

# ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ, ЯБЛОНИ ДОМАШНЕЙ И ИХ ГИБРИДОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Е.Г. Рудиковская<sup>1</sup>, Л.В. Дударева<sup>1</sup>, А.А. Шишпаренок<sup>1</sup>, Р. Li<sup>2</sup>, С.В. Осипова<sup>1,3</sup>, А.В. Рудиковский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, [rudal69@mail.ru](mailto:rudal69@mail.ru)

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, [osipova@sifibr.irk.ru](mailto:osipova@sifibr.irk.ru)

**Аннотация.** Исследовано содержание фотозащитных соединений в кожуре плодов яблонь сибирской, домашней и их гибридов, выращенных в Иркутске. Во всех исследованных образцах мажорным каротиноидом был цис-зеаксантин. В плодах гибридов обнаружена положительная корреляция ( $r=0.77$ ) между содержаниями антоцианов (Ан) и аскорбиновой кислоты (АК). У яблони домашней выявлена негативная корреляция ( $r=-0.71$ ) между содержаниями Ан и гликозидов кверцетина. У яблони сибирской наблюдалось высокое содержание АК и активности дегидроаскорбат редуктазы.

**Ключевые слова:** *Malus baccata* (L.) Borkh., гибридные сорта, флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновая кислота

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-682-686

Солнечный ожог – результат повреждающего действия высокой солнечной радиации на процессы, протекающие в растительных тканях. Подобные проблемы могут усугубляться как высокими, так и низкими температурами окружающей среды [Steyn et al., 2009; Racsco, Schrande, 2012]. Фотоокислительные повреждения вызывают морфологические изменения, изменяют состав пигментов, влияют на механизмы адаптации, снижают эффективность фотосинтеза, и, как следствие, ухудшают качество плодов [Racsco, Schrande, 2012]. Солнечный ожог – один из основных факторов, приводящих к потере значительной части урожая яблок во всем мире. Для борьбы с ним в промышленном садоводстве используется ряд агротехнических приемов (затенение, опрыскивание и т.д.). Кроме того, генетики и селекционеры создают новые и улучшают старые сорта с привлечением генетических ресурсов со всего мира. В этом случае необходимым фактором устойчивости плодов к солнечному ожогу может являться способность синтезировать и аккумулировать биологически активные компоненты, способные формировать сложную систему защиты (пигменты, антиоксиданты и т.д.). В результате растение получает способность адаптироваться к избыточной инсоляции – гасить свободные радикалы, формировать светофильтрующий экран, тем самым сводя к минимуму фотоокислительные повреждения в тканях [Соловченко, Мерзляк, 2008].

Яблоня сибирская в основном используется селекционерами как источник генов устойчивости к низким температурам. Между тем, она имеет ряд других хозяйственно ценных свойств: быстрое вступление в плодоношение, высокую скороспелость, устойчивость к парше, бактериальному ожогу и т.д. Кроме того, для яблони сибирской и ее гибридов 1-3 поколения не описаны случаи солнечного ожога. Изучение

особенностей качественного и количественного состава фотопротекторных соединений в плодах яблони сибирской, помимо фундаментального интереса, позволило бы найти подходы к разработке методов защиты урожая яблок, применимых в промышленном садоводстве. Поэтому целью нашей работы было изучение закономерностей накопления каротиноидов, антоцианов (Ан), гликозидов кверцетина и аскорбиновой кислоты (АК) плодами *Malus baccata* (L.) Borkh. и ее гибридов в условиях Восточной Сибири.

**Объектами исследования** служили плоды *Malus baccata* (L.) Borkh, *Malus domestica* и гибридных, так называемых «полукультурных» сортов (табл.). Сорта были привиты на яблоню сибирскую и выращены на экспериментальном участке СИФИБР СО РАН в г. Иркутске. Яблоки собирали в стадии биологической зрелости.

Экстракцию каротиноидов и хлорофиллов проводили 80%-ным ацетоном. Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-56. Для расчета количества пигментов и каротиноидов использовали программу обчета спектрального распределения гауссовых пиков по методу Левенберга-Макгварда, разработанную [Kupper et al., 2007].

Экстракцию Ан проводили 1% раствором HCl в метаноле. Измерения проводили при 530 нм на спектрофотометре (Hitachi U-1100 Spectrophotometer, Япония).

Анализ гликозидов кверцетина проводили методом ВЭЖХ на приборе ShimadzuLC – 10 ATyp (Япония); колонка Kromasil 5 мкм 100 C18, 250×4.6 мм.

Содержание АК определяли по методу Тильманса.

Активность дегидроаскорбатредуктазы (ДГАР, КФ 1.8.5.1) определяли по Baier с соавт. [Baier et al., 2000]. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, которое катализировало восстановление 1мкМ дегидроаскорбата за 1 мин при 25 °С.

Каждый эксперимент выполнен в 3-8 биологических и трех аналитических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета Microsoft Office Excel 2007 и SigmaPlot v12.0. Для всех полученных результатов приведены средние значения и их стандартные ошибки. Нормальность распределения оценивалась по критерию Шапиро-Уилка. Корреляционный анализ проводили по методу Пирсона. Достоверность различий между вариантами определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента ( $P \leq 0.5$ ).

Проведенные исследования демонстрируют ряд особенностей яблони сибирской в накоплении фотозащитных соединений. В первую очередь, это своеобразный флавоноидный состав. Ранее нами было установлено [Rudikovskaya et al., 2014], что, хотя в целом химический состав плодов яблони сибирской является специфичными для рода *Malus*, имеется ряд особенностей в содержании фенольных компонентов. Было показано, что содержание соединений, имеющих полосу поглощения в УФ части спектра (оксикоричные кислоты, (+)-катехин, (-)-эпикатехин, процианидин В2) в тканях плодов яблони сибирской, выращенной в условиях Восточной Сибири, значительно ниже по сравнению с другими видами яблонь [Rudikovskaya et al., 2015]. При этом, как можно видеть в результатах, представленных в таблице, кожура плодов яблони сибирской аккумулирует большое количество соединений (Ан и гликозиды кверцетина), способных экранировать солнечную радиацию в сине-зеленой и ближней-УФ частях спектра [Соловченко, Мерзляк, 2008; Racsko, Schrandner, 2012]. Впечатляюще высокое содержание в плодах яблони сибирской Ан способно компенсировать низкие содержания флаванов, хлорогеновой и других фенолкарбоновых кислот [Solovchenko, Schmitz-Eiberger, 2003]. Можно предположить, что одновременное высокое содержание и гликозидов кверцетина, и Ан в тканях, возможно, обеспечивается более высоким, по сравнению с яблоней домашней, уровнем экспрессии генов фермента флавоноид-гликозилтрансферазы [Winkel-Shirley, 2001]. В свою очередь, низкое содержание

флаванов в яблони сибирской может объясняться пониженным уровнем транскрипции генов ферментов лейкоантоцианидин редуктазы и антоцианидин редуктазы, отвечающих за синтез флаванов. Подобные особенности флавоноидного метаболизма были показаны в работах [Fang et al., 2017] для других азиатских мелкоплодных яблонь *Malus asiatica*, *Malus sikkimensis* и *Malus prunifolia*, где их сравнивали с яблоней домашней (сорт Фуджи).

Таблица.

**Содержание (мкг/см<sup>2</sup>) Ан, АК и гликозидов кверцетина в кожуре плодов яблони сибирской, ее гибридов и некоторых сортов яблони домашней**

сорт	вид	Антоцианы	Аскорбиновая к-та	Гликозиды кверцетина
Яблоня сибирская	<i>M. baccata</i>	126.6±15.3	13.1±2.7	246.5±34.3
Пальметта	F1	48.1±5.1	9.5±1.2	7.3±1.3
Сибирский сувенир	F1	2.8±0.9	7.2±1.2	46.2±4.3
Алтайское румяное	F2	28.1±2.7	2.2±0.1	15.0±1.5
Подруга	F2	32.9±3.5	4.3±0.3	20.3±1.1
Анис Свердловский	F3	3.3±0.4	0.7±0.1	17.8±0.9
Лада	F3	6.5±0.4	3.9±0.4	34.5±5.4
Настенька	F3	4.0±0.7	2.1±0.5	86.4±4.8
Неженка	F3	17.1±1.3	0.5±0.1	27.1±2.5
Подарок садоводам	F3	5.2±0.8	0.5±0.1	21.9±1.3
Антоновка	<i>M. domestica</i>	0.6±0.1	1.4±0.1	24.7±2.3
Мелба	<i>M. domestica</i>	11.1±1.6	0.8±0.1	6.4±0.4
Соковое 3	<i>M. domestica</i>	0.9±0.1	0.7±0.2	37.7±3.6
Феникс алтайский	<i>M. domestica</i>	1.1±0.3	0.1±0.0	48.4±4.4
Чудное	<i>M. domestica</i>	2.2±0.6	0.4±0.1	15.1±1.1

В плодах всех трех сортов яблони домашней, выращенных в условиях Восточной Сибири, лютеин не был обнаружен, но наблюдалось относительно высокое содержание цис-13-зеаксантина и антероксантина. Наличие последнего заметно отличало яблоню домашнюю не только от яблони сибирской, но и от межвидовых гибридных сортов. Повышение содержания ксантофиллов, а именно виолоксантина и антероксантин обычно связывают с начальной стадией фотоокислительного стресса. При увеличении тяжести повреждения, в пораженных тканях [Felicetti, Schrader, 2008] значительно увеличивается содержание β-каротина, чего в исследованных образцах не наблюдалось. Как показали результаты исследований, кожура плодов яблони сибирской аккумулировала максимальное количество каротиноидов и хлорофиллов по сравнению со всеми исследованными сортами.

Высокое содержание пигментов в кожуре плодов яблони сибирской сопровождалось высоким содержанием АК. Обнаруженная высокая активность ДГАР в кожуре плодов яблони сибирской может свидетельствовать о том, что уровень АК в значительной степени поддерживается восстановлением ее из окисленной формы в аскорбат-глутатионовом цикле. Совокупность этих факторов делает ткани плодов яблони сибирской практически неуязвимыми для фотоокислительных повреждений.

Следует отметить, что в содержание фотозащитных соединений в кожуре плодов гибридных сортов заметно падало. Например, существенно уменьшалось содержание антоцианов. Тем не менее, основное количество гибридов яблони сибирской первых трех поколений, по крайней мере, в условиях Сибири, имеет разной степени интенсивности «антоциановый румянец» [Исачкин, Воробьев, 2003].

Относительно высокое содержание АК сохранялось только в поколении F1. Но в связи с тем, что в гибридах не наблюдалось высокой активности ДГАР, можно предположить, что пул аскорбата в тканях в этом случае поддерживался синтезом *de novo* или (и) аттракцией из листьев. Можно заметить, что прямая корреляция между накоплением АК и Ан ( $r = 0.77$ ,  $P < 0.05$ ) наблюдалась не только в гибридах, но и в других «антоциановых» сортах яблок. Возможно, это связано с тем, что синтез и накопление этих соединений может происходить локально, под действием одного и того же индуктора – прямых солнечных лучей.

Несколько иные закономерности наблюдались в накоплении гликозидов кверцетина. Его содержание снижалось при гибридизации и в межвидовых гибридах становилось сравнимым с таковым у сортов яблони домашней. Ранее Felicetti and Schrader [2008] показали, что при развитии фотоповреждений происходит снижение содержания антоцианов и увеличивается содержание гликозидов. Подобная обратная корреляция ( $r = -0.71$ ,  $P < 0.05$ ) наблюдалась нами в сортах яблони домашней, выращенных в условиях Восточной Сибири. Но в гибридных сортах подобный феномен отсутствовал. Возможно, это связано с тем, что при скрещивании в поколениях сохраняется относительно высокая экспрессия генов фермента флавоноид-гликозилтрансферазы, достаточная для гликозидирования двух классов флавоноидов: и флавонолов, и антоцианидинов. Как известно, экранирование избыточной инсоляции именно в области 400-700 нм [Felicetti, Schrader, 2008], где поглощают Ан и гликозиды кверцетина, позволяет избежать фотоокислительные повреждения в тканях. Поэтому способность гибридов аккумулировать оба этих соединения в достаточных количествах, позволяет предположить, что полукультурные сорта могут иметь более мощную защиту от солнечного ожога, чем ряд сортов яблони домашней.

Таким образом, проведенное исследование показало, что кожура плодов яблони сибирской накапливает ряд соединений, обладающих фотопротекторной и антиоксидантной активностью – Ан, гликозидов кверцетина, АК и каротиноидов. При доместикации содержание этих соединений падает, но в первых поколениях оно остается достаточно высоким для защиты плодов от фотоокислительных повреждений. Наряду с высокой зимостойкостью, способность аккумулировать высокие содержания фотозащитных соединений делает яблоню сибирскую перспективным источником генов для селекции новых гибридов и промышленного культивирования уже известных не только в холодных регионах, но и в регионах, характеризующихся высокой инсоляцией.

#### Литература

Исачкин А.В., Воробьев Б.Н. Сортовой каталог плодовых культур. – М.:Астрель, 2003. – 573 с.

Соловченко А.Е., Мерзляк М.Н. Экранирование видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты у растений // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 803–822.

Baier M., Noctor G., Foyer C., Dietz K.J. Antisense suppression of 2-cysteine peroxiredoxin in *Arabidopsis* specifically enhances the activities and expression of enzymes associated with ascorbate metabolism but not glutathione metabolism // *Plant Physiol.* – 2000. V. 124. – P. 823–832.

Fang T., Zhen Q., Liao L., Owiti A., Zhao L., Korban S. S., Han Y. Variation of ascorbic acid concentration in fruits of cultivated and wild apples // *Food Chemistry.* – 2017. V. 225. – P. 132–137.

Felicetti D.A, Schrader L.E. Photooxidative sunburn of apples: characterization of a third type of apple sunburn // *Int. J. of Fruit Sci.* – 2008. – V. 8. – P. 160–172.

Kupper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to

analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with gauss peak spectra // Anal. Chem. – 2007. – V. 79. – P. 7611–7627.

Racsko J., Schrader L.E. Sunburn of apple fruit: Historical background, recent advances and future perspectives // Critical Reviews in Plant Sciences. – 2012. – V. 31. – P. 455–504.

Rudikovskaya E.G., Dudareva L.V., Shishparenok A.A., Mitanova N.B., Rudikovskii A.V. Phenolic composition of *Malus baccata* fruit // Chem. of Nat. comp. – 2014. – No. 4. – P. 640–641.

Rudikovskaya E.G., Dudareva L.V., Shishparenok A.A., Rudikovskii A.V. Peculiarities of polyphenolic profile of fruits of Siberian crab apple and its hybrids with *Malus Domestica* Borkh // Acta Physiol. Plant. – 2015. – V. 37. – P. 238–243.

Solovchenko A., Schmitz-Eiberger M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits // J. of Exp. Bot. – 2003. – V. 5, No. 389. – P. 1977–1984.

Steyn W.J., Wand S.J.E., Jacobs G., Rosecrance R.C., Roberts S.C. Evidence for a photoprotective function of low-temperature-induced anthocyanin accumulation in apple and pear peel // Physiol. Plantarum. – 2009. – V. 136. – P. 461–472.

Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // Plant Physiol. – 2001. – V. 126. – P. 485–493.

#### **PARTICULARITIES OF ACCUMULATION OF PHOTOPROTECTIVE PHENOLIC COMPOUNDS AND ASCORBIC ACID IN THE FRUIT OF SIBERIAN CRABAPPLE, *MALUS DOMESTICA* BORKH. AND ITS HYBRIDS**

E.G. Rudikovskaya<sup>1</sup>, L.V. Dudareva<sup>1</sup>, A.A. Shishparenok<sup>1</sup>, P. Li<sup>2</sup>, S.V. Osipova<sup>1,3</sup>, A.V. Rudikovskii<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian branch of Russian Academy of Science, Irkutsk, Russia, [rudal69@mail.ru](mailto:rudal69@mail.ru)

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

<sup>3</sup>Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, [osipova@sifibr.irk.ru](mailto:osipova@sifibr.irk.ru)

**Abstract.** The content of photoprotective compounds in the skin of the fruits of *Malus baccata*, *M. domestica* and their hybrids, grown in Irkutsk, is studied. In all the samples studied, cis-zeaxanthin was a major carotenoid. In the fetuses of hybrids positive correlation ( $r=0.77$ ) was found between the content of anthocyanins (An) and ascorbic acid (AA). In the *M. domestica*, a negative correlation ( $r=-0.71$ ) between the content of An and the glycosides of quercetin was detected. In the Siberian apple tree, a high content of AA and dehydroascorbate reductase activity was observed.

**Keywords:** *Malus baccata* (L.) Borkh., hybrid varieties, flavonoids, carotenoids, ascorbic acid