзина в качестве субстрата возникают в нейтральных и анаэробных, слабее в аэробных условиях, флоретинат и флороглюцин. Эта реакция протекает сравнительно медленно — флоретинат обнаруживается в инкубационной смеси лишь через 3—7 часов. Флоретинат и флороглюцин образуются также в случае прибавления в инкубационную смесь флоретина как субстрата.

При идентификации флороглюцина использовали его чистый реактив. Свидетель и исследуемое вещество имели сходные свойства (табл. 2).

Таблица 2

Свойства продуктов превращения флоридзина в условиях *in vitro*

Веще- ство	Окраска пятен при				$R_f$ в раствори- телях		$\lambda_{\text{макс.}}$
	дневном свете	УФ-е	УФ+NH <sub>3</sub>	с ДАСК	А	Б	
Флоре- тинат	бесцветн.	фиоле- товая	не изме- няется	фиоле- товая	0,78	0,92	277
Флоро- глюцин	бесцветн.	фиоле- товая	синяя	корич- невая	0,45	0,67	265

По своему характеру УФ-спектры чистых и исследуемых веществ тоже сходны. Свободный флороглюцин является ненативным соединением, он в тканях яблони не обнаруживается.

Полученные данные исследований указывают на то, что флоретинат образуется из флоридзина. Однако для подтверждения этого вывода необходимо было выяснить еще один вопрос — не возникает ли флоретинат из флоридзина через продукты его окисления типа ПОФ? — Относительно такой возможности дают ответ следующие полученные в ходе исследований отрицательные данные: флоретинат образуется в анаэробных условиях активнее, чем в аэробных условиях; при подавлении окисления флоридзина тиомочевинной — ингибитором о-дифенолоксидазы содержание флоретината в инкубационной смеси повышается (табл. 3).

Таблица 3

**Разрушение флоридзина в зависимости от аэрации и воздействия тиомочевинной (ТМ)**

Условия опыта	Содержание в инкуб. смеси в мг/мл после 24 час. экспозиции		
	*флоридзина	флоретината	продуктов окисления типа ПОФ
Аэробные	1,120	0,065	0,707
Анаэробные	0,082	0,101	0,186
Аэр.+ТМ	1,082	0,164	0,270
Анаэр.+ТМ	0,218	0,174	0,097

\* Исходное содержание флоридзина в инкубационной смеси — 2 мг/мл.

Как видно из таблицы 3, при подавлении окисления флоридзина содержание флоретината в инкубационной смеси повышается, и наоборот.

Если бы флоретинат возникал из продуктов окисления флоридзина, то его содержание в ходе аэробного автолиза тканей яблони должно было бы повышаться. Однако такого повышения содержания флоретината среди продуктов автолиза листьев нами не наблюдалось. Среди этих продуктов нашли еще ферулат, который бывает трудно обнаружить в обычных спиртовых экстрактах. Максимум его содержания в автолизате отмечали через 3 часа (с момента начала автолиза). Ферулат идентифицировали с помощью чистого реактива. В автолизатах листьев яблони содержание ферулата выше, чем в автолизатах коры побегов.

Наконец, продукты окисления флоридзина имеют двойную связь в цепи  $C_3$  и, следовательно, должны соответственно образовывать *n*-кумарат. Флоретинат, имеющий одинарную связь в цепи

$C_3$ , должен возникать при расщеплении флоридзина. Следовательно, образование флоретината из флоридзина через *n*-кумарат произойти не может. Такой вывод подтверждается еще тем, что прибавление *n*-кумарата в инкубационную смесь не повышает содержания флоретината.

Все данные наших исследований показывают, что флоретинат образуется непосредственно из самого флоридзина, а не из продуктов его окисления.

Далее нас заинтересовал вопрос: в чем заключается физиологическое значение флоретината? Если в инкубационную смесь прибавить чистый флоретинат, то после инкубации с неочищенным ферментным препаратом из тканей яблони в реакционной смеси обнаруживаются *n*-кумарат и кофейнат. Следовательно, флоретинат используется ферментами яблони для образования остальных коричных кислот, т. е. является нативным соединением в яблоне. В случае добавления к инкубационной смеси *n*-кумарата, после ее хроматографирования обнаруживается еще и кофейнат. Последние данные показывают, что реакция *o*-гидроксирования в тканях яблони протекает легко.

Кофейнат обнаружен в тканях яблони в результате исследований ряда авторов (12, 18—22). С целью идентификации кофейната мы использовали его чистый реактив. Все свойства свидетеля и исследуемого вещества ( $R_f$  в разных растворителях, окраски пятен на хроматограммах в УФ-свете, спектр поглощения и др.) совпадали.

Однако при введении в листья яблони меченого фенилаланина метка радиоактивности обнаруживается в флоридзине и коричных кислотах и отсутствует в флоретинате (11). Если это так, то флоретинат не может являться основным промежуточным соединением при биосинтезе коричных кислот из фенилаланина. Флоридзин и коричные кислоты возникают из фенилаланина параллельно. Исходя из этого факта, вышеописанный путь образования коричных кислот из флоретината может быть у яблони побочным путем. По-видимому, флоретинат и возникает в тканях яблони как побочный продукт, который не находится на главном пути биосинтеза коричных кислот. Основной путь возникновения коричных кислот должен исходить непосредственно из фенилаланина.

Несмотря на то, что при введении в листья яблони  $C^{14}$ -фенилаланина радиоактивность его включается в коричные кислоты, нам не удалось обнаружить фенилаланин-аммиак-лиазную активность у неочищенного ферментного препарата, гомогенатов и тканей яблони. Однако у других растений эта активность легко обнаруживается (9). Под действием ацетоновых препаратов из листьев яблони тоже не происходило превращения фенилаланина в коричную кислоту. Не обнаружили мы в тканях яблони и свободной коричной кислоты, о которой приводится указание в ли-

температуре (11). В молодых тканях яблоки не было обнаружено метаболизма коричной кислоты. Итак, по нашим данным свободная коричная кислота не содержится в тканях яблоки. Остается одна возможность — промежуточная коричная кислота является у яблоки связанным соединением.

### Обсуждение результатов

Как показывают данные проведенных исследований, образование коричных кислот из флоридзина через флоретинат является весьма вероятным путем их образования. Однако этот путь, по нашему мнению, не может быть основным, так как метка радиоактивности из фенилаланина не включается в флоретинат. В то же время флоридзин и коричные кислоты становятся радиоактивными (11). Такие факты наводят нас на предположение,

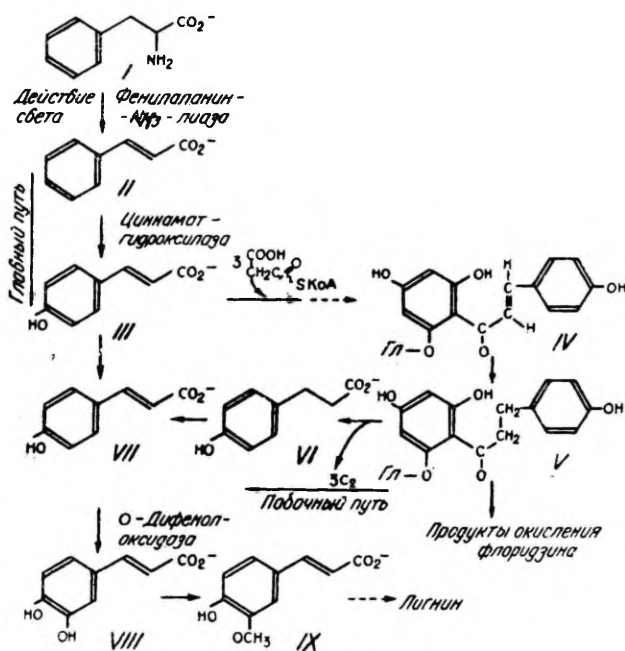


Рис. 1. Предполагаемая схема образования коричных кислот у яблоки.

I — фенилаланин, II — связанная транс-коричная кислота, III — связанный транс-*n*-кумарат, IV — тетраоксикалкон-глюкозид, V — флоридзин, VI — флоретинат, VII — свободный транс-*n*-кумарат, VIII — кофейнат, IX — ферулат.

что флоридзин и коричные кислоты возникают параллельно из фенилаланина. Однако при этом коричные кислоты могут в некоторых случаях и в некоторой степени образовываться и из флоридзина. Но детальный механизм реакции от фенилаланина до коричных кислот — с одной стороны, и от фенилаланина до флоридзина — с другой стороны, остается пока неизученным, так как в свободном виде эти соединения у яблони обнаружить не удается. Очевидно эти соединения являются связанными соединениями. Такое положение согласуется с данными работ за последние годы ряда авторов в отношении других растений (20).

Используя литературные данные (1, 2) и результаты собственных исследований, можно представить следующую гипотезную схему образования коричных кислот у яблони (рис. 1).

По приведенной схеме, в тканях яблони из фенилаланина возникают связанные коричные кислоты. При благоприятных для лигнификации условиях эти кислоты переходят в свободные формы и используются для лигнификации. Часть связанных коричных кислот переходит в флоридзин, который при надобности используется для образования коричных кислот через флоретинат. В последнем случае для образования коричных кислот расходуются запасные вещества фенольного характера.

### Выводы

1. Флоретинат образуется в тканях яблони из флоридзина, а не из продуктов его окисления. Эта кислота является у яблони нативным соединением и используется ферментами яблони для образования *n*-кумарата и кофейната. Реакция *o*-гидроксилирования происходит у яблони легко и подавляется тиомочевинной — ингибитором *o*-дифенолоксидазы.

2. Свободная коричная кислота в тканях яблони нами не обнаружена. В молодых тканях яблони в условиях *in vitro* не наблюдали превращения коричной кислоты в оксикоричные кислоты.

3. Выдвигается гипотеза, по которой коричные кислоты у яблони образуются двумя путями: основной путь — непосредственно из фенилаланина, и побочный путь — при использовании запасных фенольных соединений для лигнификации — через флоридзин и флоретинат.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ниш, А. С. В кн.: Биохимия фенольных соединений. Под ред. Дж. Харборна. Изд-во Мир, 1968, 234.
2. Запрометов, М. Н. Усп. совр. биол., 1967, 63, 3, 384.
3. Gamborg, O. Canad. J. Biochem., 1966, 44, 791.
4. Engelsma, G., Meyer, G., Acta bot. neerl., 1965, 14, 1, 73.
5. Engelsma, G. Nature, 1965, 203, 5015, 1117.

6. Engelsma, G. Acta bot. neerl., 1966, **15**, 2, 394.
7. Scherf, H., Zenk, M. H. Z. Pflanzenphysiol., 1967, **57**, 5, 401.
8. Scherf, H., Zenk, M. H. Z. Pflanzenphysiol., 1967, **56**, 2, 203.
9. Higuchi, T. Agricult. and Biological Chemistry. 1966. **30**, 7, 667.
10. Hutschinson, A., Taper, C. D., Towers, G. H. Canad. J. Biochem. and Physiol., 1959, **37**, 7, 901.
11. Avadhani, P. N., Towers, G. H. N. Canad. J. Biochem. and Physiol., 1967, **39**, 10, 1605.
12. Tomaszewski, M. Tagungsberichte 35, Physiologische Probleme in Obstbau. Berlin, 1962, 9.
13. Lewak, S., Pieniazek, I. Bull. Acad. Pol. Sci. ser. biol., 1965, **13**, 10, 569.
14. Grochowska, M. J. Plant Physiol., 1966, **41**, 3, 432.
15. Grochowska, M. J. Bull. Acad. Pol. Sci. ser. sci. biol., 1967, **15**, 8, 455.
16. Patschke, L., Hess, D., Grisebach, H. Z. Naturforsch., 1964, **196**, 3, 12, 1114.
17. Das, V. S. R., Rao, J. V. S. Current Sci, 1964, **33**, 15, 471.
18. Börner, H. Beitr. Biol. Pflanz., 1961, **36**, 97.
19. Henke, O. Flora, 1963, **13**, 153, 2, 358.
20. El-Basyouni, S. Z., Towers, F. H. N. Canad. J. Biochem., 1964, **42**, 2, 203.

## VOM METABOLISMUS DER ZIMTSÄUREN IN APFELBÄUMEN

L. Sarapuu und E. Vitte

### Zusammenfassung

Die Phloretinsäure gehört zu den nativen Verbindungen der Apfelbaumgewebe und wird von dessen Fermenten zur Bildung von *p*-Cumarsäure und Kaffeesäure benutzt. Die Phloretinsäure wird von Geweben des Apfelbaumes aus Phloridzin gebildet. Freie Zimtsäure wurde in den Geweben des Apfelbaumes nicht gefunden und auch keine Umwandlung des reinen Präparates in *p*-Cumar- oder andere Zimtsäuren festgestellt. Es wird angenommen, daß Zimtsäuren in Apfelbäumen auf zweierlei Wegen entstehen — aus Phenylalanin mit gebundenen Zimtsäuren als Zwischenprodukte (Hauptweg) oder aus Phenylalanin über Phloridzin und Phloretinsäure (Nebenweg). Phloridzin wird benutzt, wenn Zimtsäuren aus Reservestoffen phenolischer Herkunft gebildet werden.

## СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ЛИГНИФИКАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ ПОБЕГОВ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Х. Мийдла, А. Милиус и Т. Вайнярв

До настоящего времени в литературе имеются многочисленные данные относительно влияния минерального питания на основной обмен веществ у растений. Однако данные о влиянии указанного фактора на вторичный обмен, и особенно на ароматические мономерные и конденсированные фенольные соединения, являются весьма недостаточными.

У большинства исследованных до настоящего времени видов растений обнаружены фенольные соединения. Из отдельных наземных органов яблони различные мономерные фенольные соединения больше всего встречаются в листьях, в коре их меньше, и еще меньше встречаются они в древесине (1—3).

В яблоне содержатся как в свободной, так и в связанной форме следующие ароматические фенольные соединения:

1) из  $C_6-C_1$ -группы — ванилин, сиреневый альдегид и *n*-оксисбензальдегид и их соответствующие кислоты (4);

2) из  $C_6-C_3$ -группы — *n*-кумарат, кофейнат, ферулат, синапинат, флоретинат и хлорогенат (1—3, 5);

3) из  $C_6-C_3-C_6$ -группы — флоридзин, гиперин, кверцитрин и рутин (1—3, 6—8).

Функции фенольных соединений в процессах жизнедеятельности растений являются сложными. Имеются данные, что фенольные соединения с помощью *o*-дифенолоксидазы принимают участие в конечных этапах процесса дыхания у растений, способствуют вторичным окислительно-восстановительным реакциям, участвуют в окислительном и фотосинтетическом фосфорилировании, образуют с белками комплексные соединения, встречаются при известных концентрациях в качестве ингибиторов роста или стимуляторов и являются запасными веществами.

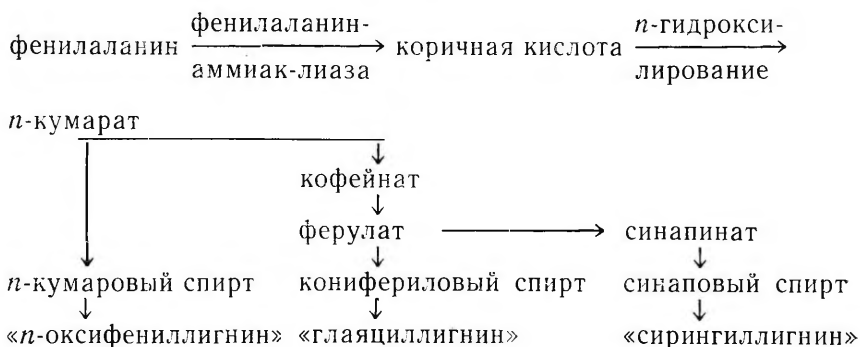
Одним из важнейших процессов использования мономерных фенольных соединений у растений является процесс лигнифика-

ции, в ходе которого в клеточных стенках растения откладывается между целлюлозными фибриллами высокомолекулярное гетерогенное вещество древесины — лигнин.

В литературных источниках встречаем данные о том, что лигнификация клеточных стенок означает прекращение роста клеток и таким образом приводит растительные ткани к физиологической смерти (9—11), придает тканям механическую опору и защищает ткани от химического разложения (12, 13), имеет особое значение в образовании сосудов древесины как водопроводящей системы, так и при сращении прививочных компонентов плодовых деревьев (14, 15). У растений наблюдается снижение содержания лигнина даже в течение вегетационного (16) и весенне-зимнего периода (17—19). Содержание лигнина ставят во взаимосвязь с зимостойкостью древесных растений (20—25).

В настоящее время достаточно хорошо охарактеризованы основные черты ароматического строения лигнина и пути его образования из продуктов фотосинтеза. Первая стадия в биосинтезе лигнина — образование ароматических структур из первичных продуктов фотосинтеза — является общей для ароматических аминокислот и фенольных соединений. Наиболее эффективные результаты в изучении биосинтеза лигнина были получены при применении метода радиоактивных предшественников. Браун, Райт и Ниш (26), работая с мечеными соединениями, пришли к выводу о существовании у растений пула органических  $C_6-C_3$ -кислот, центральная роль в котором принадлежит фенилпирувату и оксифенилпирувату, а также производным коричной кислоты. В процессе биосинтеза лигнина большую роль играют недавно обнаруженные у растений ферменты фенилаланин-аммиак-лиазы и тирозин-аммиак-лиазы (27—29), катализирующие прямое дезаминирование фенилаланина и тирозина с образованием коричной и *n*-оксикоричной кислот. Юнг, Тауерс и Ниш (30) показали, что ферменты фенилаланин-аммиак-лиазы и тирозин-аммиак-лиазы преобладают в сосудистых растениях, не типичны для мхов и отсутствуют у водорослей, лишайников и у большинства грибов. Авторы предполагают, что присутствие этих ферментов связано со способностью растений синтезировать фенилпропановые структуры лигнина. Ниш (31) дает схему синтеза простейших фенольных фрагментов до *n*-оксифенил-, гваяцил- и сирингил-лигнина, учитывая в последних типах лигнина степень их метилирования. В бензольных ядрах могут присутствовать как гидроксильные, так и метоксильные группы, из которых наиболее характерными являются метоксильные группы ( $-OCH_3$ ), так как обогащение лигнина метоксилами и носит название — прогрессивное одревеснение (17). При возникновении первичных компонентов лигнина и при образовании ненасыщенных кислот исходным веществом является *n*-кумарат.

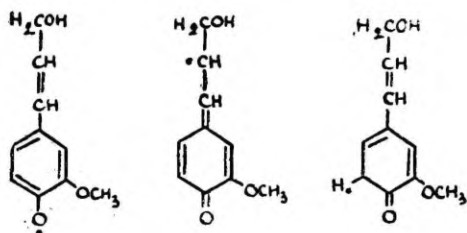
Особенно у лиственных пород существенным является прямое необратимое дезаминирование по следующей схеме:



Можно представить, что известные три типа лигнина могут образоваться из коричной кислоты через соответствующие спирты. Предполагают, что в растениях *n*-кумаровый, конифериловый и синаповый спирты, которые различаются по содержанию метоксильных групп, а также глюкозиды этих спиртов — являются основными предшественниками в лигнификации (32, 33).

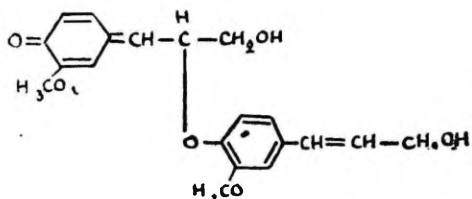
В работах Фрейденберга и Харкина (34), Манской и Кодиной (35) указывается, что глюкозиды названных спиртов содержатся в камбии и прилегающих к нему тканях, где они гидролизуются под действием фермента β-глюкозидазы. При этом освобождаются спирты, превращающиеся при воздействии окислительного фермента — пероксидазы — в лигнин.

Роль окислительного фермента в процессе лигнификации была основательно изучена Фрейденбергом (36) на созданной им модели процесса ферментативной полимеризации кониферилового спирта. Согласно представлениям этого автора, окислительный фермент дегидрирует спирты и при этом образуются радикалы следующего типа:



ароксильная *p*-хиноидная *o*-хиноидная  
форма форма форма

Эти свободные радикалы, комбинируясь друг с другом, образуют димеры, названные Фрейденбергом (36) лигнолами. Были изолированы и идентифицированы 11 дилигнолов, среди них — хинонметид



Хинонметид нестабилен и рассматривается как исходный промежуточный продукт, который в результате внутримолекулярной перегруппировки или при конденсации с другими соединениями дает стабильные и сложные продукты.

Олиголигнолы (ди-, три- и тетрамеры) были выделены Фрейденбергом (36) при моделировании им процесса лигнификации *in vitro*, а некоторые димеры (дегидрокониферилловый спирт, гваяцилглицерин- $\beta$ -кониферилловый эфир и пинорезинол) обнаружены в камбиальном соке хвойных.

На основе химических и биохимических исследований в настоящее время принято представление о лигнине как о полимо-

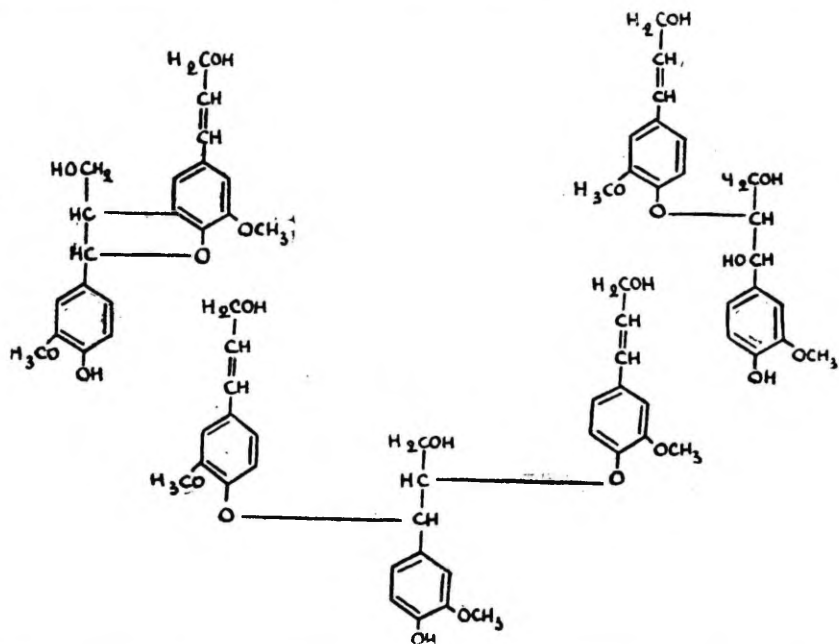


Рис. 1. Некоторые ди- и тримеры в процессе лигнификации по Брауну (37).

лекуле, в которой мономеры связаны разными типами связей: эфирными и углерод-углеродными (рис. 1).

Для установления степени лигнификации в древеснеющих растительных тканях используют определение выхода ароматических альдегидов после щелочно-нитробензольного окисления. В результате окисления нативных  $C_6-C_3$ -спиртов образуются соответствующие  $C_6-C_1$ -альдегиды: *n*-оксibenзальдегид, ванилин и сиреневый альдегид.

В результате окисления нитробензолом древесины хвойных пород получают в основном ванилин (25%), а из древесины лиственных пород — ванилин и сиреневый альдегид (сумма альдегидов 35—40%, соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду 1 : 3).

Как известно, основной обмен веществ у растений зависит от внешних условий. Связь вторичного обмена веществ с основным обменом показали в своих исследованиях Дэвис (38) и Запретов (39). Следовательно, выявляющиеся в основном обмене веществ сдвиги под влиянием внешних условий должны проявляться также у растений и во вторичном обмене веществ. О влиянии минеральных элементов на вторичный обмен веществ в литературе встречаются скудные сведения (40—43), в них приводится указание о некотором ингибирующем действии высокой дозы и стимулирующего влияния низкого уровня азота на содержание фенольных соединений в растениях.

О влиянии фосфора на повышение содержания фенольных соединений указывают в своих работах Нижарадзе (44), Берестецкий и Мороз (45). В работах этих же авторов отмечается, что калий не оказывает влияния на содержание соединений фенольного характера.

Отрицательное влияние кальция на процессы лигнификации подчеркивает Липец (46).

Исходя из вышесказанного, в настоящей работе рассматриваются свободные (после экстракции этанолом) фенольные соединения (флоридзин и гиперин) древесины побегов яблони, а также и продукты окисления древесины нитробензолом в щелочной среде при вегетационных опытах в зависимости от различного минерального питания.

При определении продуктов разложения древесины придерживались точки зрения, что при окислении древесины нитробензолом в щелочной среде  $C_6-C_1$ -альдегиды возникают только из лигнина (встречающиеся в лигнине спирты в ходе определения окисляются в альдегиды) и что другие имеющиеся в побегах соединения (азотистые вещества, сахараиды и т. п.) не влияют на количественное содержание альдегидов.

Таким образом, между содержанием лигнина и содержанием продуктов его разложения существует определенная взаимосвязь и количество указанных альдегидов можно принять за по-

казатель содержания лигнина на разных стадиях роста и развития растений. Можно установить также степень лигнификации клеточных стенок побегов, которая одновременно является и одним из показателей зимостойкости. В связи с тем, что степень лигнификации зависит от уровня метилирования компонентов лигнина, в опытах на основе содержания метоксильных групп обращали большое внимание на взаимное соотношение содержания ванилина и сиреневого альдегида.

### Материал и методика

Вегетационные опыты проводили на кафедре физиологии и биохимии растений Тартуского государственного университета с 1962 по 1966 год, а биохимические анализы — с 1964 по 1968 год. Предварительные опыты с целью выяснения и обоснования выбора для опыта с удобрением проводили в период 1960—1961 гг.

#### 1. Закладка опытов

Объектом был сорт яблони Антоновка, окулированный на подвой Иист-Молинг (ЕМ) типа XI, который культивировали в течение трех лет в 15-литровом вегетационном сосуде при различных условиях удобрения. Для вегетационных опытов использовали песчано-суглинистую почву средней тяжести с толщиной слоя в 20 см. Почву брали в 1961 году осенью с картофельного поля опытной базы Полли института земледелия и мелиорации ЭССР отделения Морна. При заложении опытов в эту почву добавляли  $\frac{1}{3}$  чистого песка.

В начале опыта почва содержала на 100 г. почвы 27.0 мг подвижного  $P_2O_5$  и 17,8 мг подвижного  $K_2O$ , 0,26% N и 1,4% CaO, рН почвы было 6,1 (данные Центральной химической лаборатории Эстонского научно-исследовательского института земледелия и мелиорации).

Окулированные подвои получили из опытной базы Полли отделения Морна. Их сортировали по размеру весной, до посадки в сосуды. Обрезку корней саженцев проводили на 10—15 см, а обрезку ветви продолжения — на высоте 10 см сверху от места окулирования. Растение взвешивали. В сосуд высаживали по одному растению.

Варианты опыта выбирали исходя из предварительно проведенных, так называемых разведочных опытов. Разведочные опыты показали, что одностороннее внесение минеральных соединений в виде отдельных элементов приводит к тому, что реакция растений в таком случае превышает физиологические нормы. Так, использование только азотного удобрения заметно удлиняло период роста саженцев Антоновки осенью. Биохимическими

анализами в это время года было установлено высокое содержание ванилина и низкое содержание сиреневого альдегида (соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду составляло 1:0,5). Противоположные результаты наблюдались при совместном использовании Р- и К-удобрений.

Исходя из вышеизложенного было решено провести следующие опыты:

1. При опытах использовать два срока внесения удобрения, а именно, — весной — непосредственно после распускания почек, и летом — во время формирования верхушечной почки, предполагая, что во время распускания почек при внесении полного минерального удобрения создается высокий агрофон для роста листьев и побегов, повторное внесение удобрения (РК) больше не благоприятствует росту, а создает условия для подготовки побегов к перезимовке.

2. При опытах не вносить отдельно N, P и K, так как эти элементы в разведочных опытах приводили к физиологическим отклонениям.

3. Проследить совместное влияние РК без N, так как этот разведочный вариант при прослеживании у гистохимического контроля выявил раннюю и сильную реакцию Меуле и образование сравнительно более утолщенных стенок клеток, чем у других вариантов.

4. Использовать при опытах способ удобрения — внесение NPK как в первой, так и во второй половине вегетационного периода, т. е. способ, близкий к применяемому в опытной практике. Этот вариант опыта должен был бы способствовать также выяснению — благоприятствует ли внесение N вместе с РК во время формирования верхушечной почки одревеснению.

5. Проследить в опытах влияние кальция, как иона, тормозящего рост клетки.

В опыты взяты следующие варианты:

№ варианта	Удобрение	
	весной	летом
1 (контроль)	0	0
2	PK	PK
3	NPK	PK
4	NPK	0
5	NPK	NPK
6	NPK(Ca)	NPK(Ca)

Удобрения вносили на 1 кг абсолютно сухой почвы: N — 0,15, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> — 0,10 и K<sub>2</sub>O — 0,15 граммов в виде 1% — водного раствора. Растворы удобрения вносили весной и летом: (каждый раз половина раствора использовалась для поливки почвы снизу че-

рез стеклянную трубку, а другая половина раствора — для поливки почвы сверху).

Для всех вариантов опытов использовали в качестве удобрения следующие нейтральные соли:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и  $\text{KCl}$ . Исключение составлял вариант  $\text{NPK}(\text{Ca})$ , у которого хотели исследовать влияние  $\text{Ca}$  на одревеснение и поэтому в этом случае использовали соли:  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{KNO}_3$  и  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .



Рис. 2. Растения вегетационных опытов —  $\text{PK}+\text{PK}$ (49) и  $\text{NPK}$ (159).

В каждом подопытном варианте было по 5 деревьев яблони. Вегетационные сосуды были закрыты сверху жестяными крышками (рис. 2), препятствующими проникновению атмосферной влаги в сосуды, и таким образом опыты могли стоять в течение всего года на открытом воздухе. В период вегетации сосуды с растениями ставились на подставку из досок, где их переставляли после каждой поливки. Варианты опытов поливали через день соответственно весу вегетационного сосуда. В опытах влажность почвы была постоянной —  $60\% W_{\text{max}}$ .

Перед наступлением зимы вегетационные сосуды с подопытными растениями закапывали до верхнего края в почву, которую покрывали еловыми ветками и листьями. Температура почвы в сосудах зимой не была ниже  $0^\circ\text{C}$ .

Окуляты обрезали весной, на втором году опыта, на высоте 40 см ствола и придавали кроне форму в виде трех основных скелетных ветвей. Обрезку побегов ( $1/3$  часть) проводили весной на третьем году опытов. Работа по борьбе растений против красного паука (*Tetranychus urticae* Koch.) проводилась 0,1%-ным раствором тиофоса.

Опыты были ликвидированы после трехлетнего воздействия режимов удобрения — осенью в октябре 1964, 1965 и 1966 гг. во время фазы листопада.

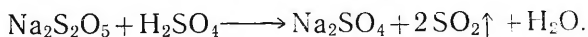
Весь материал опытов фиксировали в автоклаве 20 мин. при температуре 120°С. Кору отделяли от древесины непосредственно после выдерживания в автоклаве. Древесину и кору высушивали в термостате при 50—60°С и измельчали электрической мельницей. Для анализов использовали абсолютно сухую древесину.

## 2. Биохимический анализ

а) Свободные фенольные соединения определяли по Бюрнеру (2), Бардинской и Шуберт (48) в модификации Мийдла (4).

б) Определение содержащихся в лигнине ароматических  $C_6-C_1$ -альдегидов проводили с помощью окисления нитробензолом в щелочной среде по методу Фрейденберга и др. (49), модифицированному авторами работы нижеследующим способом. Древесину предварительно экстрагировали смесью этанолбензолом (1:1). Высушенную древесину (0,1 г) взвешивали и помещали в микроавтоклав (рис. 3), к древесине прибавляли 2л NaOH и нитробензол (на 0,1 г сухой древесины 1,07 мл 2N NaOH и 0,06 мл нитробензола). Для окисления автоклавы помещали на три часа в качающуюся масляную ванну при температуре 160°С.

Из продуктов окисления нитробензол удаляли перегонкой водяным паром, так как он мешает при хроматографировании. После дистилляции среду нейтрализовали разбавленной серной кислотой до слабокислой реакции (рН 4—5). Полученный раствор экстрагировали в делительной воронке бензолом (4 раза по 10 мин.). Количество добавленного бензола составляло половину от количества нейтральной смеси. Встряхивание проводили с помощью магнитной мешалки. Полученный экстракт бензола сгущали до 20—40 мл и затем вновь экстрагировали в делительной воронке 20%-ным раствором метабисульфита натрия ( $Na_2S_2O_5$ ). Экстракцию проводили 4 раза по 10 мин., каждый раз брали точно 20 мл раствора  $Na_2S_2O_5$ . Полученный раствор сульфитного альдегида отделяли и растворяли в 15%-ной серной кислоте. Необходимое количество серной кислоты вычисляли по уравнению реакции:



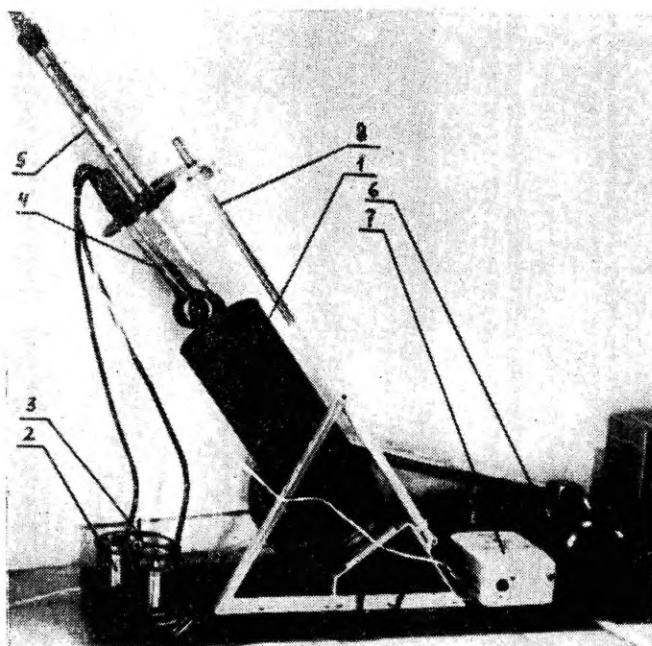


Рис. 3. Аппарат для окисления древесины:

- 1 — масляная ванна
- 2 — микроавтоклавы
- 3 — держатель автоклавов
- 4 — электронагреватели
- 5 — контактный термометр
- 6 — мотор
- 7 — автоматический регулятор
- 8 — держатель контактного термометра

После удаления  $\text{SO}_2$  проводили 4 раза по 10 минут экстракцию раствора эфиром (количество эфира составляло примерно  $\frac{1}{4}$  часть от количества раствора), эфир выпаривали и полученный осадок растворяли в 5 мл этанола.

Хроматографировали на хроматографической бумаге (Ленинградская Б) в виде полоски длиной в 3 см. В качестве растворителя использовали *n*-бутанол, который насыщали 3%-ным раствором гидроксида аммония (90 мл *n*-бутанола + 40 мл 3% гидроксида аммония). Для разгонки использовали органическую фазу.

Для количественного определения свободных фенольных соединений и продуктов нитробензольного окисления отмечали пятна в УФ-свете в присутствии аммиака. Пятна элюировали 48%-ным этанолом.

Экстинкцию флоридзина и ванилина определяли спектрофото-

метром СФ-4 при длине волны 280 нм, сиреневого альдегида — при 305 нм и гиперина — при 360 нм.

Концентрацию вычисляли по формуле, основывающейся на законе Бэра-Ламберта (экстинкция пропорциональна концентрации поглощаемого вещества и толщине поглощаемого слоя, см. стр. 7).

### 3. Статистика

Данные проведенных опытов обрабатывали статистически по  $t$ - и  $F$ -тесту.

Среднюю квадратичную ошибку среднего арифметического ( $m_{\bar{x}}$ ) вычисляли по уравнению:

$$m_{\bar{x}} = \pm \sqrt{\frac{\sum(\bar{x} - x_i)^2}{n(n-1)}}$$

$n$  — число степеней свободы

$x_i$  — результаты отдельного определения

$\bar{x}$  — арифметическое среднее

Границы достоверного интервала для надежности 0,95 находили по формуле:

$$K_{0,95} = \pm t_{0,95n} \cdot m_{\bar{x}}$$

$t$  — коэффициент распределения Стьюдента,

$n$  — число степеней свободы.

Вероятную относительную ошибку (в %) вычисляли по уравнению:

$$\Delta x (\%) = \pm \frac{K_{0,095} \cdot 100}{\bar{x}}$$

Для обнаружения отмеченных существенных различий сравнивали между собой опытные варианты

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}, \text{ где } S = \sqrt{\frac{\sum(x_{11} - \bar{x}_1)^2 + \sum(x_{12} - \bar{x}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

Коэффициент корреляции вычисляли по формуле:

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

Данные интерпретировали по Бейли (51).

Применяли многофакторные анализы дисперсии. Существенные отмеченные различия дисперсии устанавливали по  $F$ , где в качестве источников варьирования использовались варианты, повторности, годы и их взаимодействия.

В таблице 1 приведены данные на основе среднего минимального и максимального содержания изученных веществ 9 повторностей анализов в варианте, где учитывали также биологическое варьирование, т. е. отдельные растения подопытных вариантов (в каждом варианте было три растения и каждое из них подвергали анализу в 3-х повторностях).

Таблица 1

Статистические характеристики метода определения фенольных соединений

Наименование анализируемых веществ	Минимальное (мин.) и максимальное (макс.) содержание	Среднее арифм.	Ошибка среднего арифм.	Границы довер. интерв.	Вероятность относит. ошибки в %
Флоридзин	мин.	9,97	0,29	0,67	6,6
	макс.	13,94	0,09	0,21	1,4
Гиперин	мин.	0,59	0,02	0,05	7,7
	макс.	1,04	0,04	0,09	8,8
Продукты нитробензольного окисления:					
а) ванилин	мин.	12,0	0,24	0,55	4,6
	макс.	16,6	0,28	0,64	3,8
б) сиреневый альдегид	мин.	11,9	0,52	1,19	10,0
	макс.	32,5	0,76	1,74	5,3

Как видно из данных таблицы 1, вероятная относительная ошибка, вычисленная на основе доверительного интервала для надежности 0,95, зависит от химической природы определенных веществ и их количественного содержания и находится в пределах 1,4—10,0%.

## Результаты

### 1. Флавоноидные гликозиды

Из флавоноидных гликозидов в древесине побегов яблони содержатся флоридзин и гиперин, которые реагируют на различные минеральные удобрения и сроки их внесения. Из таблицы 2 выясняется, что азот по сравнению с РК-удобрением и контролем значительно снижает содержание обоих указанных веществ.

Из вариантов растений, получивших азотное удобрение, наименьшее содержание флоридзина и гиперина в древесине расте-

Содержание свободных флоридзина и гиперина в древесине побегов яблони в 1964—1966 гг. (мг/г сухого веса)

Варианты опытов	Год	Флоридзин		Гиперин	
		$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$
Без удобрения	1964	20,38	0,25	1,00	0,03
	1965	12,96	0,25	1,14	0,02
	1966	11,39	0,39	1,04	0,04
РК+РК	1964	21,44	0,22	0,92	0,01
	1965	15,75	0,10	1,01	0,03
	1966	13,94	0,09	0,84	0,02
NPK+РК	1964	18,39	0,19	0,76	0,01
	1965	11,78	0,06	0,86	0,03
	1966	13,41	0,13	0,66	0,04
NPK	1964	16,58	0,14	0,80	0,02
	1965	11,60	0,12	0,85	0,02
	1966	12,99	0,13	0,66	0,04
NPK+NPK	1964	16,30	0,12	0,63	0,04
	1965	11,57	0,12	0,81	0,02
	1966	10,46	0,12	0,59	0,02
NPK(Ca)+NPK(Ca)	1964	10,71	0,23	0,49	0,04
	1965	7,79	0,38	0,79	0,02
	1966	9,97	0,29	0,60	0,02

ний отмечается в течение трех лет у вариантов NPK+NPK и NPK(Ca)+NPK(Ca), т. е. у растений, получавших в вегетационный период азот по два раза. Оказывается, что чем большее количество азота получает яблоня, тем больше используется углеродных соединений для образования аминокислот и белков и тем интенсивнее происходят процессы роста.

Тормозящее влияние азотных соединений на биосинтез антоцианов и происходящее одновременно ускорение белкового обмена веществ наблюдали и другие исследователи (40, 42, 52, 53).

Далее выясняется, что ион кальция в слабокислой среде не оказывает стимулирующего влияния на биосинтез фенольных соединений.

Из растений вариантов с азотом наибольшее содержание флоридзина и гиперина отмечается у растений варианта NPK+РК. При внесении полного минерального удобрения после распускания почек создаются благоприятные предпосылки для раз-

Таблица 3

## Некоторые показатели размеров вегетативных органов яблони в 1966 г.

Варианты опытов	Длина побегов в см		Вес побегов в г		Вес корней в г		Длина корней в см		Количество листьев ш		Вес листьев в г		Общая площадь листьев в см <sup>2</sup>	
	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$	$\bar{x}$	$\pm m\bar{x}$
Без удобрения	47	11,0	5	1,3	204	15,8	2895	42,9	62	10,6	6	0,9	783	158,1
PK+PK	69	5,2	6	0,4	129	11,5	3234	79,7	37	7,4	3	0,6	396	85,5
NPK+PK	270	27,7	42	3,2	292	39,2	5233	38,8	126	16,3	17	2,0	2285	538,8
NPK	174	7,4	28	1,4	227	8,8	4070	29,6	126	15,6	15	0,4	1980	37,5
NPK+NPK	270	10,9	29	1,6	346	23,1	5933	448,3	157	29,6	15	0,9	2547	173,8
NPK(Ca)+NPK(Ca)	160	6,4	17	2,9	190	17,9	1704	142,5	126	15,1	13	1,7	1912	272,0

вития фотосинтетического аппарата. Внесение фосфорных и калийных удобрений летом ингибирует рост, вследствие чего фенольные соединения откладываются в большом количестве, т. к. они остаются неиспользованными для роста.

Растения варианта NPK+PK отличаются от вышеуказанных опытных вариантов по величине и площади листьев и по длине корней (табл. 3).

Что касается растений опытных вариантов без азота, то у них наибольшее содержание флоридзина отмечается в древесине растений у варианта PK+PK. В растениях варианта без удобрения содержание флоридзина тоже выше, чем в получивших азот растениях.

Максимум содержания гиперина наблюдается у растений контроля. Наименьший размер длины побегов и корней и пло-

Таблица 4

Содержание С<sub>6</sub>-С<sub>1</sub>-альдегидов — продуктов окисления древесины побегов яблони нитробензолом в щелочной среде в 1964—1966 гг. (мг/г сухого веса)

Варианты опытов	Год	Ванилин		Сиреневый альдегид		Соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду
		$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	
Без удобрения	1964	31,4	—	27,0	—	1 : 0,9
	1965	35,4	0,35	34,2	0,61	1 : 0,9
	1966	12,8	0,34	11,9	0,52	1 : 0,9
PK+PK	1964	22,0	—	34,0	—	1 : 1,5
	1965	26,2	1,02	37,2	0,96	1 : 1,4
	1966	15,4	0,81	22,4	1,24	1 : 1,5
NPK+PK	1964	13,2	—	39,0	—	1 : 2,9
	1965	14,2	0,18	39,8	0,45	1 : 2,8
	1966	12,0	0,24	32,5	0,76	1 : 2,7
NPK	1964	22,8	—	26,0	—	1 : 1,1
	1965	14,8	0,42	26,1	0,38	1 : 1,7
	1966	13,7	0,57	20,5	0,82	1 : 1,5
NPK+NPK	1964	16,4	—	20,6	—	1 : 1,2
	1965	14,8	0,57	19,8	0,48	1 : 1,3
	1966	16,3	0,28	18,9	0,18	1 : 1,2
NPK(Ca) + +NPK(Ca)	1964	—	—	—	—	—
	1965	16,2	0,28	19,4	0,18	1 : 1,2
	1966	12,3	0,19	13,8	0,19	1 : 1,1

щадя листьев наблюдается у растений обоих вариантов, особенно у вариантов без удобрения (табл. 3).

## 2. Продукты окисления древесины нитробензолом в щелочной среде

Различный режим удобрений не вызывает каких-либо качественных изменений в содержании продуктов окисления древесины (ванилин, сиреневый альдегид). Наблюдаются только количественные изменения как в случае с флавоноидными гликозидами.

Так, у растений варианта НРК+РК наиболее высокое среднее содержание сиреневого альдегида за 3 года составляет 37,1 мг/г, и наименьший уровень содержания ванилина — 13,1 мг/г, причем соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду — 1 : 2,8, т. е. наименьшее (табл. 4). В растениях этого варианта содержится больше всего лигнина сиригилового типа. При этом по размерам вегетативных органов указанные выше подопытные растения из вариантов с азотным удобрением стоят (табл. 3) на втором месте, по сравнению с растениями варианта НРК+НРК, в который азот вносили по два раза.

Однако у растений варианта без удобрения отмечается наибольшее среднее за три года содержание ванилина (26,5 мг/г) и наименьшее среднее содержание сиреневого альдегида (24,2 мг/г), т. е. более всего содержится лигнина гваяцилового типа. Наиболее высокое соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду составляет 1 : 0,9. Размеры вегетативных органов (длина побегов и корней, площадь листьев) у растений варианта без удобрения в большинстве случаев находятся в минимуме.

Оказывается, что как удобрение, так и сроки внесения удобрения оказывают большое влияние у растений подопытных вариантов на выход содержания продуктов разложения древесины. Последнее обстоятельство и было принято в опытах как показатель степени одревеснения у побегов яблони. Чем больше соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду (1 : 0,9), тем меньше метоксилированным является лигнин, тем больше образуется лигнина гваяцилового типа, и тем слабее одревеснение побега. Однако, чем меньше соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду (1 : 2,8), тем больше метоксилированным является в древесине лигнин, и тем больше образуется лигнина сиригилового типа, и потому побеги отличаются лучшим одревеснением, т. к. метоксилирование лигнина считаем за прогрессирующее одревеснение (лигнификацию). Далее из таблицы 4 выясняется, что суммарное содержание продуктов окисления древесины (альдегиды) не указывает на метоксилирование лигнина и потому оно не может быть объективным показателем степени одревеснения. Следовательно, при биохимических определениях лигнина следует учитывать не столько его количественное содержание, сколько его качественные свойства. Как

выясняется, внешние условия оказывают большое влияние на формирование компонентов лигнина. Растения остальных вариантов по своим показателям являются промежуточными между вариантами без удобрения и  $\text{NPK} + \text{PK}$ .  $\text{PK}$ -удобрения тормозят рост и благоприятствуют метилированию. Однако азотные удобрения, в противоположность  $\text{PK}$ -удобрениям, в основном благоприятствуют росту. Если после фазы распускания почек с помощью внесения полного минерального удобрения ( $\text{NPK}$ ) можно создать благоприятные условия для роста побегов, то для одревеснения побегов достаточно вносить  $\text{PK}$ -удобрения в фазе образования верхушечной почки.

При внесении  $\text{PK} + \text{PK}$ -удобрения без азота в подопытных растениях происходит ускорение образования флавоноидных гликозидов (табл. 2) и компонентов лигнина (табл. 4) по сравнению с синтезом тех же соединений у растений вариантов с азотом, но процессы метилирования у растений варианта без азота протекают неполностью, в результате чего соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду повышается.

Двухкратная доза кальция не ускоряет процессы метилирования. Липец (46) при культурах тканей тоже отмечает тормозящее влияние кальция на процессы лигнификации.

### 3. Показатели размеров вегетативных органов

Длина и вес побегов, количество и размер площади листьев у растений вариантов без азота — самые меньшие (табл. 3).

Наибольшей площадью листа и корневой системой из вариантов со внесением азота отличаются растения варианта  $\text{NPK} + \text{NPK}$ , т. е. растения, получавшие в период вегетации азот по два раза. Такие показатели несколько выше среднего отмечаются у растений варианта  $\text{NPK} + \text{PK}$ . Побеги растений этого варианта оказываются на основании биохимических показателей наиболее лигнифицированными.

### 4. Статистические данные

Статистически проработанные данные представлены в таблицах 1—8. Результаты продуктов окисления древесины сравнивали между собой, и после  $t$ -теста проводили еще многофакторный дисперсионный анализ. Как видно из таблицы 5, в большинстве случаев наблюдаются существенные различия между подопытными вариантами. Дисперсионный анализ (табл. 6, 7) показывает существенность различий по годам ( $P_F \leq 0,001$ ). Оказывается, что различным режимом удобрения можно воздействовать на формирование лигнина в побегах яблони. Большинство

показателей размеров вегетативных органов коррелирует (табл. 8). В отношении биохимических показателей у подопытных растений наблюдается незначительная корреляция.

Таблица 5

Разницы (d) в содержании продуктов окисления нитробензолом в щелочной среде и их уровень значимости (P) при различном режиме удобрения

$r' = 4$

Сравниваемые пары по удобрению	Разницы (d) и их уровень значимости (P)				Сумма альдегидов, среднее двух лет
	1965		1966		
	Ванилин	Сиреневый альдегид	Ванилин	Сиреневый альдегид	
NPK/NPK+PK	+0,6*	-13,7***	+0,9*	-12,0***	-6,4***
NPK/NPK+NPK	0,0	+6,3**	-2,6*	+1,6	+0,8*
„ /NPK(Ca)+NPK(Ca)	-1,4*	+6,7**	+1,1*	+6,7**	+2,8***
„ /PK+PK	-11,4***	-11,1**	-1,7*	-1,9*	-7,1**
„ /без удобр.	-20,6***	-8,1**	+0,9*	-8,6***	-6,2***
Без удобр./NPK+PK	+21,2**	-5,6***	+0,8**	-8,6***	-0,2
„ /NPK+NPK	+20,6***	+14,4***	-3,5**	+7,0***	+7,0***
„ /NPK(Ca)+NPK(Ca)	+19,2***	+14,8*	+0,2***	+1,9*	+9,0***
„ /PK+PK	+9,2*	-3,0**	-2,6*	-10,5**	-0,9
NPK+PK/NPK+NPK	-0,6	+20,0*	-4,3***	-13,6***	+7,2***
„ /NPK(Ca)+NPK(Ca)	-2,0**	+20,4**	-0,3	+18,7***	+9,2***
„ /PK+PK	-10,0**	+2,6**	-3,4**	+10,1***	-0,7***
NPK+NPK/NPK(Ca)+NPK(Ca)	-1,4	+0,4	+0,3***	+5,1***	+2,0
NPK(Ca)+NPK(Ca)/PK+PK	-10,0**	-17,8**	-3,1*	-8,6**	-9,9**
NPK+NPK/PK+PK	-11,4**	-17,4**	-0,9	-8,6*	-7,9**

$P \leq 0,05$  \*  
 $P \leq 0,01$  \*\*  
 $P \leq 0,001$  \*\*\*  
 $P > 0,05$

### Обсуждение

В древесине побегов яблони флоридзина содержится примерно в 10—20 раз больше, чем гиперина, и в случае двухкратной дозы азота содержание флоридзина снижается значительно больше, чем содержание гиперина, и поэтому при обсуждении остановимся на флавоноидных гликозидах, в основном на флоридзине, как на самом главном флавоноидном гликозиде в яблоне.

Влияние удобрения на содержание ванилина и сиреневого альдегида в годы опытов 1964—1966

Таблица 6

Источник варьирования	Значение варьирования		Число степеней свободы		Дисперсия		F		Уровень значимости P	
	ванилин	сиреневый альдегид	ванилин	сиреневый альдегид	ванилин	сиреневый альдегид	ванилин	сиреневый альдегид	ванилин	сиреневый альдегид
Варианты	98014	105869	5	5	19603	21173	111,3	51,1	≤0,001	≤0,001
Годы	65835	144197	2	2	32917	72099	186,9	174,2	≤0,001	≤0,001
Повторности	207	228	2	2	103	114	0,5	0,3	>0,05	>0,05
В X T	96369	276721	10	10	9687	27672	55,0	66,8	≤0,001	≤0,001
В X П	1558	3204	10	10	156	320	0,9	0,8	>0,05	>0,05
T X П	826	2027	4	4	206	507	1,2	1,2	>0,05	>0,05
Остаток	3521	8278	20	20	176	414				

Влияние удобрения на сумму и соотношение содержания альдегидов в годы опытов 1964—1966

Таблица 7

Источник варьирования	Значение варьирования		Число степеней свободы		Дисперсия		F		Уровень значимости P	
	Сумма альдегидов	Соотношение альдегидов	Сумма альдегидов	Соотношение альдегидов	Сумма альдегидов	Соотношение альдегидов	Сумма альдегидов	Соотношение альдегидов	Сумма альдегидов	Соотношение альдегидов
Варианты	65944	274807	5	5	13189	54961	15,4	36,8	≤0,001	≤0,001
Годы	397057	10057	2	2	193529	5028	232,6	3,4	≤0,001	≤0,001
Повторности	176	2017	2	2	88	1009	0,1	0,7	>0,05	>0,05
В X T	568397	70392	10	10	56840	7039	66,6	4,7	≤0,001	≤0,01
В X П	7700	10763	10	10	770	1076	0,9	0,7	>0,05	>0,05
T X П	4255	7199	4	4	1066	1799	1,2	1,2	>0,05	>0,05
Остаток	17067	29835	20	20	853	1492				

Таблица 8

Корреляционные коэффициенты между показателями вегетативных органов яблони в 1966 году в различных вариантах удобрений

$$r' = 16; r_{p,0.05} = 0,44$$

Показатели вегета- тивных органов	Длина побегов	Длина корней	Площадь листа	Общая площадь листьев	Вес побегов	Вес корней	Вес листьев	Вес по- бегов и ветвей	Коли- чество листьев
Длина побегов	0,999***								
Длина корней	0,611***	0,999***							
Площадь листа	0,499*	0,127	0,999***						
Общая площадь листьев	0,915***	0,427	0,580**	0,999***					
Вес побегов	0,926***	0,536*	0,978***	0,845***	0,999***				
Вес корней	0,774**	0,659**	0,261	0,757***	0,664**	0,999***			
Вес листьев	0,914***	0,423	0,565**	0,998***	0,844***	0,761**	0,999***		
Число побегов и ветвей	0,748**	0,228	0,699***	0,773***	0,875***	0,615**	0,778**	0,999***	
Число листьев	0,841***	0,417	0,227	0,913***	0,674**	0,811***	0,914***	0,593**	0,999***

$P < 0,05^*$

$P < 0,01^{**}$

$P < 0,001^{***}$

$P > 0,05$

Из вариантов, в которые вносили азот, наибольшим содержанием флоридзина отличается древесина побегов растений варианта НРК+РК. Рост этих растений ингибируется фосфором и калием при благоприятных условиях освещения летом, вследствие чего происходит накопление флоридзина. Такое явление в свою очередь создает благоприятные условия для лигнификации. Исходя из того, что биосинтез лигнина у высших растений совершается через фенилаланин (59, 60), необходимо в названном процессе превратить эту ароматическую аминокислоту в коричную кислоту, а затем в соответствующие альдегид и спирт.

Фенилаланин дезаминируется в коричную кислоту с помощью фермента фенилаланин-аммиак-лиазы. Активность этого фермента можно регулировать световыми условиями (28, 29, 61). Активация фермента обуславливает усиление синтеза лигнина.

Можно предполагать, что летом в солнечные дни при благоприятных условиях освещения удастся затормозить рост растения внесением фосфорно-калийных удобрений и при этом одновременно активируется соответствующая система фермента и у побегов происходят быстрые процессы лигнификации. Таким образом, слабое одревеснение побегов внутри кроны дерева можно объяснить отсутствием активности свето-чувствительного фермента фенилаланин-аммиак-лиазы.

Кроме света, на активность лигнификации влияют еще и стимуляторы роста, напр., ауксины, гиббереллины и особенно кинетин. Кинетин, по мнению Коблица (61, 62), обуславливает накопление в растениях аминокислот и активацию их метаболизма. Такое влияние ведет, с одной стороны, к активации биосинтеза белков, а с другой стороны, ароматические аминокислоты используются для синтеза лигнина. Как мы уже отметили, предшественником лигнина у древесных растений является фенилаланин. Превращение последнего в коричную кислоту связано с деятельностью дезаминаз, на которые регуляторы роста оказывают влияние. Существенная функция, по мнению Коблица (61), принадлежит здесь  $\gamma$ -аминомасляной кислоте. Если эта кислота содержится в недостаточном количестве, то происходит переход ароматической аминокислоты в коричную кислоту и в лигнин, и аминокислота фенилаланина используется для аминирования кетокислоты цикла Кребса. Если же в растительных тканях имеется высокое содержание  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, то последняя может стать донатором аминокислоты и снабжать кетокислоту аминокислотой. Избыток  $\gamma$ -аминомасляной кислоты благоприятствует синтезу белка и росту. Ароматическая аминокислота остается в этом случае недезаминированной, коричной кислоты при этом не образуется и процессы лигнификации тормозятся. Таким образом, здесь происходит конкуренция при снабжении кетокислоты цикла Кребса аминокислотами. Однако эта конкуренция зависит от азотного питания растений. Если азота имеется в из-

бытке, то возникает высокое содержание  $\gamma$ -аминомасляной кислоты и ароматическая аминокислота (L-фенилаланин) не превращается в предшественников лигнина.

В наших опытах наблюдается, что у растений варианта без удобрения содержание флоридзина и продуктов окисления древесины хотя и значительное, однако соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду остается высоким — 1:0,9 (табл. 4), т. е. указывает на неполное метоксилирование. Длина побегов и корней, величина площади листьев, например, отличаются невысокими показателями (табл. 3). Следовательно, у чахлах и выросших в условиях недостаточного минерального питания растений лигнин метилируется неполностью.

Очевидно, для процессов лигнификации, особенно при метилировании, необходим известный минимум количества азота, без которого образование аминокислот не может происходить. В случае низкого уровня содержания азота происходит торможение биосинтеза белков, причем при биосинтезе лигнина превалирует образование менее метоксилированного лигнина гваяцилового типа.

Особое поведение флоридзина заставляет предполагать, что флоридзину, как основному мономерному фенольному соединению яблони, свойственны различные функции, реализующиеся в зависимости от внешних условий соответственно потребностям растения.

Так, например, высокий уровень содержания флоридзина в растениях можно считать защитной функцией в случае отсутствия азота. Данные нашей предыдущей работы (65) показывают, что со снижением содержания флоридзина в листьях яблони осенью происходит повышение его содержания в побегах.

Таким образом, некоторым содержащим глюкозу флавоноидам, в данном случае флоридзину, по-видимому, свойственна функция запасного вещества, глюкоза которого, как сахарный остаток флоридзина, является необходимым для растения запасным веществом и передвигается с наступлением зимы в древесину, где используется для процессов дыхания. По мнению Придгейма (64), флавоноидный гликозид с сахарным остатком в виде глюкозы может находиться в растении в качестве растворимого запасного вещества. Кроме того, бензольные ядра молекул фенольных соединений могут расщепляться и используются в качестве дыхательного субстрата (65).

Наши данные показывают, что в июле содержание флоридзина в древесине значительно выше, чем в коре. Начиная с августа наблюдается противоположное явление (66).

Повышение содержания флоридзина сперва в древесине и позднее в коре указывает на то, что функция флоридзина находится во взаимосвязи в большей или меньшей степени с процес-

сами одревеснения побега. Можно предположить, что при лигнификации используются флавоноидные гликозиды.

В связи с тем, что флоридзин является ингибитором роста, его накопление в побегах яблони характеризует прекращение роста. Лигнификация, происходящая еще после прекращения роста, характеризуется высоким уровнем содержания флоридзина. Исходя из наших опытов, можно предположить, что высокое содержание флоридзина, а также гиперина в фазе листопада является хорошим показателем степени одревеснения у растений тех вариантов, в которые были внесены все элементы питания. При этом следует, конечно, учитывать и другие биохимические показатели (продукты окисления древесины) и показатели вегетативных органов растений (длина побегов, величина площади листа и др.).

### Выводы

1. В древесине побегов яблони из флавоноидных гликозидов содержатся свободные флоридзин и гиперин. При окислении древесины нитробензолом в щелочной среде образуются ванилин и сиреневый альдегид.

2. Высокие дозы азота тормозят биосинтез фенольных соединений, причем рост растений усиливается. Фосфорное и калийное питание, в противоположность азотному, активизирует образование фенольных соединений, но подавляет рост.

3. Наибольшее содержание флавоноидных гликозидов и продуктов окисления древесины наблюдается в растениях, удобренных  $\text{NPK}$  — весной и  $\text{PK}$  — летом. Указанный режим удобрения больше всего благоприятствует лигнификации, так как полное минеральное удобрение ( $\text{NPK}$ ) после фазы распускания почек создает благоприятные предпосылки для развития фотосинтетического аппарата, однако  $\text{PK}$ -удобрение тормозит рост летом, вследствие чего фенольные соединения накапливаются в большом количестве из-за неиспользования их в процессах роста. Предполагается, что одновременно в яблоне замедляется синтез белков и аминокислот, в первую очередь  $\text{L}$ -фенилаланина. Фенилаланин включается в биосинтез лигнина, а не в состав белка.

4. У растений варианта  $\text{NPK} + \text{PK}$  соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду (1 : 2,8) наименьшее. Внесение  $\text{NPK}$  весной и  $\text{NPK}$  летом снижает лигнификацию — соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду составляет 1 : 1,2. Все остальные варианты с азотным удобрением по соотношению продуктов окисления древесины занимают среднее место между указанными вариантами.

5. У растений, выросших в неблагоприятных условиях без азота, накопление высокого содержания фенольных соединений

является защитной функцией. Высокое соотношение содержания ванилина к содержанию сиреневого альдегида — 1:0,9 указывает на неполное метоксилирование лигнина. По всей вероятности, для достижения соответствующей степени метоксилирования в процессах лигнификации необходимо минимальное количество азота, без которого невозможно образование аминокислот.

6. Чем меньше соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду, тем больше метоксилированным является лигнин древесины побегов яблони и тем лучше происходит одревеснение побега в целом. Таким образом, в качестве показателя степени одревеснения существенным является не суммарное содержание альдегидов, а соотношение содержания ванилина к содержанию сиреневого альдегида.

7. Положительное влияние кальция на одревеснение побегов яблони отмечается лишь при кислой реакции почвы, однако в слабокислых почвах при наличии иона кальция ускорения процессов одревеснения не отмечается.

8. Для повышения степени одревеснения побегов яблони необходимо избегать удобрения азотом в середине вегетационного периода и следует применять калийные и фосфорные удобрения.

Весеннее удобрение азотом, необходимое для поддержания общих процессов роста, не оказывает отрицательного влияния на одревеснение побегов.

9. Показателем высокой степени одревеснения у растений вариантов с азотом в фазе листопада следует считать высокое содержание флавоноидгликозидов и низкое соотношение продуктов окисления древесины (соотношение содержания ванилина к содержанию сиреневого альдегида). Уровень указанных показателей следует считать также одним из существенных признаков зимостойкости древесных растений.

10. Оказываемое минеральными удобрениями влияние на предшественников и состав лигнина показывает, что лигнификацию следует рассматривать как имеющий большое значение биологический процесс, происходящий в клеточных стенках, от протекания которого зависит подготовка древесных растений к неблагоприятным зимним условиям.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мийдла Х., Мардисте М., В кн.: Фенольные соединения и их биологические функции. М., Изд-во, «Наука», 1968, 238.
2. Börgner, H. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1961, 36, 1. 97.
3. Henke, O. Flora, 1963, 153, 2, 258.
4. Miiidla, H. Flora A, 1967, 158, 1, 119.
5. Avadhani, P., Towers, G. H. Canad. J. Bioch. and Physiol., 1961, 39, 10, 1605.
6. Сарапуу, Л. Физиол. раст., 1964, 11, 4, 607.
7. Берестецкий, О. А., Мороз, П. А. Агрохимия, 1968, 6, 66.

8. Hutchinson, A., Tapfer, C. D., Towers, G. H. N. *Canad. J. Biochem. and Physiol.*, 1959, **37**, 7, 901.
9. Schellenberg, H. *Jahrb., wissensch. Botan.*, 1896, **29**, 2, 237.
10. Wardrop, A. B., Davies, C. W. *Holzforsch.*, 1959, **13**, 3, 65.
11. Freudenberg, K. *Nature*, 1959, **183**, 1152.
12. Grauns, F. E. *Chemistry of Lignin*. N. Y. Acad. Press, 1952.
13. Манская, С. М. *Усп. совр. биол.*, 1957, **12**, 19.
14. Paech, K. *Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe*. Berlin, 1954.
15. Buchloh, G. *Phenolics in Plants in Health and Disease*. London, Pergamon Press., 1960, 67.
16. Калинин, Ф. Л., Лясковский, М. И. *Рост и устойчивость растений*. Киев, «Науковая думка», 1967, 45.
17. Палеев, А. М. Автореф. доктор. дисс. М., 1955.
18. Васильева, Е. М. *Физиол. раст.*, 1960, **7**, 4, 220.
19. Потапов, В. Я. *Углеводы и лигнин в кормовых травах Якутии*. М., Изд-во «Наука», 1967, 172.
20. Мийдла, Х., Вардья, Т. *Уч. зап. ТГУ*, 1966, **185**, 122.
21. Меликян, Н. М. Структурные изменения и накопление лигнина в растениях в связи с условиями среды. Ереван, Уч. записки Ереванск. университета. 1959, 190.
22. Wise, L. E., *Wood chemistry*, N. Y., Acad. Press., 1944, 652.
23. Барская, Е. И. Изменения хлоропластов и вызревание побегов в связи с морозостойкостью древесных растений. М., Изд-во «Наука», 1967, 193.
24. Kratzel, K., Tarpi V., 1960, **43**, 7, 630.
25. Бардинская, М. С. *Растительные клеточные стенки и их образование*. Изд-во «Наука», 1964, 139.
26. Brown, S. A., Wright, D., Neish, A. C. *Can. J. Biochem. and Physiol.*, 1959, **37**, 25.
27. Koukol, J., Conn, E. E. *J. Biol. Chem.*, 1961, **236**, 10, 2692.
28. Engelsma, G. *Nature*, 1965, **208**, 5015, 1117.
29. Scherf, N., Zenk, N. H., *Z. Pflanzenphysiol.*, 1967, **57**, 5, 401.
31. Neish, A. C., *The Formation of Wood in Forest Trees*, N. Y. L., Acad. Press, 1964, 219.
32. Freudenberg, K. *Science*, 1965, **148**, 505.
33. Kratzel, K. *Cellular ultrastructure of woody plants*. Syracuse Univ., Press, Syracuse, 1965, 157.
34. Freudenberg, K., Harkin, J. M. *Phytochemistry*, 1963, **2**, 189.
35. Манская, С. М., Кодина, Л. Н. В кн.: *Фенольные соединения и их биологические функции*. М., Изд-во «Наука», 1968, 63.
36. Freudenberg, K. *The Formation of Wood in Forest Trees*. N. Y. L., Acad. Press., 1964, 203.
37. Brown, A. *Lloydia*, 1965, **28**, 4, 332.
38. Davis, B. D. *Advances Enzymol.*, 1955, **16**, 247.
39. Запрометов, М. Н. *Успехи современной биологии*, 1967, **63**, 380.
40. Eberhardt, F. E., Haupt, W. *Planta*, 1959, **53**, 334.
41. Faust, M. *Proc. Amer. Soc. Hortic Sci.* 1965, **87**, 10.
42. Kiraly, Z. *Phytopatol. Z.*, 1964, **51**, 252.
43. Jürgens, G. *Z. für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **74**, 1, 17.
44. Нижарадзе, А. Н. *Биохимия чайного производства*. Сборник статей, 1946, 67.
45. Берестецкий, О. А., Мороз, П. А. *Агрохимия*, 1968, **6**, 66.
46. Lipetz, J. *Amer. J. Bot.*, 1962, **49**, 5, 460.
47. Соловьева, М. А. *Научные труды, Киев, Сельхоз. литерат.*, 1954, **33**, 90.
48. Бардинская, М. С. *Биохимия*, 1962, **27**, 1, 58.
49. Freudenberg, K., Lautsch, W., Engler, K. *Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch.* 1940, **73**, 167.

50. Можейко, Л. Н., Сергеева, В. Н. Изв. АН Латв. ССР, 1958, 4, 57.
51. Бейли, Н. Статистические методы в биологии, М., Изд-во Иностран. литературы, 1962, 249.
52. Маргна, У. В., Оттер, М. Я. Физиол. раст., 1968, 15, 3, 436.
53. Оттер, М. Автореферат канд. диссертации, Таллин, 1968.
54. Towers, G. H., Maass, W. S. Phytochemistry, 1965, 4, 1, 57.
55. Vollmer, K. O., Reisinger, R. J., Crisebach, H. Biochem. and Biophys., Res. Commun., 1965, 21, 221.
56. Запрометов, М. Н. Биохимия, 1964, 27, 376.
57. Gibson, F., Jackman, L. M. Nature, 1963, 198, 388.
58. Valgera, L. Курсовая работа (на эстонском языке), рукопись ТГУ, 1968.
59. Finkle, B. J., Nelson, R. F. Biochim. Biophys. Acta, 1963, 78, 4, 747.
60. Finkle, B. J., Masri, M. S. Biochim. Biophys. Acta., 1964, 85, 1, 167.
61. Koblitz, H. Umschau in Wissenschaft und Technik, 1966, 11, 358.
62. Koblitz, H. Flora, 1964, 154, 4, 511.
63. Mardiste, M. Дипломная работа (на эстонском языке), рукопись ТГУ, 1966.
64. Pridham, I. B. Phenolics in Plants in Health and Disease. London, Pergamon Press, 1960, 9.
65. Запрометов, М. Н. Докл. АН СССР, 1959, 125, 6, 1359.
66. Вардья, Т., Сарапуу, Л. Физиол. раст., 1967, 14, 3, 551.
67. Лебедев, К. К. Исследования по химии лигнина. Сборник трудов, М., Лесная промышленность, 1965, 16.

## DIE PHENOLISCHEN VERBINDUNGEN UND DIE LIGNIFIKATION IM XYLEM DER APFELBAUMTRIEBE IM ZUSAMMENHANG MIT DER MINERALSTOFFERNÄHRUNG

H. Miidla, A. Milius, T. Vainjärv

### Zusammenfassung

Der Beitrag befaßt sich mit dem Einfluß der Mineralstoffernährung auf den Gehalt des Xylems an freien Flavonoidglukosiden (Phloridzin, Hyperin) und an Zerfallsprodukten, die bei der Oxydation mit Nitrobenzen im basischen Medium gewonnen werden (Vanillin, Syringaaldehyd).

Die Biosynthese phenolischer Verbindungen wird durch Stickstoff gehemmt, diejenige von Eiweißen aktiviert, wobei eine Intensivierung des Wuchses und eine Verminderung der Lignifikation der Triebe stattfindet. Das Verhältnis der Zerfallsprodukte des Xylems (Vanillin zu Syringaaldehyd) ist groß (1:1,2).

Phosphor fördert die Bildung phenolischer Verbindungen und unterdrückt den Stoffwechsel der Eiweiße und den Wuchs der Pflanzen, wobei die Aminosäuren nicht an der Biosynthese der Eiweiße, sondern an der Lignins teilnehmen. Das Verhältnis der Zerfallsprodukte ist gering (1:2,8)-es bildet sich mehr syringyles und methyliertes Lignin.

# СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ЛИГНИФИКАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ ПОБЕГОВ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОДНОГО РЕЖИМА

Х. Мийдла, А. Милиус, Т. Вайнярв

Как известно, вода является в растении той средой, в которой продукты обмена веществ передвигаются из клетки в клетку, и из одной ткани в другую. При этом сама вода является основным растворителем, и в связи с этим нельзя не оценить роль воды в растении вообще.

В литературе имеются многочисленные данные относительно влияния воды на основной обмен веществ, однако их очень мало встречается по вопросу вторичного обмена веществ.

Бланк (1) отмечает, что в условиях сухой атмосферы образование пигментов антоциана усиливается, а во влажной среде содержание указанных фенольных соединений снижается.

Ордин и др. (2, 3), Базлер и др. (4) и Кефорд и др. (5) в своих работах указывают на тормозящее влияние водного дефицита на рост растений.

В предлагаемой работе рассматривается влияние различного содержания воды в почве на содержание мономерных и конденсированных фенольных соединений.

## Материал и методика

Описание подопытного материала, проведения вегетационных опытов и биохимического анализа приводится в предыдущей статье.

В опыт были взяты следующие варианты:

- |                              |                            |
|------------------------------|----------------------------|
| 1. 60% $W_{\max}$ (контроль) | В течение                  |
| 2. 40% $W_{\max}$            | всего                      |
| 3. 70% $W_{\max}$            | вегетационного периода.    |
| 4. 70% + 40% $W_{\max}$      | Изменение режима влажности |
| 5. 40% + 70% $W_{\max}$      | с 1 сентября.              |

Полное минеральное удобрение (NPK) вносили один раз во время фазы распускания почек (см. предыдущую статью).

### Результаты опыта и обсуждение

Как показано в таблице 1, содержание флавоноидных гликозидов в древесине побегов яблони повышается со снижением влажности почвы. Из сказанного следует, что незначительная влажность почвы благоприятствует образованию фенольных соединений и одновременно подавляет рост побегов (табл. 2). В про-

Таблица 1

Содержание свободных флоридзина и гиперина в древесине побегов яблони в 1964—1966 гг. (мг/г сухого веса)

Варианты опытов	Год	Флоридзин		Гиперин	
		$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$
60% $W_{max}$	1964	16,58	0,21	0,64	0,02
	1965	13,60	0,22	0,38	0,02
	1966	14,99	0,13	0,66	0,01
40% $W_{max}$	1964	21,08	0,25	0,81	0,02
	1965	19,37	0,28	0,46	0,01
	1966	20,15	0,17	0,81	0,02
70% $W_{max}$	1964	16,67	0,25	0,44	0,04
	1965	12,33	0,10	0,30	0,02
	1966	15,64	0,09	0,75	0,01
70% + 40% $W_{max}$	1964	26,22	0,28	0,92	0,03
	1965	19,76	0,03	0,57	0,04
	1966	22,86	0,33	0,90	0,02
40% + 70% $W_{max}$	1964	7,58	0,49	0,70	0,01
	1965	11,31	0,47	0,40	0,03
	1966	14,93	0,12	0,71	0,01

тивоположность этому режим повышенной влажности почвы тормозит образование фенольных соединений и благоприятствует росту. Вильямс (6) на основе своих опытов указывает, что у больных и чахлых растений, состояние которых обусловлено известными внешними или внутренними факторами, наблюдается высокий уровень содержания фенольных соединений. В данном случае незначительная влажность почвы, как состояние минимума об-

Таблица 2

## Показатели размеров вегетативных органов яблони в 1966 г.

Варианты опытов	Длина побегов в см		Вес побегов в г		Вес корней в г		Длина корней в см		Количество листьев шт		Вес листьев в г		Общая площадь листьев в см <sup>2</sup>	
	$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$
60% $W_{\max}$ (контроль)	174	7,0	28	1,4	227	8,8	3234	296,0	126	15,6	15	0,4	1980	37,5
40% $W_{\max}$	74	3,2	11	1,3	169	9,0	2703	106,3	117	5,5	14	1,2	1840	158,7
70% $W_{\max}$	316	11,3	45	9,4	247	14,9	4325	74,3	88	12,5	14	3,1	2035	175,0
70% + 40% $W_{\max}$	273	14,5	35	2,6	263	10,5	4284	83,4	94	11,2	14	3,4	1967	414,7
40% + 70% $W_{\max}$	90	1,7	12	0,4	163	18,5	2324	141,8	112	22,2	11	0,9	1521	151,0

щебиологических факторов, обуславливает замедление биосинтеза аминокислот и белков, а также и прекращение роста растений. Вследствие этого содержание флоридзина, как основного запасного вещества фенольного характера яблони, повышается, и для роста больше не используется. Аналогично флоридзину реагирует и гиперин.

Представляет интерес влияние чередования влажности почвы на содержание флавоноидных гликозидов, особенно во второй половине вегетационного периода, которое проявляется у вариантов 70% + 40% и 40% + 70%  $W_{max}$ . Преобладающее влияние на содержание фенольных соединений оказывают именно те режимы влажности почвы, которые начинают действовать с первого сентября, несмотря на то, что большую часть вегетационного периода растение находилось в совершенно другой по влажности среде. Данный факт указывает на то, что осенний режим влажности почвы существенно воздействует на содержание фенольных соединений и на происходящий в это время рост. В связи с этим

Таблица 3

Содержание  $C_6-C_1$ -альдегидов-продуктов окисления древесины побегов яблони нитробензолом в щелочной среде в 1964—1966 гг. (мг/г сухого веса)

Варианты опытов	Год	Ванилин		Сиреневый альдегид		Соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду
		$\bar{x}$	$\pm m_x$	$\bar{x}$	$\pm m_x$	
60% $W_{max}$	1964	22,8	—	26,1	—	1 : 1,1
	1965	14,9	0,42	26,0	0,38	1 : 1,7
	1966	13,8	0,58	20,5	0,82	1 : 1,5
40% $W_{max}$	1964	12,5	—	24,6	—	1 : 2,0
	1965	15,6	0,28	29,4	0,67	1 : 1,9
	1966	17,3	0,58	30,7	1,14	1 : 1,8
70% $W_{max}$	1964	20,8	—	27,4	—	1 : 1,3
	1965	29,0	1,98	41,1	1,90	1 : 1,4
	1966	24,1	0,54	31,2	1,36	1 : 1,3
70% + 40% $W_{max}$	1964	32,8	—	56,0	—	1 : 1,7
	1965	13,9	0,28	39,2	0,51	1 : 2,8
	1966	19,7	0,86	32,2	1,22	1 : 1,6
40% + 70% $W_{max}$	1964	18,6	—	36,2	—	1 : 2,0
	1965	31,3	0,40	35,2	1,86	1 : 1,1
	1966	14,1	1,24	15,6	1,20	1 : 1,1

можно предположить, что различное содержание воды в почве может воздействовать также и на лигнификацию побегов.

Последнее предположение подтверждают данные результатов окисления нитробензолом в щелочной среде продуктов разложения древесины. Исходя из соотношения содержания ванилина к содержанию сиреневого альдегида, как показателя степени лигнификации, выясняется, что оно является наиболее низким (1 : 2,0) у растений варианта 70% + 40%  $W_{max}$  (табл. 3). Следовательно, 70%  $W_{max}$ , как и полное минеральное удобрение (см. предыдущую статью), благоприятствует протеканию интенсивного фотосинтеза и накоплению пластических веществ, являющихся существенными для нормального хода основного обмена вещества. Во второй половине вегетационного периода низкий уровень влажности почвы (40%  $W_{max}$ ) оказывает тормозящее влияние на рост, и одновременно благоприятствует метилированию компонентов лигнина, в результате чего накапливается больше лигнина сирингилового типа.

Итак, с точки зрения одревеснения побегов, наилучшими в этом отношении оказались растения варианта 70% + 40%  $W_{max}$ .

### Выводы

1. Достаточная влажность почвы в первой половине вегетационного периода (70%  $W_{max}$ ) и незначительная влажность ее во второй половине вегетационного периода (40%  $W_{max}$ ) являются благоприятными условиями для лигнификации побегов яблони. Соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду -- наименьшее (1 : 2,0), соответствующее среднее за 3 года составляет 22,2 и 42,5 мг/г на сухое вещество. Одновременно отмечается высокий уровень содержания флавоноидных гликозидов.

2. Незначительная влажность почвы в первой половине вегетационного периода (40%  $W_{max}$ ) и достаточная влажность почвы во второй половине вегетационного периода (70%  $W_{max}$ ) оказывают отрицательное влияние на лигнификацию.

3. Низкий уровень влажности почвы (40%  $W_{max}$ ) в течение всего вегетационного периода благоприятствует процессам одревеснения. Соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду сравнительно невысокое (1 : 1,9), но рост деревьев яблони подавляется, растения чахлые.

4. Высокий уровень влажности почвы (70%  $W_{max}$ ) в течение вегетационного периода не способствует лигнификации. Соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду составляет 1 : 1,3 и уровень флавоноидных гликозидов низкий.

## Литература

1. Blank, F. Anthocyanins, Flavones, Xanthones. *Encycl. Plant Physiol.*, 1958, 10, 300. Berlin.
2. Ordín, L., Applewhite, T. H., Bonner, J. *Plant Physiol* 1956, 31, 44.
3. Ordín, L., Cleland, R., Bonner, J. *Plant Physiol.*, 1957, 32, 216.
4. Basler, E., Todd, G. W., Meyer, R. E. *Plant Physiol.* 1961, 36, 573.
5. Kefferd, N. P., Goldacre, P. L. *Am. J. Botany*, 1961., 48, 643.
6. Williams, A. M. *Proceeding of a Plant Phenolics Groups. Symposium*, Bristol. 1959.

## PHENOLISCHE VERBINDUNGEN UND DIE LIGNIFIKATION IM XYLEM DER APFELBAUMTRIEBE IM ZUSAMMENHANG MIT DEM WASSERHAUSHALT DES BODENS

H. Miidla, A. Milius and T. Vainjärv

### Zusammenfassung

Durch die Regulierung der Bodenfeuchtigkeit ist es möglich, den Methylierungsprozeß in den Zellwänden der Apfelbaumtriebe zu begünstigen bzw. zu hemmen. Bei geringer Bodenfeuchtigkeit wird stärker methoxyliertes syringyles Lignin, bei Überschuß der Bodenfeuchtigkeit quajazyles Lignin abgelagert.

Der relative Gehalt des Lignins in den Zellwänden der Triebe ist durch das Verhältnis Vanillin zu Syringaaldehyd (mit Nitrobenzen oxydiert im basischen Medium) ausdrückbar. Je kleiner das Verhältnis Vanillin zu Syringaaldehyd, d. h. schwächer methoxylierten Aldehyd zu stärker methoxyliertem Aldehyd ist, desto mehr sind die Zellwände des Triebes lignifiziert (verholzt).

## **ВЛИЯНИЕ ФЛОРИДЗИНА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА СКОРОСТЬ РАСПУСКАНИЯ ПОЧЕК ЯБЛОНИ И НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЕЕ ПОБЕГАХ**

**Т. Вардя и Л. Сарануу**

Флоридзин по количественному содержанию является в яблоне основным фенольным соединением (1—4). По данным ряда исследователей флоридзин ингибирует рост coleoptилей в биотестах (5, 6), а также подавляет образование цветочных почек у яблони (7, 8). В связи с этими свойствами флоридзин считали фенольным ингибитором роста яблони.

Сезонная динамика флоридзина совпадает в основном с сезонной динамикой крахмала (6, 9). Последний факт дает нам право предположить, что флоридзин является в яблоне фенольным запасным веществом, которое расходуется весной при распускании почек для ростовых процессов. Роль флоридзина как запасного вещества предполагали уже в предыдущей работе (9).

На процесс распускания почек оказывают влияние многие вещества и факторы, как, например, гиббереллиновая кислота, (ГК) (10—12), индолилуксусная кислота (ИУК) (12), свет и др. Так, под действием ГК и ИУК в побегах яблони в период распускания почек происходит снижение содержания крахмала (13). Однако до настоящего времени отсутствуют литературные данные о влиянии указанных воздействий на содержание фенольных соединений в побегах яблони в период распускания почек, отсутствуют также данные относительно влияния самого флоридзина на скорость распускания почек.

### **Методика исследования**

Побеги для опытов брали в фазе вынужденного покоя (в середине марта) от взрослых деревьев сорта «Лифляндское луковичное». Выгонку проводили при комнатной температуре ( $17 \pm 2^\circ \text{C}$ ).

С целью выяснения влияния флоридзина, ГК, ИУК и темноты на скорость роста распускания почек, а также на содержание фенольных соединений в побегах, опыты были поставлены в следующих вариантах:

1) контроль — побеги помещали срезанным основанием в воду и опрыскивали их через день водой. Выгонку проводили в условиях природного фотопериода;

2) воздействие флоридзина (200 мг/л) — побеги помещали срезанным основанием в раствор флоридзина и опрыскивали через день таким же раствором;

3) воздействие ГК (100 мг/л) — техника обработки такая же, как и у варианта 2;

4) воздействие ИУК (100 мг/л) — техника обработки такая же, как и у варианта 2;

5) воздействие темноты — побеги помещали срезанным основанием в воду и покрывали черным бумажным мешочком.

Во время опыта растворы и воду меняли три раза. Продолжительность выгонки — 18 дней. В течение этого времени проводили наблюдения над активностью роста побегов, а также определяли четыре раза (в период постановки опыта, на 6-й, 10-й и 18-й день выгонки) содержание фенольных соединений (флоридзин, общее содержание флавонолов) в почках, коре и древесине побегов яблони по методике, приведенной в нашей предыдущей работе (14). Перед определениями побеги промывали водой.

### Результаты исследования

Распускание почек. Через 6 дней после начала выгонки почки стали набухать. Быстрее всего набухание почек происходило на побегах, обработанных ГК и флоридзином. На 10-й день выгонки раскрывались покровы верхушечных и верхних боковых почек. Быстрее, чем у остальных вариантов, распускались почки на побегах, обработанных флоридзином и ГК. На этих побегах образовывались уже маленькие (~10 мм) листья. По величине листьев следующими за ними были контрольные побеги, а затем — побеги варианта ИУК и варианта с затемнением.

В конце выгонки (на 18-й день) почки распускались у всех вариантов. Быстрее всего росли розетки листьев у вариантов, обработанных флоридзином и ГК. Однако рост почек у них различался: у варианта с флоридзином распускались только верхушечные и верхние боковые почки, а на побегах, обработанных ГК, распускались также и нижние боковые почки. Почки у остальных вариантов значительно отставали в росте — размеры верхушечных листьев были почти в половину меньше (длина 10—15 мм). По скорости роста почек эти варианты можно поставить

в следующей последовательности: контроль > ИУК > вариант с затемнением.

Результаты фенологических наблюдений показывают, что, по сравнению с контролем, флоридзин и ГК активируют, а ИУК и темнота ингибируют скорость распускания почек у яблони.

Изменения в содержании фенольных соединений. Проведенные исследования показывают, что содержание флоридзина в почках снижается вплоть до начала образования розеток листьев (рис. 1). Резкое уменьшение, а затем повы-



Рис. 1. Влияние некоторых ростовых веществ и затемнения на динамику содержания флоридзина и флавонолов в почках яблони во время выгонки.

А — контроль, Б — флоридзин, В — ГК, Г — ИУК, Д — затемнение.

шение содержания флоридзина в почках варианта с ГК объясняется, по-видимому, тем, что листья развиваются быстрее и вместе с тем повышается фотосинтетическая активность молодых листьев (рис. 1, В). По сравнению с контролем содержание флоридзина в почках побегов, обработанных флоридзином и ГК, снижается быстрее всего в течение первых десяти суток. Такое снижение содержания флоридзина совпадает с данными о наиболее высокой скорости роста этих вариантов. Содержание флоридзина в почках, обработанных ИУК, мало отличается от контроля.

В почках побегов яблони у вариантов, находившихся в темноте, содержание флоридзина снижается сравнительно медленно, поэтому в конце выгонки его содержание, по сравнению с другими вариантами, остается на высоком уровне.

Высокое содержание флоридзина в конце выгонки коррелирует с медленным распусканием почек.

Большое содержание флоридзина само по себе не является ингибирующим фактором. На это указывает то обстоятельство, что экзогенно прибавленный флоридзин оказывает фактически

стимулирующее действие. Можно полагать, что ингибирование роста почек происходит вследствие снижения активности ферментов, которые производят разложение флоридзина, превращая его в вещества, используемые для роста.

В коре побегов содержание флоридзина снижается в начале выгонки (рис. 2) и повышается во время набухания почек (рис. 2, В) только в коре побегов, обработанных ГК. Однако во время распускания почечных покровов в коре побегов происходит резкое снижение уровня флоридзина.

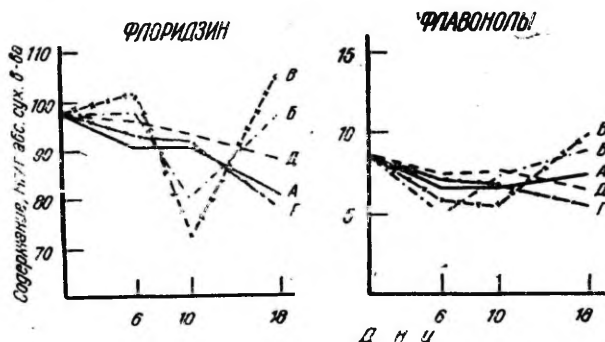


Рис. 2. Влияние некоторых ростовых веществ и затемнения на динамику содержания флоридзина и флавонолов в коре яблони во время выгонки. А — контроль, Б — флоридзин, В — ГК, Г — ИУК, Д — затемнение.

Сравнение содержания флоридзина с результатами фенологических наблюдений на 10-й день выгонки указывает на явную корреляцию между содержанием флоридзина и распусканием почек, а именно, чем больше были почки и чем равномернее они развивались (рис. 2, В), тем меньше оставалось в коре побегов флоридзина.

В конце выгонки в коре побегов, обработанных как флоридзином, так и ГК, содержание флоридзина повышается. На основании этого можно полагать, что повышение флоридзина происходит в связи с фотосинтезом в молодых, но уже развитых листьях.

В коре побегов как у варианта с затемнением, так и у варианта с ИУК снижение содержания флоридзина происходит сравнительно медленно, однако под влиянием ИУК снижение флоридзина ускоряется лишь после распускания почек.

В древесине побегов яблони (рис. 3) содержание флоридзина повышается в начале выгонки. Наиболее высокое повышение флоридзина наблюдалось в древесине побегов в варианте с обра-

боткой флоридзином. У этих вариантов уровень флоридзина в древесине побегов остается повышенным до конца выгонки. Такое повышенное содержание флоридзина обуславливается, по-видимому, поглощением его из раствора.

У вариантов, обработанных ГК и ИУК, динамика содержания флоридзина сходна с динамикой его содержания в контроле.

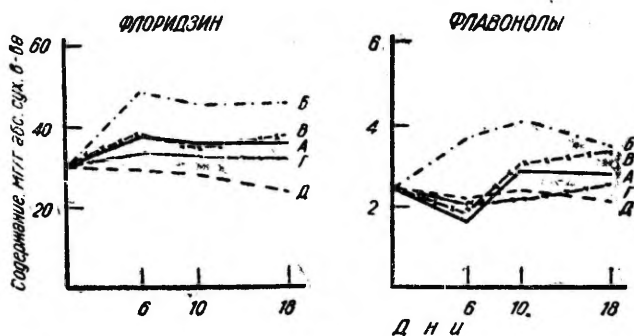


Рис. 3. Влияние некоторых ростовых веществ и затемнения на динамику содержания флоридзина и флавонолов в древесине побегов яблони во время выгонки.

А — контроль, Б — флоридзин, В — ГК, Г — ИУК, Д — затемнение.

У побегов, находившихся в темноте, уровень содержания флоридзина значительно ниже, чем у побегов остальных вариантов.

Содержание флавонолов в почках и коре побегов яблони снижается до раскрытия почечных покровов (рис. 1, 2). У контроля и в варианте с затемнением содержание флавонолов в почках повышается на 10-й день выгонки, но затем оно снижается до конца выгонки. Так, во время раскрытия почечных покровов происходит как будто торможение в использовании флавонолов. В вариантах с обработкой флоридзином и ГК на 18-й день выгонки содержание флавонолов в почках яблони снова повышается. Очевидно это обуславливается их синтезом в молодых листьях.

В древесине побегов яблони содержание флавонолов снижается в течение первых шести дней выгонки (рис. 3). После этого их содержание во время раскрытия почечных покровов резко повышается и остается на том же уровне или несколько снижается к последнему дню выгонки. Только у варианта с флоридзином содержание флавонолов в древесине побегов повышается, начиная с первых дней выгонки, и остается на повышенном уровне до последнего дня прекращения выгонки. Можно предположить, что высокое содержание флавонолов в древесине побегов яблони является результатом их синтеза из флоридзина.

## Выводы

1. Флоридзин является в яблоне запасным веществом фенольного характера, который используется весной при распускании почек для ростовых процессов.

2. Высокое содержание флоридзина в почках яблони весной не ингибирует ростовые процессы. Экзогенное введение флоридзина в побеги оказывает на распускание почек даже стимулирующее влияние.

3. ГК стимулирует распускание почек яблони и снижает доминирующее действие верхушечной почки. ГК способствует разложению флоридзина во время набухания почек и вместе с тем повышает содержание используемых для распускания почек продуктов.

4. ИУК на распускание почек яблони не оказывает влияния. Воздействие этой кислоты на содержание флоридзина можно отметить только после образования на побегах маленьких листьев.

5. Затемнение подавляет распускание почек яблони вследствие снижения активности разлагающих флоридзин ферментов.

## Литература

1. Hutchinson, A., Taper, C. D., Towers, G. H. M. *Canad. J. Biochem. Phys.*, 1959, **37**, 901.
2. Priestly, C. A. *Ann. Rept. E. Malling Res. Stat.*, 1960, **109**, 1, 70.
3. Barnes, E. H., Williams, E. B. *Canad. J. Microbiol.*, 1961, **39**, 10, 1605.
4. Williams, A. H. *Phenolics in Plants in Health and Disease*. Pergamon Press, Oxford, 1960, 3.
5. Hancock, C. R., Barlow, H. U. B., Lacey, H. J. *J. Exp. Botany*, 1961, **12**, 36, 401.
6. Сарапуу, Л. П. *Уч. Зап. ТГУ*, 1964, **151**, 91.
7. Grochowska, M. *J. Bull. Acad. Pol. Sci. ser. sci. biol.*, 1963, **11**, 12, 585.
8. Grochowska, M. *J. Bull. Acad. Pol. Sci. ser. sci. biol.*, 1964, **12**, 7, 379.
9. Сарапуу, Л. П. *Физиол. раст.*, 1965, **12**, 1, 134.
10. Гужев, Н. Л. *Изв. АН СССР, сер. биол.*, 1961, 1, 61.
11. Thakur, S., Negi, N. C. *Sci. and Culture*, 1959, **24**, 4, 522.
12. Pieniazek, J., Saniewski, M. *Bull. Acad. Pol. Sci. ser. sci. biol.*, 1968, **16**, 1, 39.
13. Clark, A. W. *Bot. Gaz.*, 1962, 123, 3, 162.
14. Вардья, Т., Сарапуу, Л. *Физиол. раст.*, 1967, **14**, 3, 551.

# VOM EINFLUß DES PHLORIDZINS UND DER WUCHS- REGULATOREN AUF DIE KNOSPENENTFALTUNG UND AUF DEN GEHALT PHENOLISCHER INHALTSSTOFFE IN TRIEBEN DER APFELBÄUME

T. Vardja und L. Sarapuu

## Zusammenfassung

Bei denjenigen Varianten, wo die Triebe mit dem basalen Ende in Lösungen von Phloridzin (200 mg/l) und Gibberellinsäure gehalten und auch mit denselben Lösungen bespritzt wurden, sank der Phloridzingehalt in den Knospen schneller als bei der Kontrolle, gleichzeitig wurde eine höhere Wuchsgeschwindigkeit der behandelten Triebe beobachtet. Exogene Behandlung mit Phloridzin hat stimulierenden Einfluß auf die Knospenentfaltung. Die Gibberellinsäure fördert ebenfalls die Knospenentfaltung, entfernt die dominierende Wirkung der apikalen Knospe und aktiviert den Phloridzinverbrauch bei Wachstumsprozessen. Indolylessigsäure hat keine, Dunkelheit aber eine behindernde Wirkung auf die Knospenentfaltung und den Verbrauch von Phloridzin. Phloridzin gehört zu den Reservestoffen des Apfelbaumes.

## **ГОДИЧНЫЙ РИТМ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФЛОРИДЗИНА И ФЛАВОНОЛОВ У РАЗНЫХ СОРТОВ ЯБЛОНИ**

**Л. Саралуу, М. Тоом**

В наших предыдущих работах (1, 2) установлены некоторые закономерности сезонной динамики флоридзина и флавонолов при росте и покое побегов яблони. В 1966 и 1967 гг. мы определяли содержание флоридзина и флавонолов в листьях, почках, коре и древесине у различных по морозоустойчивости четырех сортов яблони (табл. 1). Методика хроматографического и спектрофотометрического определения флоридзина опубликована (3). Представленные в настоящей статье результаты уточняют предыдущие исследования.

### **Результаты исследования**

Закономерности сезонной динамики содержания флоридзина в листьях (зимой в почках), коре и древесине побегов являются одинаковыми. Но в листьях и почках, как в органах с более активной жизнедеятельностью, амплитуды изменения выражены более явно, чем в коре и древесине. Поэтому данные о сезонной динамике изучаемых фенольных соединений в листьях и почках характеризуют их изменения также и в других органах яблони (табл. 1).

Содержание флоридзина в побегах яблони подвергается в течение года глубоким изменениям. Зимой содержание флоридзина в почках, коре и древесине весьма постоянное. Весной, перед распусканием почек, содержание флоридзина повышается во всех органах. В этот период происходит мобилизация запасных веществ для роста. В связи с активацией ростовых процессов происходит резкое снижение содержания флоридзина во всех органах и у всех подопытных сортов яблони, которое является самым сильным изменением флоридзина в течение года. Происходящие весной изменения в содержании флоридзина явно указывают на важную роль флоридзина в качестве запасного вещества фенольного характера.

В почках использование флоридзина начинается раньше, чем в коре и древесине. В почках изменения в содержании флоридзина происходят также глубже, чем в других органах яблони. Это явление показывает, что флоридзин является запасным веществом и он используется при росте — как в конструктивных, так и в энергетических процессах. При этом процессом, имеющим важное значение, является разрушение флоридзина в флоретинат, используемый для образования предшественников лигнина (см. на стр. 40). Наблюдения в 1967 году показали, что если во время начала фазы распускания почек наступает возвратное похолодание, то содержание флоридзина в побегах снова повышается.

Повышение содержания флоридзина в листьях, коре и древесине происходит сразу после образования листового аппарата. Оно находится во взаимосвязи с фотосинтетической деятельностью листьев и совпадает с периодом активного роста побегов. Это явление не согласуется с нашими предыдущими предположениями (2), что в период активного роста содержание флоридзина в побегах низкое. Полученные количественные данные говорят о том, что в растущих тканях содержание флоридзина сравнительно высокое. Флоридзин концентрируется всегда в тканях с активной жизнедеятельностью. Высокое содержание флоридзина предшествует одревеснению побегов (см. табл. на стр. 12). Одновременно с ростом верхушки у основания побега начинается лигнификация, в которой для биосинтеза предшественников лигнина используется и флоридзин. Поэтому при одревеснении побегов содержание в них флоридзина постепенно снижается. Флоридзин действует на рост через продукты своего обмена. Использование флоридзина в ростовых процессах укорачивает рост клеток растяжением.

Много фенольных соединений используется для радиального роста побегов. Поэтому в августе в побегах наблюдается низкий уровень флоридзина. В сентябре, после прекращения камбиальной активности, отмечается еще накопление флоридзина в листьях, коре и древесине. В опавших листьях содержание флоридзина снижается главным образом у тех сортов, у которых происходит более глубокая подготовка к зиме (Антоновка, Белый налив).

В годичном ритме изменения флоридзина его наиболее высокий уровень отмечается в почках в период глубокого покоя. Флоридзин не влияет на дифференциацию почек, но тормозит процесс растяжения клеток и вытягивание побега.

Под действием низких температур содержание флоридзина в почках, коре и древесине снова снижается. Зимой содержание флоридзина в побегах относительно постоянное.

В заключение можно утверждать, что динамика флоридзина в побегах яблони имеет определенный годичный ритм, зависящий

Таблица 1

Сезонная динамика флоридзина и флавонолов (мг/г сырого веса) в почках и листьях яблони

Год	Вещество	Дата Сорт	27 I	14 III	25 V	12 V	19 V	25 V	5 VII	16 VIII	19 IX	3 X		28 XI
			листья	почки	листья	почки								
1966	Флоридзин	Антоновка	33,3±0,16	45,4±0,65	40,3±0,85	21,3±0,31	24,1±0,85	23,4±0,62	17,2±0,44	19,1±0,42	25,4±1,49	23,9±1,67	51,1±4,43	55,2±6,89
		Белый налив	—	41,9±0,64	40,9±1,12	19,4±0,22	25,8±1,22	31,4±0,85	18,4±1,60	16,2±0,39	30,8±1,23	25,8±0,72	45,9±0,36	49,7±2,92
		Тартуское розовое	41,9±0,78	48,6±1,27	44,0±0,57	23,3±1,33	32,2±1,43	42,3±0,64	44,2±0,25	23,5±0,34	34,5±3,02	40,1±0,02	61,5±1,58	49,4±0,20
		Лифляндское луков.	39,3±0,81	40,8±1,10	37,2±1,72	17,2±0,62	20,3±1,46	22,9±0,55	32,1±1,19	31,2±0,32	48,1±1,30	38,8±0,41	59,1±0,26	54,8±2,03
	Флавонолы	А	3,6	4,39	5,69	2,84	5,61	4,15	6,27	8,72	9,40	7,57	10,33	9,12
Б		—	7,29	6,27	2,72	5,26	4,19	5,15	5,59	7,88	5,66	8,01	9,21	
Т		5,35	8,34	8,59	4,73	6,74	6,46	9,15	8,53	10,47	7,72	10,67	11,79	
Л		3,18	5,33	6,57	2,80	6,21	4,18	6,93	9,61	9,73	7,75	7,49	7,24	
1967	Флоридзин	А	47,6±2,89	43,0±0,32	47,8±1,79	54,1±2,14	18,0±0,18	50,0±1,12	32,7±0,30	41,4±0,68	64,9±0,57	23,0±1,55	50,9±1,66	61,6±0,94
		Б	—	39,2±1,61	28,6±0,45	41,0±1,44	22,8±0,62	41,7±1,50	37,0±1,99	16,4±1,78	60,4±2,21	29,6±1,44	42,9±0,56	57,8±0,82
		Т	48,7±0,96	48,0±2,14	41,8±1,14	55,3±1,59	41,5±0,74	64,1±1,14	45,0±0,10	54,0±1,74	68,5±0,65	40,3±1,39	48,7±2,21	72,6±1,64
		Л	44,2±3,13	43,1±1,05	32,9±3,21	50,5±1,65	37,4±0,25	72,7±1,22	53,4±0,93	60,2±0,42	61,6±0,06	52,5±0,80	50,3±0,88	65,3±0,98
	Флавонолы	А	8,54	7,26	8,14	10,09	3,56	8,50	8,44	11,35	10,14	8,89	7,91	8,13
Б		—	6,86	8,77	5,67	4,26	6,79	6,97	8,42	9,82	7,53	8,28	9,48	
Т		9,79	9,60	11,11	6,58	6,31	9,68	8,40	12,42	13,59	10,34	9,43	13,98	
Л		7,61	5,98	5,93	6,48	5,49	9,52	7,94	11,18	8,13	9,22	7,76	7,41	



Фонды Государственной библиотеки СССР имени В.И. Ленина являются национальным достоянием советского народа и охраняются государством в соответствии с законом "Об охране и использовании памятников истории и культуры".

Издавания, полученные по межбиблиотечному абонементу /МБА/ из фондов Библиотеки имени В.И. Ленина, выдаются только в читальном зале библиотеки-абонента.

При пользовании книгой или журналом нельзя перегибать их в корешке, делать пометки и подчеркивать текст, загибать углы листов, копировать и калькировать.

При получении изданий сотрудник библиотеки-абонента должен проверить их физическое состояние и о всех замеченных дефектах /отсутствие листов, иллюстраций, повреждение переплета и пр./ сообщить библиотекаря, выдавшему издания.

Для обеспечения сохранности изданий, полученных по МБА, при доставке необходимо использовать специальные сумки или портфели.

Сроки пользования изданиями, полученными по МБА: книгами-30 дней /на иностранных языках-15/, периодическими изданиями-15, микрофильмами-45.

Сроки бронирования заказанных изданий включаются в общие сроки пользования и составляют: для абонентов, оформивших срочные заказы, -3 суток, для абонентов, оформивших обычные заказы, -5.

За нарушение установленных правил абонент будет лишен права пользоваться Библиотекой.

101000 Москва, пр. Калинина 3.  
Государственная библиотека СССР  
имени В.И. Ленина  
ОТДЕЛ АБОНЕМЕНТА

от активности синтеза и использования флоридзина, а также от погодных условий. Самые глубокие изменения в содержании флоридзина обусловлены использованием его для ростовых процессов весной. Наиболее высокое содержание флоридзина наблюдается в коре после прекращения роста побегов и в почках осенью.

Сезонная динамика флавонолов в основном совпадает с динамикой флоридзина. Зимой флавонолов содержится в побегах сравнительно мало. Перед началом роста их содержание повышается, в период распускания почек снижается и снова постепенно повышается в течение вегетации. Камбиальный рост не отражается на содержании флавонолов. Это явление показывает, что флавонолы находятся от процессов биосинтеза предшественников лигнина биохимически более далеко.

Изучаемые сорта яблони различаются по содержанию в них флоридзина (табл. 2). Более зимостойкие сорта (Антоновка,

Таблица 2

Среднегодовое содержание флоридзина и флавонолов  
(мг/г сырого веса) в разных органах и тканях изучаемых сортов яблони

Сорта	Флоридзин			Флавонолы		
	Листья и почки	Кора	Древесина	Листья и почки	Кора	Древесина
Антоновка	38,1	45,7	17,0	7,39	4,00	1,37
Белый налив	35,0	42,9	15,9	6,82	4,73	1,47
Тартуское розовое	46,4	48,3	19,2	9,16	5,41	1,81
Лифляндское луковичное	44,4	48,2	17,2	7,08	4,47	1,75
Среднее для всех сортов	41,0	46,3	17,3	7,61	4,65	1,60

Белый налив) отличаются более низким уровнем содержания флоридзина в листьях, коре и древесине. По-видимому, у указанных сортов яблони интенсивнее происходит одревеснение побегов, вследствие чего свободных фенольных соединений у них накапливается меньше. Запас флоридзина в листьях у более морозостойких сортов, по сравнению с менее морозостойкими, осенью используется для вызревания побегов больше, так как в их опавших листьях флоридзина содержится меньше. У менее морозостойких сортов (Тартуское розовое, Лифляндское луковичное) содержание флоридзина в побегах выше, чем в побегах более морозостойких сортов. Различия в содержании флоридзина, в зависимости от морозостойкости, наблюдаются во всех органах яблони. В опавших листьях менее морозостойких сортов яблони содержание флоридзина остается более высоким, чем в опавших

листьях более морозостойких сортов. Флоридзин у менее зимостойких сортов используется для процессов одревеснения и вызревания побегов более медленно. Особенно высоким содержанием флоридзина и флавонолов во всех органах отличается сорт Тартуское розовое, который характеризуется хорошим ростом и отличается от изучаемых сортов наиболее низкой степенью морозостойкости.

В отношении динамики содержания флавонолов указанной выше закономерности не наблюдается. Это еще раз подтверждает тот факт, что флавонолы слабее связаны с метаболизмом предшественников лигнина.

Приведенные в таблице 2 данные дают представление о среднем содержании флоридзина у изучаемых сортов и в органах и тканях яблони. Наиболее высоким уровнем содержания флоридзина отличается кора. Высокое содержание флоридзина наблюдается также в листьях и почках. Незначительное содержание флоридзина наблюдается в древесине. При расчете на сухое вещество, среднегодовое содержание флоридзина в коре — 10%, в листьях и почках — 9,2% и в древесине — 3,2%.

Содержание флавонолов (наибольшее в листьях и почках) подчеркивает их роль в жизнедеятельности живых клеток. В коре содержание флавонолов меньше, и еще ниже — в древесине.

### Выводы

1. В динамике флоридзина в побегах яблони наблюдается определенный годичный ритм, зависящий от активности синтеза и использования флоридзина, а также от погодных условий. Резкие изменения в содержании флоридзина наблюдаются весной. Наиболее высокий уровень его содержания отмечается в почках во время глубокого покоя.

2. Одной из функций флоридзина у яблони является его роль в качестве запасного вещества. Весной, в связи с активацией процессов роста, происходит интенсивное превращение флоридзина в соединения, которые используются в ростовых процессах.

3. У более морозостойких сортов яблони одревеснение побегов происходит интенсивно, вследствие чего эти сорта отличаются от менее морозостойких сортов более низким уровнем содержания флоридзина во всех органах яблони.

### Литература

1. Са ра пу у, Л. Учен. Зап. Тартуского гос. ун-та, Труды по физиол. и биох. растений, 1964, **151**, 1, 91.
2. Са ра пу у, Л. Физиол. раст., **12**, 1965, 1, 134.
3. Ва р дья, Т., Са ра пу у, Л. Физиол. раст., 1967. **14**, 3, 551.

# JAHRESRHYTHMUS VON PHLORIDZIN UND FLAVONOLEN VERSCHIEDENER APFELSORTEN

L. Sarapuu und M. Toom

Zusammenfassung

Die größten Veränderungen des Phloridzingehaltes von Knospen, Rinde und Holz der Apfeltriebe finden im Frühjahr statt. In Trieben sinkt der Phloridzingehalt vor der Knospentfaltung und steigt nach Bildung der Blätter. Unverholzte Triebe enthalten reichlich Phloridzin. Mit der Verholzung sinkt der Phloridzingehalt der Triebe, da Phloridzin zur Synthese von Ligninvorstufen verbraucht wird. Der maximale Phloridzingehalt der Knospen wird im Herbst während der Tiefruhepause erreicht. Die Dynamik der Flavonole stimmt im allgemeinen mit der des Phloridzins überein. Kambiales Wachstum hat keine Wirkung auf den Flavonolgehalt. Bei verhältnismäßig frostresistenten Apfelsorten ist der Verholzungsprozeß aktiv, deshalb unterscheiden sie sich von frostempfindlicheren durch niedrigeren Phloridzingehalt. Phloridzin gehört zu den wichtigsten phenolischen Reservstoffen des Apfelbaumes.

## О ДИНАМИКЕ ФЛАВОНОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ В ЛИСТЬЯХ, ПОБЕГАХ И КОРНЯХ ЯБЛОНИ

Х. Мооритс и Э. Хирсон

Содержание флавоноидных гликозидов в листьях древесных пород колеблется в течение всего вегетационного периода.

Максимальное содержание флавоноидных соединений в листьях яблони наблюдается в середине лета (1). В листьях слив уровень содержания флавоноидных гликозидов повышается до прекращения роста листьев, затем происходит его снижение (2), обусловленное оттоком веществ из листьев в другие органы. По данным Элбановской (3) в листьях березы содержание гиперина (кверцетингалактозида) повышается к концу вегетационного периода, однако осенью в желтых листьях березы гиперина содержится меньше, чем в зеленых.

Цель настоящей работы — изучить динамику флавоноидных гликозидов в листьях яблони. В ходе исследований обращается внимание на погодные условия, интенсивность роста побегов, а также проводится анализ содержания флавоноидных гликозидов в коре побегов и корнях.

### Материал и методика

Для опыта были взяты следующие сорта яблони:

1. Белый налив
2. Осеннее полосатое
3. Лифляндское луковичное
4. Ланге<sub>1</sub> (гибрид яблони Палласова).

Яблони росли в опытном саду отделения Морна Экспериментальной базы Полли, посажены в 1951—1953 гг.

3 г измельченного сухого материала экстрагировали три раза (по 30 мин.) в 30 мл дистиллированной воды при 100°С, остаток промывали горячей дистиллированной водой. Полученные экстракты соединяли и прибавляли воду до объема 100 мл. Для осаждения флавоноидных соединений, содержащих о-гидроксильные группы, прибавляли 15 мл 30%-ного нейтраль-

ного уксуснокислого свинца и оставляли стоять. Через 24 часа осадок отделяли центрифугированием от надосадочной жидкости. Из осадка, суспензированного в 10 мл 96° С этанола, флавоноиды освобождали прибавлением нескольких капель 50% раствора серной кислоты, затем проводили фильтрование (фильтрат I).

Для осаждения остальных флавоноидных соединений к надосадочной жидкости прибавляли 10 мл насыщенного раствора основного уксусно-кислого свинца. Отделенный центрифугированием осадок через 24 часа подвергали обработке в вышеуказанном порядке (фильтрат II).

Для изучения состава флавоноидных соединений в фильтратах I и II использовали метод хроматографии на бумаге. Растворителями были:

- 1) 15% уксусная кислота;
- 2) этилацетат-муравьиная кислота-вода (10 : 2 : 3).

Пятна гликозидов элюировали из хроматограмм 50%-ным этанолом.

Содержание флоридина определяли спектрофотометром СФ-4 при 283 нм, коэффициент экстинкции — 15470. Содержание кверцетингликозидов определяли суммарно при 255 нм, коэффициент экстинкции — 22390 (см. в настоящем сборнике ст. Л. Саррапуу и Х. Мийдла). Результаты выражены в мг на один грамм сухого вещества.

### Результаты исследований и их обсуждение

Влияние погодных условий на флавоноидные гликозиды изучали по их содержанию в листьях яблони, которые были собраны во второй половине лета 1962 и 1963 гг. Лето 1962 года отличалось влажной и прохладной погодой, температура воздуха была на 1—2° С ниже многолетней средней температуры, количество осадков превышало норму в 1,5 раза (табл. I составлена по данным метеорологической службы) (4, 5). В течение лета 1963 года стояла теплая солнечная погода, значительное количество осадков стало выпадать лишь в августе.

Таблица I

Погодные условия летом в 1962 и 1963 гг.

Месяц	Средняя температура воздуха, °С			Количество осадков мм		
	1937—1947 гг.	1962 г.	1963 г.	Среднее за 1922—1932 гг.	1962 г.	1963 г.
Май	10,3	9,1	14,5	57	89	35
июнь	14,1	12,0	14,1	74	60	47
июль	16,6	15,0	17,7	80	104	34
август	14,9	13,6	16,8	116	184	153
сентябрь	10,4	9,8	12,7	80	111	15
октябрь	5,0	6,8	9,5	78	38	35

Таблица 2

## Длина побегов (см)

Сорт	1962 г.	1963 г.
Белый налив	23,8	12,4
Лифляндское луковичное	33,3	13,1
Осеннее полосатое	18,6	18,7
Ланге <sub>1</sub>	20,1	16,8

Различные погодные условия в летний период оказали на рост побегов яблони различное влияние. Из таблицы 2 выясняется, что в 1962 году побеги подопытных яблонь (за исключением сорта Осеннее полосатое) росли значительно интенсивнее, чем летом в 1963 году.

Таблица 3

## Среднее содержание флоридзина и кверцетингликозидов в листьях (мг/г)

Сорт	Флоридзин		Кверцетингликозиды	
	1962 г.	1963 г.	1962 г.	1963 г.
Белый налив	4,5	5,1	1,3	2,6
Лифляндское луковичное	2,1	3,0	1,5	6,1
Осеннее полосатое	6,6	6,9	1,5	2,4
Ланге <sub>1</sub>	12,9	17,2	5,2	7,7

Из таблицы 3 следует, что среднее содержание флоридзина и кверцетингликозидов в листьях подопытных яблонь в 1963 году превышало их содержание в 1962 году. Следовательно, сухая и теплая погода благоприятствовала накоплению гликозидов в листьях яблони.

У сортов, отличавшихся в указанные годы опыта незначительными отклонениями в длине побегов, разница в содержании флавоноидных соединений в листьях была тоже незначительная (у сорта Осеннее полосатое), особенно это наблюдалось в отношении содержания флоридзина. При сравнении отдельных сортов между собой необходимо отметить, что содержание флавоноидных гликозидов в листьях гибрида яблони Палласова, Ланге<sub>1</sub> более высокое, чем в листьях у культурных сортов. Обращает на себя внимание и сорт Лифляндское луковичное, у которого в 1963 году содержание кверцетингликозидов значительно выше, чем у сортов Осеннее полосатое и Белый налив. Такие разли-

чия в содержании гликозидов можно объяснить, по-видимому, видовыми и сортовыми различиями яблони.

При определении сезонной динамики флоридзина (рис. 1) выясняется, что содержание флоридзина в листьях достигает максимума в начале июля. В условиях Эстонской ССР рост побегов яблони прекращается обычно в начале июля. Следовательно, тор-

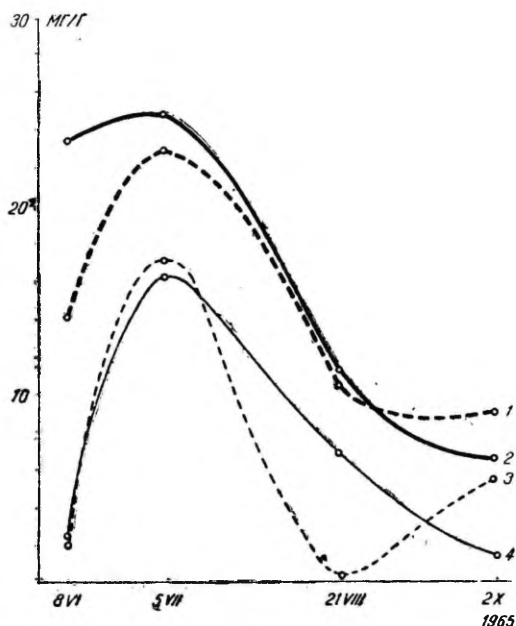


Рис. 1. Содержание флоридзина в листьях яблони.

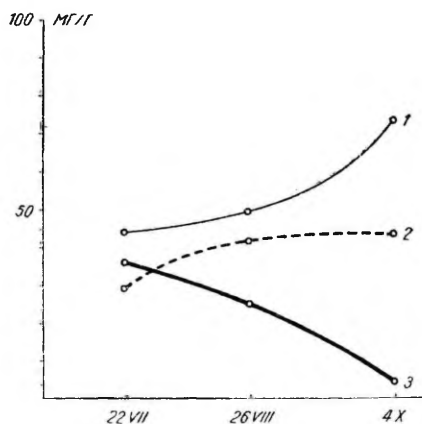
1. Лифляндское луковичное
2. Ланге
3. Белый налив
4. Осеннее полосатое

можение роста побегов совпадает с повышением содержания флоридзина в листьях.

С целью выяснения вопроса — связано ли снижение содержания флоридзина во второй половине лета с его оттоком из листьев в другие органы яблони — в 1966 году проводили анализ содержания изучаемых соединений в листьях, побегах и корнях яблони. Результаты анализа у всех подопытных сортов были сходные. Особенно высоким содержанием флоридзина отличаются корни. Как видно из рис. 2, при снижении в листьях содержания флоридзина происходит соответствующее повышение его содержания как в коре побегов, так и в корнях яблони. Из этого мож-

Рис. 2. Содержание флоридзина в листьях, побегах и корнях яблони у сорта Лифляндское луковичное

1. Корни
2. Побеги
3. Листья



но сделать вывод, что с наступлением осени флоридзин или продукты его распада передвигаются из листьев в побеги и корни, т. е. в органы, являющиеся главным хранилищем запасных веществ деревьев. Снижение содержания флоридзина в листьях осенью и повышение его содержания в побегах и корнях указывают на возможность участия флоридзина в качестве запасного вещества. Из литературных источников (6) известно, что ткани яблони для поддержки их ростовых процессов в состоянии использовать из флоридзина глюкозу.

Из рисунка 3 выясняется, что в содержании кверцетингликозидов листьев подопытных сортов яблони в 1965 году происходили сравнительно незначительные изменения. У сортов Лифляндское луковичное и Ланге, повышение количества глюкозидов наблюдалось только в начале октября. Что касается динамики содержания кверцетингликозидов в листьях яблони осенью в 1966 году, то в октябре, по сравнению с результатами анализов в летние месяцы, наблюдалось снижение их содержания в листьях и некоторое повышение их содержания в побегах (рис. 4). В корнях кверцетингликозиды почти не встречаются. По-видимому, теплая и сухая погода в сентябре 1965 года (табл. 4, составлена по данным метеорологической службы) благоприятствовала синтезу кверцетингликозидов.

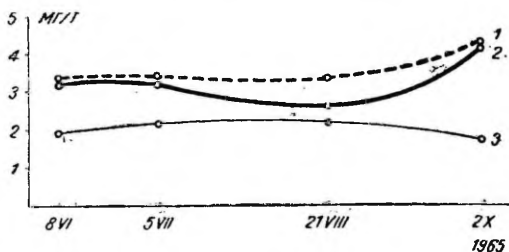


Рис. 3. Содержание кверцетингликозидов в листьях яблони

1. Лифляндское луковичное
2. Ланге,
3. Осеннее полосатое

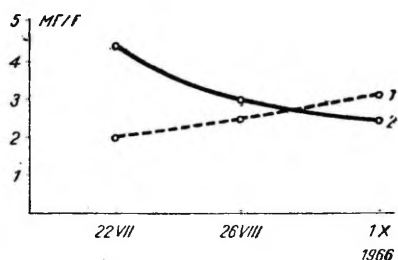


Рис. 4. Содержание кверцетингликозидов в листьях и побегах яблони у сорта Лифляндское луковичное  
1. Побеги  
2. Листья

Таблица 4

Погодные условия осенью в 1965 и 1966 гг.

Месяц	Средняя температура воздуха, °С		Количество осадков, мм	
	1965 г.	1966 г.	1965 г.	1966 г.
август	14,5	14,5	29	37
сентябрь	12,9	9,6	50	123
октябрь	5,7	6,5	46	60

Кверцетингликозиды яблони содержат в виде основных сахарных остатков галактозу и рамнозу. Из литературных источников известно, что галактоза оказывает тормозящее влияние на ростовые процессы (7).

Очевидно, гликозиды, содержащие галактозу и рамнозу, не участвуют в качестве запасных веществ для интенсивного роста побегов в начале лета и не накапливаются в органах яблони в таком количестве, как содержащий глюкозу флоридзин. Не исключена возможность, что некоторые кверцетингликозиды являются в яблоне остатками обмена веществ.

### Выводы

На основании данных результатов исследований динамики содержания флавоноидных гликозидов в листьях, побегах и корнях яблони можно сделать следующие выводы:

1. В листьях и побегах яблони встречаются флоридзин и кверцетингликозиды. Основным флавоноидным соединением в корнях яблони является флоридзин.

2. Сухая и теплая погода, а также прекращение роста побегов способствуют накоплению флавоноидных гликозидов в листьях яблони.

3. Максимальное содержание флоридзина в листьях яблони наблюдается после прекращения роста побегов. К концу веге-

тации содержание флоридина в листьях яблони снижается, однако в побегах и корнях уровень его содержания значительно повышается.

4. Содержание кверцетингликозидов в листьях яблони колеблется меньше, чем содержащие флоридина Осенью происходит некоторое повышение их содержания в побегах яблони.

#### Литература

1. Сарапуу, Л. Уч. зап. ТГУ, 1964, 151, 1, 91.
2. Hillis, W. E., Swain, T. J. Sci. Ed. Agric., 1959, 10, 135
3. Elbanowska, A., Kaczmarek, F. Herba polon., 1965, 11, 1, 47
4. Agrometeoroloogiline bulletin, 1962—1966, Tln.
5. Agrometeoroloogiline teatmik, 1960, Tln.
6. Priestley, C. A. Rep., East Malling Res. Sta., 1960, 70
7. Göring, H., Reckin, E. Flora, Abt. A., 1968, 159, 82

## DYNAMIK DER FLAVONOIDGLYKOSIDE IN BLÄTTERN, TRIEBEN UND WURZELN DER APFELBÄUME

H. Moorits und E. Hirson

### Zusammenfassung

Die Blätter und Triebe der Apfelbäume enthalten Phloridzin und Quercetingglykoside. Phloridzin gehört zu den wichtigsten phenolischen Inhaltsstoffen der Wurzeln des Apfelbaumes.

Bei warmem und trockenem Wetter erhöht sich die Menge der Flavonoidglykoside in den Blättern der Apfelbäume, dieselbe Wirkung hat die Beendigung des Triebwuchses.

Am phloridzinreichsten sind die Apfelblätter in der Mitte des Sommers (Anfang Juli). Gegen Ende der Vegetation sinkt die Phloridzinmenge in den Blättern und steigt in den Trieben und insbesondere in den Wurzeln.

Der Inhalt von Quercetingglykosiden ändert sich verhältnismäßig langsam. Der Verminderung der Menge der Quercetingglykoside in den Blättern entspricht im Herbst eine Steigerung des Inhaltes der Quercetingglykoside in den Trieben. Die Wurzeln enthalten nur Spuren von Quercetingglykosiden.

## СОДЕРЖАНИЕ

Сарапуу Л., Мийдла Х. Фенольные соединения яблони . . . . .	3
Хейнару Э., Сарапуу Л. Окисление и динамика флоридзина в побеге яблони . . . . .	9
Heinaru, E., Sarapuu, L. Oxydation und Dynamik des Phloridzins im Apfeltrieb. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	13
Сарапуу Л., Хейнару Э., Вардя Т. Окисление флоридзина в тканях яблони . . . . .	14
Sarapuu, L., Heinaru, E., Vardja, T. Phloridzinoxidation in Apfelbaumgeweben. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	39
Сарапуу Л., Витте Э. О метаболизме коричных кислот в яблоне . . . . .	40
Sarapuu, L., Vitte, E. Vom Metabolismus der Zimtsäuren in Apfelbäumen. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	47
Мийдла Х., Милиус А., Вайнярв Т. Содержание фенольных соединений и лигнификация древесины побегов яблони в зависимости от минерального питания . . . . .	48
Miidla, H., Milius, A., Vainjärv, T. Die phenolischen Verbindungen und die Lignifikation im Xylem der Apfelbaumtriebe im Zusammenhang mit der Mineralstoffernährung. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	73
Мийдла Х., Милиус А., Вайнярв Т. Содержание фенольных соединений и лигнификация древесины побегов яблони в зависимости от водного режима . . . . .	74
Miidla, H., Milius, A., Vainjärv, T. Phenolische Verbindungen und die Lignifikation im Xylem der Apfelbaumtriebe im Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt des Bodens. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	79
Вардя Т., Сарапуу Л. Влияние флоридзина и регуляторов роста на скорость распускания почек яблони и на содержание фенольных соединений в ее побегах . . . . .	80
Vardja, T., Sarapuu, L. Vom Einfluß des Phloridzins und der Wuchsregulatoren auf die Knospenentfaltung und auf den Gehalt phenolischer Inhaltsstoffe in Trieben der Apfelbäume. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	86
Сарапуу Л., Тоом М. Годичный режим изменения содержания флоридзина и флавонолов у разных сортов яблони . . . . .	87
Sarapuu, L., Toom, M. Jahresrhythmus von Phloridzin und Flavonolen verschiedener Apfelsorten. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	91
Мооритс Х., Хирсон Э. О динамике флавоноидных гликозидов в листьях, побегах и корнях яблони . . . . .	92
Moorits, H., Hirson, E. Dynamik der Flavonoidglykoside in Blättern, Trieben und Wurzeln der Apfelbäume. <i>Zusammenfassung</i> . . . . .	98

ТРУДЫ ПО ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ  
РАСТЕНИЙ

III

Фенольные соединения яблони

На русском языке.

Резюме на немецком языке.

Тартуский государственный университет,  
ЭССР, г. Тарту, ул. Юликооли, 18.

Ответственный редактор Л. С а р а п у.

Корректоры Н. Чикалова, Ф. Кибберман

---

Сдано в набор 25/XI 1969 г. Подписано к печати  
9/VI 1970 г. Печ. листов 6,75+1 вклейка. Учетно-  
издат. листов 7,1. Тираж 500 экз. Бумага фабрики  
«Кохила», типографская № 2. 60×90.<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. МВ-03990.  
Заказ № 7073.

---

Типография им. Ханса Хейдеманна, г. Тарту,  
ул. Юликооли 17/19. I.

Цена 80 коп.

## ОКИСЛЕНИЕ И ДИНАМИКА ФЛОРИДИНА В ПОБЕГЕ ЯБЛОНИ

Э. Хейнару и Л. Сарану

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 9.

Активность окисления флоридина и флавонолов при аэробном автолизе тканей яблони и динамике содержания этих соединений в разных частях побега яблони (верхняя, средняя и нижняя) определяли с помощью бумажной хроматографии и количественного учета веществ на спектрофотометре. Измельченные листья и кора на воздухе быстро буреют, — в автолизате происходит быстрое снижение содержания флоридина и одновременно образуются коричневые продукты его окисления. У флавонолов такого окисления не наблюдается. Наиболее высокое содержание флоридина отмечается в верхней части побега. Наряду со снижением уровня содержания флоридина происходит активация процессов лигнификации. Содержание флавонолов в побегах яблони повышается от верхушки к основанию побега, начиная с весны до наступления осени.

Библиогр. 6 назв.

## ОКИСЛЕНИЕ ФЛОРИДИНА В ТКАНЯХ ЯБЛОНИ

Л. Сарану, Э. Хейнару, Т. Вардь

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 14.

Для исследования окисления флоридина в продукты окисления флоридина (ПОФ) использовали грибную о-дифенолксидазу (о-ДФО) и неочищенный ферментный препарат (ФП), который получили из водного экстракта почек (или листьев) яблони осаждением 65%-ным ацетоном. Инкубационную смесь (ИС) (5 мл флоридина,  $5 \cdot 10^{-3}$  М + 3 мл фосфатного или фосфат-цитратного буфера с рН 6,6 + 1 мл ФП + 1 мл раствора изучаемого фактора) инкубировали обычно 1—20 часов в аэробных или анаэробных условиях в темноте при 30° С. Пробы (0,2 или 0,4 мл) хроматографировали и разогнали растворителем *n*-бутанол-уксусная кислота-вода в объемных соотношениях 3:2:95 или 100:19:35. Пятна флоридина на хроматограммах отмечали в УФ-свете, элюировали 48%-ным этанолом (50 мл) и элюат спектрофотометрировали при 283 нм. Пятна ПОФ на хроматограммах отмечали по изменению их окраски под действием аммиака, элюировали 25 мл-ами аммиачной воды (1 мл 25% аммиака в л) и через 30 мин определяли их спектрофотометрически при  $\lambda$  455 нм. Обнаружили ферментативное окисление флоридина под действием о-ДФО в аэробных условиях в бесцветный предшественник ПОФ, который при стоянии раствора переходит в  $x_1$ -ПОФ. В анаэробных условиях реакции не происходит. Активаторами реакции являются о-дифенолы (хлорогенат, кофейнат, катехол) и конкурирующими субстратами — монофенолы (п-кумарат). Агликоны ПОФ не активируют реакции. Предполагается, что флоридин окисляется в результате монофенолксидазного центра о-ДФО у 3-углеродного атома. Под действием о-ДФО флоридин окисляется в предшественник ПОФ (п-ПОФ), который при нейтрализации кислот хроматограмм переходит в «красный хинон». Последний под действием кислоты частично превращается в желтый изомер  $x_1$ -ПОФ. о-Дифенолы активируют реакцию п-ПОФ  $\rightarrow$   $x_1$ -ПОФ. Взаимная изомеризация  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ ускоряется при повышении температуры, в водном растворе и при рН 4,2. Для  $x_1$ -ПОФ, по сравнению с  $x_2$ -ПОФ, свойственны более высокая растворимость и лабильность.  $x_1$ - и  $x_2$ -ПОФ являются соединениями с конъюгированными связями, вследствие чего оба соединения легко переходят в хиноидные формы. Кроме изомеров ПОФ, в инкубационной смеси обнаружили еще флороглюцин (в тканях не обнаруживается), флоретин, флоретинат и л-кумарат. Реакции, проводившиеся с инкубацией флоридина в присутствии ФП в аэробных условиях, сходны с происходящими в тканях яблони процессами. Окисление флоридина в аэробных условиях происходит при повреждении поверхности тканей яблони. При этом образуются коричневые олигомерные продукты окисления, которые защищают внутренние ткани от проникновения микроорганизмов.

Библиогр. 34 назв., илл. 4.

**О МЕТАБОЛИЗМЕ КОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ЯБЛОНЕ**

Л. Сарпуу и Э. Витте

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 40.

Для изучения метаболизма коричных кислот (I) использовали неочищенный ферментный препарат, который получили осаждением из водного экстракта тканей яблони 65%-ным ацетоном. При проведении реакции использовали также активность тканей, гомогенатов и ацетоновых препаратов. Продукты реакции подвергали хроматографическому и спектрофотометрическому анализам. Обнаружили, что флоретинат является в тканях яблони нативным соединением и используется ферментами яблони для образования п-кумарата и кофейната. Свободного циннамата в тканях яблони не обнаружили, и в тканях не происходило превращения его в остальные коричные кислоты. Выдвигается гипотеза, что I возникают в тканях яблони двумя путями: один путь — непосредственно из фенилаланина, а другой путь — из фецилаланина через флоридзин и флоретинат. При этом основным путем возникновения коричных кислот является их непосредственное образование из фенилаланина. В случае, если для образования I используются запасные вещества фенольного характера, то I образуются и из флоридзина.

Библиогр. 20 назв., илл. 1.

**СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ЛИГНИФИКАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ ПОБЕГОВ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ**

Х. Мийдла, А. Милиус и Т. Вайнярв

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 48.

В настоящей работе рассматривается вопрос о влиянии минерального питания на содержание в древесине побегов яблони у сорта 'Антоновка' свободных флавоноидгликозидов (флоридзин, гиперин), а также на содержание окисленных нитробензолом продуктов (ванилин, сиреневый альдегид) в связи с лигнификацией клеточных стенок.

Оказывается, что под влиянием азотного удобрения биосинтез фенольных соединений замедляется, а биосинтез белков активируется и при этом происходит усиление роста. Фосфорные и калийные удобрения, в противоположность азотным удобрениям, активируют образование фенольных соединений, но подавляют синтез белков и рост, причем фенилаланин включается в биосинтез лигнина, а не в биосинтез белков.

Показателем степени лигнификации у растений, получавших полное минеральное питание в фазе листопада, считается невысокое соотношение продуктов окисления древесины нитробензолом (соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду 1:2,8).

Чем ниже соотношение содержания ванилина к сиреневому альдегиду, тем более метоксилированным является лигнин древесины у яблони, т. е. тем большее количество образуется лигнина сирингилового типа.

Библиогр. 69 назв., илл. 3.

УДК 581.192

## СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ЛИГНИФИКАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ ПОБЕГОВ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОДНОГО РЕЖИМА

Х. Мийдла, А. Милиус, Т. Вайнярв

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 74.

Рассматривается влияние различного содержания воды в почве на содержание мономерных и конденсированных фенольных соединений.

Содержание флавоноидгликозидов (флоридзин, гиперин) и продуктов окисления нитробензолом в щелочной среде (ванилин, сиреневый альдегид) повышается со снижением влажности почвы, и наоборот.

Наилучшая степень лигнификации отмечается у растений вариантов опыта 70% + 40%  $W_{max}$ .  
Библиогр. 6 назв.

---

УДК 581.198

## ВЛИЯНИЕ ФЛОРИДЗИНА И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА СКОРОСТЬ РАСПУСКАНИЯ ПОЧЕК ЯБЛОНИ И НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЕЕ ПОБЕГАХ

Т. Вардья и Л. Сарануу

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 80.

Побеги яблони брали в середине марта и ставили срезанными концами в воду и растворы флоридзина (200) (I), ГК (100) и ИУК (100 мг/л). Этими же растворами опрыскивали побеги каждый день. Вариант с водой оставляли стоять в темноте. У вариантов, обработанных I и ГК, содержание I в почках побегов снижается быстрее, чем у контроля. Это явление совпадает с наблюдениями о повышенной скорости роста почек у этих вариантов. Высокое содержание I весной не оказывает ингибирующего влияния на ростовые процессы. Экзогенно добавленный I оказывает на распускание почек даже стимулирующее влияние. ГК стимулирует распускание почек, снижает доминирующее действие верхушечной почки и активирует снижение содержания I. ИУК на распускание почек не оказывает влияния. Темнота подавляет распускание почек и уменьшает содержание I. Делается вывод, что I является в яблоне запасным в-вом, которое используется при распускании почек для ростовых процессов. Библиогр. 14 назв., илл. 3.

## ГОДИЧНЫЙ РИТМ ИЗМЕНЕНИЯ ФЛОРИДИНА И ФЛАВОНОЛОВ У РАЗНЫХ СОРТОВ ЯБЛОНИ

Л. Сарану, М. Тоом

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 87.

Содержание флоридина (I) и флавонолов (II) изучали хроматографическим и спектрофотометрическим методами у четырех различающихся по степени морозостойкости сортов яблони. Наиболее глубоким изменениям подвергается I в почках, коре и древесине весной. Перед распусканием почек I накапливается в побегах, в фазе распускания почек его содержание в побегах резко снижается и снова повышается после образования листового аппарата. Происходящие изменения указывают на важную роль флоридина как запасного вещества фенольного характера. Высокое содержание флоридина предшествует одревеснению побегов. Параллельно с лигнификацией побега содержание I в нем постепенно снижается — использование I для образования предшественников лигнина. После прекращения камбиальной активности побега накопление I еще продолжается. Под влиянием низких температур осенью содержание I в коре и древесине снижается. Динамика II в основном совпадает с динамикой I и камбиальный рост не вызывает изменений в содержании II. У более морозостойких сортов одревеснение побегов происходит наиболее активно, вследствие чего эти сорта отличаются от менее морозостойких сортов более низким уровнем содержания I во всех органах. Среднегодичное содержание I у подопытных сортов яблони в почках и листьях — 4,1, в коре — 4,6 и в древесине — 1,7% от сырого веса.

Библиогр. 3 назв.

## О ДИНАМИКЕ ФЛАВОНОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ В ЛИСТЯХ, ПОБЕГАХ И КОРНЯХ ЯБЛОНИ

Х. Мооритс и Э. Хирсон

«Фенольные соединения яблони». Уч. зап. ТГУ, Труды по физиол. и биох. растений, III, 1970, выпуск 256, стр. 92.

При помощи хроматографии на бумаге и спектрофотометрии изучена динамика содержания флавоноидных гликозидов в органах яблони. В листьях и побегах встречаются флоридин и кверцетингликозиды. Основным флавоноидным соединением в корнях является флоридин. Максимальное содержание флоридина наблюдается в листьях яблони после прекращения роста побегов. К концу вегетации содержание флоридина в листьях снижается, однако в побегах, и особенно в корнях, уровень его значительно повышается. Осенью уменьшается содержание кверцетингликозидов в листьях, одновременно происходит повышение их содержания в побегах.

Библиогр. 7 назв., илл. 4.

80 kop.

TÜ RAAMATUKOGU



1 0300 00289692 8

80 коп.

