

POLÜFENOLSETE ÜHENDITE AINEVAHETUSEST 'LIIVI KOLLASE MUNAPLOOMI' LEHTEDES

II. MUUTUSED POLÜFENOLSETE ÜHENDITE KOMPLEKSIS LEHTEDE ARENGU KÄIGUS JA NENDE SEOS POLÜFENOOLOKSÜDAASIGA

U. MARGNA

Käesoleva töö esimeses osas (Margna, 1962b) käsitleti küsimust, kuidas ja millisel määral muutub polüfenoolide sisaldus 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes erinevate pookealuste mõjul, pööramata erilist tähelepanu momentidele, mis puudutavad selle rühma üldist ainevahetust ja muutusi vegetatsiooniperioodi jooksul. Katseandmed pakuvad aga huvi ka sellelt seisukohalt, võimaldades heita valgust protsessidele, mis toimuvad polüfenoolsete ühendite kompleksis rühmas lehtede arengu käigus, eeskätt aga nende protsesside seosele polüfenooloksüdaasiga. Käesolevas artiklis vaadeldaksegi neid küsimusi peamiselt 1961. a. katsetulemuste põhjal*, mis koos katsetooodika täpse kirjeldusega on üksikasjalikult refereeritud uurimuse esimeses osas (Margna, 1962b). Peale selle püütakse anda seletus ka mõnede pookimisel ilmnevate korrelatiivset laadi seoste kohta puude morfoloogia ja kemismi vahel.

Polüfenoolsete ühendite sisalduse muutumise rütmist lehtede arengu käigus

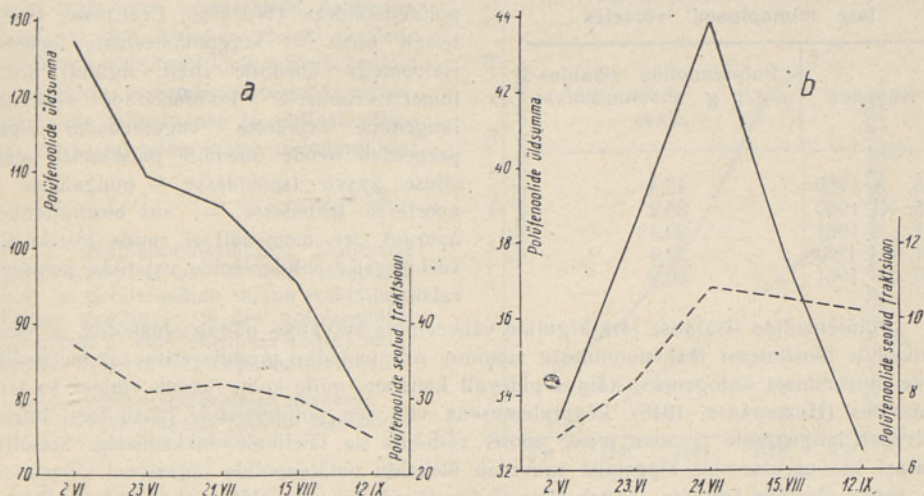
Kvantitatiivsetel fütokeemilistel määramistel võetakse tavaliselt aluseks absoluutkuiva aine sisaldus uuritavas objektis. Sellele kriteeriumile tuginedes on tehtud ka suurem osa järeldusi ühtede või teiste ainete, nende seas polüfenoolide sisalduse muutumiste kohta, vegetatsiooniperioodi jooksul. Niisuguse võtte objektiivsus ei tekitaks antud juhul kahtlusi, kui kuivainesisaldus ise oleks konstantne suurus. Tegelikult pole see nii ja kuivaine hulk muutub pidevalt, eriti lehtedes, kus metaboliitilised protsessid toimuvad suurima aktiivsusega. Seetõttu võib analüüsitulemuste väljendamine, arvatud absoluutkuivale ainele, anda taimes kulgevatest protsessidest näiliku pildi.

Kuivainesisalduse kõikumusest tingitud eksituste võimalikkusele on polüfenoolide sesoonse ja ealise dünaamika määramisel seni vähe tähelepanu juhiud. Kirjandusest võib selle kohta leida ainult üksikuid, seejuures lahkuminevaid seisukohti. Ühtede arvates ei toimu polüfenoolide sisalduses mingeid muutusi ja kogu nende dünaamika on tervikuna ainult «näilik» (Благовещенский, 1935); teised peavad seda laadi vigu tulemuste ümberarvutamisel kuivainele üldiselt võimalikuks, kuid on arvamusel, et need ei suuda siiski varjutada polüfenoolide dünaamikat (Джемухадзе, 1940). Faktilistest andmetest pakuvad huvi Kursanovi ja Krjukova (Курсанов, Крюкова, 1941) töö tulemused, mis on saadud ealiste muutuste kindlaksmääramisel teepõõsa, paju ja mustika lehtede parkainesisalduses: tulemuste arvutamisel absoluutkuivale ainele parkainete sisaldus lehtede vananedes vähenes, nende väljendamisel lehtede arvu kohta aga hoopis suurenes.

Kuivõrd põhjendatud on ettevaatus järelduste tegemisel kuivainele ümberarvutatud tulemuste põhjal, selgus veel kord käesolevas töös. Võttes aluseks kuivaine (vt. joon. 1, a), oli polüfenoolide sisaldus kõige kõrgem vegetatsiooniperioodi algul.

* Autor on siiralt tänulik töö juhendajale professor A. Kružilinale kasulike näpunäidete eest katseandmete läbitöötamisel.

Edasi toimus pidev, peaaegu lineaarne polüfenoolide sisalduse alanemine kuni lehtede varisemiseni, mille kulgu iseloomustab regressioonikoefitsient $b = -4,41 \pm 0,60$ (polüfenoolide mg/1 g absoluutkuivas aines dekaadi jooksul; vabadusastmete arv 28). Sellé põhjal võiks teha järelduse, et polüfenoolide sisaldus 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes viimaste vananemisel väheneb, mis oleks kooskõlas ka mitmete autorite analoogiliste andmetega



Joon. 1. Polüfenoolsete ühendite sisalduse muutumine 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes 1961. a. vegetatsiooniperioodil: a — mg/1 g absoluutkuivas aines, b — mg/77 cm² lehepinna kohta.

———— Polüfenoolide üldsumma.
 - - - - - Polüfenoolide seotud fraktsioon.

teiste taimede kohta (Джемухадзе, 1940, 1950; Крюкова, 1946; Курсанов, Бровченко, 1950; Полищук, 1958 jt.). Eespool toodud kaalutlustel oleks selline järeldus aga ennatlik. Võrreldes joonisel 1, a toodud kõverat selle kõveraga, mis on koostatud polüfenoolide absoluutse sisalduse põhjal lehe pinnahüki kohta (vt. joon. 1, b), selgub, et polüfenoolide sisaldus lehtedes vegetatsiooniperioodi algul mitte ei lange, vaid intensiivselt tõuseb, saavutades maksimumi juuli lõpul. Alles suve teisel poolel hakkab polüfenoolide sisaldus vähenema. Selline muutuste rütm tuleb lugeda iseloomulikuks polüfenoolide tegelikkule dünaamikale 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes ja see ühtib ka Hillise ning Swaini (1959) andmetega. Nimetatud autorid leidsid, et ploompüü lehtede kasvamise vältel suureneb neis kiiresti ka polüfenoolide absoluutne sisaldus; pärast seda aga, kui lehed on saavutanud maksimaalse suuruse, polüfenoolide sisaldus langeb.

Suured muutused polüfenoolide absoluuthulkades lehtedes arenemise vältel viitavad selle rühma aktiivsele osavõtule ainevahetusest. Seejuures näib, et polüfenoolid on eriti vajalikud teatavate protsesside normaalseks kulgemiseks just kudede kasvuperioodil, sest nende sisalduse intensiivset suurenemist täheldati nimelt vegetatsiooniperioodi esimesel poolel.

Polüfenoolide üldhulga suurenemine vegetatsiooniperioodi esimesel poolel on eelkõige lehtede biosünteesilise aparraadi tegevuse tulemuseks. Kõrge polüfenoolide protsent noortes lehtedes (ca 13% kuivainest) lubab aga arvata, et mitte kõik seal leiduvad polüfenoolid ei pärine lehtedes endis toimuvatest biosünteesilistest reaktsioonidest, vaid et vähemalt vegetatsiooniperioodi algul osa polüfenoolide translokatsioonist sinna võrsetest. Selline oletus ei ole vastuolus praeguste teadmistega võrsete biokemismist. On teada, et puude võrsetes kevadtalvisel ja kevadisel perioodil polüfenoolide sisaldus pidevalt suureneb, millele vahetult

enne vegetatsiooni algust järgneb langus. Samal ajal tärgklisesisaldus võrsetes langeb (Курсанов, 1944; Поплавский, 1956, 1958). Peaaegu analoogilist pilti polüfenoolide sisalduse muutumises täheldasime ka 'Liivi kollase munaploomi' võrsetes (vt. tab. 1).

Tabel 1

Polüfenoolide vees lahustuva fraktsiooni sisalduse muutumine 'Liivi kollase munaploomi' võrsetes

Kuupäev	Polüfenoolide sisaldus mg/l g absoluutkuivas aines
25. X 1960	45,4
25. XI 1960	35,2
27. I 1961	20,4
21. III 1961	29,4
26. IV 1961	30,9

Seega toimub võrsetes enne vegetatsiooni-perioodi algust intensiivne polüfenoolide mobiliseerumine, mis on võimalik ühelt poolt tänu varutärgklise biosünteesilisele muundumisele polüfenoolideks (Wardrop, Cronshaw, 1962), teiselt poolt — kõrgpolümeerse fenoolse iseloomuga ühendite (näit. ligniin) depolümeerisumisele. Polüfenoolide sisalduse langemine võrsetes vegetatsiooni algul peegeldab nende ühendite paiskamist intensiivse kasvu tsoonidesse — pungadesse ja noortesse lehtedesse —, kus biosünteesiline aparaat sel momendil ei suuda tõenäoliselt veel tagada polüfenoolide vajalikku kontsentratsiooni.

Polüfenoolide sisalduse järkjärguline vähenemine kuivaines näitab omakorda, et polüfenoolide biosünteesi reaktsioonidesse suunduv osa lehtedes produtseeritavast metaboliitide üldsummast ontogeneesi käigus pidevalt kahaneb, mille kohta leidub vihjeid ka kirjanduses (Нижарадзе, 1946). Lõpptulemusena viib see polüfenoolide biosünteesi intensiivsuse langemisele ja suve teisel poolel võib-olla ka täielikule lakkamisele. Seetõttu pärast kasvuperioodi lõppemist saavutab ülekaalu polüfenoolide tagasivool võrsetesse ja nende sisaldus lehtedest langeb kiiresti. On tõenäoline, et polüfenoolide hulga vähenemine lehtedes suve teisel poolel ongi tingitud peamiselt mobiilsemate vormide translokatsioonist võrsetesse, mida kinnitab ka võrsete kõrge polüfenoolide sisaldus kohe pärast lehtede varisemist. Viimaste uurimuste põhjal pole välistatud ka polüfenoolide osaline kasutamine energeetiliseks otstarbeks (Запрометов, 1959).

Sisemistest muutustest polüfenoolide kompleksis

Prevaleerivaks protsessiks, mis toimub polüfenoolsete ühendite kompleksis vegetatsiooniperioodi jooksul, on järkjärguline tihenemine, lihtsamate ühendite muundumine komplitseeritumaks (Курсанов, Крюкова, 1941; Крюкова, 1946; Бокучава, 1946; Курсанов, Бровченко, 1950). Selle protsessi üheks väljenduseks on polüfenoolide nn. seotud, veega mitte ekstraheruva fraktsiooni hulga absoluutne ja suhteline suurenemine kudedes vananemisel.

Meie katsete tulemused seotud fraktsiooni muutuste kohta on esitatud joonisel 1 kõrvuti polüfenoolide summaarsest dünaamikast iseloomustavate kõveratega, mida vaadeldi eespool. Lähtudes lehepinnale väljaarvutatud tulemustest (joon. 1, b), peab konstateerima, et ka 'Liivi kollase munaploomi' lehtedest nende vananemisel polüfenoolide seotud osa absoluutselt suureneb. Eriti ilmneb see vegetatsiooniperioodi esimesel poolel, s. o. ajal, millal täheldati ka polüfenoolide üldhulga intensiivset kasvamist. Augustis ja septembris püsib seotud fraktsiooni sisaldus küll enam-vähem ühesugusel tasemel, kuid vastav regressioonikoefitsient $b = 0,34 \pm 0,11$ (mg/77 cm² lehepinna kohta dekaadi jooksul) näitab kindlat tõusu ja on matemaatiliselt usaldusväärne. Täiesti ilmne on seotud fraktsiooni osatähtsuse suhteline suurenemine lehtede vananedes (joon. 2): juuni algul moodustas seotud fraktsioon polüfenoolide üldsummast ainult umbes 1/5, septembris aga juba üle 31% ($b = 1,02 \pm 0,11\%$ dekaadis).

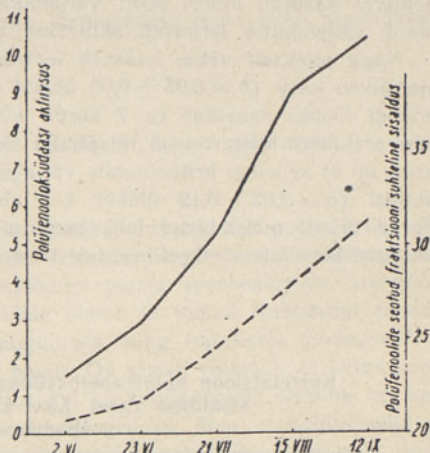
Kuivaine suhtes polüfenoolide seotud fraktsiooni hulk väheneb (joon. 1, a). See omakorda tõendab, et muutused kuivainesisalduses varjutavad polüfenoolide tegelikku dünaamikat. Vastav regressioonikoefitsient $b = -0,98 \pm 0,27$ aga on siin, märke arvesiamata,

ca 4,5 korda väiksem kui polüfenoolide üldsumma puhul ($b = -4,41 \pm 0,60$), seega suhe $\frac{\text{polüfenoolide seotud fraktsioon}}{\text{polüfenoolide üldsumma}}$ lehtede vananedes ikkagi suureneb.

Polüfenoolide seotud ning vees lahustuva fraktsiooni vahekorra muutumine peegeldab teatud kindlaid nihkeid, millele alluvad lehtedes leiduvad bioloogilised süsteimid vegetatsiooniperioodi jooksul. Bokutšava ja Popov (Бокучава, Попов, 1945, 1946), kes esimesena juhtisid tähelepanu polüfenoolide seotud fraktsiooni olemasolule taimedes, leidsid, et see kujutab endast kudede valgulistele komponentidele adsorbeerunud osa. Sellises seisundis kaotavad polüfenoolid oma lahustuvuse ja ühtlasi võime osa võtta mistahes neile iseloomulikest

Joon. 2. Polüfenooloksüdaasi aktiivsuse (0,01 n K_2O_3 ml-tes 77 cm^2 lehepinna kohta) ja polüfenoolide seotud fraktsiooni suhtelise sisalduse (%-des polüfenoolide üldsummast 77 cm^2 lehepinna kohta) muutumine 1961. a. vegetatsiooniperioodil.

— Polüfenooloksüdaasi aktiivsus.
- - - - Polüfenoolide seotud fraktsiooni suhteline sisaldus.



reaktsioonidest (Бокучава, Попов, 1945; Бокучава, 1947). Joonisel 1, b esitatud kõverate võrdlemisel ilmneb see teataval määral ka siin. Edasised uurimised näitavad, et valkudega on seotud komplekse võimelised moodustama ainult oksüdeerunud polüfenoolid, eeskätt nendeokinoonsed vormid (Попов, 1950, 1956, 1958). Järelikult tähendab polüfenoolide seotud fraktsiooni sisalduse suurenemine nende vormide tekkimiseks ja kogunemiseks vajalike tingimuste süvenemist lehtede arengu käigus. Vastavalt Oparini ja Robertsi seisukohtadele (Опарин, 1935; Roberts, 1942) eeldab see vastastikuse tasakaalu puudumist kudedes toimuvate redoksprotsesside vahel ning hapenduslike süsteemide toime domineerimist, mille tulemuselokinoonide tagasireduitseerumine on takistatud.

Seega tuleb järeldada, et kudede hapenduslik võime lehtede vananedes kasvab. Küllalt kõrge seotud polüfenoolide protsent noortes lehtedes sunnib paratamatult oletama, et seal redoksprotsesside vahel võrdsust kunagi ei ole, vähemalt neis süsteemides mitte, millest võtavad osa polüfenoolid. Algusest peale domineerivad oksüdatiivsed protsessid, vegetatsiooniperioodi jooksul nende ülekaal veel pidevalt kasvab. Selle järeldusega pole vastuolus ka joonisel 1, b esitatud kõver seotud fraktsiooni kohta. Juulist kuni septembrini praktiliselt muutumatute näitajatega kõvera platoole tuleb vaadata kui teatavale dünaamilise tasakaalu momendile. Ühelt poolt kudede hapenduslik võime pidevalt kasvab, millele järgneb uute polüfenoolfragmentide sidumine valkude poolt; teiselt poolt aga algab sel perioodil valkude intensiivne lagunemine ja osa seotud polüfenooli vabaneb. Summeerituna annavadki mõlemad vastandlikud protsessid näilise staatilise seisundi. Siit omakorda järeldub, et kõrvuti vaieldamatute tihenemisprotsessidega toimub lehtedes ka vastupidine protsess — keerulisemate polüfenoolsete ühendite desagregeerumine, mis eriti energiliselt kulgeb vegetatsiooniperioodi teisel poolel. Ilma desagregeerumisprotsessideta poleks polüfenoolide massiline transloitseerumine lehtedest võrsetesse võimalik.

Polüfenooloksüdaasi osa polüfenoolide muutustes

Üheks põhjuseks, millest hapendusliku potentsiaali suurenemine ningokinoonide redutseerumisvõimaluste progresseeruv vähenemine võivad olla tingitud, peaks olema oksüdaaside, eeskätt polüfenooloksüdaasi aktiivsuse tõus, millega ei kaasne ekvivalentne redukta-

side aktiveerumine; või ümberpöörduvalt: reduktaaside aktiivsuse langemine, millega ei kaasne ekvivalentne polüfenooloksüdaasi aktiivsuse vähenemine. Seetõttu on polüfenooloksüdaasi aktiivsuse uurimine polüfenoolide kompleksis toimuvate muutuste selgitamisel oluliselt tähtis, kuigi kinoonide redutseerumise takistamine võib olla tingitud ka hingamis- materjali (suhkrute) nappusest (Курсанов, Крюкова, 1947).

Meie katsetes 'Liivi kollase munaploomiga' määrati polüfenooloksüdaasi aktiivsus samadel kuupäevadel, millal võeti proovid polüfenoolide kvantitatiivseks määramiseks. Seejuures kasutati autori poolt väljatöötatud meetodit (Margna, 1962a). Uurimise tulemused, väljendatud fermenti aktiivsusega lehe pinnaühiku kohta, esitatakse joonisel 2.

Nagu jooniselt näha, kaasneb lehtede vananemisega polüfenooloksüdaasi aktiivsuse intensiivne kasv ($b = 0,95 \pm 0,06$ ühikut dekaadis), mille tulemusena see vegetatsiooni- perioodi lõpuks saavutas ca 7 korda kõrgema taseme kui noortes lehtedes. Vastavad ümberarvutused näitavad, et nii järsku tõusu ei suuda katta ka muutused kuivainesisalduses, nii et sellelegi kriteeriumile väljaviiduna ei tekita fermenti aktiivsuse suurenemine kahtlusi ($b = 2,02 \pm 0,12$ ühikut 1 g absoluutkuivas aines dekaadi jooksul). Seevastu tulevad täiesti mõistetavad lahkuminekud ilmsiks erinevate kriteeriumide põhjal välja arvatud korrelatsioonikoefitsientide võrdlemisel (vt. tab. 2).

Tabel 2

Korrelatsioon polüfenooloksüdaasi aktiivsuse (PFO) ja polüfenoolide sisalduse vahel 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes (vabadusastmete arv = 28)

	Korrelatsioonikoefitsient r , arvatud	
	kuivainele	lehe pinnaühikule
PFO \times polüfenoolide üldsisaldus	- 0,782	+ 0,023
PFO \times vees lahustuva fraktsiooni sisaldus	- 0,830	- 0,263
PFO \times seotud fraktsiooni sisaldus	- 0,555	+ 0,571
PFO \times seotud fraktsiooni suhteline sisaldus	+ 0,453	+ 0,848

Võttes aluseks kuivaine selgub, et polüfenooloksüdaasi aktiivsuse ja nii polüfenoolide üksikute fraktsioonide kui ka polüfenoolide kompleksi sisalduse muutuste vahel tervikuna valitseb tihed negatiivne korrelatsioon ($P \leq 0,001$). Siin on aga tegemist ainult näilise seosega, mis on tingitud kolmanda faktori (antud juhul kuivaine) muutustest. Seetõttu on need korrelatsioonikoefitsiendid objektiivsed ainult sedavõrd, kui võrd nad peegeldavad polüfenooloksüdaasi ning polüfenoolide vahelist seost kuivaine suhtes. Ei saa aga väita, et polüfenooloksüdaasi aktiivsuse tõusuga kaasneb ka tegelikult polüfenoolide sisalduse vähenemine lehtedes või ümberpöörduvalt, kuigi analoogilisi korrelatsioone on leidnud teisedki uurijad (Mondy, Klein, 1961). Täiesti vastupidised tulemused saadakse polüfenoolide absoluutühikadest lähtudes, kus kõrvalfaktorite mõju on elimineeritud (tab. 2, II veerg). Selgub, et polüfenooloksüdaasi aktiivsuse ning polüfenoolide summaarse sisalduse vahel tegelikult mingit korrelatsiooni ei esine, samuti pole korrelatsiooni olemasolu tõenäoline ka polüfenooloksüdaasi ning polüfenoolide vees lahustuva fraktsiooni vahel. Tugev seos ($P = 0,001$), seejuures positiivne, valitseb ainult polüfenooloksüdaasi ja polüfenoolide seotud fraktsiooni vahel ja siit loomuliku järeldusena ka polüfenooloksüdaasi aktiivsuse ning seotud fraktsiooni suhtelise sisalduse vahel.

Saadud tulemuste põhjal võib teha järelduse, et polüfenooloksüdaas polüfenoolsete ühendite biosünteesil, aga samuti nende disagregeerumisel, olulist osa ei etenda. Kuid ta on vastutav polüfenoolide tihenemisprotsessides, sealhulgas seotud fraktsiooni tekkimisel. See kinnitab eespool püstitatud oletust, et polüfenooloksüdaasi aktiivsuse tõus võib olla

ühiks juhtivaks faktoriks, mis põhjustab kudede hapendusliku võime suurenemist lehtede vananemisel.

On siiski tõenäoline, et mitte kõikides taimedes pole hapendusliku potentsiaali kasv seotud polüfenooloksüdaasi aktiivsuse tõusuga, nagu see ilmnes meie katsetes ja nagu see arvatavasti toimub ka õunapuulehtedes, kus samuti on täheldatud selle fermenti aktiivsuse suurenemist lehtede vananedes (Сисакян, Рубин, 1944). Paljudel juhtudel, seejuures ka teepõõsa kui tüüpilise polüfenoolse ainevahetusega taime puhul, polüfenooloksüdaasi aktiivsus lehtedes viimaste vananedes väheneb (Бокучава, 1946; Гогия, 1950), kuid seotud fraktsiooni sisaldus suureneb. Järelikult peab siin domineerima mõni teine hapenduslike tingimuste süvenemist soodustav faktor.

Pookimisel tekkivate morfofenoloogiliste muutuste seosest polüfenoolide sisaldusega

Käesoleva uurimuse esimeses osas (Margna, 1962b), mis käsitles pookealuste mõju polüfenoolide sisaldusele 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes, selgus üsna tõenäoline korrelatsioon: väiksemakasvuliste, lühema kasvuperioodiga puude (pookealusteks kreegipuu, laukapuu, liivakirsipuu) lehtedes olid polüfenoolide üldine ja seotud fraktsiooni sisaldus kõrgemad kui suuremaksvulistel puudel (omajuursed ning haralisele ploomipuule ja 'Liivi kollase munaploomi' seemikutele poogitud puud). On täiesti võimalik, et leitud korrelatsioon on ainult väline ja et nii puude suurus kui ka polüfenoolide sisaldus on kogu ainevahetuses toimunud muutuste kaugemateks tagajärgedeks, ilma et polüfenoolid ise puude mõõtmete väljakujunemisele mingit primaarset mõju avaldaksid. Suur hulk teadaolevaid fakte sunnivad siiski oletama otse põhjusliku seose olemasolu nende kahe näitaja vahel, kuigi oleks põhjendamatu seletada seda polüfenoolide kui mingite «kasvuinhiibitorite» mõjuga, milliseid omadusi mõnede selle rühma derivaatidele tõepoolest omistatakse (Tomaszewski, 1959; Пашкар, 1958).

Sissakjan ja Rubin (Сисакян, Рубин, 1944), uurides erinevusi vara- ja hiljavalmivate õunapuusortide biokemismis, pidasid üsna tõenäoliseks, et just polüfenoolide oksüdatsiooniproduktide kogunemine võib olla faktoriks, mis kutsub esile lehtede kiirema vananemise. Tomaszewsky (1957) leidis, et viljapuude lehtede varasema kolletamise ning mahavarisemise ja polüfenool-polüfenooloksüdaasse süsteemi aktiivsuse vahel valitseb enamikel juhtudel otsene paralleelism. Lehtede arengu pidurdumist ning kiiremat kolletumist polüfenoolidega ebanormaalselt rikastunud taimeosade piirkonnas täheldas puude rõngastamiskatsetel Hathway (1959). Peale selle on palju andmeid, mis näitavad, et polüfenoolid, eriti nende oksüdeeritumad vormid, pärsvivad mitmesuguste fermentide toimet (Porter jt., 1961) ning võivad pärssida ka normaalseid hingamisprotsesse (Sreerangachar, 1949).

Tuginedes nii kirjanduse andmetele kui ka meie katsete tulemustele, võib polüfenoolide sisalduse ning viljapuude suuruse ja kasvuperioodi pikkuse vahelise seose seletamiseks püstitada järgmise hüpoteesi.

Polüfenoolide oksüdeerunud vormid seovad enestega teatava osa rakkudes leiduvatest valgulistest ühenditest, mille hulka võivad kuuluda ka paljud biokatalüütiliste omadustega valk kehad — fermentid. Selle tulemusel kaotab osa neist oma fermentatiivse võime ja nende poolt katalüüsitud reaktsioonide ning elutähtsate protsesside (mitmesugused biosünteesilised protsessid, hingamine, kasvuprotsessid jne.) intensiivsus järk-järgult väib või hoopis lakkab. Võib arvata, et kudedes, mis on suhteliselt rikkamad valkudega liitumisvõimeliste polüfenoolide poolest, vaibuvad antud koele iseloomulikud füsioloogilised protsessid rutem ja et faktorid, mis soodustavad polüfenoolide selle fraktsiooni kogunemist lehtedes, soodustavad ühtlasi ka lehtede kiiremat vananemist. Sellega seletuks paralleelism laukapuule, kreegipuule ja liivakirsipuule poogitud puude lehtede kõrgema polüfenoolide, eriti seotud fraktsiooni sisalduse ja suhteliselt lühikese kasvuperioodi vahel. Erinevused kasvuperioodi pikkuses põhjustavad vahetult erinevusi puude suuruses. Eespool nimetatud alustele poogitud puude iga-aastane juurdekasv on lühikese kasvuperioodi tõttu tunduvalt väiksem kui suhteliselt pikema kasvuperioodiga omajuursetel ning haralisele ploomi-

puule ja 'Liivi kollase munaploomi' seemikutele poogitud puudel. Pikapeale viib see määrgatavatele erinevustele täiskasvanud puude mõõtmetes.

Raskem on mõista, millega konkreetsetel seletuvad erinevused eri pookealustele poogitud puude lehtede polüfenoolide sisalduses. Kõige tõenäolisem on, et pookealuste mõju on tingitud nende juuresüsteemide erinevast võimest imada pinnasest vett. Sellest tulenevalt muutub poogitud puude veerežiim, põhjustades omakorda teatavaid nihkeid ainevahetuses, nende seas ka niisuguseid, mis toimuvad biokeemilistes reaktsioonides, millest võtavad osa polüfenoolid. Veerežiimi osatähtsusele polüfenoolidega seotud muutustes on mõned autorid juba varem tähelepanu juhtinud (Джемухадзе, 1950; Попов, 1950). Džемухадзе selgitab, et veedefitsiidi puhul intensiivistuvad taimedes tihenemisprotsessid. Siit loogiline järeldus, et suhteliselt madalama veesisaldusega lehtedes peaks polüfenoolide seotud fraktsiooni sisaldus olema kõrgem. Seda tõendavad ka meie katsete tulemused: lauka-, kreegi- ja liivakirsipuule poogitud puude lehtedes oli veeprotsent madalam kui ülejäänud pookekombinatsioonidel või omajuursetel puudel, kuid nad sisaldasid tunduvalt rohkem polüfenooli ning kõrgem oli ka seotud fraktsiooni nii absoluutne kui ka suhteline sisaldus (Margna, 1962b). See peaks toetama oletust, et üheks faktoriks, mille kaudu pookealused avaldavad mõju poogendi lehtede polüfenoolide sisaldusele ning selle kaudu tõenäoliselt ka poogitud puude morfofenooloogilistele tunnustele, on muutused poogitud puude veerežiimis.

KIRJANDUS

- Hathway D. E., 1959. Experiments on the origin of oak-bark tannin. *Biochem. J.*, **71**, 3, 533—537.
- Hillis W. E., Swain T., 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. II. The analysis of tissues of the 'Victoria Plum Tree'. *J. Sci. Food and Agric.*, **10**, 2, 135—144.
- Margna U., 1962a. Meetod polüfenooloksüdaasi aktiivsuse määramiseks taimmaterjalis. ENSV TA Toimet. Biol. Seeria, nr. 2, 143—149.
- Margna U., 1962b. Polüfenoolsete ühendite ainevahetusest 'Liivi kollase munaploomi' lehtedes. I. Pookealuste mõju polüfenoolsete ühendite sisaldusele. ENSV TA Toimet. Biol. Seeria, nr. 3.
- Mondy N. I., Klein B. P., 1961. The interrelationships of potato discoloration, polyphenol oxidase activity, and nitrogen content of potatoes. *Amer. Potato J.*, **38**, 1, 14—21.
- Porter W. L., Schwartz J. H., Bell T. A., Etchells J. L., 1961. Probable identity of the pectinase inhibitor in grape leaves. *J. Food Sci.*, **26**, 6, 600—605.
- Roberts E., 1942. The chemistry of tea-fermentation. *Adv. in Enzymol.*, **11**, 113. (Tsit. Курсанов, 1946 järgi.)
- Sreerangachar H. B., 1949. Studies on the fermentation of Ceylon tea. 8. Further observations on the relationship of tea fermentation to normal respiration. *Biochem. J.*, **44**, 1, 23—27.
- Tomaszewsky M., 1957. Das Phenol/Phenoloxydase-System der Blätter einiger Obstgehölze und seine Beziehung zur Winterruhebereitschaft. *Flora*, **145**, 1/2, 146—166.
- Tomaszewski M., 1959. Chlorogenic acid-phenolase as a system inactivating auxin isolated from leaves of some *Prunus L.* species. *Bull. Acad. polon. sci., Ser. sci. biol.*, **7**, 4, 127—130.
- Wardrop A. B., Cronshaw J., 1962. Formation of phenolic substances in the ray parenchyma of angiosperms. *Nature (Engl.)*, **193**, 4810, 90—92.
- Благовещенский А., 1935. Кофеин и дубильные вещества чайного листа в зависимости от сорта. *Биохимия чайн. произ-ва*, **1**, 140.
- Бокучава М. А., 1946. Превращение различных фракций дубильных веществ при росте чайного листа и во время его фабричной переработки. *Биохимия*, **11**, 3, 263—271.
- Бокучава М. А., 1947. О ферментативном окислении отдельных фракций чайного танина. *Биохимия*, **12**, 1, 59—67.
- Бокучава М. А., Попов В. Р., 1945. Нерастворимая форма чайного танина. *Биохимия*, **10**, 3, 234—242.
- Бокучава М. А., Попов В. Р., 1946. Количественное определение не растворимого в воде танина. *Биохимия, чайн. произ-ва*, **5**, 32—40.
- Гогия В. Т., 1950. Образование дубильных веществ и динамика окислительных ферментов при прорастании чайных семян. *Биохимия чайн. произ-ва*, **6**, 70—81.

- Джемухадзе К. М., 1940. Чайный таннин в связи с переработкой и качеством чая. Биохимия чайн. произ-ва, 4, 35—52.
- Джемухадзе К. М., 1950. Дубильные вещества и качество чайного сырья. Биохимия чайн. произ-ва, 6, 39—52.
- Запрометов М. Н., 1959. О способности к расщеплению бензольного кольца у высших растений. Глубокое окисление С-14-катехинов в побегах чая. Докл. АН СССР, 125, 6, 1359—1362.
- Крюкова Н. Н., 1946. Возрастные изменения дубильных веществ в чайном растении. Биохимия чайн. произ-ва, 5, 41—49.
- Курсанов А. Л., 1944. Превращения дубильных веществ у ив в период весеннего роста. Биохимия, 9, 6, 322—336.
- Курсанов А. Л., 1946. Ферментация чая. Биохимия чайн. произ-ва, 5, 7—14.
- Курсанов А. Л., Бровченко М. И., 1950. Дубильные вещества различных органов чайного растения. Биохимия чайн. произ-ва, 6, 53—69.
- Курсанов А. Л., Крюкова Н., 1941. Возрастные изменения дубильных веществ в растениях. Биохимия, 6, 3, 326—334.
- Курсанов А. Л., Крюкова Н. Н., 1947. Дыхание и ферментация листьев чая. Биохимия, 12, 1, 69—78.
- Нижарадзе А. Н., 1946. Роль фосфорных соединений в обмене веществ чайного листа. Биохимия чайн. произ-ва, 5, 67—85.
- Опарин А., 1935. Биохимическая теория чайного производства. Биохимия чайн. произ-ва, 1, 6.
- Пашкаръ С. И., 1958. К динамике хлорогеновой и кофейной кислот при созревании и прорастании клубня картофеля. Докл. АН СССР, 118, 4, 833—836.
- Полищук Л. К., 1958. Динамика дубильных веществ в наземной части грецкого ореха в течение года. Вестн. Киевск. ун-та, сер. биол., № 1, 53—64.
- Поплавский К. М., 1956. Динамика дубильных веществ в годичном цикле развития яблони. Тр. Плодо-овощн. ин-та им. И. В. Мичурина, 9, 151—164.
- Поплавский К. М., 1958. Зимний период в жизни яблони. Сад и огород, 10, 34—36.
- Попов В. Р., 1950. Вторичные окислительные процессы при ферментации чая. Биохимия чайн. произ-ва, 6, 124—134.
- Попов В. Р., 1956. Окисление аминокислот в присутствии дубильных веществ и полифенолоксидазы чая. Биохимия, 21, 3, 380—384.
- Попов В. Р., 1958. Полифенолоксидазная активность побегов чая при их росте и технологической переработке. Биохимия, 23, 6, 856—861.
- Сисакян Н. М., Рубин Б. А., 1944. О причине возрастной инактивности пероксидазы в листьях яблони. Биохимия, 9, 6, 307—311.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
11. IV 1962

ОБ ОБМЕНЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИИ В ЛИСТЬЯХ 'ЛИФЛЯНДСКОЙ ЖЕЛТОЙ ЯЙЦЕВИДНОЙ СЛИВЫ'

II. Изменения в комплексе полифенольных соединений в ходе развития листьев и их связь с полифенолоксидазой

У. Маргна

Резюме

Содержание полифенолов в пересчете на абсолютно сухой вес наиболее высоко в молодых листьях 'Лифляндской желтой яйцевидной сливы', а при старении листьев количество их постоянно уменьшается. Однако из-за неконстантности содержания сухого вещества такой ритм колебаний является кажущимся, неправильно отражающим изменения абсолютного содержания полифенолов в листьях. Исходя из единицы площади листа выяснилось, что оно в начале вегетационного периода не уменьшается, а наоборот, быстро возрастает, достигая максимума в конце июля. Истинное снижение содержания начинается только во второй половине лета. Описанный ритм не зависит от одновременных изменений в содержании сухого вещества и, следовательно, может считаться характерным действительной динамике полифенолов в листьях 'Лифляндской желтой яйцевидной сливы'.

Основываясь на высоком проценте полифенолов в молодых листьях (около 13%₀ от сухого веса), можно предполагать, что не все имеющиеся в них полифенолы проис-

ходят из локальных биосинтетических реакций, а что в начале вегетации часть полифенолов транслоцируется туда из побегов. После окончания роста листьев начинается обратный процесс — отток более мобильных форм полифенолов в побеги и быстрое уменьшение их содержания в листьях. Это подтверждается высоким содержанием полифенолов в побегах непосредственно после осыпания листьев, а также возрастанием содержания полифенолов в побегах перед началом вегетации.

В течение вегетационного периода комплекс полифенолов подвергается постепенному уплотнению, о котором свидетельствует абсолютное и относительное возрастание содержания связанной фракции полифенолов при старении листьев. Так как способностью к образованию связанных комплексов с белками обладают только окисленные полифенолы, то это показывает, что в ходе развития листьев условия, требуемые для образования и накопления названных форм полифенолов, усугубляются и что возрастает окислительная мощность листовых тканей. Одной из причин этого явления может быть возрастание активности полифенолоксидазы, достигшей здесь к концу вегетационного периода более высокого уровня, чем в молодых листьях (приблизительно в 7 раз). При пересчете результатов на сухое вещество оказывается, что между изменениями активности полифенолоксидазы и содержания полифенолов существует отрицательная корреляция. Эта корреляция, однако, обусловлена изменением содержания сухого вещества и поэтому является кажущейся. Нельзя сказать, что возрастание активности полифенолоксидазы в действительности сопровождается уменьшением содержания полифенолов в листьях или наоборот. Пересчеты на единицу площади листа показывают, что между активностью полифенолоксидазы и суммарным содержанием, а также содержанием воднорастворимой фракции полифенолов корреляции нет. Тесная положительная связь существует только между полифенолоксидазой и связанной фракцией полифенолов. Можно прийти к выводу, что полифенолоксидаза в биосинтезе полифенолов существенной роли не играет, но она является ответственной в процессах уплотнения полифенолов, в том числе и в образовании их связанной фракции.

Полученные результаты позволяют прийти к предварительной гипотезе о связи между содержанием полифенолов в листьях и длиной периода роста и размерами привитых деревьев.

Окисленные формы полифенолов комбинируются с определенной частью имеющих в клетках белков, среди которых могут быть и многие ферменты. В результате этого последние лишаются своей ферментативной способности и интенсивность катализуемых ими реакций убывает или совсем прекращается. Можно предполагать, что в относительно более богатых полифенолами (способными к комбинированию с белками) тканях названные процессы убывают быстрее и что факторы, способствующие накоплению этой фракции полифенолов в листьях, содействуют также более быстрому старению листьев. Этим объясняется бы параллелизм между более высоким содержанием полифенолов, особенно их связанной фракции в листьях, и относительно коротким периодом роста у привитых на терн, терносливу и песчаную вишню деревьев. Различия в периоде роста являются, в свою очередь, непосредственной причиной возникновения различий в размерах деревьев.

Можно предполагать, что влияние подвоев на содержание полифенолов в листьях зависит от различной способности их корневых систем всасывать воду из почвы.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
11. IV 1962

ON THE METABOLISM OF POLYPHENOL COMPOUNDS IN THE LEAVES OF THE 'LIFLANDIAN YELLOW EGG PLUM'

II. The Changes in the Polyphenolic Complex in the Course of Development of Leaves and Their Relationship to Polyphenoloxidase

U. Margna

Summary

The polyphenol content, evaluated to dry matter, was found to be highest in the young leaves of the 'Liflandian Yellow Egg Plum', continually decreasing with the leaves getting older. However, on account of the changeability of dry matter content, such rhythm of the changes is in some respect misleading, incorrectly reflecting the actual changes in the absolute content of polyphenols. On the basis of results, evaluated to the unit of leaf surface, it has been demonstrated, that the polyphenol content in the leaves does not show

any decrease at the beginning of the vegetative period. On the contrary, there was found to occur an intensive increase of polyphenol content up to the end of July, the decrease taking place only during the latter half of the summer. This rhythm of the changes does not depend on the simultaneous changes in the dry matter content, and therefore must be regarded as a characteristic feature of the actual dynamics of polyphenols in the 'Liflandian Yellow Egg Plum' leaves.

On the basis of the high percentage of polyphenols in the young leaves (about 13% of the dry matter) it may be assumed that not all the polyphenols in the leaves are formed by local biosynthetic reactions, but that part of them is translocated into the leaves from the shoots at the very beginning of the vegetative period. After the end of leaf growth an opposite process is supposed — the return of the more mobile forms of polyphenols into the shoots, which is accompanied by a rapid decrease of their content in the leaves. The probability of such processes is confirmed by the high content of polyphenols in the shoots immediately after the fall-off of leaves and by the increase of the content of soluble polyphenols in the shoots before the beginning of the vegetative period.

During the vegetative period the polyphenolic complex is subjected to a gradual condensation, which is demonstrated by the increase of both the absolute and relative content of the bound fraction with the leaves getting older. As it is known that the ability to form bound complexes with proteins is peculiar only to the oxidized forms of polyphenols, it may be concluded that the necessary conditions for the formation and accumulation of these forms become more favourable in the process of the development of leaves. Consequently, there must occur a considerable increase in the oxidizing ability of leaf tissues. One of the reasons for the latter may be the rise of the polyphenoloxidase activity, which by the end of the vegetative period was found to achieve a nearly 7-fold level in comparison with that in the young leaves. When dry matter was taken as a basis, the changes in the polyphenoloxidase activity were shown to be in a negative correlation with the changes in the polyphenol content. This correlation, however, is conditioned by the changes in the dry matter content, and it cannot be stated that the increase in the polyphenoloxidase activity is actually accompanied by a decrease in the polyphenol content in the leaves, or vice versa. By calculations on the leaf surface it was shown that there exists no correlation between the polyphenoloxidase activity and the content of total and soluble fractions of polyphenols. A firm and besides positive relation has been detected only between the polyphenoloxidase and the bound fraction of polyphenols, and, as a natural result, also between the enzymic activity and the relative content of the bound fraction. Hence it may be concluded that polyphenoloxidase does not play an essential part in the biosynthesis of polyphenol compounds, but is responsible for the condensation of polyphenols as well as for the formation of the bound fraction.

These results enable us to raise a preliminary hypothesis on the relationships between the polyphenol content in the leaves and the duration of the vegetative period and the size of grafted trees:

The oxidized forms of polyphenols combine with a certain part of cell proteins, including a number of enzymes. As a result the latter lose their enzymic activity, and the intensity of biochemical reactions catalyzed by them decreases or ceases altogether. It may be assumed that these processes decrease at a more rapid rate in tissues relatively richer in polyphenols having a greater ability to combine with proteins, and that the factors promoting an accumulation of this fraction in the leaves simultaneously contribute to a more rapid aging of leaves. This would serve as an explanation for the parallelism found between the higher polyphenol content, particularly its bound fraction, and the relatively short growth period of the trees grafted on Damson, Blackthorn and Sand Cherry, contrary to the trees grafted on Myrobalan and the seedlings of the 'Liflandian Yellow Egg Plum'. The differences in the duration of the growth period, in their turn, must be regarded as a direct reason resulting in the different dimensions of grown-up trees.

It may be assumed that the influence of stock on the polyphenol content in the leaves of grafted trees depends on the differences in the water-absorbing ability of their root-systems.