

УДК 57.052

## ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ В РАЗНЫХ ОРГАНАХ ГРЕЧИХИ В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА

Полехина Н.Н., Павловская Н.Е.

*ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет,  
Орел, e-mail: polexina.nat@yandex.ru*

Проведен анализ соотношения рутина, флавонолов и полифенольных соединений (ПФС) в плодах, выявлена высокая степень отличия содержания веществ по сортам гречихи посевной. Период онтогенеза с интенсивным накоплением флавоноидов сопровождается усилением активности СОД (от 180 до 260 е.о.п./г·мин). При снижении уровня МДА в корнях накопление комплекса флавоноидов не происходит, тогда как при повышении уровня МДА в листьях идет массовое накопление низкомолекулярных антиоксидантов – флавоноидов. Такая тенденция характерна как для индетерминантных, так и для детерминантных сортов. В большей степени накопление флавоноидов наблюдается в детерминантных сортах Дизайн и Диалог. Лидером по накоплению флавоноидов является сорт Башкирская красностебельная, отличающийся наибольшим уровнем МДА (10,5 мкмль/л).

**Ключевые слова:** флавоноиды, антиоксиданты, гречиха

## DYNAMICS OF ACCUMULATION OF BIOCHEMICAL COMPOUNDS ANTIOXIDANT ACTION IN DIFFERENT ORGANS OF BUCKWHEAT DURING ONTOGENY

Polehina N.N., Pavlovskaya N.E.

*FGBOU VPO «Orel State Agrarian University», Orel, e-mail: polexina.nat @ yandex.ru*

The analysis of the correlation routine, flavonoids and polyphenolic compounds (PFC) in the fruit, revealed a high degree of difference between the content of substances on grades buckwheat. Ontogenesis with an intense accumulation of flavonoids was accompanied by increased activity of SOD (180 to 260 e.o.p./g·min). By reducing the level of MDA accumulation in the roots complex flavonoid does not occur, whereas when the level of MDA in the leaves is the accumulation of low molecular weight antioxidants – flavonoids. This trend is both indeterminate and determinate varieties for. To a greater degree of accumulation of flavonoids found in determinate varieties Design and Dialogue. The leader on the accumulation of flavonoids is the sort of Bashkir krasnostebel'naya, featuring the highest level of MDA (10,5 mkml/l).

**Keywords:** flavonoids, antioxidants, buckwheat

За последние десятилетия область научных знаний расширяет свои границы в направлении углубленного изучения фундаментальных процессов, происходящих в живых организмах: растениях, животных и человеческом организме. Все жизненные процессы, связанные с потреблением кислорода, в той или иной степени способствуют образованию свободных радикалов. Перекисное окисление липидов или же цепное окисление ненасыщенных жирных кислот с участием молекулярного кислорода один из основных процессов образования свободных радикалов. Известно, что умеренная активация перекисного окисления липидов в ответ на действие поражающего фактора является одним из адаптационных механизмов и выполняет регуляторную функцию. Она направлена на увеличение проницаемости клеточной мембраны, облегчение работы мембранных белков, но, превышая определенные пределы, увеличение количества свободных радикалов, приобретает саморазрушающее действие, которое проявляется денатурацией и инактивацией белка, делипидизацией мембраны, нарушением

деления и роста клетки [5]. Ход нормального развития физиологических и биохимических процессов в жизнедеятельности клетки контролируется антиоксидантной системой. Вещества, способные преобразовывать свободные радикалы из активной в неактивную, инертную форму, называют антиоксидантами. К антиоксидантам относят вещества различных химических классов, как высокомолекулярные соединения белковой природы – ферменты, так и низкомолекулярные соединения. Разные антиоксиданты по-разному работают в организме: возможно непосредственное связывание со свободными радикалами и опосредованное увеличение устойчивости мембранной структуры клетки. Антиоксиданты могут синтезироваться в организме и поступать извне. В идеале объединение системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы должно находиться в равновесном движении всех физиолого-биохимических процессов, таким образом, у живого организма повышается устойчивость к воздействию стресс-факторов и формируется адаптация в меняющихся

условиях окружающей среды [6]. Среди соединений с антиоксидантной активностью выделяют группу природных фенольных соединений, в число которых входят флавоноиды.

Флавоноидами являются производные бензо- $\gamma$ -пирона, в основе которых лежит скелет, состоящий из двух бензольных колец, соединенных между собой трехуглеродной цепочкой, общей формой С6-С3-С6.

Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Они обнаружены почти во всех высших растениях. Особенно богаты флавоноидами высшие растения, к которым относятся софора японская, рута и гречиха. Целью наших исследований являлось изучение сортовых особенностей гречихи посевной по накоплению комплекса флавоноидов и определение механизмов накопления флавоноидов.

#### Материалы и методы исследования

Полевой опыт проводится на полях ГНУ ВНИИ ЗБК Орловской области (п. Стрелецкий). Площадь опытной делянки 1 кв. м. Повторность опытов – четырехкратная. Посев семян гречихи проводится рядовым способом на глубину 3 см при прогревании почвы до 15–18°C и оптимальной влажности 60–70%. Норма высева семян из расчета 1,5 млн шт./га. Уход за посевами проводится в соответствии с технологией возделывания гречихи посевной в Центрально-черноземном регионе. Лабораторные опыты проводили в 3-кратной биологической повторности, аналитическое определение для каждой пробы – в трех повторностях.

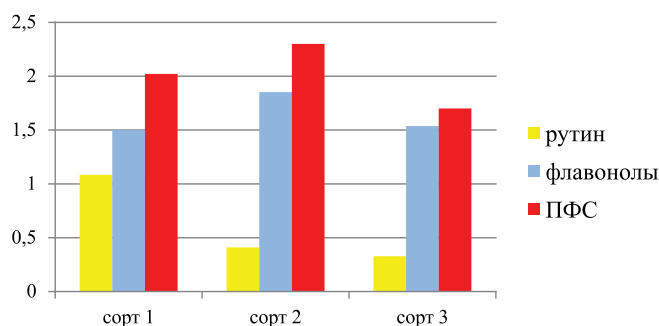


Рис. 1. Содержание рутина, флавонолов и полифенольных соединений в плодах разных сортов гречихи, мг/г

Фенольные соединения принимают участие в окислительно-восстановительных процессах и в процессе фотосинтеза. Являясь растительными пигментами, флавоноиды (антоцианы) придают яркую окраску цветкам, чем привлекают насекомых и тем самым способствуют опылению и размножению растений. В растениях флавоноиды содержатся чаще всего в виде гликозидов, которые растворены в клеточном соке, сосредоточены в вакуолях и хлоропластах. Наиболее богаты ими молодые цветки, незрелые плоды.

Для определения активности супероксиддисмутазы использовали модифицированную методику с использованием прибора – фотореактора (Giannopolities C.N., 1977). Определение МДА проводили по реакции с тиобарбитуровой кислотой по образованию окрашенного триметинового комплекса, с максимумом поглощения при 532 нм. Молярный коэффициент экстинкции этого комплекса:  $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{М}^{-1}$ . Определение рутина, ПФС и флавонолов в растениях гречихи посевной выполняли по Ермакову [2].

Достоверность экспериментальных данных оценивали методами математической статистики с привлечением современных программных средств Excel 7 для Windows XP.

#### Результаты исследования и их обсуждения

Накоплению флавоноидов способствуют умеренная влажность и температура, высота над уровнем моря и почва, богатая азотом, калием, фосфором и др. В южных и высокогорных районах под влиянием света и на почвах, богатых микроэлементами, в растениях содержание флавоноидов выше [3, 4]. Флавоноиды обнаружены в различных частях и органах растения гречихи посевной. Больше они накапливаются в надземной части растения. Анализ соотношения рутина, флавонолов и полифенольных соединений (ПФС) в плодах представлен на рис. 1. На диаграмме видна высокая степень отличия содержания веществ по сортам.

Максимальное накопление флавоноидов в надземной части гречихи – в период бутонизации и цветения, затем содержание флавоноидов снижается. Содержание флавоноидов в генотипах гречихи различно в среднем 0,5–5% [1].

В настоящее время практически отсутствуют публикации о выяснении вклада различных групп низкомолекулярных соединений в функционирование клеточной антиоксидантной системы. Флавоноиды в нормальных условиях участвуют в поглощении световой энергии, а при стрессе

являются частью фотозащитной и антиоксидантной систем.

Сложность изучения данной проблемы заключается в том, что усиление биосинтеза одного из низкомолекулярных соединений влечет за собой изменения в метаболизме в целом и перераспределение потребляемых субстратов при изменении энергетических затрат. В настоящее время мало изучено функционирование антиоксидантных ферментов и флавоноидов. Существуют два пути адаптации растений: усиление активности антиоксидантных ферментов и второй путь – накопление низкомолекулярных метаболитов.

Поскольку флавоноиды локализируются в эпидермальных клетках, исследования динамики их содержания проводили в листьях и в корнях гречихи посевной – органах, отличающихся накоплением рутина.

Сравнительный анализ в вегетативный и генеративный периоды по уровню МДА, СОД и ПФС в корнях показал снижение накопления полифенольных соединений при снижении уровня МДА и повышении активности СОД (рис. 2). Такая тенденция прослеживается как в индетерминантных, так и детерминантных сортах гречихи посевной.

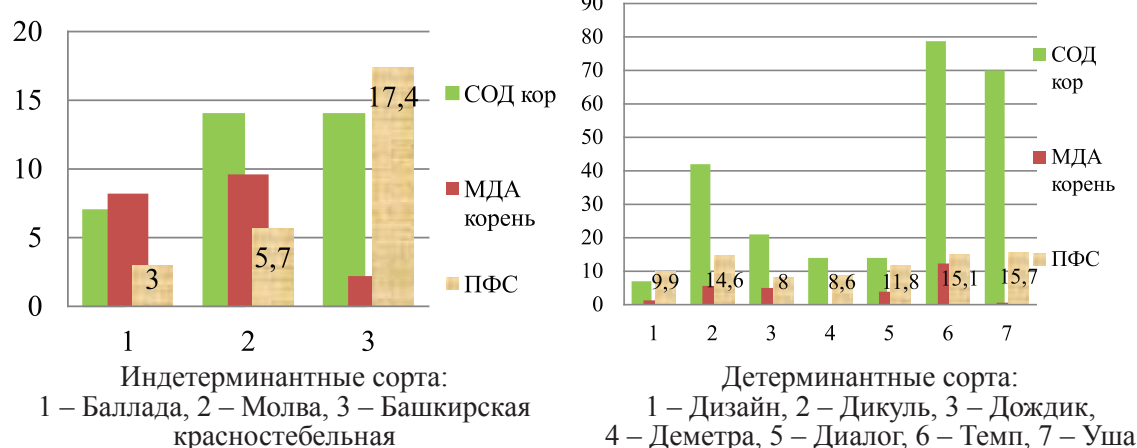


Рис. 2. Уровень МДА, СОД и ПФС в корнях районированных сортов гречихи посевной (вегетативный период)

В листьях накопление ПФС происходит при повышении активности СОД и повы-

шению уровня МДА от вегетативного к генеративному периоду (рис. 3)

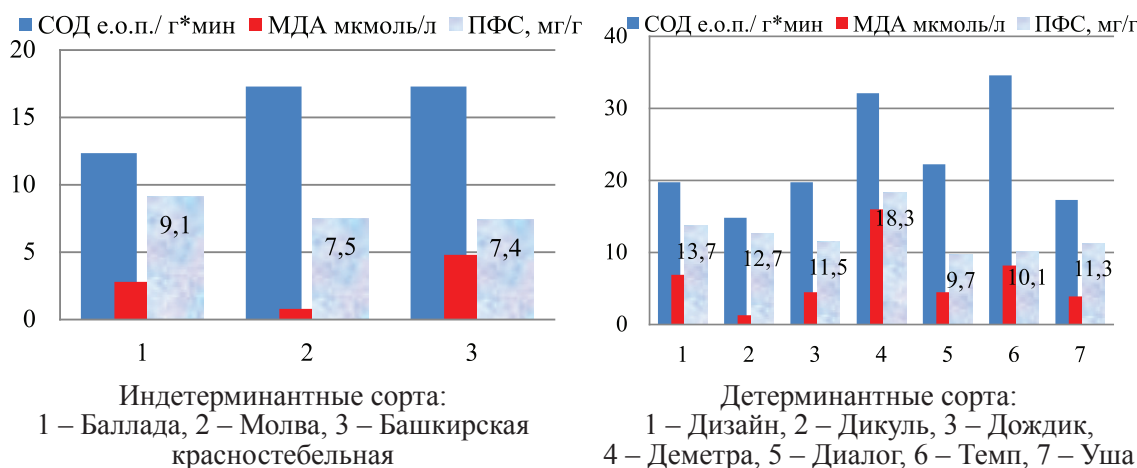


Рис. 3. Уровень МДА, СОД и ПФС в листьях районированных сортов гречихи посевной (вегетативный период – фаза всходы)

Вегетативный период онтогенеза гречихи посевной, отличающийся низким накоплением количества флавоноидов, он характеризуется низкой активностью СОД

и высоким уровнем МДА: в индетерминантных сортах СОД (от 12 до 17 е.о.п./г\*мин в листьях и от 7 до 14 е.о.п./г\*мин в корнях) ( $p < 0,05$ ) – МДА (от 3 до 5 мкмоль/л

в листьях и 8,1 и 9,8 мкмоль/л в корнях) ( $p < 0,01$ ); в детерминантных сортах СОД (от 18 до 34 е.о.п./г·мин в листьях и от 8 до

77 е.о.п./г·мин в корнях) ( $p < 0,01$ ) и МДА – (от 3 до 18 в листьях и от 3 до 15 мкмоль/л в корнях) ( $p < 0,05$ ), (рис. 3).

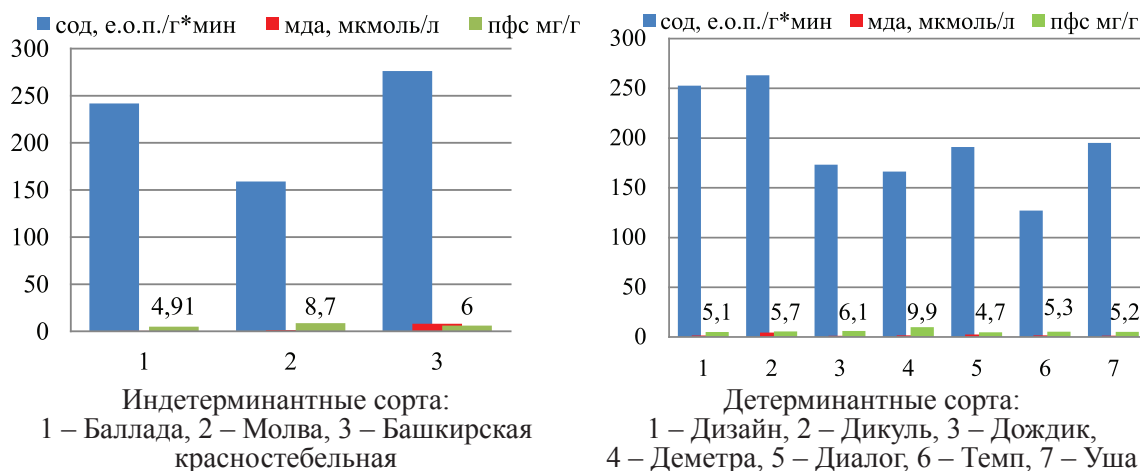


Рис. 4. Уровень МДА, СОД и ПФС в корнях районированных сортов гречихи посевной (генеративный период – фаза цветение)

Сорта Темп и Уша выделяются по накоплению ПФС в корнях (15,1 и 15,7 мг/г), имеют повышенную активность СОД.

Генеративный период онтогенеза с интенсивным накоплением флавоноидов характеризуется резким скачком активности СОД (от 180 до 260 е.о.п./г·мин) ( $p < 0,05$ ) и снижением уровня МДА в корнях (рис. 4),

но повышением уровня МДА в листьях (рис. 5). Индетерминантный сорт Башкирская красностебельная отличается высоким уровнем накопления ПФС в корнях (17,4 мг/г), так как при низкой активности СОД наблюдается высокий уровень МДА, что способствует повышенному уровню накопления флавоноидов.

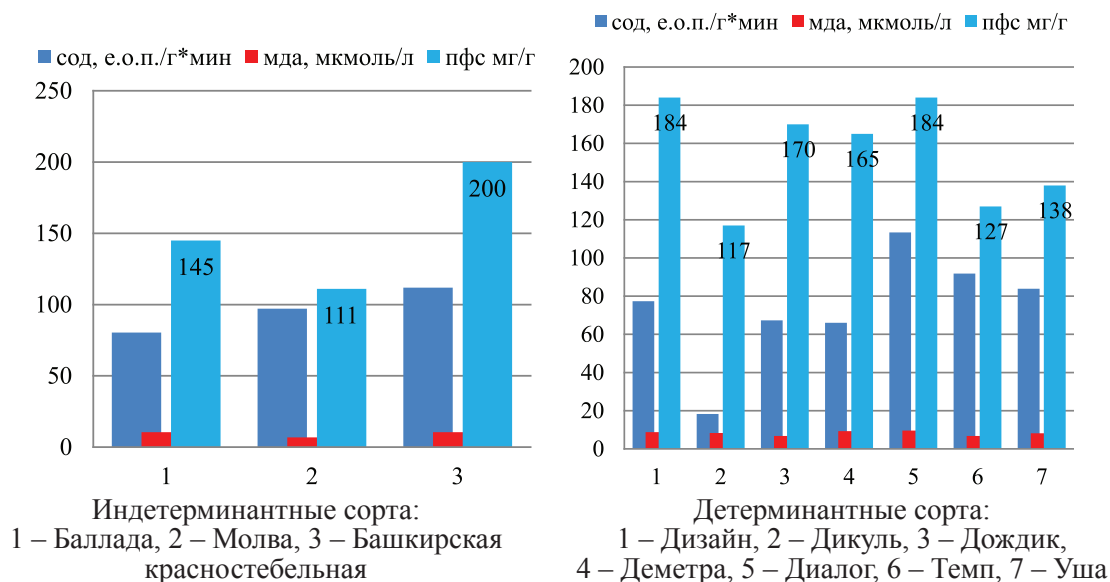


Рис. 5. Уровень МДА, СОД и ПФС в листьях районированных сортов гречихи посевной (генеративный период – фаза цветение)

### Вывод

Процесс онтогенеза гречихи посевной районированных сортов Орловской области характеризуется сменой работы ферментативных систем с изменением активности

в зависимости от биологического возраста и локализации по органам растений гречихи посевной. Динамика флавоноидов в ходе онтогенеза находится в зависимости от работы антиоксидантной системы гречихи посевной, и накопление флавоноидов свя-

зано с увеличением интенсивности работы высокомолекулярных и низкомолекулярных компонентов антиоксидантной системы растения.

#### Список литературы

1. Анисимова М.М., Куркин В.А., Ежков В.Н. Качественный и количественный анализ флавоноидов травы гречихи посевной // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – т. 12. – № 1(8). – С. 2011–2014.
2. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. Методы биохимического исследования растений. – 3-е изд. пер. и доп. – Л.: Агропромиздат. Ленингр. отделение, 1987. – 430 с.
3. Кузьмина С.С. Биологически активные вещества-антиоксиданты растений Якутии: Особенности накопления и влияния на стрессоустойчивость животных и человека: дис. ... канд. биол. наук. – М., 2002. – С. 153.
4. Мягчилов А.В. Выделение флавоноидов из шелухи гречихи посевной – *Fagopyrum sagittatum* Gilib. (POLYGONACEAE) // Химия растительного сырья. – 2011. – № 2. – С. 123–126.
5. Рудиковская Е.Г. Участие эндогенных фенольных соединений в регуляции перекисного окисления липидов в начале инфицирования гороха *Rh. Leguminosarum*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2004. – 22 с.
6. Цыденбаев П.Б., Хышыктуев Б.С., Николаев С.М. Биологические эффекты флавоноидов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 6(52). – С. 229–233.

#### References

1. Anisimova M.M., Kurkin V.A., Ezhkov V.N. Kachestvennyj i kolichestvennyj analiz flavonoidov travy grechihy posev-

noj // *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*, 2010, t.12. no. 1(8). pp. 2011–2014.

2. Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Jarosh N.P. Metody biohimicheskogo issledovanija rastenij. 3-e izd. pererab. i dop. L.: Agropromizdat. Leningr. otделение, 1987. 430 p.

3. Kuz'mina S.S. Biologicheski aktivnye veshhestva-antioksidanty rastenij Jakutii: Osobennosti nakoplenija i vlijanija na stressoustojchivost' zhivotnyh i cheloveka: dis. kand. biol. nauk. M., 2002. pp. 153.

4. Mjagchilov A.V. Vydelenie flavonoidov iz sheluhi grechihy posevnoj *Fagopyrum sagittatum* Gilib. (POLYGONACEAE) // *Himija rastitel'nogo syr'ja*. 2011. no. 2. pp. 123–126.

5. Rudikovskaja E.G. Uchastie jendogennyh fenol'nyh soedinenij v reguljacji perekisnogo okislenija lipidov v nachale inficirovanija goroha *Rh. Leguminosarum*: Avtoref. Dis. Kand. Biol.nauk. Irkutsk, 2004. 22 p.

6. Cydenbaev P.B., Hyshyktuev B.S., Nikolaev S.M. Biologicheskie jeffekty flavonoidov // *Bjulleten' VSNC SO RAMN*. 2006. no. 6(52). pp. 229–233.

#### Рецензенты:

Ярован Н.И., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой химии, ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет», г. Орел;

Козлов А.С., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой зоогиены и кормления сельскохозяйственных животных, ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет», г. Орел.

Работа поступила в редакцию 15.08.2013.