

УДК 582.475, 54.061, 543.2

ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ ФЕНОЛЬНОЙ РЕДОКС-СИСТЕМЫ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *PINUS SYLVESTRIS*

© *К.Г. Боголицын*^{1,2}, *М.А. Гусакова*¹, *А.А. Красикова*^{*}, *С.С. Хвиузов*¹, *Н.В. Селиванова*¹,
*Н.А. Самсонова*¹, *М.А. Пустынная*¹

¹ *Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики
им. академика Н.П. Лаверова УрО РАН, пр. Никольский, 20, Архангельск,
163000 (Россия), e-mail: ann.krasikova@gmail.com*

² *Северный (Арктический) федеральный университет имени
М.В. Ломоносова, наб. Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 (Россия)*

Изменения количественного состава вторичных метаболитов в формирующейся растительной ткани связаны с природно-климатическими условиями произрастания растений, в том числе в период вегетации. Акклиматизация вечнозеленых хвойных деревьев в бореальных регионах включает регуляторные процессы, которые защищают фотосинтетический аппарат хвои в специфических условиях. В работе для хвойных пород деревьев на примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) представлены новые экспериментальные данные по изменению содержания вторичных метаболитов фенольной природы – участников процессов биосинтеза растительной ткани. С использованием комплекса физико-химических методов (УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ, редокс-метрия) исследована сезонная динамика фенольного метаболизма и количественное изменение пигментного комплекса хвои сосны обыкновенной в течение вегетационного периода, изучен состав фенольной фракции фенол-хинонной окислительно-восстановительной системы растительной ткани. Показано, что в ткани растений на протяжении всего периода вегетации происходит изменение количественного и качественного состава фракции фенольных соединений, определяющих редокс-состояние растительной матрицы. Отмечено, что динамические процессы саморегулирования с участием комплекса, состоящего из фенольных соединений, пигментов и ферментативных систем, являются общей закономерностью на всех этапах развития растений, обеспечивая выполнение ими защитных функций фотосинтетического аппарата хвои вечнозеленых хвойных деревьев в бореальных регионах.

Ключевые слова: вторичные метаболиты, фенольные соединения, пигменты, редокс-процессы, ферментативная активность.

Введение

Адаптация растительных биообъектов к специфическим природно-климатическим условиям их произрастания приводит к приобретению теми или иными группами органических соединений определенного

Боголицын Константин Григорьевич – доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, заведующий кафедрой теоретической и прикладной химии, e-mail: k.bogolitsin@narfu.ru

Гусакова Мария Аркадьевна – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, заведующая лабораторией химии растительных биополимеров, e-mail: mariya_gusakova@mail.ru

Красикова Анна Алексеевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, e-mail: ann.krasikova@gmail.com

компонентного состава и уникальных свойств. Растения реагируют на внешние воздействия усилением биосинтеза различных веществ, что зачастую является первичным откликом на стресс. Помимо первичных метаболитов, а также соединенных-интермедиатов различных метаболических реакций, растения содержат огромное количество веществ, не участвующих в основном обмене, – вторичных метаболитов (ВМ). Вторичные метаболиты являются ключевыми соединениями, которые отвечают за формирование накопительного

Окончание на С. 232.

* Автор, с которым следует вести переписку.

характера отклика растения на воздействие стресса и обеспечивают выживание растений в неблагоприятных условиях [1, 2].

Среди множества вторичных метаболитов, синтезируемых в растениях, важное место занимают ароматические фенольные соединения (ФС) [3, 4]. Фенольные соединения в значительной степени определяют формирование и функционирование лигноуглеводной матрицы растений [5].

Известно, что фенольные соединения играют важную роль в окислительно-восстановительных реакциях, например, в качестве компонентов электрон-транспортных цепей дыхания и фотосинтеза (уби-, филло- и пластохиноны). Таким образом, происходит формирование редокс-системы, потенциал которой определяет энергетический уровень состояния растительной ткани. Участвующие в данных процессах хинонные соединения образуются при наличии фенольных соединений, активных форм кислорода и ферментативных систем [6].

Отмечено, что климатические условия региона произрастания оказывают влияние на общее количество фенольных соединений и антиоксидантную активность растений [7] и являются одними из комплекса факторов, определяющих биосинтез и изменение содержания метаболитов в растениях. Одно и то же растение, произрастающее в разных регионах, может иметь различия в концентрации вторичных метаболитов фенольной природы, и, как следствие, различия в редокс-состоянии. Ввиду того, что биосинтез фенольных соединений с последующим образованием молекулы лигнина – ферментативно-контролируемый процесс [5], интерес представляет сопоставительный анализ динамики содержания мономерных фенольных соединений и ферментативной активности.

Таким образом, цель данной работы – исследование механизмов редокс-процессов формирования вторичных метаболитов фенольной природы в высших хвойных растениях, произрастающих в естественных условиях, на примере сосны обыкновенной. Изучение редокс-превращений в цикле биосинтетических реакций образования основных компонентов растительной матрицы и оценка редокс-состояния системы проведены на основе разработанного нами методического подхода с применением метода косвенной редокс-метрии [6].

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовалась древесная зелень сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*). Сосна обыкновенная, как представитель хвойных пород, характеризуется постоянным наличием разновозрастной хвои, что позволяет проводить анализ накопления и перераспределения вторичных метаболитов фенольной природы, как в течение вегетационного периода, так и нескольких годовичных циклов. Отбор образцов производился на пробных площадках, заложенных в северотаежном районе Архангельской области на территории Приморского района (65°5'64"; 41°5'30").

Отбор и усреднение проб древесной зелени проводили согласно ГОСТ 21769-84 из средней части кроны одних и тех же модельных деревьев ежемесячно в течение вегетационного периода. Древесная зелень была разобрана на хвою по возрастным классам: хвоя текущего года, хвоя первого года, хвоя второго года и одревесневший побег. Выбор разновозрастных объектов хвои связан с существенными различиями накопления в них вторичных метаболитов, в том числе фенольных соединений, ввиду изменения метаболической активности и лигнификации клеточных стенок эпидермы в процессе онтогенеза [8–12].

Количественное определение суммы фенольных соединений в водно-спиртовых экстрактах хвои и од-

Хвиюзов Сергей Сергеевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, e-mail: khviuzov.s@yandex.ru

Селиванова Наталья Владимировна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, e-mail: snatalia-arh@yandex.ru

Самсонова Нина Анатольевна – младший научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, e-mail: gavrilova.iepn@yandex.ru

Пустынная Мария Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров, e-mail: lobanova2806@gmail.com

ревесневших побегах сосны обыкновенной проводилось спектрофотометрическим методом Фолина-Дениса [13]. Анализируемые экстракты получали растиранием 0.5 г сырья в 25 мл 80%-го этилового спирта. 1.0 мл экстракта помещали в пробирку на 10 мл, добавляли дистиллированную воду до 7 мл, перемешивали и вносили 0.5 мл реактива Фолина-Дениса, через 3 мин добавляли 1.0 мл насыщенного раствора Na₂CO₃ и доводили водой до 10 мл. Через 1 ч измеряли оптическую плотность при λ=730 нм на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония). Стандартное отклонение полученных результатов

не превышает 5%. Калибровочная зависимость получена в диапазоне концентраций до 120 мг/л, в качестве стандарта выбрана галловая кислота.

Анализ функциональной природы фенольных соединений в свежеприготовленных экстрактах проводился методами производной и дифференциальной УФ-спектроскопии. Электронные спектры экстрактов концентрацией 1 г/л записаны на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония) в диапазоне 220–500 нм, получены УФ-спектры растворов с нейтральным рН, с рН 12 и в 0.2 М NaOH. По данным дифференциальных спектров, полученных вычитанием спектра нейтрального раствора из спектра 0.2 М NaOH, рассчитаны значения приведенной оптической плотности – отношения оптических плотностей в максимумах поглощения 300 и 360 нм к концентрации экстрактов. На дифференциальных спектрах максимум поглощения при 300 нм соответствует несопряженным, а при 360 нм – сопряженным фенольным единицам. Для каждого образца проводилось три параллельных определения. Стандартное отклонение полученных результатов не превышает 5%.

Анализ мономерных фенолов гваяцильного ряда в спиртовых экстрактах выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием системы LC30AD Nexera X2 со спектрофотометрическим детектированием (Shimadzu, Япония). Для разделения применяли обращенно-фазовую колонку Nukleodur Polar Tec, 150×3.0 мм, 3 мкм, (Macherey-Nagel, Германия), элюент – смесь ацетонитрила и высокочистой воды I типа с добавкой муравьиной кислоты 0.5%. Разделение фенольных соединений проводили в изократическом режиме, скорость потока элюента составляла 0.4 мл/мин, содержание ацетонитрила 20%, температура термостата 40 °С. Объем вводимой пробы – 5 мкл. Детектирование осуществляли при длине волны 280 нм. Идентификация веществ производилась путем сравнения их спектральных характеристик и времени удерживания с аналогичными характеристиками стандартов. Предел обнаружения ацетованилона составил 2.5; ванилина – 1.6; ванилиновой кислоты – 1.8; ванилинового спирта – 1.7 мкг/л.

Эффективный окислительный потенциал определялся методом косвенной оксрелметрии. Для исследования спиртовых экстрактов древесной зелени было выбрано соотношение медиатора $K_3[Fe(CN)_6]$ – $K_4[Fe(CN)_6]$ $10^{-3}/10^{-4}$ М, в среде 0.01 М КОН при 25 °С в атмосфере азота. Значения эффективного окислительного потенциала рассчитано методом, основанным на псевдо-равновесии между окислительно-восстановительной системой исследуемого субстрата и исходными продуктами его окисления. Стандартное отклонение эффективного потенциала не превышало 5 мВ. Для измерения потенциала окислительно-восстановительной системы использовался иономер «Эксперт-001.1.01» («Эконикс-эксперт», Россия) и электродная система, состоящая из платинового электрода ЭПВ-1СР-100 и вспомогательного хлорсеребряного электрода ЭВЛ-1МЗ («Гомельский ЗИП», Беларусь).

Эффективный окислительный потенциал рассчитан по методике, основанной на псевдоравновесии между окислительно-восстановительной системой, исследуемым субстратом и начальными продуктами его окисления (уравнение 1).

$$j_{02}^* = j^{нач} - \frac{RT}{F} \ln \frac{c_{O_3}^{нач}}{c_a - c_{O_3}^{равн}} + \frac{RT}{F} \ln \frac{c_{O_3}^{равн}}{c_a - c_{O_3}^{равн}} + \frac{RT}{2F} \ln \frac{2c_{ArO}^{нач} - 4c_{O_3}^{нач} + 4c_{O_3}^{равн}}{c_{O_3}^{нач} - c_{O_3}^{равн}} + \frac{2.303RT}{2F} pH, \quad (1)$$

где $\varphi^{нач}$ – начальный потенциал окислительно-восстановительной системы феррицианид-ферроцианид калия, мВ; R – универсальная газовая постоянная, R=8.314 Дж/К·моль; F – число Фарадея, F=96485 Кл/моль; c_{O_3} , c_{O_4} , c_{Σ} – аналитические концентрации окисленной, восстановленной форм и их сумма системы-медиатора, моль/л; $c_{ArO}^{нач}$ – начальная концентрация фенола, моль/л.

Для анализа активности пероксидазы использовали методику [14]. Навеску растительного материала массой 150–200 мг растирали в фарфоровой ступке с небольшим количеством 0.1 М калий-фосфатного буфера (рН 7.0) и переносили в мерную колбу объемом 25 см³. Раствор выдерживали 20 мин при температуре 25 °С, после чего фильтровали через бумажный фильтр, фильтрат использовали в качестве препарата пероксидазы. Активность пероксидазы (АПО) в хвое определяли при температуре 25 °С по скорости окисления 1.5 мМ гваякола («Sigma») 0.68 мМ пероксидом водорода в 0.1 М калий-фосфатном буфере (рН 7.0) при $\lambda=416$ нм на УФ-спектрофотометре Shimadzu UV-1800.

Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определено в 96%-ом этаноле спектрофотометрическим методом при длинах волн 665, 649 и 440.5 нм соответственно [15].

Обсуждение результатов

Исходным субстратом для образования всех основных компонентов растительных тканей служит глюкоза, образующаяся в результате фотосинтеза, происходящего в кроне деревьев, в результате чего энергия солнечного света переходит в энергию химических связей [16]. Фотосинтетические организмы разработали многочисленные приспособления, которые позволяют им фотосинтезировать в различных условиях. Отдельно стоит отметить акклиматизацию вечнозеленых хвойных деревьев в бореальных регионах, которая, по-видимому, должна включать регуляторные процессы, которые защищают фотосинтетический аппарат хвои в специфических климатических условиях. На сегодняшний день не существует единого мнения о механизме, объясняющем происходящие зимой в древесной зелени хвойных пород процессы, а молекулярные, физико-химические и физиологические основы адаптации растений до конца не выяснены. Существующие механизмы и модели фотосинтетических процессов в растениях принимают во внимание общую схему сосуществования двух фотосинтетических систем I и II в тилакоидных комплексах хвои на мембране тилакоида [17]. Фотосистемы являются центрами окислительно-восстановительных светозависимых реакций и улавливают свет различных длин волн с использованием хлорофилла и вспомогательных фотосинтетических пигментов – каротиноидов. Поглощаемая ими энергия передается хлорофиллу *a*, расположенному в реакционном центре каждой фотосистемы, а затем электрон передается молекуле-акцептору. Для обмена электронами между фотосистемами служат пластохинон, филлохинон и пластоцианин, преобразующие энергию света для работы электротранспортных цепей, которые создают электрохимический потенциал через тилакоидную мембрану [17]. При рассмотрении этой концепции учитывается участие в протекающих процессах хинонных соединений, которые образуются только при наличии фенольных соединений, активных форм кислорода и участии ферментативных систем. Таким образом, происходит образование редокс-системы, потенциал которой определяет энергетический уровень состояния растительной ткани в целом на данный момент. Выполненные нами ранее исследования особенностей формирования растительной ткани высших хвойных растений на ранних стадиях развития показали, что низкомолекулярная фракция фенольных соединений является наиболее реакционноспособной компонентой вторичного метаболизма, была установлена определяющая роль редокс-превращений монолигнолов [6, 18].

У хвойных пород именно хвоя выполняет функцию фотосинтетического аппарата, характеризующегося высокодинамичными структурными и функциональными сезонными перестройками [17]. Так, в годичном цикле выделяют два основных этапа: уменьшение содержания хлорофиллов *a* и *b* в осенне-зимний период и восстановление их запасов в начале активной вегетации весной и летом. Отмечено [19, 20], что содержание каротиноидов в хвое отдельных видов ели, пихты и сосны обыкновенной возрастает зимой и уменьшается весной. При этом с наступлением зимы у большинства видов хвойных наблюдается уменьшение отношения суммарного содержания хлорофиллов к каротиноидам, которое объясняется дополнительным синтезом каротиноидов, обладающих защитной функцией и предохраняющих ассимиляционный аппарат от фотодинамического разрушения в условиях низких температур [20–22].

Таким образом, исходя из представленных литературных данных, для исследования редокс-процессов формирования вторичных метаболитов фенольной природы возникает необходимость анализа сезонных изменений пигментов, как непосредственных участников фотосинтетических процессов и биосинтеза вторичных метаболитов. Проведенное нами изучение процессов сезонной динамики пигментного аппарата хвои сосны обыкновенной разного возраста, произрастающей на субарктических территориях, продемонстрировало протекание активных сезонных перестроек фотосинтетического аппарата (табл.). Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды) является динамичным показателем и варьируется в зависимости от возраста хвои и периода вегетации. Общая сумма пигментов ($X_{л\ a} + X_{л\ b} + \text{каротиноиды}$) в разновозрастной хвое сосны изменяется в течение вегетации в пределах 0.30–0.87 мг/г сырого веса хвои. Установлено, что для всех образцов хвои характерны относительно невысокие количественные показатели содержания пигментов, что обусловлено, в первую очередь, влиянием климатических условий произрастания. Минимальное значение общего содержания пигментов отмечено для хвои текущего года в июне (0.30 мг/г); максимальное значение – для хвои первого года в августе (0.86 мг/г).

Возрастание в осенний период относительного содержания каротиноидов отражает защитную функцию желтых пигментов и их устойчивость к изменяющимся условиям. Отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам у хвои сосны обыкновенной невысокое (в среднем 8.4), что характерно для хвойных растений приарктических территорий [20]. Причем отмечено уменьшение отношения суммарного содержания хлорофиллов к каротиноидам с наступлением осенне-зимнего периода, которое объясняется дополнительным синтезом каротиноидов, обладающих защитной функцией и предохраняющих фотосинтетический аппарат в условиях низких температур.

Изменение содержания фотосинтетических пигментов в хвое сосны обыкновенной на протяжении вегетационного периода 2022 г.

Образец	Месяц	Хл <i>a</i> , мг/г	Хл <i>b</i> , мг/г	Каротиноиды, мг/г	Хл <i>a</i> +Хл <i>b</i> /каротиноиды
Хвоя сосны текущего года	май	–	–	–	–
	июнь	0.14	0.11	0.05	5.00
	июль	0.44	0.22	0.04	16.50
	август	0.35	0.18	0.05	10.58
	сентябрь	0.29	0.17	0.07	6.57
Хвоя сосны 1 года	май	0.26	0.21	0.12	3.92
	июнь	0.29	0.20	0.11	4.54
	июль	0.44	0.22	0.09	7.34
	август	0.50	0.26	0.10	7.46
	сентябрь	0.48	0.25	0.12	6.08
Хвоя сосны 2 года	май	0.39	0.23	0.09	6.89
	июнь	0.46	0.30	0.04	19.61
	июль	0.40	0.22	0.06	11.07
	август	0.40	0.22	0.11	5.39
	сентябрь	0.41	0.21	0.13	4.77

Как было показано нами ранее [6, 18], процессы накопления низкомолекулярных фенольных соединений – предшественников лигнина в начальный период онтогенеза происходят преимущественно в ассимиляционном аппарате растений – хвое. Анализ содержания компонентов фенольной природы в течение вегетационного периода демонстрирует динамический характер изменения (рис. 1), максимум содержания ФС в хвое всех возрастов отмечен в июле, что обусловлено завершением активной вегетации (формированием хвои и, как следствие, увеличением вегетативной массы кроны). С увеличением возраста хвои происходит повышение содержания фенольных соединений, связанное с адаптационными приспособлениями хвои и фотосинтетического аппарата в процессе онтогенеза; наибольшее содержание ФС отмечено для хвои второго года.

В растительных тканях происходит постоянное изменение баланса между окисленными и неокисленными фенольными соединениями [6]. Это в свою очередь, приводит к непрерывному изменению состава фракции низкомолекулярных фенолов. Несопряженные фенольные соединения являются наиболее реакционноспособными в редокс-процессах, именно их окисление с образованием сопряженных фенольных единиц и изменение соотношения несопряженных/сопряженных фенольных соединений приводит к значительному изменению редокс-состояния растительных тканей. В анализируемых образцах присутствуют как сопряженные, так и несопряженные фенольные структуры (рис. 2), среди которых на протяжении всего периода вегетации преобладают несопряженные. В начале периода вегетации наблюдается максимальное их содержание, с последующим снижением к окончанию летнего периода ввиду расходования в окислительных процессах (рис. 2а). Относительное содержание как сопряженных, так и несопряженных структур в хвое текущего года значительно выше, чем в хвое 1 и 2 года (на 40–60% для несопряженных и 40–50% для сопряженных структур), что объясняется интенсивными процессами фото- и биосинтеза. Для одревесневшего побега характерно снижение содержания как несопряженных, так и сопряженных фенольных форм в летний период (август). Данные изменения, вероятно, вызваны переходом их в высокомолекулярные формы в процессе лигнификации.

Экспериментальные данные, полученные как по общему содержанию фенольных соединений, так и по относительному содержанию сопряженных и несопряженных структур, свидетельствуют о непрерывно протекающих в растительной ткани редокс-процессах различной интенсивности на протяжении всего периода вегетации растений и происходящей функционализации фенольных соединений.

Среди группы фенольных соединений в хвойных растениях непосредственными участниками процессов биосинтеза являются мономерные фенолы гваяцильного ряда. Исследуемые мономерные соединения были обнаружены во всех экстрактах, что свидетельствует об общности механизмов их биосинтеза, протекающих в различных элементах растительных объектов (как в хвое, так и в живых, неодревесневших тканях побега). Во всех исследуемых объектах наибольшее содержание наблюдается для несопряженных фенолов (конифероловый и ванилиновый спирты) – наиболее реакционноспособных в редокс-процессах, что показано независимым дифференциальным $\Delta\epsilon$ -методом.

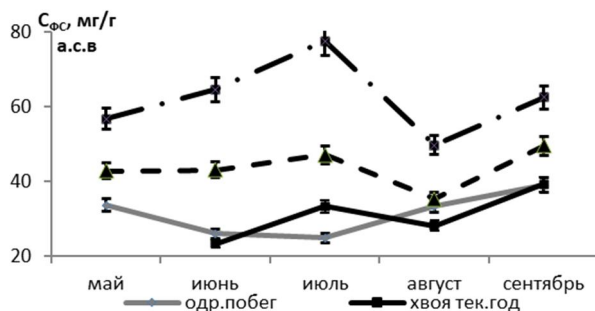


Рис. 1. Сезонная динамика общего содержания фенольных соединений

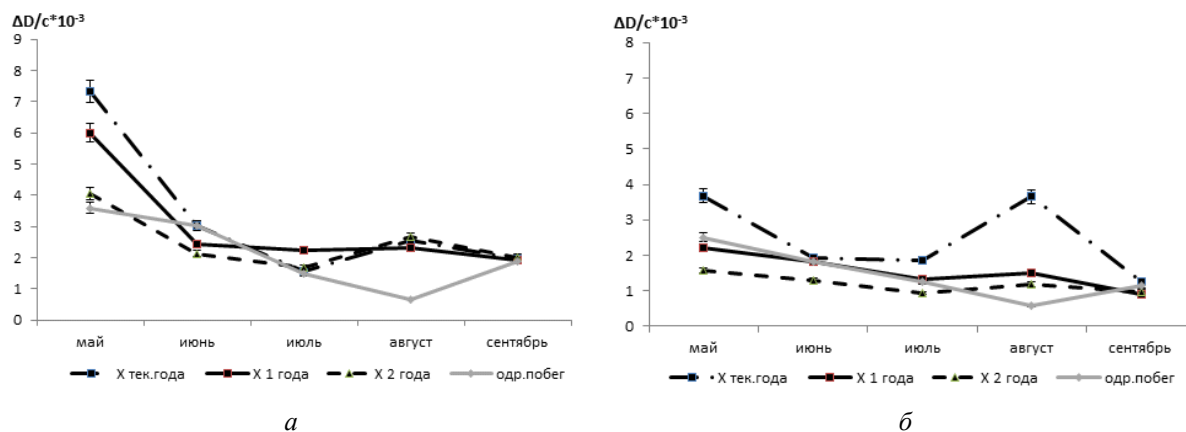


Рис. 2. Изменение интенсивности спектральных полос в дифференциальных спектрах экстрактов хвои и побегов сосны в течение вегетационного периода: *а* – несопряженные, *б* – сопряженные фенольные структуры

Интерес представляет динамика изменения содержания кониферилового спирта, как предшественника гваяцильных структур лигнина древесины хвойных пород [6, 18]. Полученные данные показывают, что для хвои наименьшее содержание кониферилового спирта наблюдается в образцах текущего года (рис. 3). В экстрактах побегов содержание кониферилового спирта оказывается ниже, чем в двухлетней хвое. Это позволяет сделать вывод о непрерывных процессах диффузии мономерных фенолов из хвои в недревесневшую растительную ткань побега. В целом, для образцов хвои и побега прослеживается увеличение содержания кониферилового спирта к окончанию вегетации.

Важную роль в ферментативно контролируемых стадиях биосинтеза фенольных соединений играет пероксидаза. Проведенные исследования показали, что наименьший уровень активности пероксидазы характерен для хвои текущего года. С появлением новых побегов и их усиленным ростом наблюдается пик активности пероксидазы в июне, что особенно явно отмечено для хвои 2 года (рис. 4). После чего (в июле) происходит снижение ферментативной активности, что вероятно совпадает с накоплением фенольных соединений и их низкой вовлеченностью в лигнификационные редокс-процессы, а также замедлением генеративного роста, когда гваякол-зависимая пероксидаза принимает активное участие в процессах дифференциации тканей и торможения процессов лигнификации клеточных стенок с преобладанием процессов синтеза полисахаридов.

При сопоставлении полученных зависимостей отмечена корреляция данных по изменению пероксидазной активности (рис. 4) в хвое сосны с общим содержанием фенольных соединений (рис. 1), что подтверждает ключевую роль данного фермента в метаболизме фенольных соединений. Возрастание значений активности пероксидазы, общего содержания фенолов и кониферилового спирта в конце вегетационного периода (август-сентябрь) характеризует увеличение интенсивности лигнификационных процессов.

Наличие фенольных и хинонных структур, изменение их соотношения в процессе жизнедеятельности растения приводит к изменению редокс-состояния растения как целостной системы. На рисунке 5а приведены значения эффективного окислительного потенциала экстрактов исследуемых объектов.

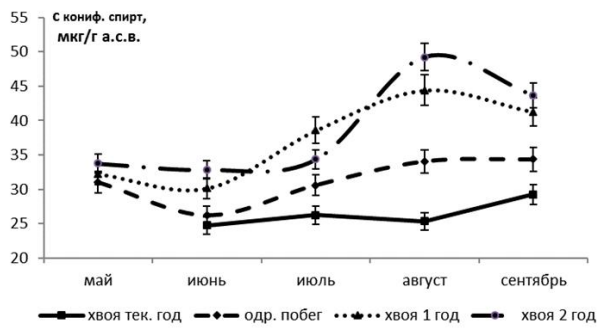


Рис. 3. Изменение содержания кониферилового спирта в хвое сосны в вегетационный период

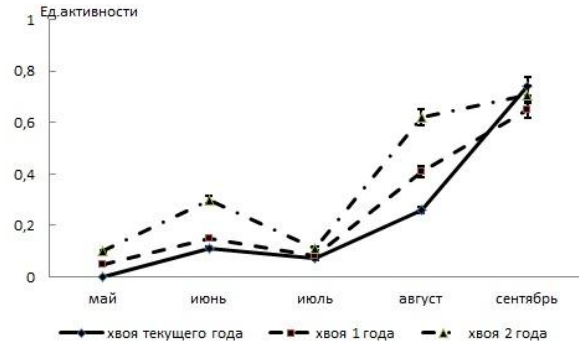


Рис. 4. Изменение активности пероксидазы в хвое сосны в течение вегетационного периода

Полученные временные зависимости имеют сложный нелинейный вид. В целом, тенденции изменения величин $\Delta\varphi_{02}^*$ экстрактов хвои и побега имеют схожий вид: в начальный период вегетации с мая по июнь изменения оказываются невыраженными, а с июня по август наблюдается увеличение $\Delta\varphi_{02}^*$, что свидетельствует о непрерывном изменении редокс-состояния растительной ткани. Наименьшие значения $\Delta\varphi_{02}^*$ наблюдаются в хвое текущего года жизни, наибольшие – второго года. В хвое синтезируются и накапливаются продукты вторичного метаболизма, поэтому с увеличением ее возраста повышается содержание окисленных фенольных соединений. Различия величин $\Delta\varphi_{02}^*$ образцов хвои и побегов в период вегетации являются статистически значимыми и достигают 20 мВ. Относительно высокие значения величин $\Delta\varphi_{02}^*$ экстрактов побега свидетельствуют о большей интенсивности редокс-процессов, протекающих в данный период. Для фенольной фракции образцов хвои и побегов, в целом, наибольшая реакционная способность наблюдается в июне, когда происходит интенсивное образование клеток ранней древесины [23, 24].

По полученным значениям φ_{02}^* по формуле (2) рассчитаны величины свободной энергии Гиббса окисления фенольных структур (ΔG_{ox}):

$$\Delta G_{ox} = -nF \varphi_{02}^*, \quad (2)$$

где n – число электронов, участвующих в реакции; F – постоянная Фарадея, 96485 Кл/моль.

Зависимость динамики изменения параметра ΔG_{ox} приведена для одревесневшего побега и усредненной пробы хвои 1 и 2 года, характеризующейся относительно близкими значениями φ_{02}^* (рис. 5б). Для фракции фенольных соединений характерны значения свободной энергии окисления фенольных структур $-150 \dots -146$ кДж/моль $ОН_{фен}$. Для исследуемого периода во всех случаях величина $\Delta G = \Delta G_{xвоя} - \Delta G_{побег}$ оказывается отрицательной, что свидетельствует о термодинамической самопроизвольности процесса окисления диффундирующих из хвои в побег фенольных соединений. Наибольшие по модулю значения ΔG наблюдаются в июне и августе. Таким образом, показан динамический характер изменения редокс-состояния растительной ткани в течение вегетационного периода, что свидетельствует о различиях в интенсивности протекания окислительных полимеризационных процессов с участием фенольных соединений.

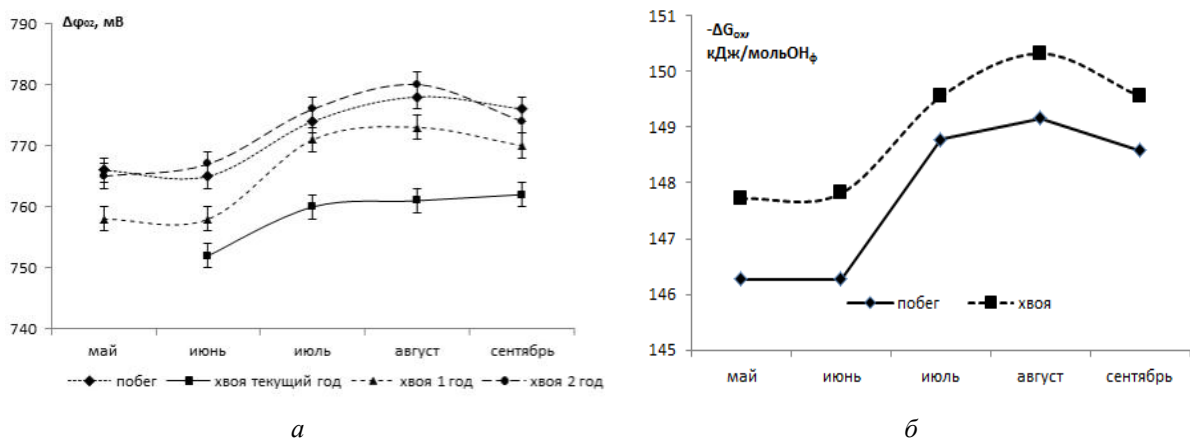


Рис. 5. Значения эффективного окислительного потенциала φ_{02}^* (а) и свободной энергии Гиббса окисления фенольных структур ΔG_{ox} (б) исследуемых экстрактов

Выводы

На примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) представлены новые экспериментальные данные по изменению содержания вторичных метаболитов фенольной природы и пигментного комплекса хвои в течение вегетационного периода. Показано, что в растительной ткани хвойных на протяжении всего периода вегетации происходит непрерывное изменение количественного и качественного состава фракции фенольных соединений, определяющих редокс-состояние растительной матрицы. При этом редокс-системы фенольных соединений образуются благодаря донорно-акцепторному взаимодействию в фотосистемах I и II с участием фотосинтетических пигментов. Отмечено, что динамические процессы саморегулирования с участием комплекса, состоящего из фенольных соединений, пигментов и ферментативных систем, являются общей закономерностью на всех этапах развития растений, обеспечивая выполнение ими защитных функций фотосинтетического аппарата хвои вечнозеленых хвойных деревьев в бореальных регионах. Защитная функция фенольных соединений древесной зелени сосны обеспечивается высокими значениями эффективного окислительного потенциала (до 780 мВ) и свободной энергии окисления (-150 кДж/мольОН_{фен}).

Список литературы

1. Fang X., Yang C-Q., Wei Y-K., Ma Q.X., Yang L., Chen X.-Y. Genomics grand for diversified plant secondary metabolites // *Plant Diversity and Resources*. 2011. Vol. 33. Pp. 53–64. DOI: 10.3724/SP.J.1143.2011.10233.
2. Ramakrishna A., Ravishankar G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants // *Plant Signaling and Behavior*. 2011. Vol. 6. Pp. 1720–1731. DOI: 10.4161/psb.6.11.17613.
3. Achakzai K.K.A., Achakzai P., Masood A., Kayani S.A., Tareen R.B. Response of plant parts and age on the distribution of secondary metabolites on plants found in quetta // *Pakistan Journal of Botany*. 2009. Vol. 41. Pp. 2129–2135.
4. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М., 1993. 272 с.
5. De Meester B., Vanholme R., Mota T., Boerjan W. Lignin engineering in forest trees: From gene discovery to field trials // *Plant Communications*. 2022. Vol. 3. Article 100465. DOI: 10.1016/j.xplc.2022.100465.
6. Гусакова М.А., Боголицын К.Г., Красикова А.А., Селиванова Н.В., Хвиюзов С.С. Характеристика редокс-состояния лигноуглеводной матрицы древесины на начальных этапах развития на примере сосны обыкновенной // *Химия растительного сырья*. 2022. №1. С. 213–223. DOI: 10.14258/jcprm.2022019685.
7. Kumar A., Singhal K.C., Sharma R.A., Vyas G.K., Kumar V. Total phenolic and antioxidant activity of *Catharanthus roseus* in different geographical locations of Rajasthan // *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*. 2013. Vol. 4. Pp. 155–158.
8. Darwish R.S., Hammada H.M., Ghareeb D.A., Abdelhamid A.S.A., Harraz F.M., Shawky E. Seasonal dynamics of the phenolic constituents of the cones and leaves of oriental Thuja (*Platyclusus orientalis* L.) reveal their anti-inflammatory biomarkers // *RSC Advances*. 2021. Vol. 11. Pp. 24624–24635. DOI: 10.1039/d1ra01681d.
9. Плаксина И.В. Сезонная динамика фенольных соединений в лубе и хвое сосны обыкновенной и кедра сибирского в посадках различной густоты // *Химия растительного сырья*. 2009. №1. С. 103–105.
10. Gallet C., Pellissier F. Phenolic compounds in natural solutions of a coniferous forest // *Journal of Chemical Ecology*. 1997. Vol. 23. Pp. 2401–2412.
11. Muscolo A., Sidari M. Seasonal fluctuations in soil phenolics of a coniferous forest: Effects on seed germination of different coniferous species // *Plant and Soil*. 2006. Vol. 284. Pp. 305–318.
12. Ладанова Н.В., Плюснина С.Н. Анатомо-морфологические изменения разновозрастной хвои сосны обыкновенной в зоне действия Сыктывкарского лесопромышленного комплекса // *Лесной журнал*. 1998. №1. С. 7–11.
13. Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение // *Химия растительного сырья*. 2021. №2. С. 291–299. DOI: 10.14258/jcprm.2021028250.
14. Боголицын К.Г., Сурсо М.В., Гусакова М.А., Зубов И.Н. Динамика сезонных и возрастных изменений параметра активности пероксидазы в хвое можжевельника обыкновенного (*Juniperus Communis* L.) // *ИВУЗ. Лесной журнал*. 2013. №6. С. 91–96.
15. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // *Биохимические методы в физиологии растений*. М., 1971. С. 154–170.
16. Katerova Z., Todorova D., Sergiev I. Plant Secondary Metabolites and Some Plant Growth Regulators Elicited by UV Irradiation, Light And/or Shade // *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Cham, Springer, 2017. Pp. 97–121. DOI: 10.1007/978-3-319-68717-9_6.
17. Bag P., Chukhutsina V., Zhang Z., Paul S., Ivanov A.G., Shutova T., Croce R., Holzwarth A.R., Jansson S. Direct energy transfer from photosystem II to photosystem I confers winter sustainability in Scots Pine // *Nature Communications*. 2020. Vol. 11. Article 6388. DOI: 10.1038/s41467-020-20137-9.
18. Гусакова М.А., Боголицын К.Г., Красикова А.А., Селиванова Н.В., Хвиюзов С.С., Самсонова Н.А. Характеристика формирования древесного вещества при выращивании семян сосны обыкновенной с использованием химических маркеров // *Лесной журнал*. 2022. №1. С. 36–46. DOI: 10.37482/0536-1036-2022-1-36-48.

19. Тужилкина В.В. Фотосинтетические пигменты хвои ели сибирской в среднетаежных лесах европейского северо-востока России // Сибирский лесной журнал. 2017. №1. С. 65–73.
20. Шавнин С.А., Юсупов И.А., Марина Н.В., Монтиле А.А., Голиков Д.Ю. Сезонные изменения содержания хлорофиллов и каротиноидов в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в зоне влияния теплового поля газового факела // Физиология растений. 2021. Т. 68. №2. С. 1–11. DOI: 10.31857/S0015330321020184.
21. Öquist G., Huner N.P.A. Photosynthesis of overwintering evergreen plants // Annual Review of Plant Biology. 2003. Vol. 54. Pp. 329–355. DOI: 10.1146/annurev.arplant.54.072402.115741.
22. Sofronova V.E., Dymova O.V., Golovko T.K., Chepalov V.A., Petrov K.A. Adaptive changes in pigment complex of *Pinus sylvestris* needles upon cold acclimation // Russian Journal of Plant Physiology. 2016. Vol. 63. Pp. 433–442. DOI: 10.1134/S1021443716040142.
23. Gricar J., Cufar K., Eler K., Gryc V., Vavřík H., De Luis M., Prislan P. Transition Dates from Earlywood to Latewood and Early Phloem to Late Phloem in Norway Spruce // Forests. 2021. Vol. 12. Article 331. DOI: 10.3390/f12030331.
24. Carteni F., Deslauriers A., Rossi S., Morin H., De Micco V., Mazzoleni S., Giannino F. The Physiological Mechanisms Behind the Earlywood-To-Latewood Transition: A Process-Based Modeling Approach // Frontiers in Plant Science. 2018. Vol. 9. Article 1053. DOI: 10.3389/fpls.2018.01053.

Поступила в редакцию 16 марта 2023 г.

После переработки 3 апреля 2023 г.

Принята к публикации 28 августа 2023 г.

Для цитирования: Боголицын К.Г., Гусакова М.А., Красикова А.А., Хвиюзов С.С., Селиванова Н.В., Самсонова Н.А., Пустынная М.А. Динамика формирования фенольной редокс-системы хвойных растений на примере сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* // Химия растительного сырья. 2023. №4. С. 231–240. DOI: 10.14258/jcrpm.20230412679.

Bogolitsyn K.G.^{1,2}, Guskova M.A.¹, Krasikova A.A.^{1}, Khviyuzov S.S.¹, Selivanova N.V.¹, Samsonova N.A.¹, Pustynnaya M.A.¹* DYNAMICS OF THE FORMATION OF THE PHENOLIC REDOX SYSTEM OF CONIFEROUS PLANTS ON THE EXAMPLE OF THE COMMON PINE *PINUS SYLVESTRIS*

¹ Federal Research Center for Integrated Study of the Arctic named after Academician N.P. Laverov Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ave. Nikolsky, 20, Arkhangelsk, 163000 (Russia), e-mail: ann.krasikova@gmail.com

² Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosova, nab. Severnoy Dviny, 17, Arkhangelsk, 163002 (Russia)

The change in the quantitative composition of secondary metabolites in the forming plant tissue is associated with climatic conditions of plant growth, including seasonality and the growing season. Acclimatization of evergreen coniferous trees in boreal regions includes regulatory processes that protect the photosynthetic apparatus of needles in specific conditions. Using the example of coniferous tree – scots pine (*Pinus sylvestris*), new experimental data on changes in the content of secondary metabolites of phenolic nature – participants in the processes of plant tissue biosynthesis – is presented in this paper. The dynamics of the intensity of phenolic metabolism and the quantitative change of the pigment apparatus of pine needles during the growing season were investigated using a complex of physic-chemical methods (UV spectrophotometry, HPLC, redox-metry) and the composition of the phenolic fraction of the phenol-quinone redox system of the cell wall was studied. It is shown that changes in the quantitative and qualitative composition of the phenolic compounds fraction that determine the redox state of the plant matrix occurs in plant tissue throughout the growing season. It is noted that dynamic self-regulation processes involving a complex consisting of phenolic compounds, pigments and enzymatic systems are a common pattern at all stages of plant development, ensuring that they perform protective functions of the photosynthetic apparatus of the needles of evergreen coniferous trees in boreal regions.

Keywords: secondary metabolites, phenolic compounds, pigments, redox processes, enzymatic activity.

* Corresponding author.

References

1. Fang X., Yang C-Q., Wei Y-K., Ma Q.X., Yang L., Chen X.-Y. *Plant Diversity and Resources*, 2011, vol. 33, pp. 53–64. DOI: 10.3724/SP.J.1143.2011.10233.
2. Ramakrishna A., Ravishankar G.A. *Plant Signaling and Behavior*, 2011, vol. 6, pp. 1720–1731. DOI: 10.4161/psb.6.11.17613.
3. Achakzai K.K.A., Achakzai P., Masood A., Kayani S.A., Tareen R.B. *Pakistan Journal of Botany*, 2009, vol. 41, pp. 2129–2135.
4. Zaprometov M.N. *Fenol'nyye soyedineniya: rasprostraneniye, metabolizm i funktsii v rasteniyakh*. [Phenolic compounds: distribution, metabolism and functions in plants]. Moscow, 1993, 272 p. (in Russ.).
5. De Meester B., Vanholme R., Mota T., Boerjan W. *Plant Communications*, 2022, vol. 3, article 100465. DOI: 10.1016/j.xplc.2022.100465.
6. Gusakova M.A., Bogolitsyn K.G., Krasikova A.A., Selivanova N.V., Khviyuzov S.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 213–223. DOI: 10.14258/jcprm.2022019685.
7. Kumar A., Singhal K.C., Sharma R.A., Vyas G.K., Kumar V. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 2013, vol. 4, pp. 155–158.
8. Darwish R.S., Hammada H.M., Ghareeb D.A., Abdelhamid A.S.A., Harraz F.M., Shawky E. *RSC Advances*, 2021, vol. 11, pp. 24624–24635. DOI: 10.1039/d1ra01681d.
9. Plaksina I.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2009, no. 1, pp. 103–105. (in Russ.).
10. Gallet C., Pellissier F. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, vol. 23, pp. 2401–2412.
11. Muscolo A., Sidari M. *Plant and Soil*, 2006, vol. 284, pp. 305–318.
12. Ladanova N.V., Plyusnina S.N. *Lesnoy zhurnal*, 1998, no. 1, pp. 7–11. (in Russ.).
13. Nikolayeva T.N., Lapshin P.V., Zagorskina N.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 2, pp. 291–299. DOI: 10.14258/jcprm.2021028250. (in Russ.).
14. Bogolitsyn K.G., Surso M.V., Gusakova M.A., Zubov I.N. *IVUZ. Lesnoy zhurnal*, 2013, no. 6, pp. 91–96. (in Russ.).
15. Shlyk A.A. *Biokhimicheskiye metody v fiziologii rasteniy*. [Biochemical methods in plant physiology]. Moscow, 1971, pp. 154–170. (in Russ.).
16. Katerova Z., Todorova D., Sergiev I. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*. Cham, Springer, 2017, pp. 97–121. DOI: 10.1007/978-3-319-68717-9_6.
17. Bag P., Chukhutsina V., Zhang Z., Paul S., Ivanov A.G., Shutova T., Croce R., Holzwarth A.R., Jansson S. *Nature Communications*, 2020, vol. 11, article 6388. DOI: 10.1038/s41467-020-20137-9.
18. Gusakova M.A., Bogolitsyn K.G., Krasikova A.A., Selivanova N.V., Khviyuzov S.S., Samsonova N.A. *Lesnoy zhurnal*, 2022, no. 1, pp. 36–46. DOI: 10.37482/0536-1036-2022-1-36-48. (in Russ.).
19. Tuzhilkina V.V. *Sibirskiy lesnoy zhurnal*, 2017, no. 1, pp. 65–73. (in Russ.).
20. Shavnin S.A., Yusupov I.A., Marina N.V., Montile A.A., Golikov D.Yu. *Fiziologiya rasteniy*, 2021, vol. 68, no. 2, pp. 1–11. DOI: 10.31857/S0015330321020184. (in Russ.).
21. Öquist G., Huner N.P.A. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, vol. 54, pp. 329–355. DOI: 10.1146/annurev.arplant.54.072402.115741.
22. Sofronova V.E., Dymova O.V., Golovko T.K., Chepalov V.A., Petrov K.A. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2016, vol. 63, pp. 433–442. DOI: 10.1134/S1021443716040142.
23. Gricar J., Cufar K., Eler K., Gryc V., Vavrčik H., De Luis M., Prislan P. *Forests*, 2021, vol. 12, article 331. DOI: 10.3390/f12030331.
24. Cartenì F., Deslauriers A., Rossi S., Morin H., De Micco V., Mazzoleni S., Giannino F. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, article 1053. DOI: 10.3389/fpls.2018.01053.

Received March 16, 2023

Revised April 3, 2023

Accepted August 28, 2023

For citing: Bogolitsyn K.G., Gusakova M.A., Krasikova A.A., Khviyuzov S.S., Selivanova N.V., Samsonova N.A., Pustynnaya M.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 4, pp. 231–240. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230412679.