

Удо МАРГНА, Тийу ВАЙНЪЯРВ, Эви МАРГНА

СВЯЗЬ УСИЛЕННОГО НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ОСЕННИХ ЛИСТЬЯХ СО СДВИГАМИ В БЕЛКОВОМ ОБМЕНЕ

Появление у многих древесных и травянистых растений интенсивной антоциановой пигментации в осенних листьях — широкоизвестное природное явление, которое издавна привлекает внимание ботаников и физиологов растений. Большинство исследователей склонно рассматривать это как специфическую ответную реакцию отдельных видов растений на резкие изменения в условиях их внутренней и внешней среды осенью, причем главную роль в развитии интенсивной пигментации приписывают обогачению клеток растворимыми сахарами (Blank, 1958).

В то же время накопились данные о том, что многие из тех ответных реакций, которые долгое время считались типичными только для антоцианов (усиление их накопления под влиянием света, пониженных температур, некоторых антибиотиков, при разных формах минеральной недостаточности и т. д.), характерны фактически всем флавоноидным соединениям (Маргна и др., 1969; Rossiter, 1969; Халлоп, Маргна, 1970; Маргна, Халлоп, 1971; Школьник, Абышева, 1971; Абышева, 1972; Rossiter, Barrow, 1972; Маргна и др., 1973а, б), и таким образом связаны с общими сдвигами в интенсивности построения флавоноидного скелета. При этом установлено, что основное значение в указанных сдвигах имеют отнюдь не изменения в метаболизме углеводов, а, очевидно, изменения в направленности обмена белков (Маргна, 1970, 1972а).

Возникает вопрос: не распространяется ли осенняя интенсификация образования аналогичным образом также на другие производные флавоноидного ряда, и не связан ли весь этот процесс в первую очередь с теми сдвигами, которые в стареющих листьях имеют место в скоростях биосинтеза и катаболического расщепления белковых веществ? Изложенные ниже результаты сравнительных исследований, проведенных нами в 1971 г. с шестью видами растений, обладающими склонностью к интенсивной антоциановой пигментации осенью, позволяет дать на этот вопрос положительный ответ.

Опыты проводили с одновозрастными зелеными и красными листьями клена остролистного (*Acer platanoides* L.), черемухи обыкновенной (*Padus racemosa* (Lam.) Gil.), кизильника цельнокрайнего (*Cotoneaster integerrima* Med.), свидины кровавокрасной (*Thelycrania sanguinea* (L.) Fourr.), аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* Elliott) и ежевики несской (*Rubus nessensis* W. Hall). Образцы листьев собирали в начале сентября с деревьев и кустов, у которых большая часть листьев еще сохраняла свою нормальную окраску.

Собранный материал разделяли на две части. Одну часть фиксировали водяным паром в течение 15 мин, высушивали в термостате при 65 °С и подвергали анализу для определения белкового азота по микрометоду Кьельдаля. Содержание белка выражали в процентах от сухого вещества материала.

Другую часть листьев в свежем виде использовали для определения содержания флавоноидов. Для этого из материала с помощью коркового сверла вырезали диски диаметром 7 мм, из которых после тщательного перемешивания брали средние пробы для анализа. Пробы экстрагировали этанолом. Полученный экстракт подвергали хроматографическому разделению на бумаге в растворителях: I — изоамиловый спирт—петролейный эфир—уксусная кислота—вода (3:1:3:3, органическая фаза) и II — 3%-ная уксусная кислота. Пятна флавоноидов на хроматограммах распознавали по характерной темно-коричневой флуоресценции в ультрафиолетовом свете. Судя по ярко-желтой флуоресценции этих пятен в ультрафиолете после обработки хроматограмм парами аммиака и по расположению длинноволнового максимума спектров поглощения их этанольных элюатов в диапазоне 355—360 нм, все основные флавоноиды у всех шести видов являются флавонолами (ср. Reznik, 1955). Их количественное содержание определяли спектрофотометрически путем измерения оптической плотности водно-спиртовых элюатов (вода—этанол, 1:1) отдельных пятен при 360 нм. Результаты выражали в микрограмм-эквивалентах рутина на 1 см² площади листа, применяя для перечислений коэффициент экстинкции $1,40 \cdot 10^7$ (Magna, Magna, 1969).

Все анализы проводили в трехкратной повторности.

Таблица 1

Содержание флавонолов в зеленых и красных осенних листьях некоторых растений (в микрограмм-эквивалентах рутина на 1 см² площади листа, в скобках содержание в процентах по сравнению с зелеными листьями)

| Растение | Листья | Отдельные флавонолы | | | | Сумма |
|-----------|---------|---------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | | а | б | в | г | |
| Клен | Зеленые | 12 | 54 | | | 66 |
| | Красные | 56 (467) | 63 (117) | | | 119 (180) |
| Черемуха | Зеленые | 102 | | | | 102 |
| | Красные | 286 (280) | | | | 286 (280) |
| Кизильник | Зеленые | 18 | 24 | | | 42 |
| | Красные | 63 (350) | 43 (179) | | | 106 (252) |
| Свидина | Зеленые | 22 | | | | 22 |
| | Красные | 52 (236) | | | | 52 (236) |
| Арония | Зеленые | 45 | 33 | 44 | 28 | 150 |
| | Красные | 106 (236) | 38 (115) | 45 (102) | 38 (136) | 227 (151) |
| Ежевика | Зеленые | 8 | 16 | | | 24 |
| | Красные | 35 (438) | 68 (425) | | | 103 (429) |

Данные исследований представлены в табл. 1 и 2. Как видно, одно-возрастные зеленые и красные листья с одних и тех же растений четко отличаются друг от друга не только по содержанию антоцианов, но и по другим изученным показателям. Покрасневшие листья всех шести видов были значительно богаче флавонолами, причем в некоторых случаях содержание отдельных производных этого ряда в красных листьях в 3—4 раза превышало их содержание в зеленых. Особенно резки эти различия были у черемухи и ежевики (табл. 1). В ряде случаев на хроматограммах красных листьев наряду с пятнами основных флавонолов обнаружи-

вались отдельные слабые пятна некоторых других флавоноловых пигментов, содержание которых в зеленых листьях, очевидно, осталось ниже пределов, доступных хроматографическому определению.

Отчетливые, но противоположные различия наблюдались также в количестве белка. В покрасневших листьях среднее содержание белковых веществ было примерно в два раза меньше, чем в зеленых, колеблясь в пределах 4—5% (в зеленых около 10%) от общего количества сухого вещества материала (табл. 2). Это свидетельствует о том, что в пигментированных антоцианами листьях по сравнению с зелеными обмен белков значительно сдвинут в сторону преобладания процессов расщепления над процессами новообразования, указывая на заметное ускорение в них процессов общего старения.

На основании полученных данных можно заключить, что стимуляция, наблюдаемая в формировании антоцианов при физиологическом старении листьев (у видов, обладающих наследственной способностью к этому биосинтезу), не является характерной только для этой группы флавоноидов, а распространяется также на флавонолы, или, что еще вероятнее — на весь флавоноидный комплекс листьев растений. Отсюда логичнее вытекает, что изменения метаболизма, лежащие в основе этой стимуляции, должны иметь общее значение для биосинтеза углеродного скелета флавоноидных соединений и не могут быть связаны с более отдаленными процессами, приводящими к типичным только для антоцианов особенностям строения молекулы.

Судя по современным представлениям о путях биосинтеза соединений флавоноидной структуры (Neish, 1964), одним из наиболее вероятных изменений такого характера может быть увеличение в листьях фондов доступного для этих процессов фенилаланина — основного предшественника в формировании флавоноидов. Значение субстратной обеспеченности фенилаланином в регуляции накопления флавоноидов в растительных клетках неоднократно подтверждалось экспериментами нашей лаборатории (Маргна, 1972а, б). Четкая отрицательная корреляция между содержанием флавоноидов и белков в красных и зеленых осенних листьях хорошо согласуется с этими представлениями и явно указывает на участие аналогичного механизма и в данном случае: наблюдаемое в стареющих листьях ослабление синтеза белка вместе с ускорением общего катаболического расщепления белковых компонентов тканей неизбежно должно привести к увеличению фондов свободного фенилаланина (как и других аминокислот; см. Стонов, Зубкова, 1970; Plaisted, 1958; Woolhouse, 1967; Spencer, Titus, 1972) в клетках, в результате чего и создаются благоприятные предпосылки для усиленного биосинтеза флавоноидов. Это позволяет предположить, что появление антоциановой пигментации (*resp.* усиление накопления флавоноидов в целом) в стареющих листьях представляет собой одно из проявлений сбалансированных отношений между процессами формирования флавоноидов и обменом белковых веществ в растениях (Маргна, 1972а), являясь фактически отражением и непосредственным результатом обычного ускорения диссимиляции белков в конце вегетационного периода.

Таблица 2

Содержание белка в зеленых и красных осенних листьях некоторых древесных растений (% от сухого вещества)

| Растение | Содержание белка | |
|-----------|-------------------|-------------------|
| | в зеленых листьях | в красных листьях |
| Клен | 9,53 | 4,00 |
| Кизильник | 9,94 | 5,75 |
| Свидина | 10,31 | 4,88 |
| Арония | 10,31 | 5,06 |

ЛИТЕРАТУРА

- Абышева Л. Н., 1972. Содержание гликофлавонов и рутина в листьях гречихи в зависимости от обеспеченности растений бором. Физиол. биох. культ. раст. 4 : 529—533.
- Маргна У., 1970. О взаимоотношениях образования флавоноидных соединений с углеводным обменом у растений. Изв. АН ЭССР. Биол. 19 : 143—166.
- Маргна У. В., 1972а. Конкурентные отношения между биосинтезом белков и образованием флавоноидных соединений и их биологическое значение. В сб.: Регуляция роста и питание растений. Минск : 64—72.
- Маргна У., 1972б. Субстратная регуляция накопления флавоноидных соединений и ее значение в метаболизме растений. Тезисы докл. семинара по физиол. и биох. фенольн. соедин. раст. Тарту : 33—38.
- Маргна У., Маргна Э., Оттер М., 1969. Действие некоторых антибиотиков на образование антоцианов и рутина в гипокотылях проростков гречихи. Изв. АН ЭССР. Биол. 18 : 219—299.
- Маргна У., Халлоп Л., 1971. Эффект экранирования на светиндуцированное образование флавоноидов в проростках гречихи. Изв. АН ЭССР. Биол. 20 : 347—349.
- Стонов Л. Д., Зубкова Н. Ф., 1970. Изменение азотного обмена при дефолиации. В сб.: Регуляция роста растений химическими средствами. М. : 136—147.
- Халлоп Л., Маргна У., 1970. О светозависимости образования антоцианов и рутина в семядольных листочках гречихи. Изв. АН ЭССР. Биол. 19 : 17—24.
- Школьник М. Я., Абышева Л. Н., 1971. Влияние борной недостаточности на содержание катехинов, лейкоантоцианов и флавонолов в гречихе *Fagopyrum esculentum* Moench. Ботан. ж. 56 : 543—548.
- Blank F., 1958. Anthocyanins, flavones, xanthones. *Encycl. Plant Physiol.* 10 : 300—353.
- Margna U., Laanest L., Margna E., Otter M., Vainjärv T., 1973a. The influence of temperature on the accumulation of flavonoids in buckwheat and some other plant seedlings. *ENSV TA Toimet.*, Biol. 22 : 163—175.
- Margna U., Laanest L., Margna E., Vainjärv T., 1973b. Light-stimulated accumulation of leucoanthocyanidins and other flavonoids in buckwheat seedlings. *ENSV TA Toimet.*, Biol. 22 : 226—232.
- Margna U., Margna E., 1969. A suitable chromatographic method for quantitative assay of rutin and flavone C-glycosides in buckwheat seedlings. *ENSV TA Toimet.*, Biol. 18 : 40—50.
- Neish A. C., 1964. Major pathways of biosynthesis of phenols. In: *Biochemistry of Phenolic Compounds*. London—New York : 295—359.
- Plaisted P. H., 1958. Some biochemical changes during development and aging of *Acer platanoides* L. leaves. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 19 : 245—254.
- Reznik H., 1955. Über das Anthocyan des Herbstlaubes. *Naturwiss.* 42 : 180—181.
- Kossiter R. C., 1969. Physiological and ecological studies on the oestrogenic isoflavones in subterranean clover (*T. subterraneum* L.). VII. Effects of nitrogen supply. *Aust. J. Agric. Res.* 20 : 1043—1051.
- Rossiter R. C., Barrow N. J., 1972. Physiological and ecological studies on the oestrogenic isoflavones in subterranean clover (*T. subterraneum* L.). IX. Effects of sulphur supply. *Aust. J. Agric. Res.* 23 : 411—418.
- Spencer P. W., Taitus J. S., 1972. Biochemical and enzymatic changes in apple leaf tissue during autumnal senescence. *Plant Physiol.* 49 : 746—750.
- Woolhouse H. W., 1967. The nature of senescence in plants. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 21 : 179—213.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
9/X 1973

Udo MARGNA, Tiit VAINJÄRV, Evi MARGNA

**FLAVONOIDIDE SÜNTEESI INTENSIIVISTUMINE LEHTEDES SÜGISEL
JA SELLE SEOS NIHETEGA VALGU AINEVAHETUSES**

Resümee

Võrreldi hariliku vahtra, toominga, musta tuhkpuidu, vereva kontpuu, musta aroonia ning kitsemuraka roheliste ja punaste lehtede flavonoolide ja valgulise lämmastiku sisaldust sügisel. Kõikide liikide puhul oli antotsüaanide sisaldavates lehtedes ka flavonoolidesisaldus kuni neli korda kõrgem kui samavanustes rohelistes lehtedes, valgulise lämmastiku sisaldus aga umbes kaks korda roheliste omast madalam. Lähtudes sellest korrelatsioonist ning arvestades analoogi muutudes tingimustes kindlaks tehtud seostega valkude biosünteesi ja flavonoidide moodustumise vahel, järeldatakse, et antotsüaanide ja teiste flavonoidide biosünteesi intensiivistumine lehtedes sügisel on üks valkude ainevahetuse ja flavonoidide moodustumise vahel valitsevate balansseeritud vahekordade avaldumisvormi, vegetatsiooniperioodi lõpul toimuva valkude kiirenenud katabolismi otsene tulemus.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saanud
9. X 1973

Udo MARGNA, Tiit VAINJÄRV, Evi MARGNA

**THE INTENSIFICATION OF FLAVONOID FORMATION IN SENESCENT
LEAVES AND ITS RELATION TO THE SHIFTS IN PROTEIN METABOLISM**

Summary

Red and green autumn leaves of *Acer platanoides*, *Padus racemosa*, *Cotoneaster integerrima*, *Thelycrania sanguinea*, *Aronia melanocarpa*, and *Rubus nessensis* have been compared with respect to their content of flavonol pigments and protein azote. In anthocyanin-containing leaves of all species studied the content of flavonols was considerably (up to 4 times) higher than that in the green leaves of the same age, indicating that the stimulation of accumulation typical of anthocyanins in senescent leaves in a number of plant species, is not restricted to that kind of flavonoid compounds only, but covers, presumably, the whole set of flavonoids synthesized in leaf tissue. The simultaneous shifts in protein metabolism were found to be inversely correlated with the changes in flavonoid formation, the content of protein azote in green leaves being about twice higher than that in the red-pigmented ones. In virtue of that correlation and by the analogy with the peculiarities of protein-flavonoid relationship in plants under other environmental or experimental conditions, a conclusion has been drawn that the rise in the accumulation of anthocyanins and other flavonoids in senescent leaves represents one of the various manifestations of the typical balanced interrelations between protein metabolism and the processes of flavonoid formation in plants, being, in that case, a consequence of the usual acceleration of protein catabolism at the end of the vegetative period.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Oct. 9, 1973