

В. М. Горина,

кандидат сельскохозяйственных наук,

А. А. Рихтер,кандидат биологических наук,
Никитский ботанический сад–
Национальный научный центр НААН**Г. П. Зайцев,**ведущий инженер,
Национальный институт винограда
и вина Магарач НААН

УДК.633.11:631.5

Содержание фенольных соединений в генеративных органах растений рода *Prunus* L., различающихся по восприимчивости к *Sclerotinia (Monilinia) laxa*

Показано вірогідно підвищений вміст низки фенольних сполук (кверцетин-3-О-глікозид, ізорамнетин-3-О-глікозид, кемпферол-3-О-глікозид, 4'-метоксикемпферол-3-О-глікозид, 4'-метоксикверцетин-3-О-глікозид, апігенін та лютеолін) у квітках *Prunus cerasifera* Ehrh. порівняно з *Prunus armeniaca* L., що може зумовлювати стійкість тканин генеративних органів *P. cerasifera* проти дії *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (Aderh et Ruhl.) Honey.

Ключові слова:абрикос, алыча, стійкість до *Sclerotinia (Monilinia) laxa*, фенольні сполуки.

Введение. Растения формируют ферментативные и неферментативные системы защиты, сосредоточенные в органеллах клетки. Супероксид мутаза, каталаза, пероксидаза, ферменты аскорбат-глутатионового цикла, дегидроаскорбат редуктаза, монодегидроаскорбат редуктаза, глутатион редуктаза и аскорбат пероксидаза являются моделями антиоксидантных ферментов. Неферментативными антиоксидантами выступают аскорбиновая кислота, глутатион, α -токоферол, β -каротин и флавоноиды, распределенные главным образом в хлоропластах, митохондриях и пероксисомах. При нормальных условиях антиоксидантная система растений обеспечивает адекватную защиту клеток от активированных форм кислорода, но когда их образование преодолевает этот уровень защиты, окислительный стресс нарастает и усиливается, например, в случае воздействия патогена [1].

Защитная роль различных фенольных соединений в отношении инфекции *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey изучена на тканях плодов растений подсемейства *Prunoideae*

Focke. Выявлена четкая локализация катехинов и проантоцианидинов вокруг зоны фунгицидной инфекции. Флаванолы концентрировались в пограничной зоне около некротического центра инфекции [2].

Постановка проблемы. Методом тонкослойной хроматографии показано повышенное содержание таннинов в коре побегов устойчивых к *Sclerotinia (Monilinia) laxa* сортов абрикоса 'San Francesco' и 'Boccisia' по сравнению с уязвимым 'Nacihaliloglu' [3]. Считается, что хлорогеновая кислота и сопутствующие фенолы могут обуславливать задержку развития инфекции *Monilinia fructicola* в незрелых и зрелых плодах персика путем

прямого влияния на токсичность патогена [4]. В процессе инфицирования гриба (*Botrytis cinerea* Pers. et Fr.) проникают в межклетники тканей растения хозяина и выделяют полигалактуроназы, вызывающие повреждение срединной пластинки. Образующиеся продукты распада пектинов представляют собой результат проникновения патогена в ткани растения. Фенолы являются компонентами антифунгального действия при ответной реакции на инфекцию, тогда как патоген выделяет ферменты, например, лактазу, способную инактивировать некоторые фенолы [5].

Цель исследований – рассмотреть индивидуальный состав и содержание фенольных соединений

Таблица 1

Восприимчивость цветков сортов абрикоса и алычи к воздействию *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (балл)

Сорт	Воздействие <i>Sclerotinia (Monilinia) laxa</i> по годам						
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Prunus armeniaca</i> L.							
Дима Бекетовский	3,0	1,0	1,0	2,5	3,0	4,9	5,0
Запоздалый	2,0	1,0	0,0	3,5	0,0	5,0	3,5
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.							
Агрономическая	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Васильевская 41	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Никитская Желтая	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0
Салгирская Румяная	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0

Содержание фенольных соединений в бутонах и цветках сортов абрикоса, сильно поражаемых *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (мг/100 г)

Фенольные соединения	Сорт							
	Дима Бекетовский				Запоздалый			
	бутоны по годам		цветки по годам		бутоны по годам		цветки по годам	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Амигдалин	1081,6	1299,6	339,6	782,4	1379,3	1287,8	344,7	589,7
Неохлорогеновая кислота	255,6	266,0	126,5	145,8	209,3	161,9	82,3	73,0
Хлорогеновая кислота	1146,1	1146,5	651,9	616,7	1892,1	1684,9	985,1	831,5
Апигенин-7-О-гликозид	45,4	44,2	6,4	7,7	110,9	90,4	44,7	12,4
Рутин	121,6	107,3	92,4	74,4	119,3	135,7	130,0	93,9
Кверцетин-3-О-гликозид	2,3	15,6	26,9	1,8	0,0	15,8	12,9	4,2
Изорамнетин-3-О-гликозид	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Кемпферол-3-О-софорозид	72,5	84,0	78,0	58,2	38,6	58,0	90,8	62,1
Кемпферол-3-О-гликозид	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4'-Метоксикемпферол-3-О-софорозид	0,0	18,0	28,9	2,6	14,2	11,6	16,4	1,7
4'-Метоксикверцетин-3-О-гликозид	5,1	3,5	12,7	2,9	7,8	6,8	14,3	2,9
Апигенин	0,0	3,3	2,6	1,5	6,7	5,3	4,3	2,6
Лютеолин	0,0	0,0	5,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Общее содержание компонентов	2730,2	2988,0	1725,5	1674,0	2778,2	3458,2	1371,2	1694,0

в генеративных органах растений сортов алычи и абрикоса, различающихся по восприимчивости к *Sclerotinia (Monilinia) laxa*.

Материалы и методы исследований. Работу проводили на генеративных органах растений *Prunus cerasifera* Ehrh. (сорта Агрономическая, Васильевская 41, Никитская Желтая и Салгирская Румяная), слабо поражаемых *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (Aderh. et Ruhl.) Honey [Synon: *Monilia cinerea* Bonord.], и *Prunus armeniaca* L. (сорта Дима Бекетовский и Запоздалый), значительно поражаемых этим грибом.

Степень поражения бутонів и цветков при воздействии патогена оценивали по 5-балльной шкале [6].

Определение содержания фенольных соединений осуществляли на хроматографе фирмы Agilent Technologies (модель 1100). Анализ вели на хроматографической колонке размером 4,6 × 150 мм, заполненной октадецилсилильным сорбентом, зернением 3,5 мкм, «Zorbax» SB-C18. [7, 8]. Навеску тканей плодов (2±0,1 г) доводили до метки (5 мл) 50%-ным водным метанолом, подкисленным соляной кислотой (0,1 н.), и после 30 минут выдержки в ультразвуковой бане

раствор фильтровали через мембранный тефлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм [8].

Регистрацию органических кислот проводили методом ВЭЖХ на хроматографической колонке размером 7,8 × 300 мм, заполненной карбогидратным сорбентом, «Supelcogel» C-610Н. Навеску тканей плодов 5±0,1 г доводили до 10 мл дистиллированной водой с последующей 30-минутной выдержкой в ультразвуковой бане; раствор фильтровали через мембранный тефлоновый фильтр, как в предыдущем случае [9]. Идентификацию фенолов и органических кислот производили по времени удерживания стандартов и спектральным характеристикам. Стандартом амигдалина являлся препарат D-amigdalín фирмы Sigma (США). Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ Statistica – 5 [10].

Результаты исследований и их обсуждение. Известно, что генеративные органы растений абрикоса обыкновенного (*P. armeniaca*) сильно поражаются *Sclerotinia (Monilinia) laxa* на стадиях розового, рыхлого бутона и раскрывшихся цветков, тогда как бутоны и цветки растений алычи (*P. cerasifera*) этим патогеном поражаются очень редко [11]. По

результатам многолетних полевых наблюдений в условиях Южного Берега Крыма были подобраны образцы сортов абрикоса обыкновенного и алычи, пригодные в качестве модельных растений (табл. 1).

При сопоставлении компонентного состава и содержания фенольных соединений в бутонах и цветках сортов абрикоса, восприимчивых к *Sclerotinia (Monilinia) laxa*, с таковым в цветках алычи видны четкие различия в содержании кверцетин-3-О-гликозида, изорамнетин-3-О-гликозида, кемпферол-3-О-гликозида, 4'-метоксикемпферол-3-О-софорозида, 4'-метоксикверцетин-3-О-гликозида, апигенина и лютеолина. Причем содержание этих соединений в бутонах и цветках абрикоса существенно ниже, чем в цветках алычи, что может указывать на их большую устойчивость к этому грибу (табл. 2).

Различные виды растений семейства *Rosaceae* Juss. (слива, вишня, черешня, миндаль, персик, абрикос и др.) содержат цианогенный гликозид – амигдалин – в семенах или листьях. Роль этого соединения наряду с другими вторичными метаболитами (фенолами) связывают с защитой растений от био- и абиотических стрессов [12].

Таблица 3

Содержание фенольных соединений в цветках сортов алычи, устойчивых к *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (мг/100 г)

Фенольные соединения	Сорт			
	Сал-гирская Румяная, 2009	Никитская Желтая, 2009	Агрономическая, 2010	Васильевская 41, 2010
Амигдалин	38,0	64,1	145,5	112,1
Неохлорогеновая кислота	15,8	46,3	35,2	20,0
Хлорогеновая кислота	150,0	264,4	154,5	168,5
Апигенин-7-О-гликозид	23,4	8,6	48,7	33,9
Рутин	122,1	122,1	77,5	71,2
Кверцетин-3-О-гликозид	254,7	205,6	127,5	151,4
Изорамнетин-3-О-гликозид	65,9	67,9	42,2	31,8
Кемпферол-3-О-софорозид	0,0	63,1	41,7	29,3
Кемпферол-3-О-гликозид	185,2	94,2	44,3	47,4
4'-Метоксикемпферол-3-О-софорозид	92,9	212,8	124,0	151,5
4'-Метоксикверцетин-3-О-гликозид	51,8	115,3	74,2	53,2
Апигенин	27,6	26,4	19,1	21,8
Лютеолин	24,1	59,5	32,6	38,9
Общее содержание компонентов	1051,5	1350,3	967,0	931,0

При сопоставлении данных, представленных в табл. 2 и 3, видно, что цветки абрикоса содержат амигдалин, неохлорогеновую и хлорогеновую кислоты в достоверно большем количестве, чем цветки алычи, тем не менее, этого различия, очевидно, недостаточно для защиты бутонов и цветков абрикоса обыкновенного от поражения грибом *Sclerotinia (Monilinia) laxa*.

В наших экспериментах вариант 2 представлен сортами абрикоса, характеризующимися низкой устойчивостью цветков к *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (табл. 2). Комплекс фенольных соединений в цветках *Prunus cerasifera* количественно достоверно отличается от такового у *P. armeniaca* (табл. 3, 4).

Нами впервые показано, что суммарное содержание феноль-

ных соединений в цветках абрикоса обыкновенного было в 1,4 раза выше, чем в таковых алычи. Однако уровень накопления кверцетин-3-О-гликозида в цветках алычи превышал содержание его в абрикосе в 13,3 раза, 4'-метоксикемпферол-3-О-софорозид и 4'-метоксикверцетин-3-О-гликозид накапливались в тканях цветков алычи по сравнению с абрикосом в 9,7 раза, а апигенин и лютеолин в 8 и 16 раз больше. Наряду с этим изорамнетин-3-О-гликозид присутствовал в тканях цветков алычи, а в тканях абрикоса отсутствовал. Выявленные различия в накоплении отдельных компонентов, вероятно, могут обуславливать повышенную устойчивость цветков алычи к воздействию *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (табл. 4).

Ряд соединений фенольной природы обуславливает защиту тканей растений от антиоксидантного стресса. В связи с этим отметим, что кверцетин и цианидин обладают антиоксидантной активностью в 4 раза большей, чем Trolox и аналоги витамина E. Кемпферол, катехин и эпикатехин имеют активность пониженную на 50%, но они все-таки более эффективны, чем α-токоферол и аскорбиновая кислота [13]. Среди флавонов и флавонолов сформирован следующий ряд: лютеолин > рамнетин > физетин > кемпферол > морин > кверцетин, тогда как флаваноны гесперетин, таксифолин и нарингенин показали активность на уровне 61–84%, эпигаллокатехин галлат и феруловая кислота – 82,5 и 74,6% [14]. Неохлорогеновая, криптохлорогеновая и хлорогеновая кислоты характеризовались примерно одинаковой активностью [15].

Таким образом, повышенное содержание лютеолина и других компонентов в цветках алычи может обуславливать их высокую антиоксидантную активность и защиту в отношении *Sclerotinia (Monilinia) laxa*.

Таблица 4

Результаты дисперсионного анализа при сравнении средних данных вариантов опыта (мг/100 г)

Фенольные соединения	Вар. 1	Вар. 2	FV	F _{0,5 (v)}	HCP _{0,5}
Амигдалин	89,92	514,1	15,02	5,98	111,86
Неохлорогеновая кислота	29,32	106,9	17,01	5,98	45,14
Хлорогеновая кислота	184,35	771,3	42,96	5,98	214,91
Апигенин-7-О-гликозид	28,65	17,8	0,76	5,98	29,74
Рутин	98,22	97,67	0,00	5,98	43,42
Кверцетин-3-О-гликозид	184,8	11,45	35,68	5,98	69,64
Изорамнетин-3-О-гликозид	51,95	0,00	34,08	5,98	21,35
Кемпферол-3-О-софорозид	33,52	72,27	6,52	5,98	36,40
Кемпферол-3-О-гликозид	92,77	0,00	7,97	5,98	78,85
4'-Метоксикемпферол-3-О-софорозид	145,3	12,4	25,55	5,98	63,09
4'-Метоксикверцетин-3-О-гликозид	73,62	8,2	18,71	5,98	36,29
Апигенин	23,72	2,75	102,95	5,98	4,96
Лютеолин	38,77	1,32	23,90	5,98	18,38
Общее содержание фенольных соединений	1074,95	1616,17	18,49	5,98	128,26

П р и м е ч а н и я:

Вариант 1 – средние данные для цветков растений сортов алычи Салгирская Румяная, Никитская Желтая, Агрономическая и Васильевская 41;

Вариант 2 – средние данные для цветков растений сортов абрикоса Запоздалый и Дима Бекетовский; F_v – фактическое; F_{0,5 (v)} – критическое (табл.); HCP_{0,5} – наименьшая существенная разница.

Выводы. Результаты выполненных исследований свидетельствуют о повышенном содержании ряда фенольных соединений (кверцетин-3-О-гликозид, изорамнетин-3-О-гликозид, 4'-метоксикемпферол-3-О-гликозид, апигенин, лютеолин, 4'-метоксикверцетин-3-О-гликозид) в розовых бутонах и в цветках *Prunus cerasifera* Ehrh. по сравнению с таковыми у *P. armeniaca* L., что может обуславливать слабую восприимчивость тканей цветков алычи к воздействию *Sclerotinia (Monilinia) laxa*.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Кудренко, І. К. Еколого-фізіологічна роль вторинних метаболітів у рослинах. Ціаногенні глікозиди / І. К. Кудренко, В.Ф. Левон, П.А. Мороз [та ін.] // Інтродукція рослин. – 2011. – № 1. – С. 62–69.
2. Chen, L. J. Structural aspects of antho-cyanin-flavonoid complex formation in plant color / L. J. Chen, G. Hrazdina // *Phytochemistry*. – 1981. – V. 20. – P. 297–303.
3. Яремін, Г. В. Отдаленная гибридизация косточковых плодовых растений / Г. В. Яремін – М.: Агропромиздат, 1985. – 280 с.
4. Marbach, I. Pectin, a second inducer for laccase production by *Botrytis cinerea* / I. Marbach, E. Harel, A.M. Mayer // *Phytochemistry*. – 1985. – V. 24, N. 11. – P. 2559–2561.
5. Электронный учебник по статистике. М.: StatSoft, Inc. (1999). WEB: <http://www.statsoft.ru/textbook/default.htm>.
6. Misirli, A. A relationship between the phenolic compounds and the resistance to *Sclerotinia (Monilinia) laxa* (Aderh. et Ruhl.) Hohey in some apricot varieties / A. Misirli, R. Gulcan, A. Tannisever et al // *Acta Horticulturae*, 1995. – №. 384. – С. 56.
7. Рябов, И. Н. Сортоизучение и первичное сортоиспытание косточковых плодовых культур в Государственном Никитском ботаническом саду / И. Н. Рябов // Сортоизучение косточковых плодовых культур на юге СССР – М.: Колос, 1969. – С. 5–83.
8. Rice-Evans, C.A. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids / C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, P.G. Bolwell et al // *Free Radic Res*. – 1995. – V. 22, N. 4. – P. 375–383.
9. Murrough, I. Quantitative analysis of hop flavonols using H.P.L.C. / I. Murrough, G. P. Hennigan, M. J. Loughrey // *J. Agric. Food Chem*. – 1982. – V. 30. – P. 1102–1106.
10. Bostockf, R.M. Suppression of *Monilinia fructicola* cutinase production by peach fruit surface phenolic acids / R.M. Bostockf, S.M. Wilcox, G. Wang, et al. // *Physiological and Molecular Plant Pathology*. – 1999. – V. 54, №. 1–2. – P. 37–50.
11. Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance / R. Mittler // *Trends in Plant Science*. – 2002. – V. 7, №. 9. – P. 405–410.
12. Feucht, W. The precise localization of catechins and proanthocyanidins in protective layers around fungal infections / W. Feucht, D. Treutter, E. Christ // *Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz (Germany)*. – 1992. – V. 99, N. 4. – P. 404–413.
13. Nakatani, N. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.) / N. Nakatani, S. Kayano, H. Kikuzaki et al // *J. Agric. Food Chem*. – 2000. – V. 48, N. 11. – P. 5512–5516.
14. Lefebvre, D. Simultaneous HPLC determination of sugars, organic acids and ethanol in sourdough process / D. Lefebvre, V. Gabriel, Y. Vayssier et al // *Lebensm. – Wiss. U.-Technol*. – 2002. – V. 35. – P. 407–414.
15. Lee, K-G. Inhibitory effects of plant-derived flavonoids and phenolic acids on malonaldehyde formation from ethyl arachidonate / K-G. Lee, T. Shibamoto, G.R. Tateoka, et al // *J. Agric. Food Chem*. – 2003. – V. 51, №. 24. – P. 7203–7207.